

УДК: 618.145-007.21:618.177:618.2:602.9

Предикторы наступления беременности у пациенток с маточным бесплодием при гипоплазии эндометрия

Царева Н. В.¹, Курлович И. В.¹, Царева С. Н.²

¹Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»,
г. Минск, Республика Беларусь;

²Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь

Реферат. С учетом высокой стоимости методик вспомогательных репродуктивных технологий актуальны разработки методов прогнозирования наступления беременности, учитывающих индивидуальные характеристики пациенток. Это позволяет увеличить точность отбора пациенток для целенаправленной терапии маточного бесплодия при гипоплазии эндометрия.

В результате корреляционного анализа и построения регрессионной модели путем последовательного включения переменных нами определены следующие предикторы неэффективности применения стандартной терапии (гормональной и/или ЭКО) маточного бесплодия при гипоплазии эндометрия: наличие в анамнезе безуспешных попыток ЭКО, величина экспрессии интегрина $\alpha\upsilon\beta 3$ и гена $\text{HOXA}10$ в строме эндометрия, маркера $\text{SUSD}2$ в железах эндометрия. Разработана математическая модель, позволяющая с чувствительностью 92,6 % и специфичностью 72,6 % проводить отбор пациенток с гипоплазией эндометрия для лечения по протоколам маточного бесплодия. Показано, что при значениях вероятности наступления беременности $p > 0,5$ предполагается успех стандартной терапии, а при значениях $p \leq 0,5$ — определяется необходимость применения клеточной заместительной терапии в лечении маточного бесплодия при гипоплазии эндометрия.

Ключевые слова: маточное бесплодие, гипоплазия эндометрия, эндометральные мезенхимальные стволовые клетки, предикторы наступления беременности.

Введение. До настоящего времени проблема недостаточной эффективности практического использования вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) остается нерешенной. По данным разных авторов, результативность первой попытки ЭКО, например, составляет от 8,6 до 46,2 % [1], а повторное применение этого метода еще больше снижает вероятность успешной беременности [2]. При этом у 60 % женщин с повторными неэффективными имплантациями диагностируют гипоплазию эндометрия (ГпЭ). Значительные различия в эффективности методов ВРТ при множественных рисках их практического использования диктуют необходимость прогнозирования вероятности наступления беременности. Поэтому, наряду с высокой стоимостью современных методик ВРТ, требует разработки новых подходов к определению возможных исходов лечения маточного бесплодия (МБ) при ГпЭ. Основной целью подобных разработок должно быть повышение эффективности самих процедур.

При прогнозировании эффективности ВРТ у пациенток с МБ в литературе принято выделять две основные группы исходных критериев (переменных): 1) клиничко-анамнестические данные; 2) маркеры рецептивности эндометрия, установленные в период «имплантационного окна». Очевидно, что возраст половых партнеров, индекс массы тела и используемые схемы суперовуляции влияют на овуляцию и качество эмбрионов [3, 4]. Однако при нивелировании особенно не поддающихся коррекции клиничко-анамнестических критериев предполагаемая результативность отбора пациенток для лечения МБ при ГпЭ в программах ВРТ напрямую будет определяться правильным выбором наиболее подходящей прогностической модели, основанной на специфичности и информативности биомаркеров, используемых для диагностики рецептивности эндометрия и дальнейшей коррекции выявленных репродуктивных нарушений.



Из всех существующих методов многомерного статистического анализа (кластерный, регрессионный и дискриминантный) при построении прогностических моделей в медицине особенно часто применяются метод дискриминационного анализа и логистическая регрессия. Логистический регрессионный анализ для прогнозирования наступления беременности у пациенток, страдающих маточным бесплодием (МБ) при гипоплазии эндометрия (ГпЭ) можно использовать при наличии маркеров рецептивности эндометрия, имеющих наиболее важное значение для прогнозирования наступления беременности. Результат достигается путем применения многофакторной логистической регрессии, в которой используются переменные (т. е. признаки), имеющие максимальную положительную корреляционную связь с характеристиками фертильных женщин в период «окна имплантации». Метод бинарной логистической регрессии [5] позволяет путем определения связи между несколькими независимыми и зависимой переменными устанавливать вероятность наступления события (бесплодие или беременность) для каждой новой пациентки, страдающей МБ. Данный вид статистического исследования характеризуется наглядностью, а применение ROC-анализа позволяет не только сравнивать модели, но и выбирать оптимальный прогностический вариант, определять их чувствительность и специфичность, порог отсечения.

По данным литературы и собственных исследований, практически важными критериями отбора для лечения МБ, обусловленного патологией эндометрия, могут служить такие признаки рецептивности и «окна имплантации», как оптимальная толщина внутреннего слоя матки, наличие на его поверхности необходимого количества пиноподий, уровень экспрессии и соотношение рецепторов к эстрогенам и прогестерону, а также достаточная продукция интегринов, лейкопения ингибирующего фактора (ЛИФ) и уровень экспрессии гена НОХА-10 в эндометрии. При этом большая часть перечисленных маркеров (ЛИФ, интегрин $\alpha v \beta 3$, Е-катгерины, НОХА- гены, пиноподии) регулируются прямым или опосредованным влиянием половых гормонов через их рецепторы.

Мы обратили внимание на идентифицированный в последние годы новый маркер для предполагаемой изоляции высококлоногенных эндометриальных мезенхимальных стволовых клеток (эмСК) — SUSD2 (суши домен). Этот маркер экспрессируется на эмСК, а также на некоторых раковых и опухолевых клеточных линиях, но не обнаруживается на кроветворных клетках периферической крови и костного мозга. SUSD2 представляет собой трансмембранный белок типа I, который может взаимодействовать с галектином-1 и потенциальным цитокином C10orf99, через который он может влиять на рост клеток и иммунную реакцию. У него есть большая внеклеточная область, которая содержит домен суши (консервативная последовательность, которая часто связана с белками системы комплемента). SUSD2 является маркером, который используется для идентификации и выделения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) из костного мозга и ткани эндометрия. Эти МСК могут быть активированы для дифференциации в широкий спектр типов клеток. Изменяющиеся уровни экспрессии SUSD2 могут коррелировать либо с подавлением, либо с усилением роста различных типов опухолевых клеток, предположительно с помощью различных прямых и косвенных механизмов [6, 7]. Клетки экспрессирующие SUSD2 в норме составляют до 4 % в ткани эндометрия, располагаются в основном периваскулярно и распределены относительно равномерно [7]. Именно эмСК в условиях физиологического менструального цикла отвечают за регенерацию функционального слоя эндометрия.

Цель работы — определение предикторов неэффективности применения стандартной терапии МБ при ГпЭ и разработка математической модели, позволяющей проводить отбор пациенток для лечения.

Материалы и методы. Для определения предикторов наступления беременности после лечения по протоколам МБ при ГпЭ использованы клинико-анамнестические данные и данные ИГХ исследования эндометрия 61 женщины. Все обследованные были разделены на три группы:

- 1) пациентки с ГпЭ, у которых стандартная терапия по протоколам МБ (гормональная и/или ЭКО) не дала результата (основная группа) — 27 женщин;
- 2) пациентки, страдавшие МБ при ГпЭ, у которых после стандартной терапии наступила беременность (группа сравнения) — 11 женщин;
- 3) соматически здоровые фертильные женщины без заболеваний репродуктивной системы (контрольная группа) — 23 женщины.

Критерии включения в исследование: добровольное согласие женщины; фертильный возраст; маточное бесплодие, обусловленное гипоплазией эндометрия; отсутствие приема гормональных препаратов на протяжении трех месяцев перед началом исследования.



Критерии исключения из исследования: наличие других причин бесплодия кроме гипоплазии эндометрия; гипер- или гипогонадотропная недостаточность функции яичников; гиперандрогенемия любого происхождения; синдром поликистозных яичников.

Обследованные женщины были в возрасте от 20 до 43 лет. Средний возраст в основной группе, группах сравнения и контрольной составил $34,63 \pm 5,75$ лет, $34,45 \pm 4,98$ лет и $34,67 \pm 5,49$ лет соответственно. Достоверных различий по возрасту обследованных в группах не выявлено.

Изучался анамнез жизни и заболевания, акушерско-гинекологический. При изучении акушерско-гинекологического анамнеза оценивали жалобы пациенток, время наступления менархе, характер менструальной функции, гинекологические заболевания в анамнезе, наличие медицинских аборт, паритет беременности, наличие невынашивания беременности, другие репродуктивные потери, длительность бесплодия, состояние репродуктивного здоровья мужа. Состояние гениталий оценивали с помощью данных гинекологического исследования и УЗИ на 5–7-й день менструального цикла, наличие гипоплазии эндометрия подтверждалось данными гистологического исследования.

Всем женщинам на 20–22-й день менструального цикла выполнялась пайпель-биопсия с целью последующего анализа характера ИГХ экспрессии таких биомолекулярных маркеров рецептивности, как рецепторы к эстрагенам α ($\text{ЭР}\alpha$), рецепторы к прогестерону (ПР), интегрин $\alpha\text{v}\beta3$, лейкемия ингибирующий фактор (ЛИФ), ген НОХА10 и маркер ЭМСК SUSD2 .

С учетом дихотомического (имеющего лишь два возможных значения ожидаемого события — беременность или ее отсутствие) характера прогнозирования в данной работе мы использовали бинарную логистическую регрессию. Этот метод позволяет в полном объеме использовать высокоинформативные клинико-анамнестические данные и ИГХ критерии рецептивности эндометрия для целенаправленного использования стандартного лечения МБ согласно протоколам комплексного лечения с включением регенераторной клеточной терапии ЭМСК . Сформулированный подход в перспективе позволит рационально использовать дорогостоящие методики ВРТ, что даст несомненный экономический эффект.

В качестве независимых переменных в пошаговый регрессионный анализ были включены показатели значимо влияющие на возможность зачатия: возраст пациенток, их индекс массы тела, наличие или отсутствие гипоменструального синдрома, ранних репродуктивных потерь и неэффективных попыток ЭКО в анамнезе, количество соматических и гинекологических заболеваний, толщина эндометрия по данным УЗИ, данные ИГХ исследования маркеров рецептивности эндометрия (экспрессия $\text{ЭР}\alpha$, ПР, интегрин $\alpha\text{v}\beta3$, ЛИФ, гена НОХА10) и поверхностного маркера ЭМСК SUSD2 .

При определении вероятности наступления (или ненаступления) беременности у пациенток с МБ при ГпЭ использовали метод последовательного добавления переменных («Форвард»), когда программа пошаговой логистической регрессии по очереди рассматривает все возможные варианты включения в формулу новой переменной и/или удаления уже добавленных. Те переменные, добавление или удаление которых не улучшает или незначительно улучшает прогноз отсеиваются и анализ останавливается. Таким образом осуществляется удобное для математических расчетов включение в модель минимального количества прогностически информативных переменных.

Статистическую обработку результатов проводили при помощи пакетов статистических программ Statistica10.0 и SPSS Statistics (версия 17.0, SPSS Incorporation, США). Для проверки наличия либо отсутствия нормального распределения признаков использовали тест Колмогорова – Смирнова и критерий Шапиро – Уилка. Данные описательной статистики указывали в виде медианы (Me) и квартилей (процентиль 25 % — q_1 , процентиль 75 % — q_3). Для сравнения двух выборок применяли двусторонний тест Манна – Уитни. При сравнении нескольких групп переменных использовали H -критерий Краскела – Уоллиса. Взаимосвязь между показателями определяли при помощи непараметрического коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Нулевую гипотезу о равенстве выборок отвергали при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Программой представлена таблица вероятности прогнозируемых исходов (классификации в группы отсутствия или наступления беременности) при МБ у пациенток с ГпЭ включающая 4 шага. Из таблицы 1 видно, что на четвертом шаге после того, как в качестве предикторов наступления беременности при МБ у пациенток с ГпЭ были отобраны четыре переменные (безуспешные попытки ЭКО в анамнезе, величины экспрессии интегрин $\alpha\text{v}\beta3$ и гена НОХА10 в строме эндометрия, маркера SUSD2 в железах эндометрия), при точке отсечения на

уровне 0,500 (т. е. при 50%-м соотношении чувствительности и специфичности) разработана модель, которая позволяет правильно классифицировать неблагоприятный исход (отсутствие беременности в 92,6 % случаев, а благоприятный (беременность) — 72,7 % случаев.

Таблица 1 — Процент правильной классификации отсутствия или наступления беременности на различных этапах логистического регрессионного анализа у пациенток с МБ при ГпЭ

Этапы анализа	Наблюдения	Количество предсказанных исходов		Процент правильных определений
		Бесплодие	Беременность	
Шаг 1	Основная группа	25	2	92,6
	Группа сравнения	7	4	36,4
	Общая доля правильных определений в процентах			76,3
Шаг 2	Основная группа	25	2	92,6
	Группа сравнения	5	6	54,5
	Общая доля правильных определений в процентах			81,6
Шаг 3	Основная группа	25	2	92,6
	Группа сравнения	7	4	63,6
	Общая доля правильных определений в процентах			84,2
Шаг 4	Основная группа	25	2	92,6
	Группа сравнения	7	4	72,7
	Общая доля правильных определений в процентах			86,8

Представляет интерес характеристики предикторов наступления беременности, включенных пошагово в прогностическую модель (таблица 2).

Таблица 2 — Характеристика включенных в регрессионную модель предикторов наступления беременности на каждом из этапов анализа

Этапы анализа	Предикторы наступления беременности, включенные в анализ	Коэффициенты для расчета по формуле (1)	Среднеквадратичная ошибка	Экспонента В
Шаг 1	Экспрессия гена НОХА10 в строме эндометрия	4,908	2,241	136,349
	Константа для формулы (1)	-3,398	1,278	0,033
Шаг 2	Экспрессия гена НОХА10 в строме эндометрия	6,639	2,667	764,638
	Экспрессия SUSD2 в железах эндометрия	11,619	5,656	111175,116
	Константа для формулы (1)	-5,360	1,815	0,005
Шаг 3	Экспрессия интегрин $\alpha v \beta 3$ в строме эндометрия	-52,882	26,901	0,000
	Экспрессия гена НОХА10 в строме	8,327	3,151	4132,122
	Экспрессия SUSD2 в железах эндометрия	14,628	5,772	2253211,295
	Константа для формулы (1)	-5,606	1,936	0,004
Шаг 4	Количество ЭКО в анамнезе	-4,985	2,499	0,007
	Экспрессия интегрин $\alpha v \beta 3$ в строме эндометрия	-94,520	44,232	0,000
	Экспрессия гена НОХА10 в строме эндометрия	14,492	5,947	1966704,167
	Экспрессия SUSD2 в железах эндометрия	18,988	8,511	176426726,9
	Константа для формулы (1)	-7,357	2,941	0,001

Включение в модель на третьем и четвертом шаге регрессии таких предикторов, как безуспешные попытки ЭКО в анамнезе и экспрессия интегрина $\alpha\upsilon\beta3$ в строме эндометрия не увеличивало точность прогнозирования классификации новых случаев по исходам, но существенно повышало достоверность и правдоподобие разработанной математической модели. В результате модель прошла более строгий отбор многомерности связи с эффектами взаимодействия, поэтому конечная модель имеет лучшую объяснительную способность. Если обратить внимание на экспоненту «В» (величину, характеризующую значимость включенных в анализ предикторов для определения чувствительности и специфичности прогностической модели) — хорошо видно, что экспрессия маркера SUSD2 в железах эндометрия обладает особенно выраженным влиянием на прогноз результатов стандартной терапии МБ.

Полученные для данной модели межгрупповые отличия по критерию хи-квадрат составили 27,253 при значении $p = 0,000$ (таблица 3).

Таблица 3 – Пошаговые значения межгрупповых отличий по критерию хи-квадрат

Этапы анализа	Универсальные критерии коэффициентов модели		
	Хи-квадрат	Степень свободы	Значения p
Шаг 1			
Шаг	6,065	1	0,014
Блок	6,065	1	0,014
Модель	6,065	1	0,014
Шаг 2			
Шаг	6,333	1	0,012
Блок	12,398	2	0,002
Модель	12,398	2	0,002
Шаг 3			
Шаг	4,963	1	0,26
Блок	17,361	3	0,01
Модель	17,361	3	0,01
Шаг 4			
Шаг	9,892	1	0,002
Блок	27,253	4	0,000
Модель	27,253	4	0,000

Для определения вероятности наступления беременности у каждой новой пациентки, страдающей МБ, при ГпЭ, нами использована формула

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \tag{1}$$

где P — вероятность наступления беременности у пациенток с ГпЭ после стандартной терапии МБ; e — основание натуральных логарифмов; z — величина линейной регрессии.

Величина линейной регрессии z рассчитывается программой по формуле

$$z = 18,988 \cdot C1 + 14,492 \cdot C2 - 94,52 \cdot C3 - 4,985 \cdot C4 - 7,357,$$

где $C1$ — величина экспрессии маркера SUSD2 в железах эндометрия; $C2$ — величина экспрессии гена HOXA10 в строме эндометрия; $C3$ — величина экспрессии интегрина $\alpha\upsilon\beta3$ в строме эндометрия; $C4$ — количество неэффективных попыток ЭКО в анамнезе.

Качество и предсказательная точность разработанной модели оценивалась при помощи ROC-анализа. По полученным данным площадь под ROC-кривой составила 0,932 при $p = 0,044$ (рисунок).

Интерпретация результатов прогнозирования: при значениях $p > 0,5$ предполагается высокая вероятность успеха стандартной терапии МБ у пациенток, страдающих ГпЭ, а при значениях $p \leq 0,5$ — отсутствие эффекта.



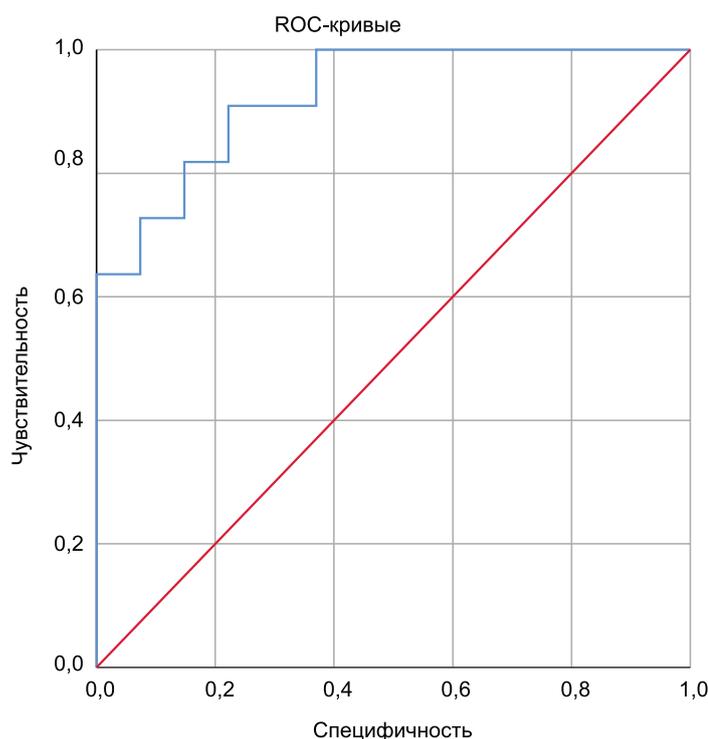


Рисунок — ROC-кривая оценки вероятности наступления беременности у пациенток с МБ при ГпЭ

Таким образом, при предложенной программой регрессии точке отсечения 0,500 полученная математическая модель обладает достаточно высокой чувствительностью (92,6 %) и специфичностью (72,6 %) для прогнозирования неэффективности стандартной терапии по протоколам МБ при ГпЭ, что предполагает необходимость применения иного способа терапии.

Заключение. Представленные в работе результаты логистического регрессионного анализа данных клинико-анамнестического обследования и ИГХ исследования маркеров рецептивности эндометрия позволяют сделать следующие выводы:

1. У пациенток с ГпЭ установлены предикторы неэффективности стандартной терапии (гормональной и/или ЭКО) МБ, которыми являются наличие в анамнезе безуспешных попыток ЭКО, величина экспрессии интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$ и гена $HOXA10$ в строме эндометрия, маркера $SUSD2$ в железах эндометрия.

2. Разработана математическая модель, позволяющая с чувствительностью 92,6 % и специфичностью 72,6 % проводить отбор пациенток с ГпЭ для лечения по протоколам МБ с включением гормональной терапии и/или ЭКО.

Литература

1. Багдасарян, Л. А. Толщина эндометрия: предиктор эффективности программ ЭКО/ICSI (обзор литературы) / Л. А. Багдасарян, И. Е. Корнеева // Гинекология. — 2018. — Т. 20, № 1. — С. 113–116.
2. Результаты программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с «тонким» эндометрием / Н.Ф. Абдурахманова [и др.] // Гинекология. — 2019. — Т. 21, № 1. — С. 23–27.
3. Эффективность ЭКО и частота многоплодной беременности в зависимости от числа и качества переносимых эмбрионов у женщин разного возраста / О. Л. Тишкевич [и др.] // Проблемы репродукции. — 2008. — № 2. — С. 22–28.
4. Maheshwari, A. Effect of overweight and obesity on assisted reproductive technology — a systematic review / A. Maheshwari, L. Stofberg, S. Bhattacharya // Human Reproduction Update. — 2007. — Vol. 13, № 5. — P. 433–444.
5. Флетчер, Р. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины: пер. с англ. / Р. Флетчер, С. Флетчер, Э. Вагнер. — М.: Медиа Сфера, 1998. — 352 с.

6. Усольцева, Е. О. Перспективы клинического использования стволовых клеток эндометриального происхождения / Е. О. Усольцева [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. — 2015. — Т. 64, № 6. — С. 68–77.

7. A novel marker of human endometrial mesenchymal stem-like cells / H. Masuda [et al.] // Cell. Transplant. — 2012. — Vol. 21. — P. 2201–2214.

Predictors of pregnancy in patients with uterine infertility with endometrial hypoplasia

Tsareva N. V.¹, Kurlovich I. V.¹, Tsareva S. N.²

¹ State Institution «The Republican Scientific and Practical Center “Mother and Child”», Minsk, Republic of Belarus;

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

As a result of correlation analysis and regression modeling, we determined the following predictors of ineffectiveness of conventional standard therapy (hormonal and/or EKO) for infertility in endometrial hypoplasia: a history of unsuccessful IVF attempts, the expression value of $\alpha v\beta 3$ integrin and NOHA10 gene in the endometrial stroma, SUSD2 marker in endometrial glands. A mathematical model was developed that allows selecting patients with endometrial hypoplasia for treatment according to uterine infertility protocols with a sensitivity of 92.6 % and specificity of 72.6 %. It was shown that with the probability of pregnancy (P) values >0.5 , the success of standard therapy is assumed; with P values ≤ 0.5 , the necessity of using cell replacement therapy in the treatment of uterine infertility with endometrial hypoplasia is determined.

Keywords: uterine infertility, endometrial hypoplasia, endometrial mesenchymal stem cells, predictors of pregnancy.

Поступила 31.05.2021