

На правах рукописи

СОРОКИНА ЯНА НИКОЛАЕВНА

**ПРОГНОЗ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ ПРОГРАММ
ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У ЖЕНЩИН
С ХРОНИЧЕСКИМ ЭНДОМЕТРИТОМ
ПРИ ТРУБНО-ПЕРИТОНЕАЛЬНОМ БЕСПЛОДИИ**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

Автореферат

**диссертации на соискание ученой
степени кандидата медицинских наук**

Москва — 2020 год

Работа выполнена в Новокузнецком государственном институте усовершенствования врачей – филиале Федерального государственного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения РФ.

Научные руководители:

доктор медицинских наук

Ренге Людмила Владимировна

доктор биологических наук

Зорина Вероника Николаевна

Официальные оппоненты:

Вартанян Эмма Врамовна – доктор медицинских наук, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, профессор кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины факультета непрерывного медицинского образования медицинского института.

Кречетова Любовь Валентиновна – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая лабораторией клинической иммунологии.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «___» _____ 2020 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.048.01 при Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» (101000, Москва, ул. Покровка, д. 22а).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (<http://moniiag.ru>) Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» по адресу: 101000, Москва, ул. Покровка, д. 22а.

Автореферат разослан «___» _____ 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Зайдиева Янсият Зайдилаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Проблема бесплодия супружеских пар приобретает сегодня не только медицинское, но и большое социально-демографическое, экономическое значение (Айзикович Б.И., 2008; Амирова А.А, 2011; Аполихин О.И., 2015). Распространенность бесплодного брака в мире составляет, в среднем, 12-15%: в странах Западной Европы – 10,9%, в США – 14,2% и в России – 17,4 %. При этом, показатель равный 15% является критическим для популяции (Аполихин О.И., 2015; Здравоохранение в России, 2015; Сосновская Т.С., 2018; Inhorn, M. C., 2015). Ежегодно в мире регистрируется 2-2,5 миллиона новых случаев мужского и женского бесплодия (Аполихин О.И., 2015; Паскарь С.С., 2017). По данным ВОЗ бесплодны около 100 млн. супружеских пар (Айзикович Б.И., 2008; Вартамян Э.В., 2012). Программы репродуктивных технологий вывели проблему лечения бесплодия из тупика и позволили добиться успеха большому числу супружеских пар, обреченных на бездетность (Вартамян Э.В., 2011; Горбачева Т.И., 2013; Рудакова Е.Б., 2015). Однако эффективность методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) за последние годы существенно не улучшилась, частота развития беременности остается сравнительно низкой и составляет 38-40% на цикл лечения (Исмаилова М.К., 2013; Корсак В.С., 2017). Наиболее распространенной причиной нарушения репродуктивного здоровья женщин являются воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ) и в 70% случаев неудачи экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) связаны с патологией эндометрия при имплантации (Коваленко Я.А., 2017; Радзинский В.Е., 2017). Отсутствие стандартизированных подходов к оценке морфофункциональных характеристик эндометрия, а также методов прогнозирования вероятности наступления беременности в программах ЭКО затрудняет клиническое ведение пациенток с повторными неудачами имплантации (Зароченцева Н.В., 2013; Усольцева, Е.О., 2017). Таким образом, значимость проблемы infertility обосновывает актуальность совершенствования методов диагностики, повышения эффективности лечения и профилактики бесплодия, а также поиска прогностических критериев эффективности ВРТ. В этой связи особый интерес представляет изучение полифункциональных белков (α 2-макроглобулин (α 2-МГ), ассоциированный с беременностью α 2-гликопротеин (АБГ), лактоферрин (ЛФ) и α 1-антитрипсин (α 1-АТ)) в крови, фолликулярной и эндометриальной жидкостях, для оценки их прогностической значимости при ЭКО, а также патогенетической роли при трубно-перитонеальном бесплодии, ассоциированным с хроническим эндометритом. Известно, что подобные белки

регулируют цитокиновую сеть, окислительно-восстановительные процессы, участвуют в реализации гуморального и клеточного иммунного ответа, активно задействованы в воспалительной реакции и при аутоиммунной патологии (Гомбалева Н.А., 2013; Di Pietro et al, 2013). Комплексное изучение клинических и иммунологических показателей позволит дополнить механизмы патогенеза хронического эндометрита, а также разработать новые методы оценки эффективности и прогноза лечения бесплодия методами ЭКО, что, в конечном итоге, направлено на сохранение здоровья, улучшения качества жизни и восстановление репродуктивной функции женщины.

Степень разработанности темы исследования

Определение оптимальной тактики ведения пациенток с хроническим эндометритом при трубно-перитонеальном бесплодии весьма актуально. Прогноз в отношении неудачных исходов программ ЭКО относится к задачам первостепенной важности, поэтому в приоритете должно быть своевременное выявление патологии эндометрия на этапе планирования вступления в программу ЭКО и адекватное лечение, поскольку недостаточное обследование пациентов на этапе подготовки к вступлению в программу ЭКО приводит к неудачам. По результатам проведенного исследования сформирована программа, позволяющая повысить эффективность программ экстракорпорального оплодотворения при лечении бесплодия, осложненного хроническим эндометритом.

Цель исследования поиск новых критериев прогноза результативности программ ЭКО для оптимизации протокола ведения женщин с хроническим эндометритом при трубно-перитонеальном бесплодии.

Поставленная цель определила основные **задачи исследования**:

1. Провести поиск клинических предикторов неудачного исхода программ ЭКО путем сравнительного анализа клинико-anamnestических данных и преморбидного фона у женщин с хроническим эндометритом.

2. Определить концентрацию регуляторно-транспортных белков: $\alpha 2$ -МГ, АБГ, $\alpha 1$ -АТ, ЛФ, альбумина и общего белка в крови участниц программ ЭКО при трубно-перитонеальном бесплодии до вступления в программу и оценить влияние индукции суперовуляции на вышеперечисленные показатели.

3. Изучить значимость концентраций $\alpha 2$ -МГ, АБГ, $\alpha 1$ -АТ, ЛФ, альбумина, общего белка, цитокинов (фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерлейкин 6 (ИЛ-6), интерлейкин 8 (ИЛ-8), интерферон гамма (ИФН- γ)) в венозной крови перед трансвагинальной пункцией (ТВР), в эндометриальных смывах и в фолликулярной жидкости в прогнозе результативности программ ЭКО женщин с хроническим эндометритом.

4. На основе выявленных предикторов разработать скрининговую шкалу

прогноза отрицательного исхода программы ЭКО и алгоритм ведения женщин с хроническим эндометритом (ХЭ) при трубно-перитонеальном бесплодии.

Научная новизна исследования

Проведено комплексное исследование сыворотки крови и состава эндометриальных смывов участниц программ ЭКО при трубно-перитонеальном бесплодии на содержание регуляторно-транспортных белков до вступления в программу. При бесплодии, осложненном хроническим эндометритом, в сыворотке крови выявлен значимо повышенный уровень позитивного реактанта острой фазы воспаления – $\alpha 1$ -АТ, а в эндометриальных смывах – повышенные концентрации транспортного альбумина, регуляторно-транспортного $\alpha 2$ -макроглобулина и васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF).

Впервые показано, что индукция суперовуляции способствует многократному повышению в крови концентрации эстрогензависимого белка – $\alpha 2$ -гликопротеина (АБГ) у 25% участниц программ ЭКО.

Определены иммунологические предикторы отрицательного исхода программ ЭКО при трубно-перитонеальном бесплодии, осложненном хроническим эндометритом: повышенные уровни $\alpha 2$ -макроглобулина в эндометриальных смывах; сниженные концентрации альбумина и повышенные ФНО- α в крови после стимуляции суперовуляции, перед TVP; сниженные показатели альбумина и общего белка в фолликулярной жидкости.

Впервые разработаны прогностическая карта и алгоритм ведения женщин с хроническим эндометритом при трубно-перитонеальном бесплодии.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Полученные результаты работы позволяют улучшить прогноз результативности программ ЭКО, оптимизировать ведение предимплантационного периода при высоком риске негативного результата программы ЭКО, рекомендовать криоконсервацию и отсроченный перенос эмбриона.

Показатели белков ($\alpha 2$ -макроглобулина, лактоферрина, альбумина, ФНО- α и общего белка) в крови, фолликулярной жидкости и эндометриальных смывах могут быть использовано в качестве маркеров результативности программы ЭКО.

Использованный метод логистической регрессии в разработке прогнозирующей модели исхода программ ЭКО позволяет оценивать индивидуальную вероятность наступления беременности при трубно-перитонеальном бесплодии с точностью 90%.

Методология и методы исследования

Объектом исследования в диссертационной работе являлись женщины с трубно-перитонеальным бесплодием, осложненным хроническим эндометритом (основная группа) и без осложнения (группа сравнения), участвующие в программе ЭКО. Предметом исследования стал анализ особенностей анамнеза и преморбидного фона участниц программ и содержание острофазовых реактантов (провоспалительных цитокинов и полифункциональных белков) в крови, фолликулярной жидкости и эндометриальных смывах. Исследование проводилось с 2014 по 2017 гг. на базе отделения ВРТ ООО «Медика-2» ГК «Мать и Дитя» города Новокузнецка, а также на базе научно-исследовательской лаборатории иммунологии ГБОУ ДПО НГИУВ филиала Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России. При написании работы в методологическом плане применялась совокупность общенаучных и специальных методов. В числе общенаучных теоретических методов использовался способ восхождения от абстрактного к конкретному, состоящий в выявлении наиболее характерных особенностей преморбидного фона и факторов риска, способствующих формированию определенного клинко-патогенетического варианта трубно-перитонеального бесплодия. Используемый метод логистической регрессии позволил разработать математическую модель с учетом значимых клинко-анамнестических и лабораторных показателей для прогноза результативности программы ЭКО при бесплодии, осложненном хроническим эндометритом. Использовались методы исследования: метод наблюдения (отбор пациентов, планирующих разрешение бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения в гинекологической клинике и клинике ВРТ), метод эксперимента (изучение содержания иммунорегуляторных и транспортных белков, провоспалительных цитокинов в венозной крови, фолликулярной жидкости и в составе внутриматочных смывов), метод сравнения (сравнительный анализ лабораторных данных при наличии хронического эндометрита с бесплодием без хронического эндометрита и контрольной группой – здоровых женщин). Из эмпирически-теоретических методов использовались методы аналогии, индукции и дедукции (сравнение полученных результатов с литературными данными других авторов), которые позволили выдвинуть ряд предположений по наличию факторов риска отрицательного исхода и разработать дополнительные методы прогноза результативности программ ЭКО.

Положения, выносимые на защиту:

1. Наибольший риск отрицательных исходов программ ЭКО у женщин с хроническим эндометритом (ХЭ) при трубно-перитонеальном бесплодии: возраст женщин старше 30 лет, наличие самопроизвольных выкидышей, ИППП и количеством попыток ЭКО более 1 в анамнезе.

2. У женщин с хроническим эндометритом при трубно-перитонеальном бесплодии перед стимуляцией «суперовуляции» выявляются: повышенный уровень α 1-антитрипсина в крови, повышенные концентрации альбумина, α 2-макроглобулина, фактора роста – VEGF и сниженные лактоферрина – в эндометриальных смывах.

Индукция суперовуляции увеличивает уровень эстрогензависимого белка – α -2-гликопротеина у 25% участниц программ ЭКО, независимо от формы бесплодия и способствует снижению в крови концентрации α 1-антитрипсина у женщин с хроническим эндометритом.

Повышенные уровни α 2-макроглобулина в эндометриальных смывах; сниженные концентрации альбумина и повышенные ФНО- α в крови после стимуляции суперовуляции, перед TVP, а также сниженное содержание в фолликулярной жидкости уровни альбумина и общего белка, являются предикторами отрицательного исхода программ ЭКО у женщин с ХЭ.

3. Выявленные новые критерии прогноза исхода программ экстракорпорального оплодотворения позволили создать высокоэффективную шкалу расчета отрицательных исходов программ ЭКО и использовать ее как скрининговую для оптимизации протокола ведения женщин с хроническим эндометритом при трубно-перитонеальном бесплодии.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности полученных результатов достигнута за счет использования адекватной программы и объема исследования, современных методов диагностики. Для статистической обработки полученных результатов использовали лицензионную версию сертифицированной PC программы для биостатистики InStat 2.0 (InStat Biostatistics, Intuitive Software for Science (GraphPad, США), а также свободно распространяемую программную среду статистической обработки данных R v.3.4.0. Параметры, приводимые в работе, имеют следующее обозначение: M – средняя величина, m – ошибка средней, n – объем анализируемой выборки, p – достигнутый уровень значимости. Статистическая значимость различий между количественными признаками в несвязанных выборках проверялась с помощью критерия Манна-Уитни, в связанных – с помо-

щью критерия Вилкоксона. Статистическая значимость различий между частотами проверялась с помощью критерия Хи-квадрат (χ^2).

Личный вклад автора в исследование

Автором было проведено обследование пациенток, верификация диагноза, лечение (после проведения гистероскопии) и наблюдение после проведения программы ЭКО. Совместно с сотрудниками НИЛ НГИУВ филиал ФГБОУ ДПО МЗРФ, проведен анализ результатов клинико-лабораторных, иммунологических исследований в динамике, статическая, математическая обработка полученных результатов и написание публикаций, патентов в открытой печати по основным результатам исследования.

Внедрение в практику и апробация результатов исследования

Результаты исследования и практические рекомендации, вытекающие из них, внедрены в лечебную практику отделения вспомогательных репродуктивных технологий ЦОЗСиР ГАУЗ КО «Новокузнецкий перинатальный центр» гинекологических отделений МЛПУ «ГКБ №1» и ООО «Медицинский Центр» г. Новокузнецка, гинекологической клиники «Медика-2», Группы компаний «Мать и Дитя» г. Новокузнецка, а также в учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии ГБОУ ДПО НГИУВ Министерства здравоохранения РФ.

Материалы диссертации доложены на Международной научно-практической конференции «Перинатология в Сибири: достижения и проблемы», посвященной 25-летию юбилею КРОО «Ассоциация акушеров-гинекологов» (Кемерово, 2017).

Диссертационная работа обсуждена на заседании апробационной комиссии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России «Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей» 22.01.2019, протокол № 1.

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 8 научных работ, из них 4 в рецензируемых журналах списка ВАК РФ.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 5 глав, посвященных анализу данных, полученных в ходе работы, обсуждения результатов исследования, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа изложена на 120 страницах машинописного текста, иллюстрирована 27 таблицами, 9 рисунками. Библиография включает 229 литературных источников, из них 163 отечественных и 66 зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Дизайн исследования представлен на рис.1. Для решения поставленных задач, обследовано 173 женщины, из них 128 участниц программ ЭКО: 63 женщины с хроническим эндометритом, включая 1-ю подгруппу (25 чел.) с наступившей беременностью и 2-ю подгруппу (38 чел.) у которых беременность не наступила, а также 65 женщин группы сравнения без ХЭ, включая 1-ю подгруппу (27 чел.) с наступившей беременностью и 2-ю подгруппу (38 чел.) с не наступившей беременностью и 45 здоровых небеременных женщин контрольной группы. Возраст обследуемых пациенток варьировал от 26 до 38 лет. Критерии исключения из программы исследования: наличие острой генитальной, тяжелой экстрагенитальной патологии; доброкачественных и злокачественных новообразований; возраст старше 38 лет; субфертильные показатели спермы; недостаточный ответ яичников на индукцию суперовуляции: «бедный» ответ.

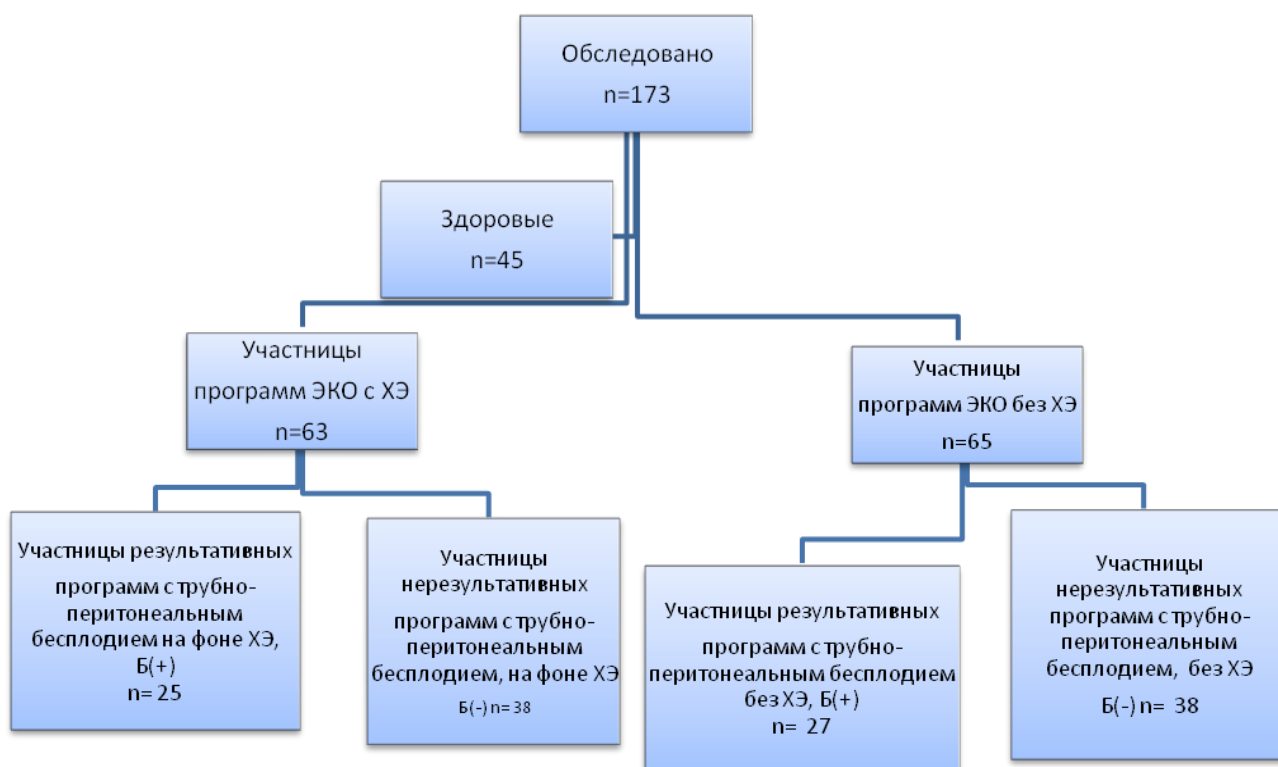


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Всем пациенткам проводилось общеклиническое и гинекологическое обследование; кольпоскопия цифровым видеокольпоскопом; абдоминальное и трансвагинальное сканирование органов малого таза (УЗИ). Гистероскопия осуществлялась по стандартной методике с использованием аппаратуры «Karl

Storz» GmbH & C (Германия); телевизионной системы Telecam SL и Tricam SL; электрохирургических генераторов Autcom 200, Autcom 350.

У всех участниц ЭКО (128 женщин) исследовалась сыворотка крови после проведения индукции суперовуляции (у 32 женщин в динамике – до вступления в программу и назначения препаратов, стимулирующих фолликуллогенез) и фолликулярная жидкость на содержание регуляторно-транспортных белков и цитокинов. Вышеперечисленные показатели в составе внутриматочных смывов изучались перед вступлением в программу на 19-21 день менструального цикла. В контрольной группе женщин исследовалась только сыворотка крови.

Для определения концентраций альбумина в эндометриальных смывах, $\alpha 2$ -МГ и $\alpha 1$ -АТ в сыворотке крови и фолликулярной жидкости применяли метод количественного низковольтного ракетного иммуноэлектрофореза с использованием кроличьих поликлональных моноспецифических антисывороток против данных белков. Для определения уровня $\alpha 2$ -МГ и IgG в составе маточных смывов использовали метод ИФА и сконструированные *de novo* исследовательские тест-системы. Уровни альбумина и общего белка в крови и фолликулярной жидкости определяли стандартными клиническими методами.

Содержание лактоферрина и цитокинов в сыворотке крови, фолликулярной жидкости и эндометриальных смывах определяли методом ИФА с использованием коммерческих тест-систем (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск). Измерение и обработка всех результатов ИФА проводились при помощи оборудования BioRad (Microplate Reader, model 3550).

В данном исследовании в лечебных циклах ЭКО индукция суперовуляции проводилась по единому стандартному короткому протоколу с применением антагонистов гонадотропин релизинг гормона (анта-ГнРГ), при условии достижения лидирующего фолликула 14 мм и достаточной толщины эндометрия (не менее 8 мм) по ультразвуковому исследованию (УЗИ).

Триггер финального созревания ооцитов вводили при достижении лидирующими фолликулами диаметра 18-20 мм, в зависимости от числа растущих фолликулов (до 12-15 мм – человеческим хорионическим гонадотропином (чХГ) в дозе 10 тыс. МЕ; 15 и более – агонистами гонадотропин релизинг гормона (а-ГнРГ): диферелин или декапептил 0,2 мг подкожно в сочетании с 1500 МЕ чХГ внутримышечно).

Трансвагинальную пункцию проводили амбулаторно в условиях малой операционной под кратковременным внутривенным обезболиванием через 35-36 часов после введения триггера.

Фертилизацию *in vitro* осуществляли по стандартам ЭКО, культивирование эмбрионов проводилось в среде «VITROLIFE», селективный перенос одной бластоцисты 3-5 класса качества – на 5-е сутки культивирования катет-

ром COOK K–soft, поддержку лютеиновой фазы цикла осуществляли в соответствии со стандартными рекомендациями (Краснопольская К. В., 2013).

Для статистической обработки полученных результатов использовали лицензионную версию сертифицированной PC программы для биостатистики InStat 2.0 (InStat Biostatistics, GraphPad, США), а также свободно распространяемую программную среду статистической обработки данных R v.3.4.0 (лицензия GNU GPL2).

Статистическая значимость различий между двумя количественными признаками в несвязанных выборках проверялась с помощью критерия Манна-Уитни, в связанных – с помощью критерия Вилкоксона. Статистическая значимость различий между частотами проверялась с помощью критерия Хи-квадрат (χ^2).

Построение модели осуществлялось с помощью логистической регрессии со штрафом (penalized logistic regression). Общая оценка согласия модели и реальных данных оценивалась с использованием теста Хосмера-Лемешова. В качестве критерия, определяющего возможность классификации с помощью построенной модели, использовался критерий Колмогорова-Смирнова для двух выборок. Качество модели оценивалось с помощью ROC-кривой (показатель AUC). Пороговая точка отсечения определялась с помощью индекса J-Юдена. Критическое значение уровня значимости – 0,05.

Характеристика состояния здоровья женщин групп наблюдения по анамнестическим данным

Все участницы программы ЭКО находились в возрасте 25-38 лет. Наибольшее количество забеременевших женщин, как в основной группе, так и в группе сравнения, определялось в возрасте 25-30 лет (52% и 44,7% соответственно). В возрастных категориях 31-34 года и 35-38 лет – количество забеременевших не превышало 20%-28% в обеих группах. Таким образом, наиболее значимым в отрицательном исходе программ ЭКО при трубно-перитонеальном бесплодии является возраст старше 30 лет.

По социальному статусу, соматической патологии и особенностям менструального цикла участницы обеих групп были сопоставимы, независимо от исхода программы. В анамнезе обследованных встречались ОРВИ заболевания (28,9-23,6%); ЛОР болезни составляли 21-22,2%; сердечно-сосудистые – 12-13,2%; мочеполовой системы – 13,2-15,8%; щитовидной железы – 13,2-15,8%. Время наступления менархе у обследованных находилось в пределах от 11 до 16 лет (в среднем $12,2 \pm 2,1$). Средняя продолжительность менструального цикла составила $27,8 \pm 3,9$. Регулярный менструальный цикл преобладал у большинства участниц, нарушения менструального цикла были выявлены в

24% и 19,5% случаях.

Анализ структуры и частоты гинекологических заболеваний позволил выявить при отрицательном исходе в основной группе максимальную частоту инфекций передающиеся половым путем (ИППП) – 52,6% (в группе сравнения – 23,7%), а также полипов эндометрия – 50% (в группе сравнения – 21,1%) и гиперплазии эндометрия – 34,2% (в группе сравнения – 13,2%). И напротив, частота хронического оофорита была выше в группе сравнения, независимо от исхода (51,8%–52,6%), а в основной – 24%–26,3%, что и объясняет причину трубно-перитонеального бесплодия. Частота других патологий в анамнезе была незначительна.

Продолжительность бесплодия в группах обследованных женщин варьировала от 3 до 16 лет, составляя в среднем $7,0 \pm 0,5$ лет. Первичное бесплодие диагностировалось у 43,1%; вторичное – 56,9%.

Наибольшая частота самопроизвольных выкидышей отмечалась в анамнезе у бесплодных женщин с ХЭ при отрицательном исходе программы (42,1% против 23,7% в группе сравнения). Частота искусственных абортов была достаточно высокой в обеих группах, независимо от исхода программы (42,8% у основной группы и 41,5% у группы сравнения). Неудачные попытки ЭКО перенос эмбриона (ПЭ) (по 1-2) среди всех участниц программ ЭКО (n=128) составили 59,4% (у 76 женщин). В основной группе процент неудачных попыток ЭКО ПЭ был выше (65%), чем у обследуемых пациентов с трубно-перитонеальным бесплодием без ХЭ (53,8%).

У всех обследованных женщин показатели гормонального статуса были сопоставимы. Результаты УЗИ органов малого таза отличались по структуре эндометрия: у женщин основной группы неоднородный контур эндометрия встречался в 32 % , а без в 7,9% случаев; повышенная эхогенность эндометрия отмечалась в основной группе у 28%, в группе сравнения только в 5,3% случаев; расширение полости матки в 21% -2,6% соответственно, а гиперэхогенные включения (3%-7%) и наличие газовых пузырьков (8%-10,5%) встречались только в основной группе с ХЭ.

Гистероскопические исследования также выявили различия в группах по особенностям патологии эндометрия: наличием полипов и гиперплазии в 49,2% и 26,9% случаев (против 20% и 12,3% в группе сравнения); неравномерностью окраски и толщины слизистой в 60,3% и 41,2% случаев (против 9,2% и 35 в группе сравнения). У большинства пациенток основной группы слизистая была истончена, имела неравномерную окраску и наличие внутриматочных синехий. Диагноз хронического эндометрита был подтвержден гистологическими исследованиями: наличием лимфоцитарных инфильтратов вокруг желез (более 80%), плазматических клеток (более 40%), очагов фиброза в строме (более 95%), как в

стенке спиральных артерий (28%), так и в базальном слое эндометрия.

В результате стандартной стимуляции, проведенной в группах, установлено, что функции яичников, показатели фолликулогенеза, оогенеза, раннего эмбриогенеза были сопоставимы.

Результативность программ ЭКО у женщин с трубно перитонеальным фактором бесплодия ассоциированного с хроническим эндометритом составила 39,7% (25 женщина) и в группе сравнения – 41,5% (27 женщин).

Результаты иммунологического исследования

В целях выявления дополнительных методов диагностики ХЭ и прогноза результативности программ ЭКО были исследованы регуляторно-транспортные белки и цитокины в различных биологических жидкостях у бесплодных женщин.

Количественный анализ провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН- γ) и IgG в составе **эндометриальных смывов** у женщин с трубным бесплодием до вступления в программу (как в основной группе, так и в группе сравнения) не выявил достоверных отличий их уровней от показателей здоровых женщин, а также зависимости от исхода программы. Колебания значений цитокинов во всех группах составляли: ИЛ-6 – $36,1 \pm 6,6$ пкг/мл – $89,9 \pm 33$ пкг/мл; ИЛ-8 – $202 \pm 42,3$ пкг/мл – $299 \pm 42,7$ пкг/мл; ИФН- γ – $7,6 \pm 0,6$ пкг/мл – $9,6 \pm 0,8$ пкг/мл и IgG – от $8,47 \pm 1,36$ мг/л до $14,63 \pm 1,94$ мг/л.

Концентрация VEGF была повышена в основной группе пациенток с хроническим эндометритом при вступлении в программу, но не зависела в последующем от ее исхода ($319 \pm 56,4$ пкг/мл – основная группа, $139,1 \pm 30,4$ пкг/мл – группа сравнения, $p=0,016$; $201,5 \pm 67,3$ пкг/мл – здоровые), а показатели ФНО- α были повышены в обеих группах пациенток только при отрицательных исходах ($3,4 \pm 0,4$ пкг/мл – $2,0 \pm 0,4$ пкг/мл – основная группа, $p=0,035$; $3,5 \pm 0,8$ пкг/мл – $1,5 \pm 0,3$ пкг/мл – группа сравнения, $p=0,03$).

У пациенток с бесплодием, осложненным ХЭ, был повышен уровень альбумина, независимо от исхода программы, а концентрация $\alpha 2$ -МГ достигала максимальных значений только при отрицательном результате. Показатели ЛФ были низкими у всех бесплодных женщин и не зависели от исхода программы (табл.1).

Полученные данные свидетельствуют о том, что ведущая роль в неуспешном исходе программы ЭКО при трубном бесплодии, осложненном ХЭ, принадлежит нарушению структуры ткани эндометрия и проницаемости тканевых барьеров, на что указывают повышенные концентрации фактора роста эндотелия сосудов VEGF, а также $\alpha 2$ -МГ (ингибитор протеиназ) и альбумина (основной транспортный белок) в составе эндометриальной жидкости. Известно,

что данные белки синтезируются преимущественно гепатоцитами печени (Болтавская М.Н., 2000; Комиссарова Ю.В., 2010, соответственно увеличение их концентрации в эндометриальных смывах является следствием экссудации.

Таблица 1 – Содержание регуляторно-транспортных белков в составе внутриматочных смывов в зависимости от исхода программы ЭКО при трубно-перитонеальном бесплодии

Группы		Альбумин (г/л)	α 2-МГ (мг/л)	ЛФ (мг/л)
Контрольная группа (фертильные) n=10		0,12 \pm 0,03	0,91 \pm 0,25	1,45 \pm 0,2
Основная группа	ЭКО берем + (n=17)	0,3 \pm 0,07 p2=0,049	2,49 \pm 0,33 p2=0,003	0,81 \pm 0,17 p2=0,027
	ЭКО берем - (n=21)	0,37 \pm 0,06 p=0,016 p2=0,01	7,28 \pm 1,49 p=0,03 p1=0,007 p2=0,007	0,59 \pm 0,08 p2<0,0001
Группа сравнения	ЭКО берем + (n=13)	0,21 \pm 0,04	2,47 \pm 0,48 p2=0,016	0,54 \pm 0,08 p2=0,0001
	ЭКО берем - (n=13)	0,16 \pm 0,04	2,84 \pm 0,59 p2=0,013	0,53 \pm 0,1 p2=0,0002

Пояснения: p – статистическая достоверность различий между группой с ХЭ и группой сравнения; p1 – статистическая достоверность различий между подгруппами по исходу ЭКО (берем + или -); p2-статистическая достоверность отличий от контрольной группы здоровых женщин с сохраненной репродуктивной функцией.

Особое внимание следует обратить на сниженный уровень ЛФ в смывах. Данный белок синтезируется локально эпителиальными клетками, обладает не только выраженными антибактериальными и противовирусными свойствами, но и модулирует синтез цитокинов, включая факторы роста (Болтавская М.Н., 2000; Лихачева В.В., 2017). Соответственно, его дефицит во многом обуславливает повышенный риск инфицирования у некоторых женщин. Кроме того, дефицит иммуномодуляторного ЛФ, на фоне избытка α 2-МГ, также обладающего выраженной иммуномодулирующей активностью по отношению к цитокинам (Овчарук Э.А., 2013; Зорина В.Н., 2013), может приводить к дисбалансу цитокинового профиля (не только провоспалительных цитокинов, но и факторов роста) и препятствовать успешной имплантации эмбриона.

Для оценки системности изменений при бесплодии, осложненном ХЭ, мы проанализировали **сывороточные концентрации** изученных белков и цитокинов.

Выявлено повышенное содержание α 1-АТ в крови при бесплодии, осложненном ХЭ до вступления в программу – 3,51 \pm 0,09 г/л (у здоровых – 2,98 \pm 0,1 г/л, p=0,008). При этом показатели α 2-МГ, лактоферрина, ассоциированного с бе-

ременностью АБГ, альбумина и общего белка были сопоставимы в группах бесплодных участниц программ и здоровых женщин.

Стимуляция суперовуляции способствовала снижению концентрации $\alpha 1$ -АТ до значений сопоставимых со здоровыми женщинами (до $3,51 \pm 0,09$ г/л – после $3,16 \pm 0,08$ г/л, $p=0,038$), многократному (3-5 раз) повышению содержания эстрогензависимого белка – АБГ у 21-29% участниц ЭКО, независимо от формы бесплодия, и не влияла на показатели $\alpha 2$ -МГ, лактоферрина, альбумина и общего белка.

Анализ зависимости сывороточных уровней регуляторно-транспортных белков и цитокинов перед TVP-пункцией с результативностью программы показал, что они не зависели от ее исхода, как в основной группе, так и в группе сравнения. Исключение составили значимо повышенные концентрации альбумина и ФНО- α в крови женщин основной группы при отрицательном исходе программ (табл. 2).

Таблица 2 – Белки и цитокины сыворотки крови у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием в зависимости от исхода программы ЭКО

Показатели	Основная группа		Группа сравнения	
	Бер (-) n=38	Бер (+) n=25	Бер (-) n=38	Бер (+) n=27
$\alpha 2$ –МГ г/л	2,45 \pm 0,1	2,57 \pm 0,08	2,5 \pm 0,11	2,45 \pm 0,13
$\alpha 1$ -АТ г/л	3,16 \pm 0,12	3,15 \pm 0,11	3,21 \pm 0,12	2,9 \pm 0,16
Лактоферрин в мг/л	1,21 \pm 0,09 $p=0,0025$	1,11 \pm 0,09	0,82 \pm 0,07	0,88 \pm 0,09
АБГ в г/л	74% 0,011 \pm 0,002 26% 0,13 \pm 0,06	85% 0,01 \pm 0,001 15% 0,06 \pm 0,1	71% 0,012 \pm 0,002 29% 0,054 \pm 0,007	71% 0,008 \pm 0,002 29% 0,046 \pm 0,006
Альбумин г/л	43,23\pm0,73 $p1=0,009$	45,42 \pm 0,43	44,16 \pm 0,91	45,28 \pm 0,5
Общий белок	76,91 \pm 0,85	77,2 \pm 1,05	77,01 \pm 1,19	78,62 \pm 1,08
ФНО- α пкг/мл	2,2\pm0,3 $p1=0,008$ $p=0,042$	1,2 \pm 0,2	1,3 \pm 0,3	1,7 \pm 0,3
ИЛ-8 пкг/мл	4,7 \pm 1,1	3,1 \pm 0,5	4,4 \pm 0,9	4,1 \pm 0,5
ИЛ-6 пкг/мл	1,3 \pm 0,1	1,8 \pm 0,4	1,9 \pm 0,2	1,3 \pm 0,2
ИФН- γ пкг/мл	5,9 \pm 0,6	5,6 \pm 0,4	5,5 \pm 0,6	5,5 \pm 0,6

Пояснения: P – достоверность различий данных между группами пациенток ЭКО осложненном ХЭ и группы сравнения ; P1 – сравнения внутри групп по исходам Б(+) и Б (-)

Сниженные концентрации альбумина и повышенный уровень ФНО- α и ЛФ в крови участниц программ при ХЭ после стимуляции суперовуляции, перед проведением TVP, ассоциированные с отрицательным исходом, подтверждают наличие остаточных явлений хронического воспаления.

Однако, проблемы с рецептивностью при ХЭ могут быть связаны не только с наличием остаточных явлений хронического воспаления, но и с нарушениями структуры тканей эндометрия. Отдельный интерес представляет впервые выявленное на фоне стимуляции суперовуляции многократное увеличение концентрации эстрогензависимого белка – АБГ у трети участниц программ, не связанное с результативностью. По всей вероятности, это отражает индивидуальную чувствительность эстрогеновых рецепторов в ответ на прием препаратов, содержащих эстрогены (Зорина Р.М., 2013).

Исследование **фолликулярной жидкости** позволило выявить значимо сниженный уровень альбумина и общего белка у женщин с бесплодием, осложненным ХЭ при отрицательном исходе программы (альбумин - $37,19 \pm 1,3$ г/л против $41,54 \pm 0,62$ г/л при наступлении беременности, $p=0,009$; общий белок – $52,0 \pm 2,15$ г/л против $60,96 \pm 1,26$ г/л, $p=0,002$). В группе сравнения показатели альбумина и общего белка не зависели от исхода программы (альбумин – $42,11 \pm 0,5$ г/л - $42,07 \pm 0,52$ г/л; общий белок – $61,85 \pm 0,5$ г/л - $62,49 \pm 0,83$ г/л). Сниженные уровни альбумина и общего белка в фолликулярной жидкости участниц программ с бесплодием, осложненным ХЭ безусловно влияют на качество ооцитов и относятся к факторам снижающим результативность.

Показатели регуляторно транспортных белков ($\alpha 2$ -МГ, $\alpha 1$ -АТ, лактоферрин) и цитокинов (ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН- γ) в составе фолликулярной жидкости не различались в группах участниц ЭКО. Концентрации $\alpha 2$ -МГ и $\alpha 1$ -АТ были сопоставимы (колебания значений от $0,14 \pm 0,02$ г/л до $0,23 \pm 0,01$ г/л); уровни лактоферрина – $0,2 \pm 0,02$ мг/л - $0,23 \pm 0,03$ мг/л; показатели цитокинов (ФНО- α – $1,5 \pm 0,2$ пкг/мл - $2,2 \pm 0,7$ пкг/мл, ИЛ-8 – $223,9 \pm 20,2$ пкг/мл - $267,0 \pm 14,0$ пкг/мл, ИЛ-6 – $12,1 \pm 1,7$ пкг/мл - $17,5 \pm 2,9$ пкг/мл, ИФН- γ – $4,8 \pm 0,5$ пкг/мл - $5,4 \pm 0,6$ пкг/мл).

Таким образом, иммунологическими предикторами отрицательного исхода программы ЭКО у женщин при бесплодии, осложненном ХЭ, являются: повышенные концентрации $\alpha 2$ -МГ, альбумина, ФНО- α , на фоне пониженных лактоферрина в составе эндометриальных смывов; сниженные уровни альбумина в крови и фолликулярной жидкости перед TVP, а также общего белка в фолликулярной жидкости.

По результатам проведенного исследования сформирована программа, позволяющая улучшить прогнозирование исхода программы ЭКО и оптимизировать подготовку. Мы предполагаем, что внедрение данного подхода в практику позволит повысить эффективность программ экстракорпорального оплодотворения при лечении бесплодия, осложненного хроническим эндометритом.

На основе построенной модели риска отрицательного исхода ЭКО была разработана скрининговая шкала, баллы, соответствующие каждому фактору риска, представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Баллы, соответствующие факторам риска в прогнозной шкале отрицательного результата программы ЭКО при трубно-перитонииальном бесплодии

ПРЕДИКТОРЫ ИСХОДА ЭКО		
Гинекологический анамнез	Повторная попытка ЭКО	+6
	Наличие одного и более выкидышей	+9
Без хронического эндометрита	Возраст старше 30 лет (включительно)	+2
	В сыворотке крови: альбумин менее 41,5 г/л	+5
	В сыворотке крови: ИЛ-6 более 2,5 пкг/мл	+7
При хроническом эндометрите	Возраст старше 30 лет (включительно)	+5
	В сыворотке крови: альбумин менее 42,4 г/л	+7
	В сыворотке крови: ФНО более 3,0 пкг/мл	+6
	В фолликулярной жидкости: альбумин менее 36,0 г/л	+5
	В фолликулярной жидкости: общий белок менее 59,2 г/л	+4
	В маточных смывах: α 2-МГ более 4,1 мг/л	+10

Пороговая сумма баллов (сумма баллов, после которой вероятность отрицательного исхода программы превышает 80%) определялась с помощью индекса Юдена. Оптимальной пороговой точкой является сумма баллов, соответствующая 20 ($J=0,81$). Таким образом, если сумма баллов по всем факторам риска превышает 20, то у женщины высокая вероятность отрицательного исхода программы в «свежем» цикле.

На основе построенной шкалы был разработан следующий прогнозирующий алгоритм отрицательного исхода программы:

У пациентки определяется наличие факторов риска, каждому фактору соответствует свой балл (в таблице 4). Все баллы суммируются между собой, если итоговая сумма баллов выше 20, то прогнозируется высокий риск отрицательного исхода программы ЭКО. Рекомендуется отсроченный криоперенос с проведением персонифицированной прегравидарной подготовки.

Наглядно разработанный алгоритм представлен на рисунке 1.

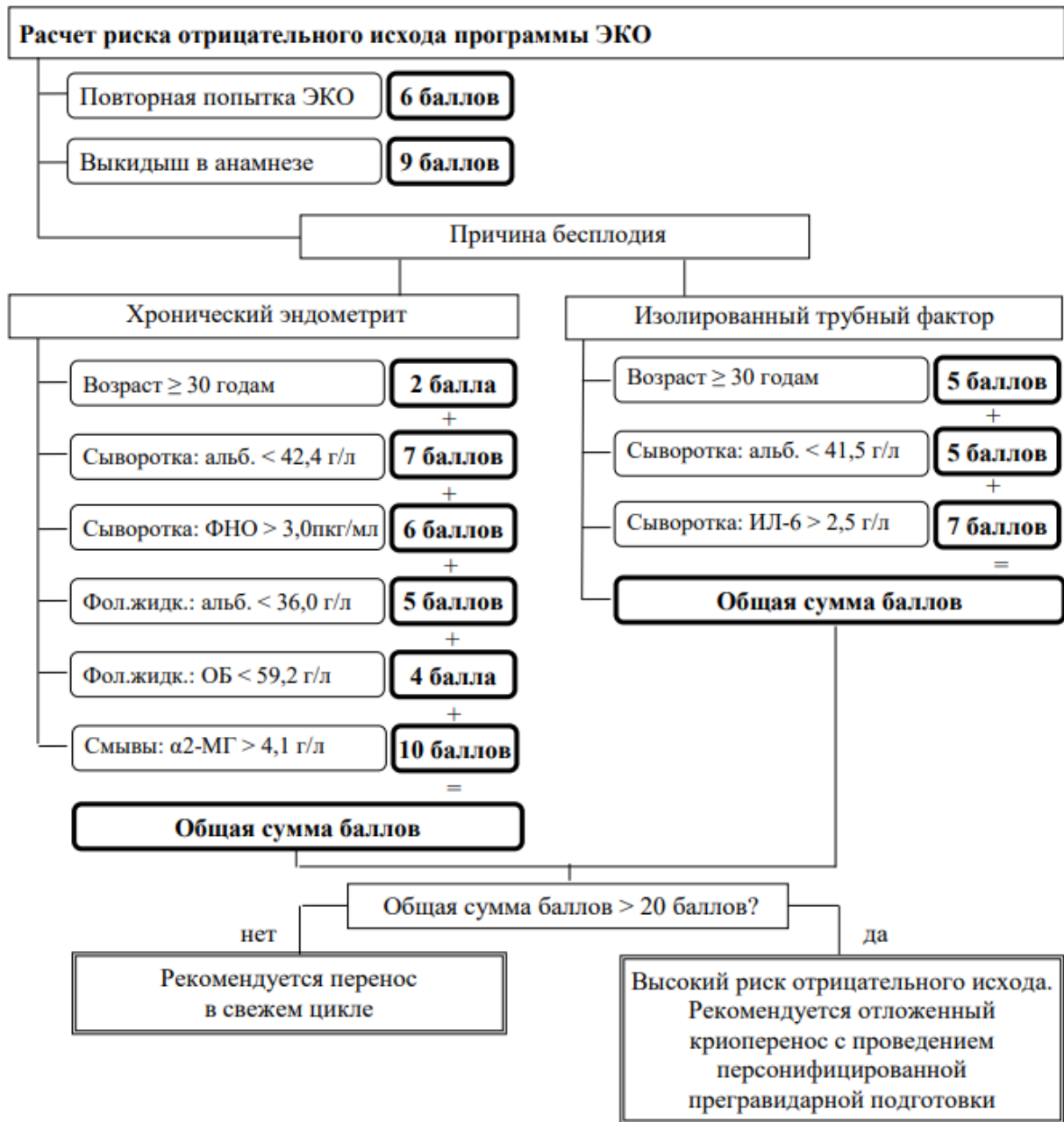


Рисунок 2 – Алгоритм прогноза отрицательного результата программы ЭКО при трубно-перитонеальном бесплодии.

Таким образом, выявлены дополнительные клинико-иммунологические критерии прогноза результативности программ ЭКО, что позволяет оптимизировать протокол программ экстракорпорального оплодотворения при трубно-перитонеальном бесплодии, ассоциированном с хроническим эндометритом.

ВЫВОДЫ

1. Клинико-anamнестические данные участниц ЭКО при трубно-перитонеальной форме бесплодия, осложненной хроническим эндометритом, сопоставимы с группой сравнения (без ХЭ) по возрасту, социальному статусу, соматической патологии, менструальной функции, гормональному фону, но различаются по особенностям патологии эндометрия: наличием полипов и гиперплазии в 49,2% и 26,9 % случаев (против 20% и 12,3% в группе сравнения); неравномерностью окраски и толщины слизистой в 60,3 % и 41,2% случаев (против 9,2%, и 3 % в группе сравнения соответственно).

2. До вступления в программу ЭКО концентрации регуляторно-транспортных белков (α 2-макроглобулина, альбумина, лактоферрина и ассоциированного с беременностью α 2-гликопротеина) в крови женщин при трубно-перитонеальном бесплодии, осложненным хроническим эндометритом сопоставимы с результатами здоровых женщин контрольной группы, а уровни альфа1-антитрипсина повышены ($p=0,008$).

3. В эндометриальных смывах женщин с трубно-перитонеальным бесплодием, осложненным хроническим эндометритом, повышена концентрация альбумина ($p=0,025$), α 2-макроглобулина ($p=0,009$), VEGF ($p=0,016$) и снижена лактоферрина ($p=0,0005$) в сравнении с показателями здоровых женщин. Содержание цитокинов (ФНО- α , ИЛ-6 и ИЛ-8, ИФН- γ) и IgG сопоставимо у всех обследованных женщин.

4. В ответ на стимуляцию суперовуляции в крови 21%-29% участниц программы ЭКО увеличивается концентрация эстроген-зависимого белка – α -2гликопротеина (от 3 до 5 раз), независимо от формы бесплодия. В группе женщин с трубно-перитонеальным бесплодием, осложненным хроническим эндометритом, снижается содержание α 1-антитрипсина ($p=0,038$).

5. В нерезультативных программах ЭКО у женщин при трубно-перитонеальном бесплодии, осложненным хроническим эндометритом после стимуляции суперовуляции, перед проведением трансвагинальной пункции в крови снижены концентрации альбумина ($p=0,009$), повышены ФНО- α ($p=0,008$), а в фолликулярной жидкости снижены показатели альбумина ($p=0,009$) и общего белка ($p=0,003$). Уровни цитокинов (ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН- γ) в фолликулярной жидкости сопоставимы.

6. Предикторами отрицательных исходов программ ЭКО у женщин с хроническим эндометритом при трубно-перитонеальном бесплодии, по данным математического анализа, являются: сочетание клинико-anamнестических факторов (возраст старше 30 лет, ИППП, наличие одного и более выкидышей, повторная попытка ЭКО), повышенные уровни α 2-МГ(>4,1мг/л) в эндометриаль-

ных смывах; сниженная концентрация альбумина (<42,4г/л) и повышенная ФНО- α (>3,0пкг/мл) в крови перед TVP; низкое содержание в фолликулярной жидкости альбумина (<36,0г/л) и общего белка (<59,2г/л)

Выявленные показатели регуляторно-транспортных белков позволяют усовершенствовать прогноз отрицательных исходов программ ЭКО, путем создания высокоэффективной шкалы расчета и алгоритма действий.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Неудачи в программах ЭКО и ПЭ при трубно-перитонеальном бесплодии определяют необходимость широкого внедрения в практику, перед вступлением в программу, исследования смывов эндометрия на 7-10 день менструального цикла и определения его белкового состава. Повышенное содержание во внутриматочных смывах $\alpha 2$ -МГ >4,1мг/л, на фоне повышенной концентрации альбумина >0,3г/л и сниженной лактоферрина <0,4мг/л, является прогностически неблагоприятным, указывает на остаточные явления хронического воспалительного процесса в эндометрии и необходимость проведения дополнительных лечебных мероприятий.

2. Внедрение в практику прогностической карты и алгоритма действий при высокой вероятности отрицательного исхода программы ЭКО позволит персонализировать ведение женщин перед программами ЭКО. При сумме баллов факторов риска превышающих 20 ед. – высока вероятность отрицательного исхода программы ЭКО, что обосновывает необходимость криоконсервации, отсроченный перенос эмбриона и проведение противовоспалительной и иммунокорректирующей терапии.

Список работ опубликованных по теме диссертации

1. Лихачева В.В. Современные представления о патогенезе хронического эндометрита / В.В. Лихачева, В.Н. Зорина, Я.Н. Третьякова, Л.Г. Баженова, Т.В. Третьякова, Л.В. Ренге // **Российский вестник акушера-гинеколога**. – 2017. – Т. 17. – № 4. – С. 25–32 (**Перечень ВАК РФ**).

2. Третьякова Я.Н. Анализ белкового состава внутриматочных смывов в прогнозе эффективности программ ЭКО при хроническом эндометрите / Я.Н. Третьякова, В.В. Лихачева, В.Н. Зорина, Р.М. Зорина, Л.В. Ренге, Т.В. Третьякова, А.Г. Маркдорф, Л.Г. Баженова // **Проблемы репродукции**. – 2017. – Т.23. – № 4 – С.74–80. (**Перечень ВАК РФ**).

3. Лихачева В.В. Цитокины и регуляторно-транспортные белки в фолликулярной жидкости и сыворотке крови женщин при маточной форме бесплодия в программах экстракорпорального оплодотворения / В.В. Лихачева, Л.В. Ренге,

Л.Г. Баженова, Я.Н. Третьякова, С.В. Архипова, Р.М. Зорина // *Фундаментальная и клиническая медицина*. – 2017. – Т. 2. – № 3. – С. 28–34.

4. Лихачева В.В. Способ лечения хронического эндометрита с синдромом Ашермана в рамках предимплантационной подготовки эндометрия в программах ЭКО / В.В. Лихачева, Т.В. Третьякова, Л.Г. Баженова, А.Г. Маркдорф, А.Г. Лихачев, О.И. Бондарев, Я.Н. Третьякова // *Акушерство и гинекология: теория и практика. Сборник материалов международной научной конференции Россия, г. Москва, 29-30 сентября 2014.* – С.35–42.

5. Лихачева В.В. Послеоперационная профилактика рецидивов синдрома Ашермана / В.В. Лихачева, Л.Г. Баженова, Т.В. Третьякова, А.Г. Лихачев, О.И. Бондарев, Я.Н. Третьякова // *Материалы XVI Всероссийского научного форума. г. Москва. 22-25 сентября 2015.* – С.124–125.

6. Лихачева В.В. Хронический эндометрит: содержание регуляторно-транспортных белков в крови и внутриматочных смывах в прогнозе результативности программ экстракорпорального оплодотворения / В.В. Лихачева, Я.Н. Третьякова, В.Н. Зорина, Л.Г. Баженова, А.Г. Маркдорф, Л.С. Сотникова, Н.А. Зорин // *Акушерство и гинекология*. – 2017. – № 2. – С.58–62 (**Перечень ВАК РФ**)

7. Лихачева В.В. Регуляторно-транспортные белки сыворотки крови и фолликулярной жидкости у пациенток с синдромом поликистозных яичников и при трубном бесплодии в прогнозе результативности программ экстракорпорального оплодотворения / В.В. Лихачева, Р.М. Зорина, Л.Г. Баженова, Л.С. Сотникова, А.Г. Маркдорф, Я.Н. Третьякова // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2018. – Т. 18. №1. – С. 25–29 (**Перечень ВАК РФ**).

Патенты на изобретения

8. Третьякова Я.Н. Способ оценки готовности женщин с хроническим эндометритом к экстракорпоральному оплодотворению. **Патент РФ № 2617061/** Я.Н. Третьякова, В.В. Лихачева, В.Н. Зорина, Т.В. Третьякова, Н.А. Зорин, А.Г. Маркдорф. – № 2015154162; заявл. 16.12.2015.

9. Лихачева В.В. Способ лечения и профилактики рецидивов внутриматочных синехий. **Патент РФ № 2582226/** В.В. Лихачева, Л.Г. Баженова, Л.С. Сотникова, А.Г. Маркдорф, Я.Н. Третьякова, А.Г. Лихачев. – № 2015123259; заявл. 16.06.2015.

10. Лихачева В.В. Предимплантационная подготовка к программе ЭКО пациенток при гипоплазии эндометрия и снижении овариального резерва после оперированного наружного генитального эндометриоза. **Патент РФ № 2591086/** В.В. Лихачева, Л.Г. Баженова, Л.С. Сотникова, А.Г. Маркдорф, Я.Н. Третьякова, А.Г. Лихачев. – № 2015123260; заявл. 16.06.2015.

Учебное пособие

11. Ренге Л.Г. Прогнозирование исходов программ экстракорпорального оплодотворения у женщин с хроническим эндометритом при трубно-перитонеальном бесплодии (Учебное пособие для послевузовского и дополнительного профессионального образования врачей) / Л.В. Ренге, Я.Н. Сорокина, В.Н. Зорина, Т.В.Третьякова //Новокузнецк, 2019. – 41с.