

УДК 57.089.3

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ В КРИОПРОТОКОЛАХ ЭКО У ПАЦИЕНТОВ С ГИПОПЛАЗИЕЙ ЭНДОМЕТРИЯ

Магарманова Сауле Муратовна

smagarmanova@gmail.com

Магистрант ЕНУ им. Л.Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан

Научный руководитель – Т.Д. Укбаева

Аннотация

В работе исследованы методы применения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП, PRP) в программах экстракорпорального оплодотворения для улучшения функциональных свойств эндометрия. Сравнительный анализ эффективности переносов размороженных эмбрионов у пациентов с гипоплазией эндометрия показал достоверное увеличение толщины эндометрия, частоты имплантации (ЧИ, $p < 0,01$) и частоты наступления клинической беременности (ЧНКБ, $p < 0,05$) в группе с использованием PRP. Изменение времени проведения процедуры внутриматочной перфузии PRP до переноса эмбрионов с 36 часов на 48 часов, положительно влиял на рост и рецептивность эндометрия во всех возрастных группах.

Ключевые слова: обогащенная тромбоцитами плазма крови, гипоплазия эндометрия, экстракорпоральное оплодотворение, вспомогательные репродуктивные технологии.

Введение

Гипоплазия эндометрия описывается как патологическое состояние, характеризующееся недостаточной толщиной функционального слоя слизистой оболочки тела матки для полноценной имплантации и развития беременности. Толщина, структура и имплантационная восприимчивость эндометрия играют важную роль в успешном исходе программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) [1].

Обогащенная тромбоцитами плазма – биологический продукт, часть плазменной фракции крови, с концентрацией тромбоцитов превышающей физиологическое значение. В альфа-гранулах тромбоцитов содержится множество биологически активных веществ и факторов роста, которые могут регулировать миграцию, пролиферацию, дифференцировку клеток и способствуют накоплению внеклеточного матрикса. Стимуляция дифференцировки стволовых клеток усиливают клеточный метаболизм, стимулируют митоз [2].

ОТП оказывает противовоспалительное и антибактериальное действие за счет повышения активности лейкоцитов и подавления воспалительных цитокинов. По этой причине, OTP широко применяется в ортопедии, травматологии, офтальмологии, хирургии для устранения воспаления и стимуляции процессов естественного заживления ран. Преимуществом

аутологичной ОТП является полная биосовместимость и отсутствие риска парентеральной передачи ВИЧ инфекции и вирусного гепатита, так как исходным материалом является собственная кровь пациента. Биологически активные компоненты ОТП не являются мутагенами, они не вызывают индукцию гиперпластических процессов или рост опухолей[3,4].

В последние годы появились публикации исследований *in-vitro*, которые демонстрируют положительное влияние тромбоцитарных факторов на рост и рецептивные свойства ткани эндометрия[5]. При гипоплазии эндометрия и повторных неэффективных попытках ЭКО в анамнезе, неудачи могут быть вызваны недостаточной экспрессией молекул адгезии в эндометрии, которую можно улучшить с помощью применения ОТП.

Целью данной работы было оценить эффективность использования метода однократной внутриматочной перфузии ОТП в криопротоколах программ ЭКО у пациентов с гипоплазией эндометрия.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе медицинского центра «Астана Эколайф». После утверждения научного проекта локальной этической комиссией, для исследования было отобрано 162 пациентки с гипоплазией эндометрия(толщина эндометрия >7 мм на 10-12 день менструального цикла) от 26 до 45 лет. Группу с использованием ОТП составили 82 пациентки, сравнимую группу 80 пациенток. Обе группы были однородны по возрасту, фактору бесплодия среднему количеству и качеству перенесенных эмбрионов.

В группе ОТП процедура однократной перфузии осуществлялась за 36 часов до переноса эмбрионов у 20 пациентов и за 48 часов до переноса у 62 пациенток.

Критерии включения: информированное согласие на участие в исследовании, толщина эндометрия менее 7 мм(11-12 день МЦ), наличие качественных эмбрионов на перенос(>3BB по Гарднеру, 1999), наличие в анамнезе неудачных программ ВРТ.

Критерии исключения: противопоказания к переносу эмбрионов, тромбоцитопения ниже $160 \cdot 10^9/\text{л}$, изменения в кариотипе.

Критерии эффективности: толщина эндометрия, имплантация эмбриона, частота наступления клинической беременности

Метод получения обогащенной тромбоцитами плазмы. В соответствии с клиническими стандартами кровь для выделения аутологичной ОТП брали из центральной локтевой вены в количестве 20-40 мл[6].

Фракцию ОТП выделяли методом центрифугирования при 3000 об/мин в течение 10-15 минут. Полученную плазму ресуспендировали и определяли концентрацию тромбоцитов. При необходимости проводили повторное центрифугирование плазмы до получения необходимой тромбоцитарной концентрации($1,0-1,2 \cdot 10^6$ /мл)[7]. Триггеры активации не использовались. Полученную плазму в объеме 0,5-0,7 мл, доставляли в манипуляционную комнату и использовали весь объем в течение 20 минут с момента готовности.

За 36 часов или 48 часов до переноса эмбрионов, под контролем УЗИ, проводилась перфузия PRP в полость матки катетером для искусственной инсеминации(Wallace, Coopersurgical).

Мониторинг УЗИ проводился на 10-12 и 19-21 дни менструального цикла заместительной гормональной терапии. Проводилась оценка толщины и структуры эндометрия. Перенос размороженных эмбрионов осуществлялся на 19-21 день менструального цикла при неполной секреторной трансформации эндометрия, толщиной не менее 7 мм. Размораживание эмбрионов проводилось на утро в день переноса. У двух пациенток перенос был отменен в связи с отсутствием интактных эмбрионов на перенос.

Материалы исследования обрабатывались статистически, для сравнения использовались методы параметрического и непараметрического анализа. Для сбора, хранения и

систематизации на протяжении всего эксперимента использовалась таблица Microsoft EXCEL. Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics. Полученные значения t-критерия Стьюдента оценивались путем сравнения с критическими значениями. Различия показателей считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$ для ЧНКБ и $p < 0,01$ ЧИ.

Результаты и обсуждение

Толщина эндометрия на момент первого мониторинга УЗИ составила $5,1 \pm 1,2$ мм, на момент переноса эмбрионов $8,1 \pm 1,8$ мм.

По первичной методике перфузия ОТП проводилась в группе исследуемых пациенток с за 36 часов до переноса, всего 20 пациенток. В одном случае перенос не произведен из-за отсутствия качественных эмбрионов на перенос. В сравниваемой группе перед переносом не проводилось внутриматочных процедур.

Таблица 1. Эффективность криопротоколов с проведением PRP-метода за 36 часов до переноса эмбрионов

	Группа ОТП		Группа без ОТП	
	N=19	ЧНКБ,%	N=20	ЧНКБ%
26-29 лет	9	3 (33)	7	4(57,1)
30-39 лет	4	2(50)	7	2(28,6)
40-45 лет	6	2(33)	6	1(16,7)
Итого	19	7 (36,8)	20	7(35)

Тенденции роста общей частоты наступления клинической беременности после проведения PRP-метода за 36 часов до ПЭ не наблюдалось (Таблица 1). После оценки промежуточных результатов, нами было принято решение пересмотреть методику PRP. Так как мы не использовали триггеры активации, с целью полного распада тромбоцитов в полости матки и эффективного высвобождения биологически активных компонентов альфа-гланул мы изменили время перфузии ОТП с 36 на 48 часов до переноса эмбрионов.

Время выполнения ОТП изменилось с 36 часов на 48 часов перед переносом эмбрионов, всего 122 пациентки. Методика подготовки PRP не менялась.

Таблица 2. Эффективность криопротоколов с проведением PRP-метода за 48 часов до переноса эмбрионов

	Группа ОТП			Без ОТП		
	N=62	ЧИ,%	ЧНКБ,%	N=60	ЧИ,%	ЧНКБ,%
26-29 лет	15	13(86,6)	12(80)	15	10(66,7)	10(66,7)
30-39 лет	25	16(64)	15(60)	23	12(52,1)	10(43,5)
40-45 лет	22	15(68,1)	14(63,6)	22	9(41)	9(41)

общая	62	44(71)	41(66,1)	60	31(51,6)	29(48,3)
-------	----	--------	----------	----	----------	----------

В результате модификации методики общая частота имплантации и частота наступления клинический беременности с использованием ОТП составили 71% и 66,1% соответственно, против 51,6% и 48,3% в сравниваемой группе без применения ОТП (Таблица 2). Мы зарегистрировали повышение показателей эффективности во всех возрастных группах, с наиболее высоким процентом имплантации в младшей возрастной группе(86,6%). Это может быть связано с более высоким потенциалом регенерации и активности деления клеток по сравнению с пациентами старшей возрастной категории.

Заключение

Применение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы - это инновационный терапевтический подход, который зарекомендовал себя во многих отраслях медицины как простой, результативный и воспроизводимый метод лечения. Проведенный нами ретроспективный анализ эффективности програм ЭКО показал, что метод однократной внутриматочной перфузии ОТП за 48 часов до переноса улучшает результаты криопротоколов ЭКО у пациентов с гипоплазией эндометрия.

Список использованных источников

1. Everts P., Onishi K., Jayaram P., Lana J. F., Mautner K. Platelet-Rich Plasma: New Performance Understandings and Therapeutic Considerations in 2020 //International journal of molecular sciences.- №21(20).- С.779-794.
2. Everts P., Onishi K., Jayaram P., Lana J. F., Mautner K. Platelet-Rich Plasma: New Performance Understandings and Therapeutic Considerations in 2020 //International journal of molecular sciences.- №21(20).- С.779-794.
3. Сулаева О.Н. Получение богатой тромбоцитами плазмы: мифы и реальность // Свет медицины и биологии -2017. -№3 (61). -С.3-6.
4. С.О. Latorraca, D.V. Pachito, R .Pacheco, A.L. Martimbianco, R. Riera Diversity around the effects of platelet-rich plasma for medical conditions // Abstracts of the 26th Cochrane Colloquium, Santiago, Chile. Cochrane Database of Systematic Reviews 2020; [Электронный ресурс] URL: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD201901/full> (дата обращения 08.02.2021г.)
5. Aghajanova L., Houshdaran S., Balayan S. In vitro evidence that platelet-rich plasma stimulates cellular processes involved in endometrial regeneration.// Journal of assisted reproduction and genetics.-2018.- №35(5).- С.757–770
6. Кузнецова И.В., Землина Н.С., Рашидов Т.Н., Коваленко М.А. Проблема тонкого эндометрия и возможные пути ее решения // Акушерство и гинекология.-2017.- № 1 (5).-С. 42-49.
7. Обидняк Д.М., Гзгзян А.М, Ниаури Д.А., Чхаидзе И.З. Перспективы применения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы крови у пациенток с повторными неэффективными попытками имплантации // Проблемы репродукции. -2017.-№23(5).- С.84-88.
8. Мустафин Р.Т., Магарманова С.М., Гердт Т.М., Калдыгулова Г.Б. Применение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы (aPRP) для подготовки эндометрия в циклах ВРТ //Проблемы репродукции.-2019.-№3(40).- С.37-39.
9. Michelson A., Cattaneo M., Frelinger A., Newman P. Platelets // Cambridge:Academic Press.- 2019.-№4.-С.235-248, С.745-789.