

АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание степени философии (PhD) «Оптимизация критериев функционального состояния эндометрия для программ экстракорпорального оплодотворения», выполненной Анартаевой Гайни Жанбулатовны по специальности «6D110100 – Медицина»

Актуальность темы диссертационного исследования. Среди причин неблагоприятных репродуктивных исходов одна треть связана с качеством эмбриона и две трети - с нарушением функционального состояния эндометрия - аномальной рецептивностью эндометрия (Harrity C., 2018). Рабочая группа Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (ESHRE) рекомендует рассматривать рецидивизирующие неудачи имплантации (РНИ) как вторичное явление ВРТ у пациенток, проходящих ЭКО, и принять описание РНИ как ситуацию, когда перенос жизнеспособных эмбрионов не приводит к положительному результату теста на беременность у конкретной пациентки достаточно часто, чтобы оправдать рассмотрение дальнейших исследований и/или вмешательств (www.eshre.eu/guedlines, 2023).

Цель диссертационного исследования - Разработать критерии функционального состояния эндометрия на основе CD-фенотипирования лимфоцитов эндометрия и изучения эндометриальных транскриптомов у пациенток с неудачами имплантации. Для изучения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

- 1) проанализировать факторы риска неудач имплантации после экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона;
- 2) изучить экспрессию поверхностных (CD8+, CD16+, CD56+) и внутриклеточных рецепторов (γ -интерферона, интерлейкина-1 и интерлейкина-10, перфорина) лимфоцитов эндометрия у пациенток с нарушениями имплантации;
- 3) выявить особенности экспрессии мРНК TNC, HPRT1, IFN- γ , IL8, MMP10 в эндометрии пациенток с нарушениями имплантации;
- 4) оценить динамику показателей иммунологического статуса в комплексной патогенетической терапии у пациенток с нарушениями имплантации;
- 5) разработать алгоритм прогнозирования риска неудач имплантации.

Объект исследования – женщины репродуктивного возраста с рецидивами неудач имплантации в программах экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона; женщины репродуктивного возраста с рецидивами потери беременности.

Предмет исследования – закономерности формирования нарушений рецептивности эндометрия у пациенток с нарушениями имплантации, включая особенности экспрессии иммунологических маркеров (CD8+, CD16+, CD56+, цитокины, перфорин) и молекулярно-генетических показателей (мРНК TNC, HPRT1, IFN- γ , IL8, MMP10).

Методология диссертационного исследования основана на использовании общих и частных методов научного исследования. Главными среди них стали: методы системного и статистического анализа, сравнения, типологии, группировки, инструментальных и лабораторных медицинских данных (доплерометрия, гистероскопия), ретроспективное, проспективное исследования, CD-фенотипирование лимфоцитов, проточный цитометр BD FACS CALIBUR (США) с программой CELLQuest, транскриптомный анализ генов, ПЦР реал-тайм, U-критерий Манна-Уитни, ROC-анализ в программе Jamovi, оценка площади под кривой, t-тест, логистический регрессионный анализ, расчет отношения шансов с доверительными интервалами, математическое моделирование, информационно-аналитический методы.

Описание основных результатов исследования.

Сравнительный анализ факторов удачных и неудачных попыток ЭКО показал, что риск повторных неудач имплантации выше у домохозяек (OR=2.06; 95% ДИ: 1.30-3.26), у пациенток старше 35 лет (OR=1.49; 95% ДИ: 1.04-2.13), наличие патологии полости матки при гистероскопии (OR=4.65; 95% ДИ: 2.31-9.38), отсутствие предимплантационного генетического скрининга (OR=2.66; 95% ДИ: 1.20-5.91), перенос в свежем цикле (OR=2.94; 95% ДИ: 1.98-4.36) по сравнению с криопротоколом. Экспертный анализ историй болезни пациенток клиник ЭКО позволил разработать чек-лист с контрольными точками, влияющими на качество оказания медицинских услуг, комплаентность лечения и на результативность программ ЭКО.

У пациенток с неудачами имплантации эндометрия наблюдалось значительное (в 12 раз) снижение уровня CD8+ цитотоксических/супрессорных лимфоцитов ($p<0,01$), снижение в 2,8 раза уровня CD56+клеток, а также резкое угнетение уровня внутриклеточной продукции цитокинов - γ -INF (в 8 раз), IL-1 (в 11 раз) и IL-10 (в 15 раз); снижен уровень перфорин-негативных CD8+ лимфоцитов ($p<0,05$), CD56+Perf-клеток почти в 3 раза ($p<0,05$), в то же время трети пациенток с выкидышем в анамнезе уровень CD16+ Perf+ был повышен почти в 6 раз.

Результаты транскриптомного анализа эндометрия показали, что при РНИ и «тонком» эндометрии экспрессия генов IL-8, γ -INF и HPRT1 была значительно снижена по сравнению с пациентками с РПБ (log2-кратное изменение = 0,92, $p = 0,023$ для IL-8, log2-кратное изменение = 1,24, $p = 0,046$ для γ -INF и log2-кратное изменение = 0,579, $p = 0,046$ для HPRT1).

У пациенток РНИ/РПБ на фоне комплексной терапии с использованием интравагинально микронизированного прогестерона наблюдалось повышение толщины эндометрия М-эхо (с $5,4\pm 1,3$ мм до $13,0\pm 1,5$ мм и с $6,2\pm 0,1$ до $10,2\pm 0,2$ мм соответственно); а также отмечалась положительная динамика внутриклеточной продукции цитокинов с достоверным ($p<0.05$) повышением уровня IL-1, IL-10 и γ -INF CD56+лимфоцитами эндометрия.

Разработанный алгоритм прегравидарной подготовки включает персонифицированный подход к назначению иммунореабилитирующей терапии. У женщин с нереализованной репродуктивной функцией должны применяться реабилитационные мероприятия после неудачной попытки ЭКО-ПЭ для профилактики нарушений гомеостаза.

На защиту выносятся следующие положения:

1) Рецидивирующие неудачи имплантации в программах ЭКО ассоциированы с совокупностью клинических факторов риска, включая возраст старше 35 лет, патологию полости матки, отсутствие предимплантационного генетического тестирования и перенос эмбрионов в свежем цикле.

2) У пациенток с повторными неудачами имплантации выявляются выраженные нарушения локального иммунитета эндометрия, характеризующиеся снижением содержания CD8+ и CD56+ лимфоцитов и угнетением продукции γ -INF.

3) Нарушения рецептивности эндометрия сопровождаются снижением экспрессии генов IL-8, γ -INF и HPRT1, что свидетельствует о значимой роли молекулярно-генетических механизмов в патогенезе имплантационной недостаточности.

4) Разработанный алгоритм прогнозирования риска повторных неудач имплантации позволяет повысить эффективность программ ЭКО за счет дифференцированного подхода к ведению пациенток.

Научную новизну исследования обосновывают следующие положения:

1) Впервые проведена комплексная оценка клинико-анамнестических, иммунологических и молекулярно-генетических факторов, ассоциированных с рецидивирующими неудачами имплантации в программах ЭКО.

2) Установлены особенности локального иммунного статуса эндометрия у пациенток с повторными неудачами имплантации, характеризующиеся выраженным снижением содержания CD8⁺ и CD56⁺ лимфоцитов, а также угнетением внутриклеточной продукции γ -INF.

3) Впервые выявлено снижение экспрессии генов IL-8, γ -INF и HPRT1 в эндометрии у пациенток с рецидивирующими неудачами имплантации, что расширяет представления о молекулярных механизмах нарушения рецептивности эндометрия.

4) Обоснована возможность использования иммунологических и молекулярно-генетических маркеров в качестве критериев эффективности персонализированной терапии нарушений имплантации.

5) Разработан алгоритм прогнозирования риска повторных неудач имплантации, основанный на интегральной оценке клинических и иммуногенетических показателей, позволяющий оптимизировать тактику ведения пациенток в программах ЭКО.

Теоретическая значимость исследования заключается в следующем:

1) Полученные результаты расширяют современные представления о патогенетических механизмах нарушений имплантации в программах ЭКО и роли локального иммунитета эндометрия в формировании рецептивности.

2) Установленные изменения экспрессии генов IL-8, γ -INF и HPRT1 углубляют понимание молекулярно-генетических механизмов имплантационной недостаточности.

3) Разработанный подход к интегральной оценке факторов риска формирует научную основу для дальнейшего развития персонализированной репродуктивной медицины.

Практическую значимость исследования раскрывают следующие аргументы:

1) разработан алгоритм прогнозирования риска повторных неудач имплантации позволяет выделять пациенток группы высокого риска и своевременно проводить профилактические и лечебные мероприятия;

2) Внедрение иммунологического и молекулярно-генетического обследования эндометрия способствует повышению точности диагностики нарушений имплантации и выбору персонализированной терапии;

3) результаты диссертации апробированы в форме актов внедрения в виде мастер классов по теме «Техника забора биоматериала для последующего транскрипционного анализа или CD-фенотипирования»; «Новые молекулярные подходы к диагностике нарушений рецептивности эндометрия»; чек-лист «Контрольные точки при проверке качества медицинской помощи при проведении ВРТ» и «Алгоритм прогнозирования риска неудач имплантации». Результаты исследования используются в учебном процессе кафедры акушерства и гинекологии Казахского Национального университета имени аль-Фараби. Научном центре акушерства, гинекологии и перинатологии. Получены 5 авторских свидетельств и 1 патент на изобретение «Способ прогнозирования риска нарушения имплантации при патологии эндометрия в программах экстракорпорального оплодотворения» (2020/0372.1).

Обоснование новизны и важности полученных результатов:

1) оценены клинико-anamнестические факторы риска пациенток с неудачами имплантации перед программой ЭКО с расчётом клинического индекса;

2) при наличии умеренного и высокого риска показано иммунологическое обследование эндометрия с определением CD8⁺, CD56⁺, CD16⁺Perf⁺ и уровня внутриклеточной продукции γ -INF, IL-1 и IL-10;

3) у пациенток с рецидивирующими неудачами имплантации целесообразно выполнение транскрипционного анализа эндометрия с оценкой экспрессии IL-8, γ -INF и HPRT1;

4) предварительная подготовка эндометрия, комплексной терапией, перенос эмбриона в криопотоколе;

5) после завершения подготовительного этапа проводится повторный расчёт интегрального индекса и критерием готовности к переносу эмбриона служит снижение показателя не менее чем на 30%.

Вклад автора в научную работу: Соискателем лично осуществлялось ведение супружеских пар на всех этапах исследования, от забора биоматериала при инструментальных исследованиях, интерпретации лабораторных данных, а также мониторинг лечения бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов (ЭКО/ПЭ). Автором самостоятельно подготовлены научные обзоры и статьи для публикации в рецензируемых журналах.

Связь с приоритетными направлениями развития науки и государственными программами. Диссертационная работа является фрагментом НИР Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан «Разработка молекулярной диагностики нарушений репродуктивного здоровья женщин» (№ АР 14870089).

Апробация работы. Материалы исследования были представлены и обсуждены на следующих конференциях: II, III Международный научно-образовательный форум Ана мен бала» (Алматы, 2019, 2020); International online conference for students “From experience to project” dedicated to the independence Day of the Republic of Kazakhstan (Алматы, 2020); Международной научно-практической конференции «Здоровье женщины – здоровье нации», посвященной 95-летию академика И.З. Закирова. (Ташкент, 2021); XXVIII Всерос.Конг. "Амбул.-поликлин.помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы» (Москва, 2022); XVII Международный конгресс по репродуктивной медицине (Москва, 2023); XVI Региональный научно-образовательный форум "Мать и Дитя" (СПб, 2023); Междисциплинарное взаимодействие в рамках мужского здоровья» II Международном конгрессе «Мужское здоровье» (Алматы, 2024); XIX Международный конгресс по репродуктивной медицине (Москва, 21-24 января 2025); III Международная научно-практическая конференция

«Здоровое поколение – будущее Казахстана» (Алматы, 16-18 апреля 2025); XI, XII, XIII Международный конгресс Казахстанской ассоциации репродуктивной медицины «Современные подходы к лечению бесплодия. ВРТ настоящее и будущее» (Алматы, 2019; 2020; Туркестан, 2026).

Структура работы. Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения, списка использованных источников, приложения. В главе 1 рассмотрены научные основы, объясняющие процессы имплантации плодного яйца, факторы риска неудач имплантации согласно мировым данным и методы и менеджмент лечения во время прегравидарной подготовки. Глава 2 посвящена методам исследования, применявшимся в ходе диссертации согласно вышепоставленным задачам. Глава 3 посвящена описанию результатов собственного исследования. Глава 4 описывает динамику иммунологических маркеров рецептивности эндометрия после соответствующего персонифицированного диагностики и лечения. В главе 5 описывается концептуальный алгоритм прогнозирования, разработанный с учетом выявленных детерминант и глава 6 обсуждение.

Диссертация изложена на 87 страницах текста, набранного в программе MS Word, и включает 18 рисунков, 20 таблиц, список использованных источников из 140 наименований.