

КЛІНІЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ АДАПТУЮЧОЇ КОМПОЗИЦІЇ ДЛЯ ПОЛІПШЕННЯ БІОСУМІСНОСТІ СИНТЕТИЧНИХ ПОВЕРХОНЬ І БІОЛОГІЧНИХ ІМПЛАНТІВ

МОНОГРАФІЯ



ДЕРЖАВНА НАУКОВА УСТАНОВА
«НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЦЕНТР ПРОФІЛАКТИЧНОЇ ТА КЛІНІЧНОЇ МЕДИЦИНИ»
ДЕРЖАВНОГО УПРАВЛІННЯ СПРАВАМИ

Черній В.І., Литвак О.О., Лисенко Б.М., Собанська Л.О.,
Лазаренко О.М., Алексєєва Т.А.

КЛІНІЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ АДАПТУЮЧОЇ КОМПОЗИЦІЇ ДЛЯ ПОЛІПШЕННЯ БІОСУМІСНОСТІ СИНТЕТИЧНИХ ПОВЕРХОНЬ І БІОЛОГІЧНИХ ІМПЛАНТІВ

МОНОГРАФІЯ

Даллас, США
«Primedia eLaunch LLC»
2023

Установа-розробник:

Державна наукова установа «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини»
Державного управління справами; Україна

Рецензенти:

- ВДОВИЧЕНКО Юрій Петрович перший проректор, професор кафедри акушерства, гінекології та перинатології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, доктор медичних наук, професор, член – кореспондент Національної академії медичних наук України.
- ГАЛУШКО Олександр Анатолієвич проректор з науково-педагогічної роботи та безперервного професійно-медичного розвитку Приватного вищого навчального закладу «Київський медичний університет», доктор медичних наук, професор.
- БОЙКО Ігор Васильович завідувач наукового відділу малоінвазивної хірургії Державної наукової установи «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справам доктор медичних наук.

**Рекомендовано до друку Вченою радою Державної наукової установи
«Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини»
Державного управління справами (протокол № 4 від 22 червня 2023 року)**

Авторський колектив:

ЧЕРНІЙ Володимир Ілліч	ЛИТВАК Олена Олегівна	ЛИСЕНКО Болеслав Михайлович	СОБАНСЬКА Лада Олександрівна	ЛАЗАРЕНКО Олег Миколайович	АЛЕКСЄЄВА Тетяна Анатоліївна
------------------------------	-----------------------------	-----------------------------------	------------------------------------	----------------------------------	------------------------------------

К 49 **Клінічне застосування адаптуючої композиції для поліпшення біосумісності синтетичних поверхонь і біологічних імплантів :**
монографія / Черній В. І., Литвак О. О. [та ін.] — Даллас, США :
Primedia eLaunch LLC, 2023. — 102 с.

ISBN 979-8-88955-768-5

DOI 10.36074/kzakpbspbi-monograph.2023

У цій монографії наведено результати технологій поліпшення біосумісності синтетичних і біологічних матеріалів в різних медичних галузях (травматологія, кардіохірургія, гінекологія) завдяки методу використання аутоальбуміну пацієнта, що дозволяє поліпшити біологічну сумісність вже відомих і апробованих матеріалів.

Монографія призначена для лікарів-інтернів, лікарів-хірургів, лікарів-гінекологів, лікарів-анестезіологів, лікарів-травматологів ортопедів та лікарів суміжних спеціальностей.

УДК 616.089.844

© Черній В.І., Литвак О.О., Лисенко Б.М., Собанська Л.О., Лазаренко О.М., Алексєєва Т. А., 2023

© ГО «Європейська наукова платформа», 2023

ISBN 979-8-88955-768-5

© Primedia eLaunch LLC, 2023

ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРІВ

ЧЕРНІЙ Володимир Ілліч

Державна наукова установа «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами, м. Київ, Україна. Науковий відділ малоінвазивної хірургії, головний науковий співробітник, доктор медичних наук, професор, член-кор. НАМН України.

ORCID ID: 0000-0002-9885-9248

ЛИТВАК Олена Олегівна

Державна наукова установа «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами, м. Київ, Україна. Науковий відділ малоінвазивної хірургії, провідний науковий співробітник, доктор медичних наук, старший науковий співробітник.

ORCID ID: 0000-0001-5362-670X

ЛИСЕНКО Болеслав Михайлович

Державна наукова установа «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами, м. Київ, Україна. Науковий відділ малоінвазивної хірургії, старший науковий співробітник, доктор медичних наук, старший науковий співробітник.

ORCID ID: 0000-0003-4020-5337

СОБАНСЬКА Лада Олександрівна

Державна наукова установа «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами, м. Київ, Україна. Науковий відділ малоінвазивної хірургії, науковий співробітник.

ORCID ID: 0000-0002-0162-0442

ЛАЗАРЕНКО Олег Миколайович

Державна наукова установа «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами, м. Київ, Україна. Доктор медичних наук, доцент.

АЛЕКСЄЄВА Тетяна Анатоліївна

Інститут хімії поверхні імені О. О. Чуйка Національної академії наук України, м. Київ, Україна. Кандидат фізико-математичних наук.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	5
ВСТУП	9
РОЗДІЛ 1.	
ВІДПОВІДЬ ОРГАНІЗМУ НА ШТУЧНИЙ ТА БІОЛОГІЧНИЙ МАТЕРІАЛ.....	13
1.1. Біологічна відповідь на імпланти металу	13
1.2. Взаємодія крові з синтетичними поверхнями при штучному кровообігу. Проблема сучасних біополімерних матеріалів	16
1.3. Реакції організму на застосування адаптуючої композиції в гінекології.....	22
РОЗДІЛ 2.	
АДАПТУЮЧА КОМПОЗИЦІЯ.....	36
2.1. Склад адаптуючої композиції	36
2.2. Методика вимірювань засобами атомно-силової спектроскопії	38
2.3. Результати досліджень використання адаптуючої композиції в травматології (результати досліджень in vitro).....	46
2.4. Технологія приготування та способи використання адаптуючої композиції в кардіохірургії	50
2.5. Технологія приготування та способи використання адаптуючої композиції в репродуктології	51
РОЗДІЛ 3.	
ВПЛИВ АДАПТУЮЧОЇ КОМПОЗИЦІЇ НА СТАН ЕРИТРОЦИТІВ ПРИ ШТУЧНОМУ КРОВООБІГУ	57
3.1. Загальні характеристики еритроцитів в нормі і при патології.....	57
3.2. Характеристики еритроцитів при штучному кровообігу	60
3.3. Ефективність обробки контуру оксигенатора адаптуючою композицією.....	64
3.4. Вплив адаптуючої композиції на стан еритроцитів під час штучного кровообігу.....	65
РОЗДІЛ 4.	
РЕЗУЛЬТАТИ ВИКОРИСТАННЯ АДАПТУЮЧОЇ КОМПОЗИЦІЇ В ГІНЕКОЛОГІЇ	68
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	89

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

2,3 – ФГФ	– 2,3-фосфогліцератфосфатаза
2,3-ДФГ	– 2,3-дифосфогліцерат
2,3-ФГМ	– 2,3-фосфогліцератмутаза
AdC	– адаптуюча композиція
ALTR	– несприятлива місцева тканинна реакція (adverse local tissue reaction)
Cai	– кальцій іонізований
DO ₂	– доставка кисню
ECM	– позаклітинний матрикс (extracellular matrix)
Er	– еритроцити
FBGC	– гігантські клітини чужорідного тіла (foreign body giant cells)
FBR	– відповідь на чужорідне тіло (foreign body response)
FGF	– фактори росту фібробластів (fibroblast growth factors)
Hb	– гемоглобін
HIF1 α	– 1-альфа фактор, індукований гіпоксією (hypoxia-inducible factor 1-alpha)
Ht	– гематокрит
IDO ₂	– індекс доставки кисню
IL	– інтерлейкін (interleukin)
IVO ₂	– індекс споживання кисню
MCH	– середній вміст гемоглобіну в еритроциті
MCHC	– середня концентрація гемоглобіну в еритроциті
MCV	– середній об'єм еритроцита
MMPs	– матриксні металопротеїнази (matrix metalloproteinases)
NO	– оксид азоту
O ₂ ER%	– екстракція кисню
O ₂ EI%	– індекс екстракції кисню
PaO ₂	– парціальний тиск кисню в артеріальній крові
PDGFs	– фактор росту тромбоцитів (platelet-derived growth factors)
PEEP	– позитивний тиск при закінченні видиху (Positive end-expiratory pressure)

PvO ₂	– парціальний тиск кисню в венозній крові
RBC	– еритроцити (red blood cells)
RDW%	– відсотковий розподіл еритроцитів за величиною
RDWa	– стандартне відхилення розміру еритроцитів
SaO ₂ %	– сатурація артеріальної крові
SvO ₂ %	– сатурація венозної крові
TGFβ	– β-трансформуючий фактор росту (transforming growth factor beta)
TIMPs	– тканинні інгібітори металопротеїназ (tissue inhibitors of metalloproteinase)
VEGFs	– фактори росту ендотелію судин (vascular endothelial growth factors)
VO ₂	– споживання кисню
АДФ	– аденозиндифосфат
АКТГ	– адренокортикотропний гормон
АКШ	– аортокоронарне шунтування
АМГ	– антимюлерів гормон
АТ	– артеріальний тиск
АТФ	– аденозинтрифосфорна кислота
АФК	– активні форми кисню
АЧЗ	– активований час згортання
АШК	– апарат штучного кровообігу
в/м	– внутрішньом'язово
ВЖК	– вільні жирні кислоти
ГЕК	– гідроксиетилкрохмаль
ГМФ	– гуанозинмонофосфат
ГнРГ	– гонадотропін-рілізинг-гормон
ДВЗ	– дисеміноване внутрішньосудинне згортання крові
ДНК	– дезоксирибонуклеїнова кислота
ДРТ	– допоміжні репродуктивні технології
Е2	– естрадіол
ЕКЗ	– екстракорпоральне запліднення
ЕКК	– екстракорпоральний контур

енК	–	ендометріальні натуральні кілерні клітини
ІГХ	–	імуногістохімічний
ІІ	–	інтерлейкін
ІМ	–	інфаркт міокарда
ІМТ	–	індекс маси тіла
ІХС	–	ішемічна хвороба серця
КГ	–	керована гемодилуція
КЛС	–	кисотно-лужний стан
КОК	–	комбінований оральний контрацептив
КОТ	–	колоїдно-осмотичний тиск
КРЕ	–	кислотна резистентність еритроцитів
ЛГ	–	лютеїнізуючий гормон
ЛІФ	–	лейкемію інгібуючий фактор
ЛШ	–	лівий шлуночок
МАТ	–	моноклональні антитіла
МЖ	–	модифікований желатин
МЦ	–	менструальний цикл
НК-клітини	–	натуральні кілерні клітини
О ₂	–	кисень
ОРЕ	–	осмотична резистентність еритроцитів
ОЦК	–	об'єм циркулюючої крові
ОШП	–	об'ємна швидкість перфузії
П	–	прогестерон
ПАК	–	протезування аортального клапана
ПВК	–	піровиноградна кислота
ПЕ	–	перенос ембріонів
ПМК	–	протезування мітрального клапана
ПОЗ	–	первинний об'єм заповнення оксигенатора
ПОЛ	–	пероксидне окиснення ліпідів
ППТ	–	площа поверхні тіла
ПРА	–	пролактин
РАЛШ	–	резекція аневризми лівого шлуночка
РЕ	–	рецептори естрогенів

РЕС	– ретикулоендотеліальна система
РП	– рецептори прогестерону
рФСГ	– рекомбінантний ФСГ
CvO ₂	– вміст кисню в венозній крові
CaO ₂	– вміст кисню в артеріальній крові
СЕМ	– скануюча електронна мікроскопія
СН	– серцева недостатність
СПКЯ	– синдром полікістозних яєчників
СПТ	– середній перфузійний тиск
ССЗВ	– синдром системної запальної відповіді
Т	– тестостерон
ФВ	– фракція викиду
ФДФ	– фруктозо-1,6-дифосфат
Фн	– неорганічний фосфор
ФП	– фібриляція передсердь
ФФК	– фосфофруктокіназа
ФШ	– фібриляція шлуночків
ЦВТ	– центральний венозний тиск
ШВЛ	– штучна вентиляція легень
ШК	– штучний кровообіг
ШКТ	– шлунково-кишковий тракт

ВСТУП

Прогрес у багатьох галузях сучасної медицини пов'язаний із появою складних технічних пристроїв, розробкою нових технологій та медичних матеріалів, до них належать і нові матеріали для виготовлення імплантів і синтетичні поверхні.

Сфери застосування імплантатів та синтетичних поверхонь досить багатосторонні: травматологія (спиці, пластини, шурупи, ендопротези); серцево-судинна хірургія (штучні судини, стенти, серцеві клапани, екстракорпоральний контур); вшиті під шкіру прилади (кардіостимулятори, діабетична інсулінова помпа); стоматологічні протези; офтальмологія (штучний кришталік, штучна сітківка); загальна хірургія (поліпропіленові сітки для герніопластики) тощо. Даний напрямок продовжує розширюватися і основні зусилля біотехнологій спрямовані на зменшення обсягу використання вже освоєних металів та полімерних матеріалів.

Сучасні технології вражають своїм рівнем, особливо імплантати на основі так званої «живої» тканини. Замінники шкіри, хрящів, вже допомогли багатьом пацієнтам і сьогодні потреба у такому матеріалі дуже велика: проходять клінічні випробування штучний сечовий міхур, рогівка, очі, бронхіоли та кровоносні судини та функціональні ділянки м'язової тканини серця. Водночас безперечні успіхи біоінженерії не знімуть у найближчі роки проблему виготовлення імплантатів з традиційних матеріалів, тому що на шляху реалізації біотехнологій виникають дуже складні перешкоди. Зокрема, необхідність відтворити не лише точну біологічну характеристику оригіналу, але й найскладнішу мікроархітектуру біопротеза. Так, наприклад, використання стовбурових клітин не виключає виникнення онкологічних утворень. Все це не зменшує актуальності дослідження біосумісності традиційних матеріалів. Безпліддя залишається однією з найважливіших медичних і соціальних проблем [1]. Удосконалення програм ДРТ дозволило збільшити частоту настання вагітності від 30 до 80% при безплідді різного генезу.

Ефективність ДРТ визначається як якістю отриманих ембріонів, так і функціональною активністю ендометрія [2]. Порушення функціонального стану ендометрія і його рецептивності в період вікна імплантації

відповідальне приблизно за дві третини невдач імплантації, тоді як якість ембріона – тільки за одну третину [3].

У тканинах секреторного ендометрію, перед імплантацією, відбуваються безліч різноманітних процесів, низка з яких є надзвичайно швидкоплинними [4–7].

Сучасні наукові дослідження, щодо визначення факторів імплантації, вказують, що цитокіновий баланс є безпосереднім фактором взаємодії трофобласта та децидуальних клітин, тобто являється субстратом для реалізації імунологічної толерантності між організмом матері і плода. Нідація ембріона досягається в результаті паракринної, аутокринної, інтракринної, юстакринної регуляції на молекулярно-генетичному, клітинно-клітинному, клітинно-тканинному рівнях з експресією молекул адгезії, факторів росту і цитокінів, тобто своєрідного діалогу «свій – чужий» між матір'ю та ембріоном.

Існує два основних шляхи підвищення біосумісності медичних матеріалів: створення нових і поліпшення медико-технічних властивостей, останній найбільш поширений, оскільки дає можливість цілеспрямовано змінювати лише фізико-хімічні та біологічні властивості поверхні.

Зазвичай біологічні реакції в організмі описують як взаємодію молекул в розчині, які насправді відбуваються на поверхні. При цьому поверхня може бути будь-якою: а) поверхня клітини/синтетичний матеріал; б) екстрацелюлярний матрикс/біомолекула; в) екстрацелюлярний матрикс/клітина; гідратовані тканини/повітря (легені); г) мінерал/білок (кістки). Таке різноманіття взаємодій в природі дозволяє реалізувати величезну кількість специфічних реакцій.

Біоматеріали можна визначити як матеріали, які контактують з біологічним середовищем, будь то *in vitro* або *in vivo*, незалежно від їх походження і можуть бути як повністю або частково синтетичними, так і повністю біологічними. Процес їх взаємодії з біологічним середовищем є складним і залежить від фізико-хімічних властивостей їх поверхні. Тому логічним напрямком для поліпшення сумісності біоматеріалу є розробка способів модифікації частини, яка безпосередньо контактує з навколишнім середовищем.

Властивості поверхні біоматеріалу такі як жорсткість, морфологія, заряд, хімічний склад, поверхнева енергія та змочуваність впливають на взаємодії

біоматеріалу з біологічними сполуками. Ці властивості поверхні можуть бути модифіковані різними методами, які включають (але не обмежуються ними) плазму, лазер, іонну імплантацію, щеплення наночастинок [8]. Кожен метод пропонує унікальний спосіб модуляції поверхні зі своїми плюсами та мінусами.

Біосумісність матеріалу визначається як його здатність викликати відповідну відповідь у конкретній ситуації. Оскільки ця «відповідна відповідь» визначається ситуацією, в якій використовується біосумісний матеріал, він може варіюватися від клітинної адгезії та проліферації матеріалів, що використовуються для імплантації, до повної заборони росту клітин і коагуляції матеріалів, які використовуються в кровотоці.

Першою взаємодією між біологічною системою та біосумісним синтетичним або біологічним матеріалом є адсорбція різних білків з біологічного середовища системи на поверхню матеріалу. Адсорбція білків на поверхню імпланту залежить від його хімічного складу, а також морфології поверхневого натягу. Сильно гідрофільна поверхня, наприклад, не адсорбує білки з крові, а сильно гідрофобна поверхня, переважно зв'язує альбумін через його високу концентрацію в крові та сприятливий коефіцієнт дифузії. Загалом, чим більш гідрофільною є поверхня, тим нижчу адсорбцію білків вона демонструватиме [9].

Різноманіття можливого відгуку живого організму на чужорідне тіло не дозволяє створити універсальний матеріал, який не викликав би запальну реакцію у пацієнта. На жаль, при створенні матеріалів, зазвичай враховують їх хімічну стійкість та характеристики міцності. Такі параметри є необхідними, але недостатніми у практичній медицині. Так на поверхні матеріалу або готового протезу присутні центри з особливими властивостями, а саме з певним значенням поверхневої енергії, яка може зв'язувати елементи імунної системи пацієнта і таким чином запускати каскад запального процесу. Саме цей процес охоплює безліч реакцій, що відбуваються паралельно, та клітин, які при їх активації синтезують окисні агенти, що призводить до руйнування матеріалу протеза.

Аналіз літературних джерел щодо відновлення дітородної функції у жінок із безпліддя, шляхом використання методів ДРТ, вказує на те, що на жаль, чіткого алгоритму персоніфікованого підходу до визначення найбільш

результативних і безпечних методик відновлення чи покращення стану ендометрію в період «вікна імплантації» на сьогодні не існує.

Дослідження, що стали підґрунтям для укладення монографії, виконані в рамках комплексної науково-дослідної роботи наукового відділу малоінвазивної хірургії «Оптимізація хірургічного лікування пацієнтів за мультимодальною програмою швидкого відновлення на основі удосконалення малоінвазивних оперативних втручань, зокрема із застосуванням нанобіосенсорних технологій та анестезіологічного забезпечення (Державний реєстраційний номер 0122U000233)»

У цій монографії наведено результати технологій поліпшення біосумісності синтетичних і біологічних матеріалів в різних медичних галузях (травматологія, кардіохірургія, гінекологія) завдяки методу використання аутоальбуміну пацієнта, що дозволяє поліпшити біологічну сумісність вже відомих і апробованих матеріалів. Дослідження показали, що необхідно забезпечувати біосумісність всіма можливими засобами, а не рахувати її постійною і незмінною з конкретних умов, стану матеріалу тощо.

Монографія призначена для лікарів-інтернів, лікарів-хірургів, лікарів-гінекологів, лікарів-анестезіологів, лікарів-травматологів ортопедів та лікарів суміжних спеціальностей.

РОЗДІЛ 1

ВІДПОВІДЬ ОРГАНІЗМУ НА ШТУЧНИЙ ТА БІОЛОГІЧНИЙ МАТЕРІАЛ

1.1. Біологічна відповідь на імпланти з металу

В сучасному світі імплантовані медичні девайси стали звичним явищем у сфері охорони здоров'я. Компоненти імплантату на основі металевих елементів було обрано як біомедичний, оскільки вони мають численні переваги перед іншими матеріалами, включаючи високу механічну міцність, довговічність, хорошу тепло- та електропровідність, пластичність та хімічну/біологічну сумісність.

Історично найпоширенішими металами, що використовуються в імплантатах, є сплави на основі заліза (нержавіюча сталь), сплави на основі кобальту, чистий титан або сплави на основі титану (Ti-6Al-4V), різні тугоплавкі метали (метали, які важко піддаються плавленню або корозії), такі як молібден (Mo), вольфрам (W) і тантал (Ta), благородні метали, такі як золото (Au), срібло (Ag), платина (Pt) та іридій (Ir). Використання конкретного металу або сплаву залежить від сфери застосування [10].

При розробці складу матеріалу з якого виготовляють металевий імплант враховують такі характеристики, як токсичність, стійкість до корозії, сенсibiliзація, пірогенність, гемосумісність, канцерогенність. Також слід зважати, що мікроелементи мають вирішальне значення для функціонування живого організму. Вони вважаються необхідними, якщо присутні у живих тканинах у відносно постійній концентрації і при виведенні з організму викликають структурні або фізіологічні аномалії. Наприклад, кобальт відіграє важливу роль у метаболізмі пуринів/піримідинів, амінокислот, жирних кислот, фолієвої кислоти. Недостатність кобальту в організмі людини викликає маніфест анемії, нейропатій та нейрокогнітивних змін, а надлишок – кардіоміопатію, поліцитемію, зміни в функції щитоподібної залози. Основні метали у відповідних кількостях мають вирішальне значення для функціонування багатьох людських білків і ферментів (металопротеїнів і металоферментів відповідно) і за оцінками, більше ніж 30% ферментів потребують принаймні одного незамінного металу

для належного функціонування [11]. Оскільки вони потрібні лише в невеликих кількостях, вони знаходяться під жорсткою гомеостатичною регуляцією з точки зору поглинання, транспортування, розподілу, зберігання, переробки та виведення з організму. З іншого боку є ряд металевих елементів, які не вважаються важливими для здоров'я людини і можуть впливати на фізіологічні процеси людини. Так, деякі платиновмісні сполуки можуть викликати респіраторні захворювання, пошкодження кісткового мозку, втрату слуху, надавати токсичний вплив на нирки.

Механізми вродженого імунітету є критично важливими і першими реагують як на мікробні, так і на токсикологічні ураження. Це також справедливо для імунної відповіді на металеві імпланти. Численні фактори впливають на природу та величину вродженої імунної реакції на металеві імпланти, що визначає кінцевий успіх чи невдачу встановлення імпланта. Елементарні частини, котрі входять до складу металевого імпланта, фізична, хімічна, структурна форма та кількість металу впливає на природу вродженої імунної відповіді, що виникає після імплантації.

Типова відповідь на металеві імпланти характеризується швидким запаленням і вродженою імунною відповіддю, яка врівноважується до стабільного стану протягом одного-двох тижнів після імплантації. Ця здатність до усунення невідповідностей має вирішальне значення для обмеження патології тканин і запобігання подальшого відторгнення імплантату. Загальна реакція пацієнта на металевий імплантат складається з системної відповіді і відповіді на розташування імплантату. В першу чергу за цей процес відповідають імунні клітини, при чому імунологічна реакція може бути або вродженою, коли не потрібна попередня експозиція агента або адаптивна, яка набувається лише після зустрічі з антигеном. Обидві клітинні реакції пов'язані з побічними ефектами. Металеві уламки від імплантатів, в формі іонів і частинок, можуть пошкодити клітини та активувати специфічні імунні та запальні реакції, що іноді призводить до сенсibilізації пацієнта. Частинки металу поглинаються макрофагами, запускається процес деструкції тканин різного ступеня. Одразу після пошкодження тканини активується внутрішній шлях згортання крові, ініціюючи утворення тромбів. Активація тромбоцитів через взаємодію з колагеном і фібрином викликає дегрануляцію тромбоцитів [12]. Раннє залучення нейтрофілів протягом перших трьох днів призводить до

подальшого посилення шляхів запалення. Нейтрофіли в місці рани протягом кількох днів витісняються макрофагами, які диференціюються *in situ* переважно з моноцитів, рекрутованих із циркуляції.

На наступній фазі, між 2-10 днями, утворюється грануляційна тканина шляхом відкладення позаклітинного матриксу (extracellular matrix, ECM), фібробластами та неоваскуляризованим проліферуючим ендотелієм [13]. Вироблення фібробластами колагену I і III типів має вирішальне значення для стабільності ECM у рані. Глікозаміноглікани, еластичні волокна та інші глікопротеїни, отримані з фібробластів, модулюють механічні та структурні властивості ECM. Запускається складний механізм в якому задіяні фактор росту тромбоцитів (platelet-derived growth factors, PDGFs), β -трансформуючий фактор росту (transforming growth factor-beta, TGF β), фактори росту фібробластів (fibroblast growth factors, FGF) і фактори росту ендотелію судин (vasculare endothelial growth factors, VEGFs) також сприяють проліферації ендотеліальних клітин, внутрішньо зв'язуючи фіброгенні сигнали з ангіогенними [14]. Високоспецифічний VEGFs і ангіопоетини, ефективно активізуються 1-альфа фактором, індукованим гіпоксією (hypoxia-inducible factor 1-alpha, HIF1 α), ключовим датчиком напруги кисню та гіпоксичного стресу в середовищі рани [15]. При реакції на металеві частинки, HIF1 α регулює баланс ремоделювання тканин, контролюючи експресію матриксних металопротеїназ (matrix metalloproteinases, MMPs) і тканинних інгібіторів металопротеїназ (tissue inhibitors of metalloproteinase, TIMPs) [16]. Відповідь на гіпоксичний стрес також ініціює ангіогенну програму, за допомогою якої загоєння тканин сприяє росту та розширенню неоваскулярних колатералій через скоординовані сигнали від макрофагів, ендотелію та тромбоцитів [17]. Інтенсивні перехресні взаємодії між цими багатьма типами клітин і сигнальними шляхами утворюють ретельно організовану мережу, що регулює процеси загоєння. Макрофаги є основними джерелами TGF β , сімейства цитокінів, які відіграють важливу роль в організації фіброгенезу та ремоделювання тканин [18]. Клітинна передача сигналів між фібробластами та клітинами запалення, включаючи макрофаги, також може викликати вивільнення прозапальних медіаторів, таких як IL-6 та IL-8, посилюючи запалення.

Процеси загоєння ран можуть бути ускладнені металевими уламками, що утворюються в результаті зношування або корозії металів. Відстрочене

або надмірне загоєння може бути ознакою, пов'язаною з довгостроковими несприятливими наслідками в різних умовах імплантації. Реакція ендотелію на оксиди металів посилює ангіогенез через рекрутинг лейкоцитів [19]. Деадаптація ангіогенезу, запалення та запального обміну лейкоцитами лежить в основі патогенезу несприятливої місцевої тканинної реакції (adverse local tissue reaction, ALTR) [20].

Загоєння ран та інші відповіді організму на металеві імпланти включають вроджені імунні механізми, які разом описуються як відповідь на чужорідне тіло (foreign body response, FBR), яку можна охарактеризувати як скоординований каскад запальних і клітинних механізмів, які є критичними для біосумісності імпантованого пристрою. Аномальні імунні відповіді можуть призвести до ALTR, включаючи остеоліз, некроз, утворення псевдопухлини, грануляцію тканини та скорочення фіброзної капсули [21]. Більш того відразу після імплантації адсорбція білка організму на поверхні імплантату ініціює FBR.

Пошкодження тканин реципієнта швидко супроводжується активацією шляхів коагуляції та системи комплементу, адсорбцією білків, включаючи фібриноген, фібрoneктин, вітронектин та глобуліни, на поверхні імплантату. Ця гетерогенна суміш білків і компонентів позаклітинного матриксу утворює матрицю на поверхні імплантату та навколо нього. З часом залучення імунних клітин, особливо макрофагів, призводить до утворення гігантських клітин чужорідного тіла (foreign body giant cells, FBGC) і фіброзної інкапсуляції імплантату [22].

Імунні відповіді на імплант врівноважуються до стабільного стану протягом одного-двох тижнів після імплантації. Якщо виникає нездатність усунути гостре запалення, то воно переходить у хронічне, яке може прискорити ALTR і потенційну неспроможність імплантату [23].

1.2. Взаємодія крові з синтетичними поверхнями при штучному кровообігу. Проблема сучасних біополімерних матеріалів

Застосування сучасних мембранних оксигенаторів, нових полімерних матеріалів для магістралей і канюль, розробка спеціальних покриттів забезпечили зменшення травматизації формених елементів крові при штучному

кровообігу (перфзія, байпас), але все ж залишається проблема виникнення побічних ефектів при контакті крові з небіологічними поверхнями [24].

Основні патофізіологічні процеси при використанні систем для проведення штучного кровообігу (ШК) пов'язані з синдромом системної запальної відповіді (ССЗВ) і коагулопатії на тлі контакту крові з неендотеліальною поверхнею контуру оксигнатору і повітрям [25]. Клітини периферійної крові одними з перших реагують на розвиток ССЗВ, а також самі запускають ланки патогенезу через секрецію прозапальних медіаторів, міжклітинні взаємодії, розвиток ендотеліальної дисфункції та імунної відповіді [26].

Багато досліджень присвячено механізму і ступеню адсорбції компонентів крові на полімерній матриці, змінам біохімічного складу крові та змінам фізико-хімічних властивостей полімерів під впливом крові. Значна роль відводиться адсорбції на синтетичних поверхнях білків крові, таких як: фібриноген, імуноглобуліни, гемоглобін, фібрoneктин і фактор фон Віллебранда [27]. Адсорбція білків з плазми на полімер протікає дуже швидко. Коли поверхневий протеїновий шар (альбумін, γ -глобулін, фібриноген) на полімері досягає товщини 5 нм, в ньому починає відбуватися зміна складу і структури білків з адгезією тромбоцитів до тих пір, поки адсорбований білковий шар не досягне 10–20 нм, що реалізується через 20–60 сек після контакту крові з поверхнею.

Важлива роль в досліджувальних процесах відводиться фібриногену, тому що він є будівельним матеріалом тромбу, до того ж фібринізовані поверхні найбільш ефективно адгезують тромбоцити. Експериментально було помічено, що адгезія тромбоцитів до адсорбованого білку тим вище, чим більше у нього незавершених вуглеводних бічних ланцюгів. До таких білків відноситься фібриноген. При побудові біохімічної моделі показано, що на зовнішній стороні плазматичної мембрани тромбоцитів знаходяться глікозилтрансферази, які переносять нуклеозидфосфати, останні в свою чергу утворюють фермент-субстратний комплекс з недобудованими ланцюжками олігосахаридів. У нормальних умовах ферментативної реакції фермент-субстратний комплекс дуже нестійкий. Цим можна пояснити відсутність адгезії і агрегації тромбоцитів в артеріях і венах при нормальних фізіологічних умовах. Однак, зниження швидкості конформаційної рухливості глікопротеїдів можливе при взаємодії білкової частки з полімерною поверхнею в результаті адсорбції [28].

Використання в оксигенаторах полімерів має ряд недоліків. Незважаючи на системну антикоагуляцію пацієнта, відбувається активація тромбоцитів і коагуляція, що призводить до утворення згустків всередині системи, активації «факторів контакту» крові. В процесі перфузії відбувається відкладення на поверхні мембран фібринової плівки, мікротромбоутворення. Все це викликає неефективне функціонування мембрани, зміни в системі гемостазу, недостатній перенос газу [29–30]. З цих причин дослідницькі зусилля спрямовані на поліпшення гемо(біо)сумісності чужорідних поверхонь, оптимізації газового потоку і кровотоку, мінімізації екстракорпорального контуру і зменшення дисбалансу коагуляції і ССЗВ [31].

З технічної точки зору біосумісні матеріали повинні імітувати здорову ендотеліальну тканину. Модифікації поверхонь, які спрямовані на досягнення цієї мети, можна розділити на три основні групи:

- 1) біоактивні поверхні (так звані біоміметичні поверхні);
- 2) біопасивні поверхні;
- 3) ендотелізовані поверхні, що контактують з кров'ю [32].

До біоактивних поверхонь відносяться покриття на основі гепарину, з комбінаціями гепарину і альбуміну [33]. Активна поверхня гепаринового покриття має негативний заряд, що дозволяє попередити адгезію тромбоцитів, також негативно заряджених. При комбінації альбуміну та гепарину молекули гепарину ковалентно пов'язані з шаром білка, що підсилює стабільність покриття [34]. Такі покриття дійсно дозволяють знижувати ризик геморагії за рахунок зниження системної гепаринізації і зниження активації системи комплемента [35], але ряд наукових досліджень і публікацій свідчать про виникнення проблем гепариніндукованої тромбоцитопенії при кардіохірургічних операціях [36–37]. З точки зору даної проблеми гепаринові покриття не мають переваг перед екстракорпоральним контуром без покриття [38]. В цілому, дослідження з гепариновим покриттям слід інтерпретувати з певною обережністю, оскільки більшість з них проводилися або упродовж 6 годин в тестах *in vitro*, або при короткостроковому ШК [39].

Перспективним напрямком вважається використання оксиду азоту (NO), фактора релаксації ендотелію, який вивільняється ендотеліальними клітинами, викликаючи розширення судин [40]. NO активує підвищення рівня циклічного

гуанозинмонофосфату (ГМФ) в тромбоцитах і клітинах гладеньких м'язів судин. У дослідженнях на тваринах показано значне зниження активації тромбоцитів. Покриття NO останнього покоління характеризується ліпофільним донорським комплексом NO, вбудованим в пластифікований полівінілхлорид (ПВХ), щоб перешкодити неконтрольованому вивільненню NO в кровоносній системі. Ця технологія показала не тільки інгібування тромбоцитів, але і менше споживання фібриногену. Основним недоліком NO є те, що термін його збереження не може перевищувати 4 тижнів [41–42]. До сих пір NO-покриття не використовуються в комерційних цілях, але заслуговують уваги для подальших досліджень і багатофакторного застосування. Так, NO клінічно використовується в якості фракції продувочного газу оксигенатора в експерименті, щоб використовувати його антитромботичні властивості шляхом дифузії через мембрану газообмінника [43].

До біопасивних поверхонь відносяться покриття з альбуміном, фосфорілхоліном, полі- (2-метоксіетил) - акрилатом, поліетілоксидом. Альбумін використовується в якості покривного матеріалу з 1980-х років і може застосовуватися при протипоказах до застосування гепарину [44]. В альбуміні відсутні зв'язувальні послідовності для тромбоцитів, лейкоцитів і ферментів згортання крові, тому при застосуванні в якості покриття він уповільнює активацію тромбоцитів. Важливо, що у таких покриттях використовуються синтетичні або рекомбінантні форми альбуміну [45], що може призвести до алергічних реакцій анафілактичного характеру.

Фосфорілхолінове (ФХ) покриття має антитромбогенну, антибактеріальну дію і володіє стійкими до дії білків властивостями [46]. Покриття з ФХ були розроблені як альтернативні до систем, що пов'язані з гепарином. ФХ має гідрофільну полярну групу фосфоліпідів. Він містить негативно заряджений фосфат, пов'язаний з позитивно зарядженим холіном. Фосфоліпіди, що містять ФХ, не є тромбогенними [47]. Однак, є дослідження, що не виявили переваг ФХ в порівнянні з контурами, що покриті гепарином [48–49].

Полі- (2-метоксіетил) – акрилат (ПМЕА) являє собою сумісний з кров'ю полімер, що складається з гідрофобного поліетиленового ланцюжка і м'якого гідрофільного хвоста, що дозволяє білкам і тромбоцитам не руйнуватися і не прилипати до гідрофільної поверхні [50]. У порівнянні з системами без покриття у пацієнтів, які перенесли шунтування коронарної артерії, покриття

ПМЕА призводило до зниження адгезії, агрегації і адсорбції тромбоцитів [51]. Однак, інші дослідження виявили більш високий ризик післяопераційної лейкопенії і ССЗВ без зниження агрегації тромбоцитів [52]. Немає єдиної думки про те що перевершує ПМЕА – покриття з гепарином чи без.

Поліетиленоксид (ПЕО) – покриття, що комерційно використовується і поєднує в собі негативно заряджені сульфонатні групи. Це біопасивне покриття, яке було запропоновано в якості альтернативи покриттям, що містить гепарин. У дослідженні *ex vivo* з людською кров'ю ($n = 40$) Teligui et al. [53–54] не виявили відмінностей в активації згортання в порівнянні з покриттям з гепарину. Всі групи продемонстрували однакові показники адгезії після оцінки ультраструктурного аналізу оксигенатора за допомогою скануючої електронної мікроскопії, і не спостерігали різниці в градієнтах тиску оксигенаторів.

У дослідженнях *in vitro*, проведених Preston et al. [55] різні покриття були протестовані на адсорбцію морфіну і фентанілу в екстракорпоральних контурах з бичачою кров'ю. Покриття Safeline® - синтетичний альбумін (Maquet), покриття Softline® – полімер без гепарину (Maquet), покриття Bioline® – рекомбінантний альбумін і гепарин (Maquet), Xcoating® – поліметоксіацетилат (Terumo), покриття Carmeda® – ковалентно пов'язаний гепарин (Metronic) і Trillium® - теж ковалентно пов'язаний гепарин (Metronic) порівнювали між собою. Всі покриття були пов'язані з втратою ліків. Carmeda® і Xcoating® мають значно більшу адсорбцію морфіну, ніж Safeline®, Softline®, Bioline® і Trillium®. Фентаніл адсорбувався більше в Safeline®, Softline®, Bioline® і Trillium® в порівнянні з Carmeda® і Xcoating® [56].

Перспективним напрямком є створення поверхневої ендотелізації - це метод, при якому ендотеліальний шар створюється шляхом посіву клітин на поверхню для досягнення повної гемосумісності між кров'ю і матеріалами. Кілька досліджень вивчали можливість створення ендотеліального моношару на газообмінних мембранах оксигенатора [57–58]. Складністю є те, що ендотеліальні клітини важко прикріплюються до гідрофобних поверхонь [59]. Щоб забезпечити ендотеліальний моношар, основа матеріалу повинна забезпечувати прикріплення і зв'язування ендотелію, зберігаючи при цьому життєздатність ендотеліальних клітин. Було виявлено, що мембранні волокна,

покриті гепарином/альбуміном, є хорошою основою для життєздатного і суцільного моношару з ендотеліальних клітин [60].

Pflaum et al. продемонстрували ефективність стабільного покриття діоксид титану (TiO₂) з функціональним моношаром ендотеліальних клітин. Хоча використання покриття TiO₂ призвело до зниження швидкості переносу кисню через мембрану на 22%, воно опосередковано сприяло кращому прикріпленню ендотеліальних клітин. Ендотеліальний шар був стійкий до зсувної напруги і був здатний відновлюватися при появі руйнування моношару [61].

У дослідженні проводився експеримент з посівом ендотеліальних клітин, отриманих з сонних артерій молодих овець для пошуку найкращого білкового покриття для прикріплення ендотеліальних клітин. Посів ендотеліальних клітин на непокриту мембрану оксигенатора, використання желатину, фібриногену і колагену було не ефективним. Cornelissen C.G. et al. вважали фібрoneктин гарною основою для прикріплення клітин на плоских листових мембранах, однак, вони не проводили випробування характеристик газообміну [62]. На жаль, поточні дослідження того, як покращити характеристики шару ендотеліальної тканини на газообмін не просунулися [63]. Окрім цього, максимальний термін зберігання ендотелізованого оксигенатора в умовах гіпотермії змогли збільшити тільки до двох тижнів [64] у порівнянні з терміном зберігання оксигенатора з іншим покриттям, що становить зазвичай 2 роки. Це призведе до складного планування і управління ресурсами як для виробників, так і для центрів, які використовують екстракорпоральні технології. Багато питань, що стосуються витрат, своєчасного виробництва, забезпечення якості ендотелізованих оксигенаторів, залишаються відкритими, це надає широке поле для потенційних досліджень.

Оскільки процес пошуку оптимальних покриттів триває, то область досліджень чітко спрямована на використання матеріалів, що максимально відповідають фізіологічним параметрам людського організму. Розробки в цьому напрямку не припиняються, що підкреслює важливість проблеми.

Одним з перспективних напрямків може бути використання аутоальбуміну пацієнта, тому що на відміну від фібриногену альбумін практично не має незавершених олігосахаридних бічних ланцюгів. Експериментальні дані показують, що попередня альбумінізація поверхні

надає полімеру тромборезистентні властивості. Причому, адсорбція альбуміну на штучній поверхні містить незворотний характер [65–66].

Вивченню складного механізму переходу глобулярних білків на полімерну поверхню присвячено багато наукових досліджень. Розраховані геометричні та архітектурні параметри плазмових глобулярних білків, адсорбованих у вигляді моношару, а також площа проєкції глобули на поверхню. Для альбуміну вона становить від 12,6 нм² до 46,0 нм², в залежності від того, як «запакована» молекула на поверхні: розташована паралельно поверхні або її велика вісь знаходиться перпендикулярно до цієї поверхні. А те, як саме розташовується кулька альбуміну на поверхні полімеру залежить від концентрації адсорбованого білка. Чим меншою є концентрація, тим більше глобула альбуміну прагне зайняти положення немов би «лежачи», а чим більша концентрація – тим більше глобул вибудовується своєю великою віссю перпендикулярно до поверхні і ніби «стоять» на ній. Така здатність альбуміну дозволяє при його менших концентраціях покрити ту ж площу поверхні, якщо б його концентрація була більше [67], з чого можна зробити висновок, що шар альбуміну має переваги, як біопокриття на поверхні полімеру.

1.3. Реакції організму на застосування адаптуючої композиції в гінекології

Успішна імплантація ембріона є визначальною подією в природній і допоміжній репродукції людини. Вона досягається в результаті обміну сигнальними молекулами між матір'ю та ембріоном, інтенсивними молекулярно-генетичними, клітинно-клітинними, клітинно-тканинними взаємодіями, експресією молекул адгезії, факторів росту і цитокінів, що здійснюють паракринну, аутокринну, інтракринну, юкстакринну регуляцію.

Рецептивність ендометрію визначається саморегульованим періодом часу, упродовж якого його епітелій переходить у тимчасовий функціональний стероїдозалежний стан, котрий, в свою чергу, забезпечує адгезію бластоцисти на його поверхні. Рецептивність є складовою функціонального стану ендометрія і залежить від вираженості в ньому імунореактивних, апоптотичних, проліферативних, секреторних та запальних процесів.

Склад ендометріального секрету та властивості маткового епітелію визначають можливості бластоцисти вижити та імплантуватися. У людини просвітний епітелій ендометрію. набуває такий статус одночасно з децидуалізацією стромального компонента. Цей період часу, званий вікном імплантації, триває з 4-5 до 9-10-го дня після підвищення виробки або введення прогестерону (P4), тобто обмежується 19-24-м днями менструального циклу (МЦ).

За оптимальних умов в кожному циклі імплантується лише 35 % ембріонів. Близько 70 % практично здорових ембріонів внутрішньоутробно зникають, не даючи ніяких ознак прикріплення трофобласта та продукції хоріонічного гонадотропіну людини.

Одним з важливих факторів невдач імплантації при проведенні ДРТ є порушення експресії рецепторів стероїдних гормонів. Упродовж нормального МЦ вміст у ендометрії рецепторів естрогенів (PE) і рецепторів P4 (РП) зазнає закономірних коливань, синхронних зі зміною концентрації E2 і P4 в загальному і матковому кровотоці. P4 з його геномною та негеномною дією відіграє важливу роль у підготовці слизової оболонки матки до імплантації, а також у регулюванні міграції та інвазії трофобласта. Геномна дія P здійснюється за посередництва класичних ядерних РП: РП-А і РП-В. На додаток до їх геномної дії, ядерні РП можуть також викликати швидкі цитоплазматичні сигнальні події. Мембранозв'язані РП причетні до швидкої негеномної дії P4. P4 відіграє важливу роль у створенні рецептивності ендометрія, блокуючи проліферативний ефект естрогенів та індукуючи гени, які дозволяють ембріону прикріпитися до ендометрію, а також діє як негативний регулятор інвазії трофобласта шляхом контролю активності матричних металопротеїназ. Одним з важливих механізмів впливу P4 є селективне придушення його рецепторів. У ході лютеїнової фази поступово знижується концентрація рецепторів P4 в епітеліальних клітинах, але вона залишається високою в децидуальних клітинах. Мембранозв'язані РП причетні до швидкої негеномної дії P4. P4 відіграє важливу роль у створенні рецептивності ендометрія, блокуючи проліферативний ефект естрогенів та індукуючи гени, які дозволяють ембріону прикріпитися до ендометрію, а також діє як негативний регулятор інвазії трофобласта шляхом контролю активності матричних металопротеїназ [68–70].

Ця подія є ключовою у розвитку ендометрія – відбувається перехід від превалювання активності епітелію до активізації стромальної/децидуальної функції. Порушення співвідношення експресії РП в стромі й залозах може призводити до зниження або повної втрати рецептивності ендометрія до імплантації плодового яйця, тобто до недостатності імплантації [71 – 72].

Більшість авторів вказують на імуногістохімічну оцінку рецептивного статусу ендометрія, де у 90,9 % хворих з безпліддям встановлено різноспрямований характер пошкоджень мікроархітекtonіки ендометрія, виражений в тій чи іншій мірі [73–74].

Низка дослідників виявили в жінок з безплідністю, обумовленою хронічним ендометритом, зниження експресії рецепторів естрогенів і Р4 як у проліферативну, так й у секреторну фазу менструального циклу. У той же час, за даними інших авторів, при хронічному ендометриті як в залозах, так і в стромі ендометрію спостерігаються високі концентрації РЕ, РП в порівнянні з контролем. Деякі автори вказують, що у пацієнтів із аденоміозом та безпліддям часто зустрічається патологія ендометрія, що може бути причиною запізнення/зникнення експресії РЕ та/або РП в періімплантаційний період.

За останні роки з'явилися дослідження, які показують у пацієнок з безпліддям, асоційованим з генітальним ендометріозом у 80,0 % випадків наявність хронічного ендометриту різного ступеня вираженості. Слід зазначити, що при хронічному ендометриті у всіх досліджуваних біоптатах ендометрію переважало підвищення числа цитотоксичних Т-лімфоцитів над клітинами інших популяцій. Експресія рецепторів РЕ в стромальному компоненті ендометрія у пацієнок з ЗЗОМТ виявлена достовірно нижчою в порівнянні з біоптатів ендометрія пацієнок з міомою. Порівняння експресії даного маркера між жінками з ендометріозом і міомою не виявило статистично значущих відмінностей. Слід зазначити, що було встановлено достовірне зниження експресії рецепторів РП у пацієнок з безпліддям, асоційованим з ЗЗОМТ.

Декотрі автори [75 – 76] вважають, що у пацієнок, які страждають на трубно-перитонеальну безплідність, існує гормональна недостатність яєчників, пов'язана з низькою кількістю та / або чутливістю РЕ і РП в ендометрії, і зазначені зміни рецептивності ендометрія у жінок з

неефективними спробами ЕКЗ в анамнезі можуть з'явитися причиною невдач подальших циклів ДРТ. Інші автори наводять діаметрально протилежні дані, говорячи про підвищення експресії стероїдних рецепторів у пацієнток з безплідністю.

Автори вказують на те, що експресія РП і андрогенових рецепторів в ендометрії найбільш суттєво знижена при всіх патологічних станах в стромі ендометрія, ніж в залозах, що може відображати центральні ланки порушення фертильності [77 – 78].

Особливої уваги заслуговують результати досліджень, при яких встановлено, що у 42,48 % безплідних пацієнток, які потребують включення в програму ЗІВ, спостерігається тяжкий ступінь зниження експресії ядерних РЕ в залозах та стромі; в поєднанні з пригніченням імунореактивності РП у 21,24 % жінок. Підвищену імунореактивність РЕ виявлено у 19 % обстежених, РП – у 23 %. У жінок з тотальним тяжким пригніченням експресії рецепторів вірогідно частіше спостерігається невідповідність структури ендометрія дню МЦ, гіпоплазія ендометрія, хронічний ендометрит. У жінок з підвищеною імунореактивністю РЕ α в залозах та РП частіше спостерігається невідповідність морфофункціонального стану ендометрія фазі МЦ (11,55 %) та його гіперпластична трансформація (37,63 %). При неефективних циклах ЗІВ в анамнезі нормальна гістологічна картина спостерігається рідше порівняно з пацієнтками з першим циклом ЗІВ (3,28 % та 14,5 % відповідно) [79 – 80].

Відносний шанс настання вагітності після ЗІВ при цьому в 4,4 разу вище при співвідношенні РП/РЕ в діапазоні від 2 до 3. Основними прогностично сприятливими критеріями настання вагітності, за даними авторів, є співвідношення РП/РЕ, відповідне морфологічній структурі ендометрія, і кількість клітин поверхневого епітелію з наявністю піноподій ≥ 50 %, а найбільш несприятливим – персистуюча гіперекспресія РЕ в середню лютеїнову фазу менструального циклу.

Отже, дані щодо експресії стероїдних рецепторів, навіть в період передбачуваного вікна імплантації природного циклу, при різних типах і факторах безпліддя варіюють та відрізняються у різних дослідників, що, можливо, пов'язано з використанням різних систем кількісної імуногістохімічної оцінки та різних клонів антитіл у реагентах.

Особливості формування піноподій у безплідних жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі

Морфофункціональний стан, при якому ендометрій підготовлений до нідації ембріона, отримав назву «вікна імплантації». «Вікно імплантації» спостерігається на 6-10-й дні після овуляції, (20-24-й день менструального циклу), проте, у кожної жінки цей процес відбувається індивідуально [81]. Початок вікна імплантації характеризується ультраструктурними змінами в морфології епітеліальних клітин ендометрія [73] і формуванням на просвітному епітелії піноподій.

Піноподії представляють собою куполоподібні виступи, що впливають з апікальної мембрани просвітнього епітелію матки [82]. Морфологічно в цей період відбуваються зміни ендометріальних епітеліальних клітин, та плазматичних мембран просвітнього епітелію, що супроводжуються втратою мікроворсинок, та формуванням куполоподібних випинань – піноподій, на апікальній поверхні клітин. Піноподії візуалізуються за допомогою скануючої електронної мікроскопії (далі – СЕМ) [83].

Дослідники вказують на три стадії розвитку піноподій: розвиваючі, розвинені та регресуючі [84]. Розвиваючі – з'являються із початком вікна імплантації, представляють собою ектоплазматичні протрузії поверхневих ендометріальних епітеліальних клітин, які супроводжуються зменшенням числа коротких та товстих мікроворсинок; розвинені піноподії – це випинання з максимальною величиною та складчастою структурою, та практично відсутніми мікроворсинками; регресуючі піноподії – це випинання поверхневих ендометріальних епітеліальних клітин, які завдяки розривам апікальних поверхонь, набувають бокалоподібної форми, а на їх поверхні з'являються кінчики коротких, товстих мікроворсинок [85]. Імовірно, це явище зумовлене змінами в конфігурації мікрофіламентів, що містяться у поверхневих відділах клітин [86].

Розвинені піноподії – це випинання, які досягають своєї максимальної величини і утворюють складки, нагадують квіти або гриби, кількість на них коротких, товстих мікроворсинок різко зменшується або в більшості випадків мікроворсинки повністю зникають. Ця стадія триває менше 48 годин. Регресуючі піноподії представлені випинаннями поверхневих ендометріальних епітеліальних клітин, які зменшуються, з'являються розриви

апикальних поверхонь клітин і вони починають приймати бокалоподібну форму; поверхні мембран поверхневих ендометріальних клітин зморщується і знову з'являються кінчики коротких, товстих мікрроворсинок.

Поява піноподій збігається з експресією інших маркерів рецептивності, таких як лейкоїдний інгібуючий фактор (ЛІФ) [88], муцини, L-селектин, $\alpha V\beta 3$ -інтегрини, гепаринзв'язуючий епідермальний фактор росту та ін. [73].

У матці піноподії виконують декілька функцій. У гризунів вони беруть участь в піноцитозі, який допомагає видаленню рідини з маткового просвіту для ініціації його закриття при попередньому захваті бластоцисти. Крім того, піноподії беруть участь у взаємодії ембріона та ендометрія за допомогою L-селектину [89]. У людини піноподії випускають секреторні везикули, що містять ЛІФ, в матковий просвіт [90]. Деякі дослідники вважають, що роль піноподій в організмі людини як маркерів рецептивності ендометрія є спірною [91 – 92].

Формування піноподій залежить від Р4 [93]. Сильна кореляція між експресією піноподій та рівнем Р4 і експресією РП виявлена в матці людини, щурів і мишей [94].

Естрогени призводять до втрати експресії піноподій. Було встановлено, що у оварієктомізованих мишей спостерігається велика кількість піноподій. Це підтвердило, що видалення Е2, найбільш імовірно, збільшує експресію.

Тестостерон (Т) також необхідний для імплантації, підвищення його рівня в плазмі і рецепторів в ендометрії приводить до збільшення кількості можливих ділянок імплантації. Але, хоча Т, необхідний для нормальної імплантації, високий рівень цього гормону може призвести до зникнення піноподій на просвітному матковому епітелії, перешкодити матково-ембріональному періімплантаційному діалогу і призвести до невдачі імплантації або ранньої втрати вагітності.

Дані про стан піноподій у пацієнток з невдачними імплантаціями в циклах ДРТ в літературі поодинокі. Основним прогностичним сприятливим критерієм настання вагітності є кількість клітин поверхневого епітелію з наявністю піноподій ≥ 50 %. У жінок з невдачними спробами ДРТ, за її даними, тільки у 8,5 % випадків виявляється наявність клітин з піноподіями ≥ 50 %, у решти цей показник коливається від 0 до 30 %. За даними дослідників [95], піноподії зі своєчасною стадією розвитку присутні тільки в 12,7 % випадків у пацієнток

з множинними невдалими імплантаціями, інші знаходяться в стадіях прискорення, затримки, арешту чи асинхронного формування.

Є дані, що у безплідних жінок з хронічним ендометритом спостерігається зниження рецептивності ендометрія внаслідок зменшення зрілих піноподій і низької експресії ЛІФ в поверхневому епітелії. Виявлено, що у жінок з трубно-перитонеальним безпліддям запального ґенезу реєструються відхилення в розвитку піноподій та їх мікроворсинок в ендометрії в період вікна імплантації: ділянки відсутності піноподій реєструються у 47,50 % випадків, піноподії дрібних розмірів – в 77,50 % і рясні мікроворсинки – в 37,50 %; зниження частоти наявності розвинутих піноподій у 2,12 разу, піноподій великих розмірів – в 2,29 і малої чисельності мікроворсинок – в 4,00, підвищення зустрічаємості піноподій середніх розмірів у 3,00 рази, мікроворсинок в помірній кількості – в 4,00; мозаїцизм форми (65,00 %) та розмірів (67,50 %).

Експресія лейкоїю інгібуючого фактору (ЛІФ) та $\alpha\text{V}\beta 3$ -інтегринів в ендометрії жінок з невдалими спробами ДРТ в період передбачуваного вікна імплантації

Процес імплантації залишається обмежуючим фактором при проведенні ДРТ. У період імплантації генетично нормальна бластоциста повинна пройти хетчинг, аппозицію, прикріплення, пенетрацію, і, нарешті, інвазію в добре синхронізований ендометрій під впливом естрогенів і Р₄. Останнім часом відкрито безліч локально діючих молекул, що включають фактори росту, цитокини, матриксні металопротеїнази, молекули адгезії, компоненти позаклітинного матриксу, гомеобоксні гени, які опосередковують дію стероїдних гормонів на ендометрій. Одними з таких молекул є ЛІФ і $\alpha\text{V}\beta 3$ -інтегрини.

ЛІФ – секреторний глікопротеїн, який має різноманітну плейотропну дію в клітинних системах як в природних умовах, так і in vitro. Він належить до сімейства лігандів, яке включає в себе інтерлейкін-6 (ІЛ-6), ІЛ-11, онкостатін М, циліарний нейротрофічний фактор, і кардіотропін. Сигнальна трансдукція ЛІФ залежить від його зв'язування з низькоафінним рецептором ЛІФ, gp190, який викликає асоціацію ліганд / рецепторного комплексу з іншим мембранозв'язаним білком gp130. ЛІФ займає центральне положення серед багатьох сигнальних подій під час ендометріальної рецептивності та

імплантації [12, 100, 101]. Висока експресія ЛІФ є показником рецептивності ендометрія у жінок дітородного віку. Тим не менш, у безплідних жінок, дані про експресію ЛІФ і його секрецію в ендометрії є спірними [100].

Найважливішу роль у процесах імплантації грають інтегрини, які протягом вікна імплантації розглядаються як потенційні маркери маткової рецептивності. Субодинаця $\alpha 1$ присутня тільки в лютеїновій фазі (15-28-й дні), $\alpha 4$ -інтегрини експресуються на 14–24-й день, в той час, коли $\beta 3$ -субодинаця з'являється тільки на 20-й день МЦ і визначається в середню лютеїнову фазу. Коекспресія $\beta 3$, $\alpha 4$ і $\alpha 1$ -інтегринів спостерігається в залозистому епітелії тільки в період вікна імплантації [96].

Зміни експресії інтегринів виявлені в ендометрії жінок з порушеннями репродуктивної функції. Рівень м-РНК інтегринів на 21-22-й день МЦ може визначати успіх програми ДРТ [97 –98]. У пацієнток з нормальним рівнем інтегринів відсоток настання вагітності вище в порівнянні з пацієнтками з низьким його рівнем. У поточному дослідженні експресія $\alpha V\beta 3$ -інтегринів і остеопонтину, їх коекспресія були вивчені в біоптатах ендометрія на L+6 і L+8 дні від нормальних здорових жінок і безплідних пацієнток. Не виявлено статистично значущих відмінностей щодо експресії інтегринів і остеопонтину, їх спільної експресії. Зроблено висновок, що функціональне значення комплексу остеопонтину і $\alpha V\beta 3$ -інтегрину в якості маркера рецептивності ендометрія і імплантаційного потенціалу у жінок, здається неспроможним.

Вміст субпопуляцій НК-клітин в периферичній крові в жінок з невдалими спробами ДРТ(С)

НК-клітини є найбільш поширеними імунними клітинами, які інфільтрують ендометрій під час імплантації. Це перша лінія клітинного механізму імунного захисту й вона має тісні контакти з зародком або плацентою. Кількість і фенотип НК-клітин в периферичній крові і в ендометрії відрізняються.

НК-клітини складають ~ 15 % всіх лімфоцитів і визначаються фенотипічно шляхом експресії CD56 і відсутністю експресії CD3 на клітинній поверхні.

Більшість (~90 %) людських НК-клітин мають низьку щільність експресії CD56 (CD56dim) і експресують високі рівні Fc γ рецепторів IIIa (Fc γ RIIIa; CD16+), при цьому ~ 10 % від НК-клітин CD56brightCD16dim або CD56brightCD16.

CD16 (також класифікуються як FcγRIIIa) є одним з рецепторів з низькою спорідненістю до Fc-області IgG. FcγRIIIa є інтегральним мембранним білком, що експресується на НК-клітинах, на популяції Т-лімфоцитів, на субпопуляції моноцитів і макрофагів.

CD94 є інгібуючим маркером функції НК-клітин. Він є частиною сімейства кілерних інгібуючих рецепторів, яка є підгрупою суперсімейства типу С лектинів. Цитотоксичність НК-клітин може бути заблокована інгібуючим рецептором CD94. Дисбаланс експресії НК-клітин CD69 і CD94 може призвести до безпліддя або повторного викидня.

Низкою наукових досліджень було встановлено, що підвищений відсоток НК-клітин і збільшення їх цитотоксичності в периферичній крові пов'язано з повторюваними невдалими циклами ДРТ. A. Fukui et al. (2009) дослідили натуральні рецептори цитотоксичності (NKp46, NKp44, NKp30) і експресію цитокінів (фактора некрозу пухлин-α, інтерферону-γ, інтерлейкінів-4 та 10) у жінок з періодичними втратами вагітності і невдачами імплантації при ДРТ і виявили їх аномальне співвідношення у цих когортах жінок. N. Karami et al. (2012) вивчали рівень цитотоксичності НК-клітин шляхом аналізу активності лактатдегідрогенази.

Відсоток CD56(dim) клітин і рівень периферичної цитотоксичності НК-клітин крові у жінок з невдалими спробами екстракорпорального запліднення (ЕКЗ) був значно вище порівняно з фертильними жінками і з успішними групами контролю з ЕКЗ. Результати цього дослідження підтвердили те, що збільшення частки CD56 (dim) клітин і цитотоксичності НК-клітин в периферичній крові можуть бути важливими факторами, що сприяють невдачам ЕКЗ.

НК-клітини відіграють важливу роль в імплантації, ангіогенезі та підтримці вагітності. В ендометрії безпосередньо перед імплантацією, в секреторну фазу 20 % ендометріальних стромальних клітин є лейкоцитами. Після овуляторного сплеску ЛГ і під впливом естрогенів і Р4 стромальні клітини ендометрія перетворюються на пухкий шар секреторних клітин, відомий як децидуальна оболонка. В проліферативному ендометрії число натуральних кілерів (НК) клітин складає ~20 % від числа лімфоцитів, збільшується до ~50 % в секреторну фазу і до 70-80 % в децидуальній оболонці на ранніх термінах вагітності. У період вікна імплантації 70-80 % від

загального числа лейкоцитів в ендометрії становлять великі гранульовані лімфоцити, що експресують CD56+ і CD16-.

Упродовж вікна імплантації децидуальна тканина стає все більш збагаченою ендометріальними НК (еНК), кількість яких різко зменшується перед початком менструації. За відсутності імплантації еНК-клітини видаляються з матки разом з іншими ендометріальними клітинами під час менструації. Кількість НК-клітин в інших регіонах жіночого репродуктивного тракту не змінюється протягом МЦ.

У той же час ряд авторів відмітили, що в осередках ендометріоїдних гетеротопій і в ендометрії під впливом пускових механізмів виникає каскад імунних реакцій з вивільненням значної кількості медіаторів запалення, формуючи спочатку первинну, а потім і вторинну запальну відповідь, яка підтримує персистенцію патологічного процесу в присутності постійної естроген-залежної запальної реакції. Таким чином, було визначено, що клітини ектопірованого ендометрію виділяють біологічні чинники, що пригнічують клітинний імунітет, дезактивація якого призводить до порушення співвідношення специфічних клітин, зокрема НК-клітин і цитотоксичних Т-лімфоцитів. Підвищення активності цих клітин стимулює вироблення простагландинів й інтерлейкинів макрофагами з подальшим підвищенням проліферативної активності ендометрія в осередках гетеротопій і збільшенням синтезу естрогенів, замикаючи коло. Виявлена підвищена експресія CD69 на НК-клітинах при звичному невиношуванні вагітності та безплідді невідомої етіології. CD69 належить до суперсімейства С-лектинів і є типом II інтегрального мембранного білка, що складається з дісульфід-зшитого гомодимеру з двома фосфорильованими ланцюгами. Ця функціональна тригерна молекула на активованих НК-клітинах є одним з найбільш ранніх експресуємих маркерів активації клітинної поверхні. Вона здатна індукувати цитотоксичність та стимулювати продукцію цитокінів.

Окрім цього, медійована НК-клітинна цитотоксичність також опосередковує інші клітинні функції, такі як проліферація, продукція фактора некрозу пухлин- α та експресію інших антигенів активації.

Дослідження останніх років підтвердили, що безплідні жінки, які проходять лікування методом ДРТ, також мають більш високий відсоток випадків підвищеної експресії CD69 на НК-клітинах в порівнянні з

повторнонароджуючими та фертильними жінками. Не було виявлено ніякої кореляції між будь-якими параметрами НК-клітин з тривалістю безплідності або числом циклів перенесення ембріонів.

У той же час дослідження Т. Vaszowski, R. Kurzawa (2007) показало, що тестування периферійних НК-клітин крові та інших лімфоцитів має обмежену цінність як прогностичного фактора при лікуванні пацієнтів методом ДРТ.

Експресія субпопуляцій НК-клітин в ендометрії жінок з невдалими спробами ДРТ(С)

В проліферативному ендометрії число НК-клітин складає ~20 % від числа лімфоцитів, збільшується до ~50 % в секреторну фазу і до 70-80 % в децидуальній оболонці на ранніх термінах вагітності. НК-клітини грають важливу роль в імплантації, ангиогенезі та підтримці вагітності.

В ендометрії безпосередньо перед імплантацією, в секреторну фазу 20 % ендометріальних стромальних клітин є лейкоцитами. Після овуляторного сплеску ЛГ і під впливом естрогенів і Р₄ стромальні клітини ендометрія перетворюються на пухкий шар секреторних клітин, відомий як децидуальна оболонка. У період вікна імплантації 70-80 % від загального числа лейкоцитів в ендометрії становлять великі гранульовані лімфоцити, що експресують CD56+ і CD16-. Протягом вікна імплантації децидуальна тканина стає все більш збагаченою ендометріальними НК (еНК), кількість яких різко зменшується перед початком менструації. За відсутності імплантації еНК-клітини видаляються з матки разом з іншими ендометріальними клітинами під час менструації. Кількість НК-клітин в інших регіонах жіночого репродуктивного тракту не змінюється протягом МЦ.

Окрім цього, кількість еНК-клітин збільшується під час ранньої вагітності й досягає максимуму в кінці першого триместру та мінімуму в термін пологів. Це показує важливу роль цих клітин у створенні і підтримці вагітності. Дослідження, проведені досі, показали, що еНК-клітини проліферують, особливо в секреторну фазу МЦ, так як вони забарвлюються позитивно МАТ для маркера проліферації Ki67. В даний час встановлено, що імунний маркерний фенотип еНК-клітин включає CD56+, CD3-, CD16-, CD94+, CD9+, CD57-, HLA- DR+, CD69+, CD158b+, NKB1+ і L-selectin-. Експресія основних активуючих рецепторів досі не визначена.

НК-клітини в якості ключових вроджених імунних клітин використовують різні ефекторні механізми для сприяння імунного захисту хазяїна, при одночасному усуненні інфікованих вірусом клітин і пухлинних клітин шляхом секреції цитотоксичних продуктів. Дефекти в клітинній активності НК пов'язані з підвищенням інфікування, особливо, герпесвірусною інфекцією, з раком яєчників і матки, з ендометріозом, в той час як підвищена активність НК-клітин пов'язана зі звичним невиношуванням та невдалими спробами ДРТ.

НК-клітини мають здатність посилювати запальну реакцію і сприяти активації макрофагів, генерації цитотоксичних Т-клітин, розпізнаванню грибкових інфекцій, і продукції цитокинів. еНК-клітини експресують кілька Toll-like рецепторів (TLRs) зокрема TLR2, TLR3 і TLR4, які можуть реагувати на агоністи TLR шляхом продукції цитокинів. Різноманітні цитокини, у тому числі інтерлейкін-12, інтерлейкін-15, інтерлейкін-8, інтерлейкін-1 β або інтерферон- α , в поєднанні з натуральними антимікробними пептидами активують виробництво цитокинів НК-клітинами, що призводить до подальшої активації вродженого імунітету.

Принаймні, дві теорії були запропоновані щодо підвищення еНК-клітин в матці: *in situ* проліферація і рекрутмент НК-клітин з периферичної крові. Е2 регулює діяльність НК-клітин за допомогою ендогенного трансформуючого фактору роста- β [143]. Кілька досліджень показують, що інтерлейкін-15 також потрібний для еНК-клітин для виживання, проліферації і диференціювання в децидуальні клітини. еНК-клітини мають відмінний фенотип від НК-клітин крові.

Було показано, що фенотип клітинної поверхні НК-клітин відрізняється в жіночому репродуктивному тракті. Наприклад, CD69+ і CD96+ обидва експресуються НК-клітинами в шийці матки і матці, але не в ектоцервіксі. У жінок більшість НК-клітин крові слабо експресують CD56+, слабо або помірно CD16 (CD56dimCD16+). еНК жінки відрізняються від них в десятки разів більшою експресією CD56CD16-, що мають високу продукцію цитокинів, і малою кількістю CD56CD16+, що характеризуються цитотоксичними здібностями, високим ангіогенним потенціалом і експресією кілерних Ig-подібних рецепторів.

еНК-клітини, але не НК-клітини крові, продукують деякі цитокини, суттєві для імплантації такі як, судинно-ендотеліальний фактор росту, плацентарний

фактор росту, ангіопоетин-2 і ЛІФ. Нарешті, можна зробити висновок, що еНК-клітини беруть участь в декількох процесах, в тому числі імунному захисті, децидуалізації, імплантації та вагітності.

Кілька досліджень показали збільшення кількості клітин ендометрія еНК у жінок зі звичним невиношуванням вагітності. Інші роботи показали, що велике число клітин ендометрія є еНК у жінок з рецидивуючою недостатністю імплантації.

Таким чином імплантація бластоцисти є складним процесом, що обумовлений, з одного боку, тим, що ембріон є наполовину чужорідним для материнського організму і є напівалогенним трансплантантом; з іншого боку, тим, що рецептивність ендометрія жінки до імплантації бластоцисти обмежена коротким часовим проміжком – вікном імплантації. Для успішної імплантації ембріон повинен досягти стадії бластоцисти в момент рецептивної стадії розвитку ендометрія. Двонаправлений зв'язок між ембріоном та ендометрієм включає молекули адгезії, цитокіни, клітки імунної системи. Механізми толерантності місцевого ендометріального імунітету матері до напівалогенного ембріона до кінця не вивчені. Клітки трофобласта не експресують класичні антигени (А і В молекули) І класу великого комплексу HLA гістосумісності, але експресують класичні молекули С і некласичні Gмолекули І класу HLA. У процес імплантації залучені маткові природні клітини – кілери, дендритні клітини й регуляторні Т клітини. Незважаючи на всі зусилля, не всі бластоцисти високої якості імплантуються з причин, які не досить добре вивчені на сьогодні. Найвища частота імплантації високоякісної бластоцисти в програмі ДРТ становить близько 60 %.

Функціональна активність ендометрія має широке поняття і включає не тільки рецептивність, але й здатність до «ремодуляції-демодуляції», імунну реактивність, проліферативні і апоптотичні властивості, тому, аналізуючи стан сучасних науково-дослідних робіт, направлених на покращення репродуктивного здоров'я жінок із безпліддям, звертає увагу все більш широке використання в технологіях, що застосовують компоненти крові, зокрема аутоплазма, що містить тромбоцити, має широкий спектр модулюючих та регулюючих функцій за рахунок первинних чинників зростання (таких як тромбоцитарний (PDGF), «сімейство» трансформуючого фактора росту (TGF-R), фактор росту ендотелію судин (VEGF), що сприяють

загоєнню і протистоять інфікуванню тканин. Крім чинників зростання, аутоплазма, містить білки плазми – фібриноген, протромбін та ін., які також впливають на процеси «ремодуляції-демоуляції», виступаючи основою для міграції клітин.

У прегравідарній підготовці жінок, які готуються до подолання безпліддя методиками ДРТ застосування тромбоцитарної аутоплазми цікаве тим, що саме аутоплазму рекомендовано використовувати для подолання хронічних запальних процесів тканини екто- і ендодермального походження (епідермальні і сполучні тканини) з застійними явищами, що характеризуються формуванням дифузної або осередкової мононуклеарної інфільтрації.

РОЗДІЛ 2

АДАПТУЮЧА КОМПОЗИЦІЯ

2.1. Склад адаптуючої композиції

Фахівцями Національного Інституту хірургії та трансплантології (ІХТ) НАМН України імені О.О.Шалімова, Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України, Інституту хімії поверхні (ІХП) імені О.О. Чуйка НАН України та ДНУ «НПЦ ПКМ» ДУС була впроваджена медична технологія застосування адаптуючої композиції (AdC) для досягнення індивідуальної адаптації поверхні імплантатів до організму реципієнта, що нівелює сигнал «свій/чужий» та запобігає відторгненню імплантату [99].

Відомо, що поверхня імплантату не є однорідною з точки зору енергії адсорбції. На поверхні протеза існують специфічні «місця зв'язування» (епітопи), що розпізнаються захисними елементами імунної системи – імуноглобулінами класу G (IgG) реципієнта, як чужорідні. Адгезія IgG супроводжується викидом цитокінів з наступним рекрутингом макрофагів, активацією імунної системи реципієнта та утворенням вільних радикалів [100].

На основі вище викладеного було розроблено медичну технологію застосування AdC для досягнення індивідуальної наноадаптації поверхні імплантатів до організму реципієнта, яка знімає сигнал «свій/чужий» та запобігає відторгненню імплантату.

Згідно з дослідженням, проведеним фахівцями Інституту хімії поверхні ім. О.О. Чуйка НАН України було встановлено, що нанесення розчину альбуміну низької концентрації аутосіроватки крові реципієнта на поверхню імплантату дозволяє утворити шар білка товщиною в одну молекулу. Це підтверджено дослідями з кінетики адсорбції альбуміну на поверхні металу методом еліпсометрії, за допомогою якого визначено товщину шару адсорбованого білка, що становить $\sim 5,5 \pm 0,6$ нм на 5-ій хвилині контакту. Наведена товщина адсорбованого білка відповідає значенню мономолекулярного шару. Поява шару альбуміну на поверхні імплантатів

призводить до екранування центрів зв'язування з IgG та попереджає активацію імунної відповіді. Подібний захисний наношар, призводить до того, що імунна система не «реагує» на імплантат як на чужорідний об'єкт і активація імунної системи блокується на початковій стадії, а розведення в 10 разів сироватки призводить до розгортання глобул альбуміну в лінійні молекули [101].

Склад адаптуючої композиції представлений в таблиці 1.

Таблиця 1

Склад адаптуючої композиції

Компоненти AdC	Абсолютний об'єм компонентів 20 мл AdC, мл (± мл)	Співвідношення компонентів, % (± %)
Розчин 0,9 % NaCl	18,0 ± 0,01	90,0 ± 0,1 %
Фільтрована сироватка крові реципієнта	2,0 ± 0,001	10,0 ± 0,2 %
Білкові фракції сироватки крові реципієнта:	Абсолютна кількість білків у 20 мл AdC, г/ 20 мл (± г/ 20 мл)	Співвідношення білкових компонентів, % (± %)
- альбуміни	0,94 ± 0,26	61,02 ± 16,88 %
- α1-глобуліни	0,04 ± 0,002	2,60 ± 0,12 %
- α2-глобуліни	0,14 ± 0,02	9,91 ± 1,29 %
- β-глобуліни	0,18 ± 0,015	11,69 ± 0,97 %
- γ-глобуліни	0,24 ± 0,06	15,59 ± 3,89 %

Концентрацію білкових фракцій AdC визначено за допомогою методу гель-електрофорезу білкових фракцій AdC.

Незважаючи на те, що у сироватці крові реципієнта, що входить до складу АК, містяться γ-глобуліни (поміж яких є IgG), у молярному відношенні концентрація альбуміну на ступінь вища за концентрацію імуноглобулінів в ній. Ефект екранування епітопів поверхні імплантату альбумінами АК також зумовлений тим, що кінетика багатоцентової незворотної адсорбції альбуміну набагато вища за таку, що спостерігається в глобулінів.

Обґрунтування щодо співвідношення між об'ємом фільтрованої сироватки крові реципієнта та фізіологічним розчином полягає в тому, що розведення в 10 разів сироватки призводить до розгортання глобул альбуміну в лінійні молекули [102].

2.2. Методика вимірювань засобами атомно-силової спектроскопії

АСМ дослідження біoadгезійної сили відриву проводилися на скануючому зондовому мікроскопі Dimension 3000 NanoScope IIIa (Veeco corp.) як на повітрі (при температурі 22 °С та відносній вологості 30%), так і в рідкому середовищі (0,9% розчин хлориду натрію). Швидкість вертикального переміщення зонду вибиралась в діапазоні від 20 до 20000 нм/сек.

Для вимірювань використовувались контактні зонди із Si₃N₄ марки DNP-20 (Veeco Inc.) із V-подібним кантилевером. Усереднений радіус вістря зонда складав 30 нм, жорсткість кантилевера – 0,06 Н/м. Контроль форми вістря проводився перед та після вимірювань за методом «сліпої реконструкції» із використанням тестової ґратки TGT-1 (NT-MDT). Уточнення значення жорсткості кантилевера проводилось за аналізом спектра його температурного шуму.

Типова форма вершини зонда показана на рис. 1. Вона представляє собою вершину чотирикутної піраміди (рис. 1а). Саме ж вістря має еліптичну форму. Як видно із вставки на рисунку 1б, вершина вістря добре апроксимується колом до висоти близько 25 нм. Це дозволяє застосовувати при теоретичних розрахунках модель сферичного зонда. Щоб уникнути ефекту можливої модифікації досліджуваних поверхонь та мінімізувати вплив рельєфу, серії силових кривих знімалися з кроком по поверхні 100 нм, покриваючи площу 1х1мкм (по 100 кривих в одній ділянці поверхні).

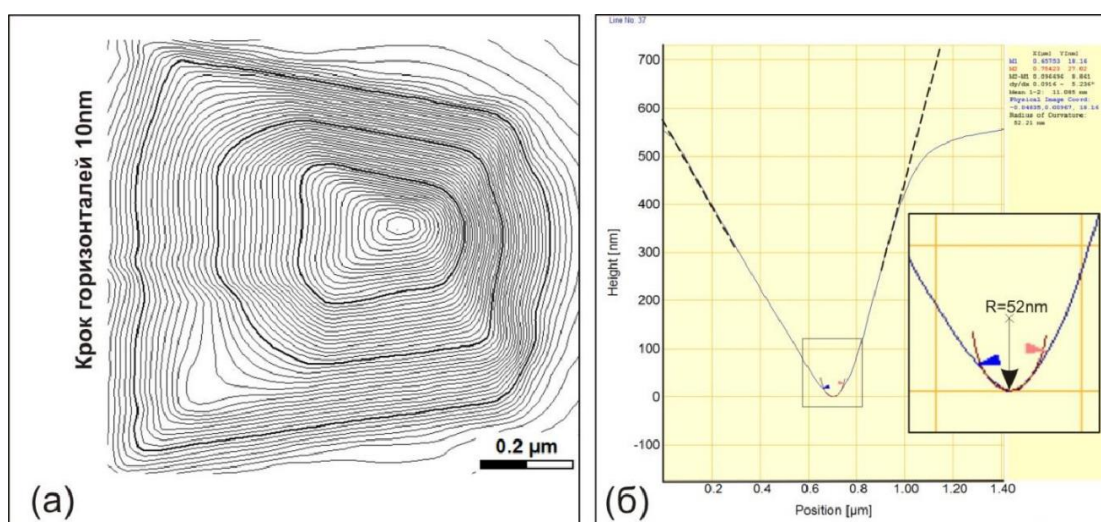


Рис. 1. Детальна геометрія АСМ- зонда, саме вістря якого добре апроксимується еліпсоїдом або сферою з ефективним радіусом R .

а) – загальний вигляд, б) – переріз вістря по протилежних ребрах через вершину

Схема вимірювань біоадгезійної сили відриву представлена на рис. 2. У початковий момент зонд, модифікований антитілами (АТ), знаходиться далеко від поверхні зразка (рис. 2б, точка 1) і сила взаємодії поверхня-АТ (антигену (АГ)) рівна нулю. Далі АСМ система вертикального переміщення зонда підводить зонд до поверхні, контролюючи відстань з ангстремною точністю. При деякій мінімальній відстані зонд-поверхня відбувається «захоплення» модифікованого зонда поверхнею під дією сил притягання (рис. 1б, точка 2). При подальшому зближенні зонда і поверхні починають діяти сили відштовхування, що перешкоджають проникненню зонда в поверхню. Після досягнення максимального значення сили відштовхування (задається оператором виходячи з умов експерименту) (рис. 2б, точка 3) – починається зворотне вертикальне переміщення зонда. При цьому, рівнодіюча всіх сил, що утримують модифікований зонд біля поверхні врівноважується силою пружної деформації консолі зонда в точці 4, в якій і відбувається відрив від поверхні. Таким чином, максимальна величина сили біоадгезійної взаємодії відповідає величині сили відриву зонда від поверхні (точка 4), що дорівнює силі пружної деформації консолі зонда, вимірюваною системою детектування АСМ по величині її прогину d .

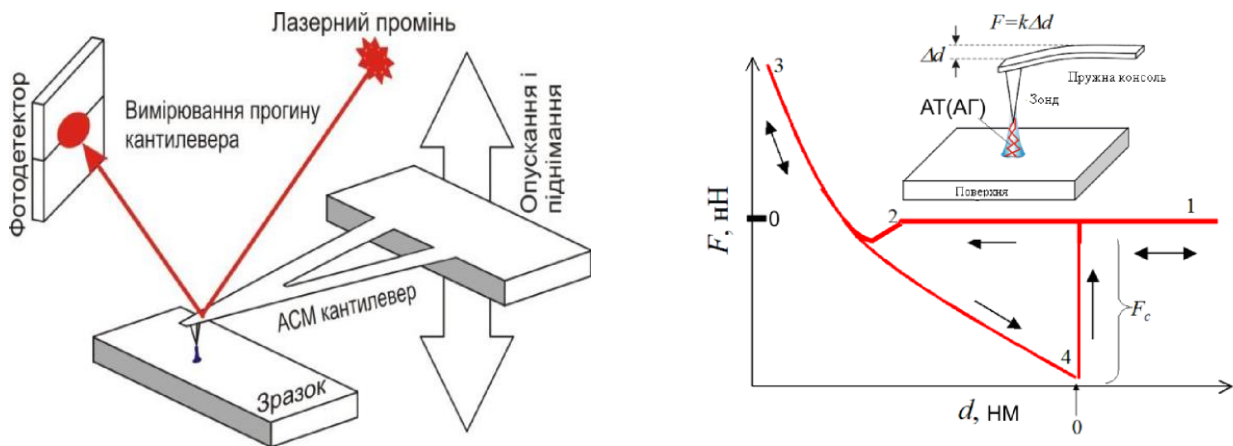


Рис. 2. (а) Схема вимірювання сил взаємодії «зонд-поверхня» в режимі атомно-силової спектроскопії (АСС); (б) схема вимірювань біоадгезійної сили відриву F методом АСС. Сила біоадгезії визначається по вимірянній АСМ величині пружної деформації консолі зонда d як $F = kd$, де k – пружна постійна консоль

Поверхні зонда і підкладок модифікувалися за допомогою покриття антигенами (АГ) та антитілами (АТ). В якості АГ в роботі використаний альбумін сироватки крові кроля (САК) (SERVA, Швейцарія), як АТ – використані поліклональні антитіла віслюка проти альбуміну кроля (SERVA, Швейцарія). АГ і АТ наносилися з 0,1 мкг/мл фізіологічного водного розчину (0,9% NaCl).

Вимірювання були проведені, як на повітрі, так і у воді з метою перевірити різницю між отриманими даними, чи є вона суттєвою для проведення оцінок сил біoadгезії. Під час вимірювань в атмосфері на поверхні зразка через присутність капілярних сил утворюється так званий капілярний місток, який дає значний внесок у величину адгезивних сил. Таким чином, значення сили відриву при вимірюваннях на повітрі більші, ніж під час вимірювань у воді. Однак, як було встановлено, якісні співвідношення між значеннями сил відриву для різних зразків зберігаються.

Підготовка АСМ зондів

Нанесення біомолекул на зонд АСМ (функціоналізація) має ключове значення для реєстрування молекулярного розпізнавання. Як правило, слід надавати перевагу використанню ковалентного зв'язування для кріплення біомолекул на зонди, яке зазвичай реалізується за допомогою або тілових або силанових поверхневих хімічних сполук.

Підготовка тестових поверхонь

Для підтвердження достовірності отримуваних результатів, вимірювання силових взаємодій між функціоналізованим АСМ зондом та осадженими на тестові поверхні рецепторами слід порівнювати з рецепторами, іммобілізованими на перевірених інертних поверхнях з використанням відповідних зв'язуючих сполук. Добре зарекомендували себе в цьому плані підкладки зі слюди, скла і кремнію.

В загальному випадку, використання хімічної фіксації і/або висушування на повітрі, як правило, слід уникати, оскільки це може призвести до денатурації елементів поверхні клітини. Разом з тим, в експериментах, де оцінюються реакція білкових молекул на різні мінеральні поверхні слід зважено забезпечувати умови для прояву фізіосорбції, неспецифічної адсорбції та супутніх конфірмаційних змін. Тому адсорбція рецепторних молекул з рідкого буферного середовища на поверхні оброблені тільки

сумішшю Нікіфорова (сірчаний ефір та спирт у співвідношенні 1:1) є прийнятною. Запис силових кривих. В залежності від типу зонда і зразка тривалість роботи функціоналізованого зонда може бути дуже короткою через його забруднення або пошкодження. Зокрема, коли поверхня зразка є тендітною і покрита слабо зв'язаним матеріалом, як часто буває на поверхні клітин, функціональність «біологічного» зонду може бути втрачена вже після запису одного зображення або кількох силових кривих. За таких умов, може бути корисним запис морфології поверхні зразка немодифікованим зондом для визначення області поверхні, яка є досить гладкою, однорідною і стабільною, перш ніж підводити функціоналізований зонд. Тоді, рекомендується записувати силові криві відразу ж після підведення зонда в одній точці поверхні і оцінити як змінюється характер кривих з часом і при переміщенні з одного місця на інше. Щоб уникнути неконтрольованих змін зонда і зразка слід обмежувати максимальну силу навантаження (контакту зонд-поверхня) до декількох сотень пікоНьютон. Кількісні силові вимірювання вимагають точного визначення пружної константи кантилевера, що може бути здійснене різними експериментальними методами, або може гарантуватись використанням зондів спеціально сертифікованих фірмами-виробниками. Зменшити витрати часу та собівартість проведення досліджень можна використовуючи вимірювання еталонних поверхонь та подальші тестові дослідження серій імплантатів одним і тим же зондом.

Зміна швидкості реєстрації силових кривих

Для експериментів з силової спектроскопії комплексів рецептор-ліганд важливо змінювати швидкість запису (навантаження) кривих більше ніж на порядок. Сила зростає при зменшенні часу, протягом якого відбувається розрив комплексу рецептор-ліганд і може бути апроксимована ефективною пружністю системи (кантилевер – зв'язані молекули) помноженою на швидкість розривання. Отже, ефективну пружність можна змінювати шляхом використання кантилеверів з різною пружністю та/або шляхом зміни швидкості відведення зонда від поверхні. Верхня межа визначається силовою чутливістю системи вимірювань та можливим виникненням гістерезису при наближенні й відведенні від поверхні. Остання викликана гідродинамічними силами, які діють на кантилевер під час руху. Як правило, пружні константи не повинні перевищувати 0,1 Н/м, і швидкість повинна бути нижчою за 5 мкм/с.

Підготовка зразків

Експеримент in vitro. Як модельні матеріали для визначення взаємодії імуноглобулінів (IgG) з антигенами (АГ) були обрані підкладки із золота, скла, свіжо сколеної слюди і кремнію. Серед тестових матеріалів були відібрані тетрафторполіетилен, медична сталь марки Х18Н10Т, цирконій та титан.

Для функціоналізації зонда використовували поліклональні IgG віслюка проти альбуміну кролика (АТ), які були надані відділом Молекулярної імунології Інституту біохімії ім. А.В. Палладіна НАНУ. АТ наносили на зонд з 0,1 мкг/мл розчину. Сироватковий альбумін кроликів (САК) наносили на підкладки з 0,1 мкг/мл розчину в хлориді натрію (0,9%). Препарати на зонди і підкладки наносилися без попередньої хімічної обробки їх поверхонь (зонд занурювався в мікрокраплю препарату за допомогою системи підводки АСМ); краплі препаратів наносилися на підкладки, після обробки сумішшю Нікіфорова (сірчаний ефір: спирт-1:1). У дослідженні проводили по три серії вимірювань силових взаємодій на повітрі та в рідині:

1. Чистий АСМ зонд і чиста підкладка;
2. Функціоналізовані IgG зонд і чиста підкладка;
3. Функціоналізовані IgG зонд і підкладка + білок.

Експеримент на модельних підкладках (in vitro)

Нижче на рисунках наведені типові силові криві відриву АСМ зонду від поверхні зразків, у випадку скла і золота, які реєстрували на повітрі та в рідині (фізіологічному розчині). Абсолютне значення сили відриву відповідає величині стрибка на кривій від мінімуму до нуля при збільшенні відстані «зонд / поверхня». Істотна відмінність у величині сил відриву в атмосфері і рідині обумовлено, перш за все, дією сил поверхневого натягу рідини, конденсованої на поверхні зонда, і підкладки. Як видно з рис. 3 та рис. 4. (сині криві під номерами 4 і 5, відповідно), сили відриву чистого АСМ зонду від поверхні скла і золота на повітрі приблизно однакові. Введення в систему «зонд / підкладка» білка призводить до строго закономірних змін величини сил відриву, що залежать від типу підкладки.

Як впливає з отриманих даних (рис. 3, рис. 4) поверхневі властивості матеріалу підкладки істотно впливають на біoadгезивні процеси. Підкладки зі скла і золота, з притаманними їм здатностями утворювати сильні ковалентні зв'язки, змінюють характер взаємодії.

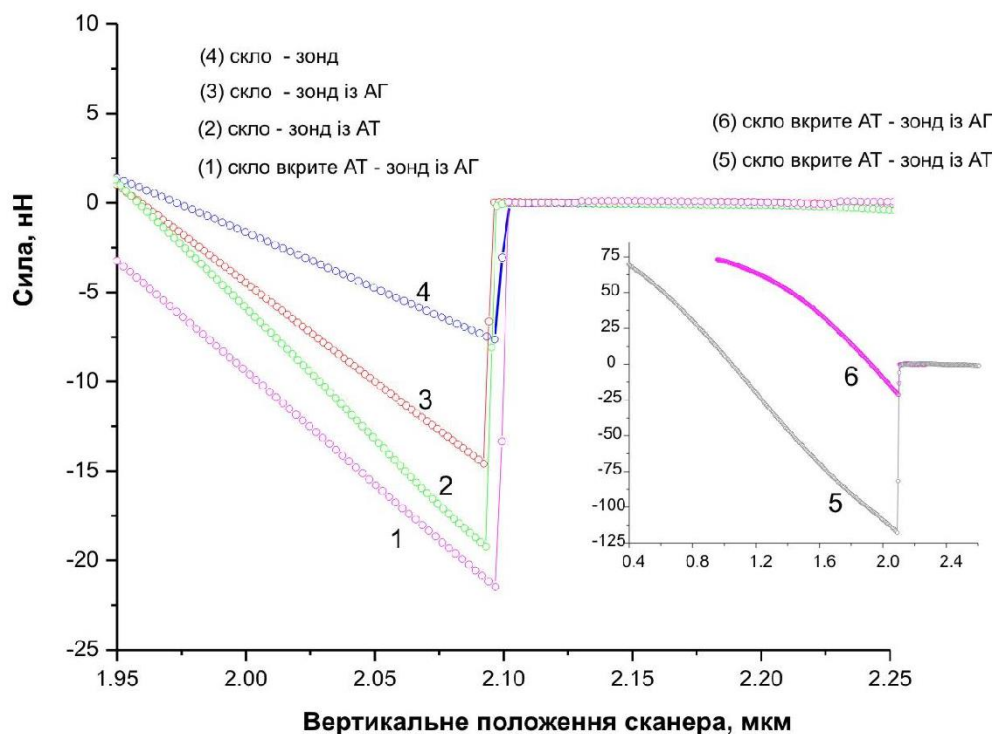


Рис. 3. Типові силові криві відриву АСМ зонда від поверхні скла.
Позначення кривих відповідають різним варіантам силових взаємодій.
На вставці показана силова крива «АТ–АТ» в іншому масштабі

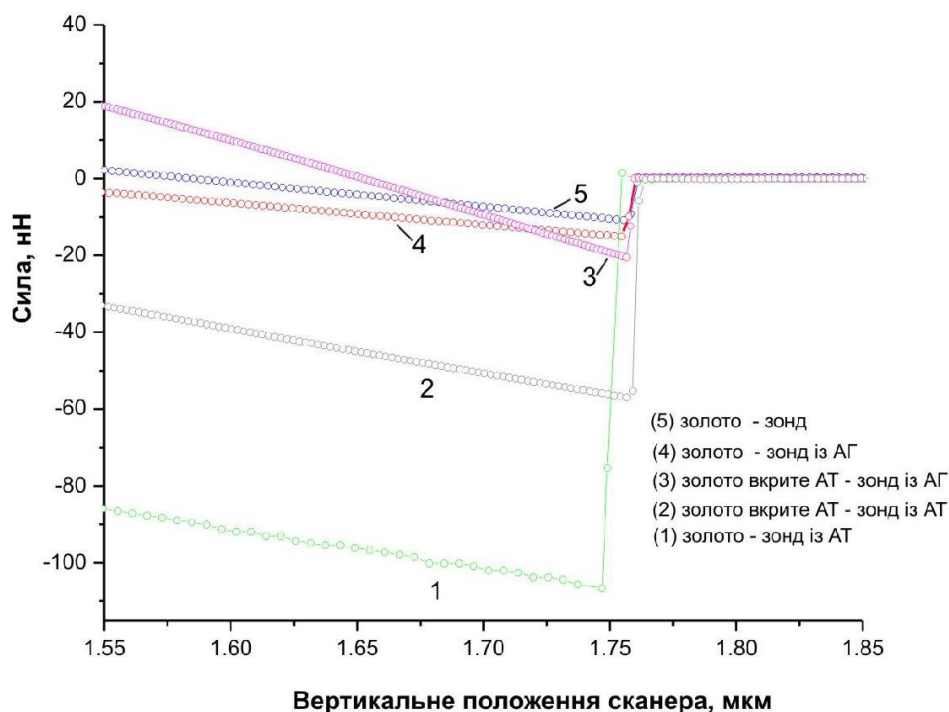


Рис. 4. Типові силові криві відриву чистого і функціоналізованого АСМ зонда від поверхні Au на повітрі. Дані наведені для різних комбінацій функціоналізації зонда і поверхні

При вимірах в рідині видно, що навіть чистий зонд з SiN 3 добре розрізняє підкладки: на склі спостерігається дуже незначна Ван-дер-Ваальсова взаємодія (рис. 5 а), в той час як на золоті зареєстровано значне ковалентне зв'язування, що поширюється на великі відстані (рис. 5 б). Що ж стосується молекул АТ, то всупереч очікуванням, в рідині виявлена більш сильна взаємодія у разі скляної підкладки (криві «зонд із АТ»).

Дані вимірювань на повітрі для підкладок слюди (іонний кристал) і кремнію наведені у таблицях 2 та 3.

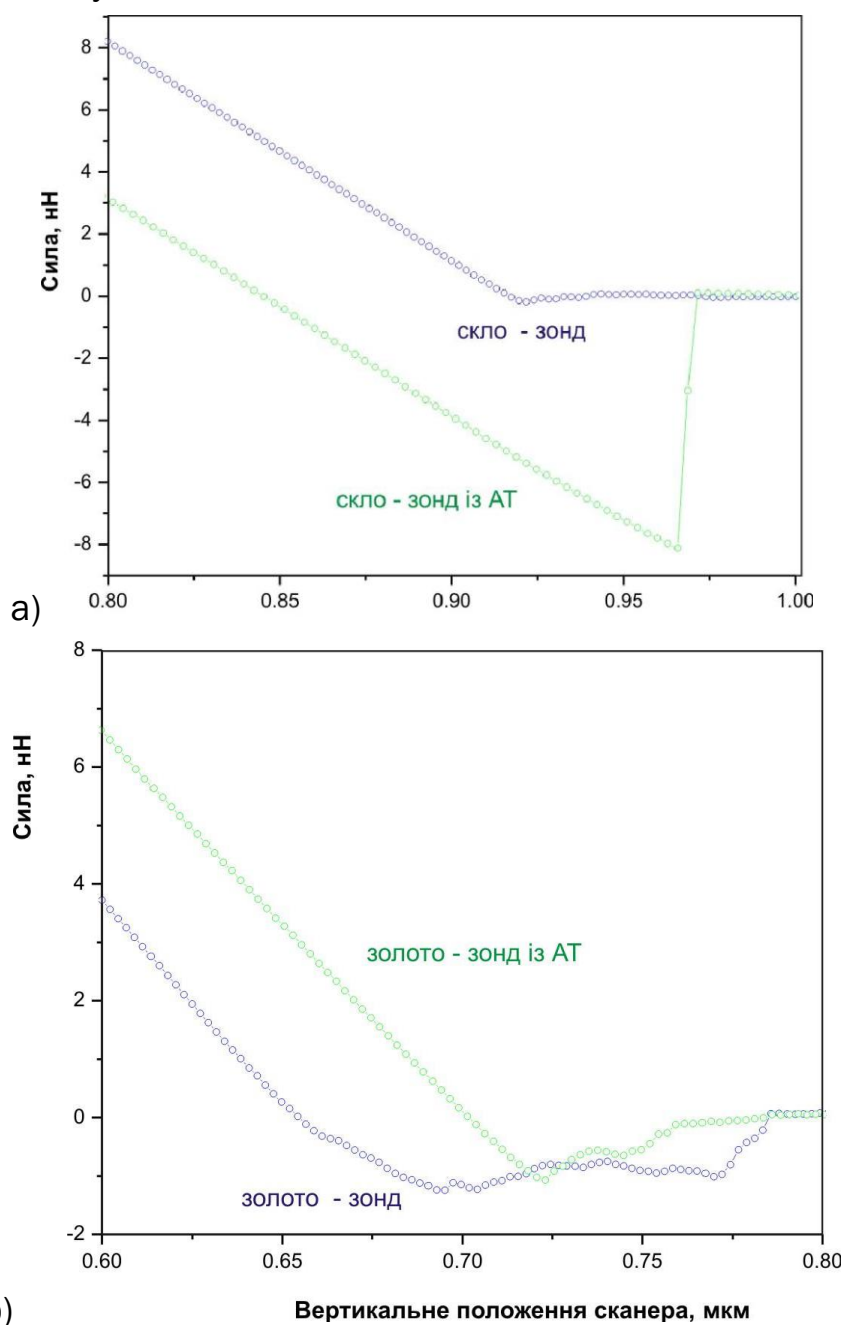


Рис. 5. Типові силові криві відриву чистого зонда і зонда з антитілом від підкладки скла (а) та золота (б) у фізіологічному розчині

Таблиця 2

Сила взаємодії на повітрі функціоналізованого зонда і нефункціоналізованої підкладки

Навантаження зонда	Сила взаємодії зонд-підкладка, нН			
	Au	Скло	Слюда	Si
Зонд с АТ	-101	-16	Немає контакту	-35
Зонд с САК	-15	-14	- 47	-19

Дані таблиці 2 показують, що чиста підкладка із золота утримує зонд з АТ найсильніше.

Підкладка зі слюди відштовхує зонд з такою силою, що відбувається істотна деформація консолі, і в результаті зонд не стикається з поверхнею. Сила взаємодії «зонд-скло» мінімальна, і дорівнює 16 нН. У випадку, коли зонд навантажений антигеном САК – сила утримування чистою підкладкою для скла і кремнію практично відповідає тим же значенням, що і для зонда, навантаженого АТ, в разі підкладки зі скла. Сила утримання зонда золотою підкладкою знижується в 7 разів, у порівнянні із зондом з АТ. А навантажений АГ зонд утримується підкладкою зі слюди сильніше, ніж іншими підкладками.

Таблиця 3

Сила взаємодії на повітрі функціоналізованого АТ зонда і функціоналізованої підкладки

Модифікація підкладки	Сила взаємодій зонд-підкладка, нН			
	Au	Скло	Слюда	Si
АТ	-56	-115	-52	-117
Антигеном САК	-20	-21	-18	-19

Як видно з таблиці 3, при модифікації поверхні САК сили взаємодія в системі "підкладка – зонд", істотно змінюються. Так на золотій підкладці взаємодія АТ-АТ призводить до збільшення утримуючої сили в порівнянні з чистою підкладкою і модифікованої АГ. Утримання склом зонда з АТ призводить збільшення сили утримання в 7 разів (115 нН проти 16 нН).

Таким чином, висока спорідненість золотої підкладки до АТ дає можливість припустити, що при імплантації в організм даного реципієнта

імплантату, покритого золотом або виготовленого із золота, можна очікувати суттєвої активації імунної відповіді організму.

Модифікація поверхні підкладок АГ не призводить до суттєвих змін в адгезивних силах, які залишаються в межах 15-20 нН. Однак зниження цих величин у порівнянні з результатами для підкладок, модифікованих АТ, є істотним. Так у випадку підкладки з кремнію, сила біоадгезії падає в 6 разів (від 117 нН до 19 нН). Ці результати вступають в конфлікт з уявленням про те, що афінність (спорідненість) між АГ-АТ, які використовувались в експерименті, спостерігається тільки при взаємодії цих пар. Більша взаємодія між підкладкою з АТ і зонду, функціоналізованого АТ, яка спостерігалася у всіх випадках, пояснюється тим, що в якості АГ використовували сироватковий альбумін. САК як транспортний білок не має жорсткої просторової структури і має здатність змінювати свою конфігурацію в залежності від поверхні об'єкта з певним зарядом (в нашому випадку – підкладки). Внаслідок цього, АТ проти сироваткового альбуміну можуть давати перехресні реакції з безліччю речовин, які мають на своїй поверхні активні центри, що збігаються з епітопами АГ. З іншого боку при адгезії АТ на поверхні відбувається зміна їх структури і в навколишнє середовище виділяється сигнал для рекрутингу АТ з подібними розпізнавальними властивостями.

2.3. Результати досліджень використання адаптуючої композиції в травматології (результати досліджень *in vitro*)

Дослідження були проведені на 14 кролях, самцях, породи «сірий велетень» масою 2,5–3,0 кг. Експерименти на тваринах проводили у віварію ДУ «Інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова НАМН України» відповідно до стандартів біоетичних принципів. Експерименти проводили відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (№ 3447–IV від 21.02.2006 р.) із дотриманням вимог Комітету з біоетики хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986).

Кроликам під загальною анестезією були імплантовані металеві спиці. Для отримання доказових результатів в праву нижню кінцівку тварин встановлювали спиці із нержавіючої сталі 316L, які попередньо були оброблені білками сироватки крові реципієнта – адаптуючою композицією (AdC), а в ліву нижню кінцівку – спиці без обробки.

Технологія приготування AdC та методика обробки поверхні імплантів для поліпшення біосумісних властивостей описані в методичних рекомендаціях «Клінічне застосування обробки поверхні імплантів адаптуючою композицією для поліпшення їх біосумісних властивостей у реконструктивно-відновлювальній хірургії» 58.16/140.16. [103].

Основні етапи обробки включали наступні процедури. У реципієнта набирали, кров із вени за допомогою вакуумтейнера, після формування згустку 10-16 хв центрифугували протягом 7 хв при 500g. Сироватку крові 2 мл відбирали у стерильний шприц 5 мл та пропускали для додаткової стерильності через разовий мембранний фільтр з порами 0,22 мкм, насадженим на шприц, до стерильної ємності з 20 мл стерильного фізіологічного розчину.

Розведення сироватки у 10 разів приводить до розкручення глобул альбуміну у лінійні молекули. [104] Крім того, у молярному відношенні концентрація альбуміну на порядок вища за концентрацію імуноглобулінів, які ще залишились у сироватці. Кінетика адсорбції альбуміну на поверхню також вища за таку у імуноглобулінів.

Після приготування AdC переливають у зручний для занурення протеза стерильний посуд (кювету, лоток, пакувальну для протеза ємність і т.д.) та витримують у ній 5 хвилин, після чого проводиться імплантація.

Посуд або ємність для витримування протеза повинна мати об'єм достатній для повного занурення протеза. Пакувальна ємність для об'ємного протеза є оптимальним рішенням для його витримування в AdC, так як потребує мінімальну її кількість для занурення.

Через 4 місяці після імплантації проводили рентгенографічне, імуногістохімічне та гістоморфологічне дослідження.

Склад запропонованої AdC представлений в табл. 4.

Таблиця 4

Склад AdC

Білкові фракції сироватка реципієнта:	Абсолютна кількість білків у 20 мл AdC, г/ 20 мл ($\pm$ г/ 20 мл)	Співвідношення білкових компонентів, % ($\pm$ %)
альбуміни	0,94 $\pm$ 0,26	61,1 $\pm$ 16,7
α 1-глобуліни	0,04 $\pm$ 0,002	2,4 $\pm$ 0,12
α 2-глобуліни	0,14 $\pm$ 0,02	9,6 $\pm$ 1,3
β -глобуліни	0,18 $\pm$ 0,015	11,5 $\pm$ 1,0
γ -глобуліни	0,24 $\pm$ 0,06	15,4 $\pm$ 3,9

Для статистичної обробки даних використовували в пакеті статистичного аналізу MedCalc v.17.2 (MedCalc Software Inc, Broekstraat, Belgium, 2017 р.) та пакета MedStat (Лях Ю.Є., Гур'янов В.Г., 2004–2011 рр.). Вплив факторів ризику оцінювали за показником зниження абсолютного ризику (ЗАР), за методом побудови та аналізу логістичних моделей регресії, якість моделей за методом побудови кривих операційних характеристик та площею під кривою (ППК), предиктивною цінністю позитивного та негативного результатів. Розраховували відповідні 95% вірогідні інтервали (95% BI).

Результати рентгенологічного дослідження показали відсутність ознак періоститу в місці встановлення спиць попередньо оброблених AdC, однак ортопедичні імпланти без обробки в 35,7% (5 із 14 випадків) викликали запалення надкисниці.

На правій кінцівці в місці встановлення ортопедичних спиць ознаки місцевого запалення надкисниці не виявлено, але на лівій кінцівці спостерігалось її потовщення, що характерно для ознак періоститу рис. 6.



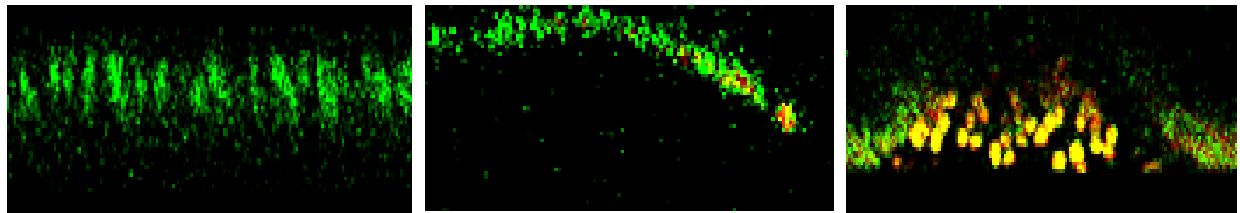
Рис. 6. Рентгенограма стегнових кісток кроля із встановленими спицями через 4 місяці після операції.

L – ліва кінцівка зі спицями, без обробки білками сироватки крові реципієнта AdC; R – права кінцівка з ортопедичними імплантатами обробленими білками сироватки крові реципієнта AdC

Згідно з результатами рентгенологічного дослідження доведено, що попереднє нанесення на спиці (AdC) нанорозмірного шару білка сироватки крові експериментальної тварини не викликало розвитку періоститу у місці їх встановлення.

На рис. 7 подано результати імуногістохімічного забарвлювання досліджуваних тканин. Тканини здорової тварини були рівномірно забарвлені, чітко візуалізовані колагенові волокна на рис. 7, А.

На рис. 7, В у місці введення імплантату виявилося невелике накопичення лімфоцитів, а на рис. 7, С – інтенсивна лімфоцитарна інфільтрація.



А

В

С

Рис. 7. Імуногістохімічне забарвлення тканин біля імплантату через 4 місяці після встановлення спиць: А – колагенові волокна; В – невелике накопичення лімфоцитів; С – інтенсивна лімфоцитарна інфільтрація

Ми вважаємо, що фарбування білкового шару альбумінів на поверхні імплантатів може призводити до екранування центрів зв'язування з IgG та блокується на початковій стадії імунної відповіді, отже імунна система не «реагує» на імплантат як на чужорідний об'єкт, а активація імунної системи блокується на початковій стадії. Таким чином, обробка імплантатів сироваткою реципієнта перед імплантацією за запропонованою технологією дозволяє знизити ($p=0,04$) рівень розвитку місцевого запалення, а отже зменшити частоту виникнення інтра та післяопераційних ускладнень при використанні AdC, ЗАР= 35,7% (6,8% – 61,2%) порівняно з необробленими імплантатами.

Таким чином у жодної тварини не було виявлено патологічних гістоморфологічних змін, пов'язаних з обробкою спиць AdC. Результати імуногістохімічного та гістоморфологічного досліджень тканин навколо імплантату показали, що застосування запропонованої методики обробки AdC знижує рівень прозапальних змін: попередження формування фіброзно-сполучної капсули та відсутність ознак періоститу імплантату після обробки спиць AdC ($p<0,05$) порівняно з необробленими.

Ймовірність відсутності ускладнень, асоційованих із реакцією відторгнення ортопедичних імплантатів після обробки AdC, протягом 12 місяців складає 100% (95% ВІ 78,2% – 100%), а рівень загальної клінічної ефективності запропонованої технології досягає середнього значення (ППК = 0,69; $p < 0,001$).

На основі отриманих експериментальних даних можна припускати, що обробка поверхні різних типів ортопедичних імплантатів AdC для поліпшення їх біосумісних властивостей з організмом реципієнта є доцільною.

У дослідженні підтверджено, що імплантація будь-якого екзогенного матеріалу є тригером активації імунної відповіді з боку організму реципієнта. Це пов'язано з наявністю на поверхні імплантатів епітопів – антигенних детермінант, які розпізнають IgG реципієнта, що призводять до активації його гуморального та клітинного імунітету.

Обробка імплантату розчином сироватки крові реципієнта безпосередньо перед операцією блокує активні центри на його поверхні, попереджує адгезію на ній імуноглобулінів та активацію імунної відповіді. Результатом використання запропонованої технології є суттєве зниження ступеня реакції організму реципієнта на чужорідний матеріал.

Клінічне застосування адаптуючої композиції (AdC) для адаптації імплантатів з метою поліпшення їх біосумісних властивостей по відношенню до організму реципієнта характеризується 100% (95% ВІ 78,2%-100%) вірогідністю відсутності ускладнень.

2.4. Технологія приготування та способи використання адаптуючої композиції в кардіохірургії

За нашою методикою [105], що була модифікована для зручності використання в практичній медицині [106], у реципієнта набирають із вени (венозну кров) 20 мл крові. Кров відстоюється протягом 15 хв для формування згустку. Далі пробірки центрифугують протягом 7 хв при швидкості 3000 об/хв. Стерильним одноразовим шприцом відбирають 2 мл сироватки крові та пропускають її через разовий мембранний фільтр із порами 0,22 мкм, який насаджується на шприц, до стерильної одноразової

ємкості з 20 мл стерильного 0,9 % розчину NaCl. Пропускання сироватки крові через мембранний фільтр із порами 0,22 мкм дозволяє контролювати стерильність отриманої сироватки та запобігти її контамінації. Слід звернути увагу, що одноразовий мембранний фільтр-насадка з порами 0,22 мкм, за сертифікатом виробника, дозволяє простерилізувати об'єм рідини до 5 мл.

Подальше використання AdC при кардіохірургічній практиці полягало в обробці магістралей згідно з розробленим протоколом. [107] Підготовлену AdC в об'ємі 10 мл відбирали стерильним шприцом, доводили до 20 мл фізіологічним розчином (0,9% NaCl) та вводили в оксигенатор (попередньо заповнений 0,9% NaCl в кількості 1000 мл) через разовий мембранний фільтр з порами 0,22 мкм (Minisart, Sartoriusstedium, Biotech corp.). Надалі у холостому режимі проводили циркуляцію AdC протягом 5-7 хвилин. Після чого вміст оксигенатора повністю зливали і далі проводили стандартну процедуру заповнення оксигенатора розчинами для первинного об'єму заповнення оксигенатора [108].

2.5. Технологія приготування та способи використання адаптуючої композиції в репродуктології

Техніка виконання PRP за стандартною методикою

Основними показниками для проведення PRP- терапії за стандартною методикою в ДРТ програмах є :

- Невідповідність товщини ендометрію дню менструального циклу та на момент імовірного «вікна імплантації ≤ 7 мм». При такому показнику шанси на заступлення, чи благополучний перебіг вагітності дуже низькі, тому і використовують PRP-терапію, завдяки якій в слизовій оболонці (ендометрії) матки активуються процеси відновлення та регенерації.

- Хронічні запальні процеси жіночої репродуктивної системи. PRP-терапію проводять в період ремісії захворювання.

Процедуру PRP-терапії, за стандартною методикою, проводять таким чином: на 5-7-й день стимуляції ендометрію на УЗД оцінюється товщина ендометрію, сама процедура PRP-терапії відбувається на 7-й, 9-й та 11-й день програми. У пацієнтки беруть кров з вени (8-20 мл периферичної крові).

Пробірку з кров'ю поміщають в центрифугу, де відбувається відділення плазми від інших елементів (з крові видаляють еритроцити і лейкоцити, залишаючи тромбоцити).

Плазму додатково готують (концентрують тромбоцити для отримання збагаченою тромбоцитами плазми, в якій концентрація тромбоцитів в 3-5 разів вища, ніж в периферичній крові). В цілому на це йде не більше 30 хвилин. Далі за допомогою тонкого катетера аутоплазму вводять в порожнину матки та орошають нею слизову. Процедура не викликає болю, потім проводиться без анестезії. Контроль товщини ендометрію проводиться на УЗД вже через 1-2 дні. Як правило, однієї маніпуляції достатньо для позитивного результату. При необхідності процедуру повторюють. Протипоказами для застосування як стандартної, так і удосконаленої PRP-терапії є гострі запальні процеси, інфекційні захворювання, порушення системи згортання крові, вагітність та період лактації.

Підтримку періоду раннього ембріогенезу, в лютеїнову фазу кріюцикла, проводили з використанням препаратів: «Утрожестан» в середньому (курсом на 17-18 днів від моменту ЕТ, в середній дозі 400-600 мг, вагінально) і «Інжеста 2,5%» (2 ампули зранку одноразово, внутрішньом'язово, курсом на 17-18 днів від моменту ЕТ), «Прогінова» (в середньому по 2-4 мг, по 1-2 табл. х 2 рази на добу, курсом на 17-18 днів від моменту ЕТ, per os). Окрім вищезазначеного, використовувалися препарати в індивідуальному порядку, які впливали на мікроциркуляторне русло та покращували мікрометаболізм клітин ендометрію.

Підтримка періоду раннього ембріогенезу проводилася до моменту здачі крові на рівень β -субодиниці ХГЛ (14-15-й день після перенесення ембріонів). Тест на вагітність вважали позитивним при рівні β -ХГЛ більше 20 МО/л («біохімічна вагітність»).

Ультразвукова діагностика клінічної вагітності проводилася через 21-й день після перенесення ембріонів, після чого визначали подальшу тактику ведення пацієнток. При настанні вагітності проводили скринінг, що дозволяє своєчасно виявити вроджену патологію плода (етапне ультразвукове дослідження (через 10-12 днів після констатації клінічної вагітності, в 19-20 тижнів), генетичний скринінг «ASTRAY».

Техніка виконання удосконаленої методики PRP-терапії на основі адаптуючої композиції

Різниця в техніках полягає у тому, що у пацієнтки за добу до ЕТ у маніпуляційній кімнаті набирають кров з ліктьової вени за допомогою вакуумтейнера. Далі пробірки центрифугують протягом 7 хв при швидкості 3000 об/хв. Стерильним одноразовим шприцом відбирають 2 мл сироватки крові та пропускають її через разовий мембранний фільтр із порами 0,22 мкм, який насаджується на шприц, до стерильної одноразової ємкості з 20 мл стерильного 0,9 % розчину NaCl. Пропускання сироватки крові через мембранний фільтр із порами 0,22 мкм дозволяє контролювати стерильність отриманої сироватки та запобігти її контамінації. Слід звернути увагу, що одноразовий мембранний фільтр-насадка з порами 0,22 мкм, за сертифікатом виробника, дозволяє простерилізувати об'єм рідини до 5 мл. Розведення у 10 разів аутосироватки пацієнтки, призводить до того, що основними її білковими компонентами є альбумін та імуноглобуліни, при цьому, глобули альбуміну розкручений у лінійні молекули.

При цьому концентрація глобулінів, у адаптуючій композиції, у співвідношенні молекулярно вага/молекула на порядок менше ніж альбуміну. Таким чином при обробці поверхні стінок порожнини матки, аутосиворткою, яка була приготовлена за методикою адаптуючої композиції, утворюється шар альбуміну товщиною в одну молекулу (наношар, розміри якого вимірюються у 10^{-9} м), завдяки багатоцентровій незворотній адсорбції першими адсорбують молекули альбуміну, які його і формують.

Окрім цього, у молярному відношенні концентрація альбуміну на порядок вища за концентрацію імуноглобулінів, що ще залишились у сироватці. Кінетика адсорбції альбуміну на поверхню також вища за таку у імуноглобулінів, тому для молекул імуноглобулінів не залишається доступного місця для неспецифічної адсорбції, що запобігає формуванню захисними елементами імунної системи матері – імуноглобулінами класу G (IgG), на поверхні ендометрію, розпізнавати ембріони, як чужорідні. Це, в свою чергу, особливо у пацієнток з аутоімунною патологією, зокрема АІТ, суттєво знижує ризик активацією імунної системи матері.

Так, як імуноглобуліни класу G (IgG) у перший момент беруть участь у будь-якому контакті з тканинами материнського організму чужорідного по

антигенному складу агенту (клітини, тканини, органи чи імпланти), шляхом осідання на поверхні чужорідного агента. Сила утримання поверхнею IgG залежить від наявності на ній центрів розпізнавання (афінних до першого пулу IgG). Утворення афінного зв'язку між поверхнею чужорідного агента і IgG призводить до активації клітинного імунітету материнського організму, який у подальшому проявляється у місцевому асептичному запаленні. Поява білкового шару на поверхні призводить до екранування центрів зв'язування IgG та попереджає активацію імунної відповіді.

Таким чином, оброблена вищевказаним методом аутосиворотка матері, досягає персоніфікованої адаптації поверхні ендометрію до ембріонів, що нівелює сигнал «свій/чужий» та запобігає їх відторгненню.

Індивідуальне прогнозування сумісності матеріалів з організмом реципієнта на основі атомно-силової спектроскопії біоадгезивних взаємодій IgG із поверхнею імплантатів

В даний час доступний ряд методів для досліджень внутрішніх та міжмолекулярних сил, які діють всередині або між біомолекулами. Найбільш ефективними інструментами є атомно-силовий мікроскоп (АСМ), оптичні пінцети та біомембранні зонди. Ці методи охоплюють діапазон від ентропійних сил величиною в декілька фемтоньютон до величини розриву ковалентних зв'язків у кілька наноньютон. Так, за допомогою АСМ ефективно досліджуються як рецептор-ліганд взаємодії (міжмолекулярні сили), так і структури розгортки окремих макромолекул, наприклад, ДНК (внутрішньомолекулярні сили).

Для вивчення специфічного зв'язування між біомолекулами до комплексів рецептор-ліганд прикладається зростаюча сила і реєструються часові залежності процесу дисоціації. Динамічні аспекти розпізнавання розглядаються методами силової спектроскопії, де аналізуються часові залежності конфірмаційних змін під час рецептор-ліганд дисоціації. Для вивчення внутрішньомолекулярних сил досліджуються силові характеристики при розтягуванні однієї молекули зондом АСМ, що дає уявлення про молекулярні детермінанти механічної стабільності і роль конфірмаційних змін, спровокованих зовнішнім втручанням в регуляції фізіологічних функцій.

Існує ряд контрольованих специфічних біомолекулярних взаємодій, що створює реальні передумови для успішного розв'язання ряду прикладних

діагностичних задач за допомогою нанобіосенсорних технологій, які можуть бути реалізовані на апаратно-програмній базі атомно-силових мікроскопів (АСМ).

Нами запропоновано проведення індивідуального прогнозування сумісності матеріалів з організмом реципієнта на основі атомно-силової спектроскопії біoadгезивних взаємодій IgG із поверхнею імплантатів. Діагностика полягає у вимірюванні величини сили адгезії при випробуванні контакту IgG з біоматеріалом на розтягнення і розрив. У найпростішому випадку чим більша ця величина, тим активніше взаємодіють дані матеріали, і навпаки. Крім сил адгезії тестування контакту різнорідних біоматеріалів на розрив включає в себе широкий спектр об'ємних в'язкопружних процесів з різним часом релаксації, а також високоеластичну деформацію, характерну для ряду полімерів і руйнування сформованого біомостика між зондом та поверхнею. Певну роль тут відіграє адгезія кожного з матеріалів до підкладки і до зонда, відповідно. Тому для проведення кількісних оцінок ми детально проаналізували різні механізми, які беруть участь у процесі розриву, та побудували відповідні фізичні та математичні моделі цього явища.

Нами здійснено моделювання особливостей взаємодії чистих зонда і зразка, без наявності біопроб на них. Характер взаємодії тут задається капілярними силами, породжуваними водяними менісками, які конденсуються з повітря. Хоча характерні розміри водяного меніска і біополімерного мостика істотно різні, модель водяного меніска взята за відправну точку. Узагальнено та адаптовано теоретичні моделі, що описують в'язкопружні процеси при деформації біополімерів. Сформульовано модель, яка описує АСМ-тестування біoadгезії матеріалів.

Прогноз біосумісності різних матеріалів на підставі величини сил їх взаємодії між собою в умовах, коли один об'єкт висаджений на поверхню, а інший кріпиться на краю АСМ-зонда, є перспективним напрямком в біомедицині. Перспективними є «індикаторні» взаємодії при вимірюваннях на повітрі. Розвиток цього напрямку вимагає більш ретельного дослідження всіх аспектів проблеми, зокрема, особливостей взаємодії «зонд-поверхня» на повітрі. Це насамперед (1) взаємодія при відсутності біоматеріалів, а також (2) взаємодія чистого зонда з нанесеним біоматеріалом і (3) виникнення капілярних сил і водяних містків при «м'якому» контакті між біоматеріалами,

гідрофільність яких може змінюватися в широких межах. У всіх цих випадках значну роль відіграє конденсація води і капілярні ефекти. Крім того, капілярні ефекти і капілярні сили можуть служити модельним аналогом для розуміння сил взаємної біоадгезії.

Аналіз взаємодії між двома біооб'єктами, нанесеним на підкладку і на зонд відповідно буде розглянуто нами в рамках теорії еластичності і руйнування полімерів. Третім важливим аспектом застосування атомної силової спектроскопії до аналізу біосумісності є детально досліджений нами корисний ефект, що дозволяє по зсуву резонансної частоти вимірювати масу із точністю до часток нанограма.

РОЗДІЛ 3

ВПЛИВ АДАПТУЮЧОЇ КОМПОЗИЦІЇ НА СТАН ЕРИТРОЦИТІВ ПРИ ШТУЧНОМУ КРОВООБІГУ

3.1. Загальні характеристики еритроцитів в нормі і при патології

Еритроцити є найчисленнішою популяцією клітин крові і утворюють багатофункціональну систему життєзабезпечення організму. Еритроцит бере участь у багатьох вітальних регуляторних процесах:

1) Виконують газотранспортну функцію. Унікальність еритроцитів в тому, що вони переносять кисень, але споживання кисню самими еритроцитами дуже низьке.

2) Беруть участь в гемостазі. На поверхні еритроцитів адсорбовано багато плазмових факторів згортання крові та фібринолізу таких як фібриноген та VII, IX, XII фактори згортання крові. Сучасні дослідження показали, що роль еритроцитів в процесі формування тромбів більше ніж уявлялося раніше.

3) Виконують роль буферної системи крові, забезпечуючи підтримку рН. Велику роль відіграє система гемоглобін - оксигемоглобін, на частку якої припадає близько 80% усієї буферної ємності цільної крові.

4) Приймають участь в гуморальній реакції організму.

5) Регулюють судинний тонус.

6) Здійснюють транспортну функцію - переносять на своїй поверхні амінокислоти, глюкозу, вітаміни, холестерин.

7) Несуть групові визнання крові та детермінанти Rh.

8) Беруть участь у метаболізмі катехоламінів, ацетилхоліну, імунних комплексів та ряду медикаментів [109–111].

Одним з факторів, що визначають форму еритроцита, є його мембрана, яка визначає гомеостаз і функціональний стан еритроцита. Від неї залежать активність асоційованих з мембраною ферментів, транспорт іонів, тривалість перебування еритроцитів в периферичному руслі [112]. Від стану мембрани еритроцита залежить здатність до деформування - сукупності певних фізичних властивостей (в'язкість, еластичність, пластичність), які надають клітині

механічну стійкість по відношенню до різних напруг, які можуть виникнути в навколишньому середовищі. Еритроцити, які циркулюють в крові, в силу своєї еластичності здатні до змін в конфігурації, пристосовуючись до форми судин і впливають на реологію крові, їх можливості проходити через вузькі капіляри і агрегацію клітин [113, 114].

При зниженні деформування клітин (підвищенні жорсткості їх мембрани) перенесення кисню в тканини різко знижується, що супроводжується зменшенням його парціального тиску в тканинах [115].

Важлива особливість еритроцитів це здатність до агрегації - утворення скупчень клітин, пов'язаних між собою специфічною взаємодією плазматичних мембран при відсутності спеціальних міжклітинних структур, характерних для тканин [116]. Об'єднання еритроцитів в комплекси ("монетні стовпчики") в нормі виконує важливі мікрореологічні завдання. Оборотна агрегація червоних клітин крові необхідна для нормального забезпечення тканин киснем і видалення з них продуктів метаболізму. Поява таких агрегатів сприяє обміну киснем між еритроцитами. Якщо врахувати, що по артеріо-венозним анастомозам, де віддачі кисню не відбувається, в нормі проходить близько 30% крові, то в веноулярному відділі утворюється суміш оксигенованих і повністю деоксигенованих червоних клітин крові.

У монетних стовпчиках відбувається усереднення їх ступеню оксигенації для більш ефективного сприйняття кисню в легенях. При зниженій схильності еритроцитів до агрегації спостерігаються дифузійні розлади дихання [117]. Завдяки агрегації в венулах змінюється опір кровотоку і створюються умови для оптимізації транскapілярного обміну. Агрегація еритроцитів забезпечує в посткапілярах зміщення лейкоцитів до стінки судини, що дозволяє їм адгезуватися до ендотелію з подальшим виходом з судин для виконання імунних функцій [118].

Первинна агрегація еритроцитів зумовлена дією гідродинамічних сил, а формування власне агрегатів здійснюється за допомогою фібриногену. При досягненні певної величини напруги зсуву агрегати клітин здатні деформуватися і руйнуватися, тобто агрегація еритроцитів оборотна. При певних процесах, можливо незворотне склеювання еритроцитів в купки

неправильної форми (аглотинація), яке здійснюється за участю антигенних детермінант на їх поверхні в присутності аглютининів.

На процес аглютинації еритроцитів впливає зміна морфології еритроцитів. Поява ехіноцитів і сфероцитів сприяє аглютинації еритроцитів, при цьому виникнення поверхневих випинань і складок на еритроцитах збільшує площу контактуючих поверхонь при утворенні агрегатів. Такі агрегати мають підвищену механічну міцність і підвищену резистентність до деформації.

Формування еритроцитарних агрегатів при аглютинації сприяє їх осадженню, порушенню метаболізму судинної стінки з підвищенням її проникності для рідких частин плазми, згущенню крові і розшаруванню потоку крові. Крім того, гіпоксія посилюється порушенням деформації еритроцитів, так як ригідні клітини не можуть повністю брати участь в процесах газообміну через нещільний дотик зі стінкою судин [119]. Процес зміни форми еритроцита — це його трансформація з дискової у сферичну форму [120].

Є два шляхи такої трансформації: 1) ехіноцитоз, коли поверхня еритроцита вкривається шипами конусоподібної форми, близькими за розмірами; 2) стоматоцитоз, коли еритроцити зберігають гладеньку поверхню, але набувають вигляду однобічно увігнутого диска у вигляді «відкритого рота», або як шоломоподібні клітини, які збільшені на 20-30% за об'ємом. Причиною цьому є підвищена проникність мембрани еритроцита для натрію і калію. З точки зору морфології порушення в ліпідному бішарі, коли внутрішня частина бішара розширюється відносно зовнішньої половини, викликають стоматоцитоз, а розширення зовнішньої половини відносно внутрішньої призводить до ехіноцитозу [121].

Ехіноцит та стоматоцит – це зворотні зміни форми еритроцита, а сфероцит – це структура еритроцита, яка є незворотною і передуює руйнуванню клітини. Сфероцити – це клітини готові до гемолізу. Поява стоматоцитів призводить до порушення мікроциркуляції, а ехіноцитів - до погіршення потоку крові у великих судинах за рахунок збільшення в'язкості. Ригідні клітини з урахуванням їх нещільного дотику зі стінкою судин не можуть повноцінно брати участь в газообміні. Трансформація еритроцита завжди призводить до зниження його здатності до деформації [122].

3.2. Характеристики еритроцитів при штучному кровообігу

Під час штучного кровообігу еритроцити піддаються різним травмуючим факторам: перехід на неппульсуючий кровотік, механічне пошкодження в фільтрах екстракорпорального контуру, гіпотермія, контакт крові з синтетичними поверхнями, негативний тиск відсмоктувачів, роликові помпи, артеріальний фільтр, а також турбулентні потоки в місцях перехідних діаметрів екстракорпорального контуру. В умовах постійного деформаційного стресу еритроцит зазнає зміни проникності цитоплазматичної мембрани для одновалентних катіонів і кальцію. Екстремальні значення напруги зрушення в апараті ШК викликають істотне збільшення концентрації кальцію в клітинах, що обумовлює зниження деформування еритроцитів, активацію кальційзалежних ліпо- і протеолітичних ферментів в еритроцитах, які поряд з процесами ліпопероксидації і комплементопосередкованого лізису визначають іонний дисбаланс клітини. У цих умовах гемолітична стійкість еритроцитів багато в чому залежить від здатності клітин зберігати свій об'єм, що досягається функціонуванням Na^+/K^+ -АТФази і $\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$ -залежних каналів.

Початок штучного кровообігу ініціює миттєву гемодилуцію. Проведення перфузії також сприяє метаболічним і морфологічним змінам в еритроцитах, потенціює механічне пошкодження клітин в апараті ШК і викликає їх руйнування [123].

Патоморфологічні зміни еритроцитів залежать від часу ШК. Так, при тривалому ШК можна умовно розділити морфологічні зміни еритроцитів на чотири етапи: 1) в перші 1,5-2 години ШК відбувається збільшення головним чином первинних патологічних форм еритроцитів. Спостерігається переважне збільшення ехіноцитів 1-го порядку. При цьому відношення поверхні клітин до об'єму залишається нормальним, а у самих клітин як об'ємних структур спотворюється форма: з'являються фестончасті краї клітин, збільшується кількість виростів (спікул). Поступово збільшується і кількість стоматоцитів 1-го порядку.

Поява еритроцитів зі спікулами і початкових форм стоматоцитів говорить про тенденцію до збільшення об'єму і площі поверхні еритроцитів; 2) на другому етапі досягається максимальне збільшення патологічних форм до 30-35% (приблизно через 2,5-3 години ШК). Відбувається збільшення кількості

еліптоцитів до 9-11% (при нормі до 1-5%), що свідчить про морфологічні ознаки анемізації в умовах проведення ШК; 3) на третьому етапі різко знижується кількість ехіноцитів 1-го порядку і відбувається збільшення дегенеративно-змінених, а також ехіноцитарних і стоматоцитарних форм 2-го і 3-го порядку.

Прогресуюча деформація з появою дегенеративних форм обумовлена перебуванням в деформованому стані, зниженням вмісту АТФ в клітині, внаслідок чого зміни форми еритроцитів можуть бути незворотними; 4) на четвертому етапі відбувається зниження кількості патогенетичних форм еритроцитів (тривалість ШК до 6 годин) і свідчить про включення фагоцитарних механізмів вилучення дегенеративних еритроцитів з ОЦК.

Груба незворотна зміна форми еритроцита, що перетворилася в сфероцит, ехіноцит або стоматоцит призводить до руйнування еритроцита, причому найбільш часто в ретикулоендотеліальній тканині селезінки.

При нетривалому ШК (до 30-60 хвилин), динаміка змін форм еритроцитів виражена не так значно, як при тривалому ШК, але має свої характерні особливості. З початком проведення ШК кількість дискоцитів також починає зменшуватися, але вкрай рідко досягає позначки 60%. Збільшення кількості початкових ехіноцитарних форм сильно варіюється і може складати від 10 до 40%. Одночасно з цими змінами відбувається збільшення кількості стоматоцитів 1-го порядку, а також ехіноцитарних і стоматоцитарних форм 2-го і 3-го порядків до 10-15%.

Таким чином механічні впливи, гемодилуція, гіпотермія і морфологічні зміни еритроцитів призводять до зменшення здатності еритроцитів до деформації.

Важливим ускладненням перфузії є гемоліз – процес руйнування еритроцитів через пошкодження мембрани з виходом гемоглобіну в навколишнє середовище. В процесі гемолізу еритроцити проходять ряд стадій: 1) прегемолітичну - це сферуляція еритроцитів; 2) осмотичного гемоглобінолізу - розпад еритроцитів і вихід частини гемоглобіну в плазму, що пов'язано з досягненням еритроцитів критичного об'єму (146% від початкового) і збільшенням розміру пір в мембранах більше 6 нм; 3) хімічного гемоглобінолізу - зміна електрохімічних і колоїдно-осмотичних властивостей еритроцитів з повним розщепленням гемоглобіну; 4) повного руйнування клітинних структур.

За механізмом розвитку виділяють внутрішньосудинний і внутрішньоклітинний гемоліз. Внутрішньоклітинний гемоліз являє собою руйнування клітинами-кілерами еритроцитів, «маркованих» імуноглобулінами класу G в селезінці, печінці і кістковому мозку. Внутрішньосудинний гемоліз є комплементзалежним лізісом «маркованих» імуноглобулінами класу M циркулюючих еритроцитів в судинах, або обумовлений дією будь-яких зовнішніх факторів, які викликають пряме або опосередковане пошкодження клітин. В результаті внутрішньосудинного гемолізу в кровотоці з'являються вільний гемоглобін і строми зруйнованих еритроцитів, в яких міститься тканинний тромбопластин.

У нормі внутрішньосудинний гемоліз виражений незначно і весь вільний гемоглобін, що виходить з клітин, повністю зв'язується з білками плазми - гаптоглобіном, гемопексином і альбуміном. Утворені комплекси не проникають через гломерулярний фільтр, перешкоджаючи втраті заліза з сечею, а захоплюються клітинами ретикулоендотельної системи.

Якщо ступінь вираженості гемоглобінемії перевищує резервну гемоглобінову ємність гаптоглобіна, то вільний гемоглобін, що не утворив комплекс з гаптоглобіном, проходить через гломерулярний фільтр і зв'язується клітинами епітелію ниркових канальців, де здійснюється реабсорбція гемоглобіну з подальшим його окисленням в канальцевому епітелії до гемосидерина. Навантажені гемосидерином клітини злушуються і виділяються з сечею. Вільний гемоглобін не фільтрується через клубочки нирок при гемоглобінемії менш ніж 100 мг/дл. При гемоглобінемії 100-125 мг/дл гемоглобін проходить через ниркові клубочки і реабсорбується епітелієм ниркових канальців, в якому і метаболізується.

При гемоглобінемії понад 125-135 мг/дл реабсорбція гемоглобіну виявляється недостатньою, що призводить до появи в сечі вільного гемоглобіну. При рівні гемоглобінурії більше 200 мг/дл вільний гемоглобін потрапляє в сечу і забарвлює її в червоний або бурий колір. При потужному гемолізі еритроцитів формується гемолітична анемія з порушенням киснево-транспортної функції крові та розвитком гіпоксії органів і тканин. Такий стан призводить до різкої стимуляції еритропоезу, що виявляється збільшенням вмісту еритроїдних клітин, що містять ядра в кістковому мозку і числа ретикулоцитів в периферичній крові.

Пошкодження еритроцитів в екстракорпоральному контурі опосередковується високими напругами зсуву, турбулентністю потоку крові в місцях з'єднання трубок різного діаметру, гіпероксією, дією негативного і позитивного тиску, сил гідродинамічного удару і поверхневого натягу, взаємодією крові з повітряною фазою, формуванням інтерфазу «кров - газ» при її оксигенації. Ці процеси також є тригерами вільнорадикального окислення і активації компонентів системи комплементу, що володіють цитолітичним ефектом, що ще більш потенціює гемоліз [124, 125].

Вираженість гемолізу може залежати від об'ємної швидкості перфузії, інтенсивності роботи коронарного насоса, часу ШК і ступеня оксигенації крові. Джерелами пошкодження еритроцитів можуть служити мікрофільтри, чужорідна внутрішня поверхня трубок і магістралей екстракорпорального контуру, а також застосування гемодилюції і гіпероксигенації крові під час проведення ШК. Крім того, негативний вплив на клітини крові надають і застійні ділянки в оксигенаторі, що сприяють агрегації еритроцитів і тромбоутворенню.

Неминучим джерелом утворення мікроагрегатів є контакт крові з чужорідною внутрішньою поверхнею, що сприяє адсорбції білків і формених елементів крові на її поверхні; розвитку синдрому системної запальної відповіді (ССЗВ), що проявляється активацією нейтрофілів з викидом активних форм кисню, нейтральних протеаз; активації гемостазу і системи комплементу, що в кінцевому підсумку індукує тромбоутворення і гемоліз еритроцитів. Навіть ультрасучасні системи з гепариновим покриттям, не запобігають утворенню мікроагрегатів. Застосування гепарину не відповідає в повній мірі вимогам біосумісності. Тому найчастіше в якості біосумісного покриття застосовують поверхні на основі фосфорилхоліну, який є природним компонентом мембран клітин людини і відповідає за резистентність до адгезії білків, в тому числі і компонентів комплементу.

При значній травмі клітин крові і гемоглобінемії виникає небезпека формування різних післяопераційних ускладнень, серед яких дихальна недостатність, дисфункція нирок, когнітивні розлади, порушення монооксигеназної функції печінки, які можуть проявлятися як в ранньому післяопераційному періоді, так і в більш віддалені терміни.

3.3. Ефективність обробки контуру оксигенатора адаптуючою композицією

Для визначення наявності захисного шару з аутоальбуміну на внутрішній поверхні полімеру в контурі оксигенатора при використанні AdC, було проведено експериментальне дослідження.

Для визначення процесу адсорбції AdC на полімер також було проведено електрофоретичне дослідження складу AdC до та після обробки екстракорпорального контуру в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України у відділі структури білка.

Розділення білків при електрофорезі показало, що на електрофореграмі чітко спостерігаються зміни в концентрації альбуміну в початковому розчині AdC та після рециркуляції в холостому режимі упродовж 5 хвилин.

Зменшення вмісту альбуміну свідчить про те, що він витрачається на утворення наночастинок білка на внутрішній поверхні ЕЕК. Залишковий вміст альбуміну згідно електрофореграми вказує на те, що в AdC є достатня кількість альбуміну для утворення наночастинок. Таким чином, на контактній поверхні ЕЕК ми створюємо додатковий захисний шар з аутоальбуміну пацієнта.

З метою підтвердження модифікуючого внеску AdC у зміну адгезивних властивостей внутрішньої поверхні магістралей оксигенатора після ШК була взята серія однакових за довжиною контрольних відрізків артеріальних магістралей екстракорпорального контуру, що були оброблені адаптуючою композицією. Нами досліджено 28 зразків магістралей з обробкою та без обробки AdC, ми доцільно вивчали магістралі з артеріального кінця контуру тому що на цій ділянці кров рухається під високим тиском і є всі умови для змивання шару альбуміну. Після закінчення роботи АШК відрізки магістралей занурювались у 10 % розчин формаліну з наступною дегідратацією в батареї спиртів. Вивчення контактної поверхні магістралей після операції проводили на оптичному мікроскопі CarlZeissNu-2E (Німеччина), який оснащений цифровою системою реєстрації та обробки зображень із цифровим збільшенням глибини різкості та побудови 3D карт рельєфу. Відрізки відповідних магістралей розміром 5×5 см сканували по всій площі, проводячи підрахунок клітин у полі зору. На жаль, магістралі не прозорі та як

наслідок цього, використання звичайного забарвлення для цитологічного дослідження не дадуть результатів, тому була застосована спеціальна програма для візуалізації результатів.

Дослідження відрізків магістралей показало, що у випадку необробленого ЕКК була виявлена значна кількість клітин крові – тромбоцитів, еритроцитів та лімфоцитів. При порівнянні з обробленою поверхнею чітко видно перевагу застосування AdC. На обробленій поверхні майже не фіксуються клітини.

3.4. Вплив адаптуючої композиції на стан еритроцитів під час штучного кровообігу

Першою мішенню для несприятливого впливу ШК є клітини крові, в тому числі еритроцити. Вирішення цієї проблеми вимагає підходу, спрямованому безпосередньо на перший етап перфузії – контакту крові з полімером ЕКК. Створення способу поліпшення біосумісності контуру оксигенатора з одного боку дозволяє вплинути на контакт крові з чужорідною поверхнею, а з іншого боку покращити властивості самих еритроцитів за рахунок поліпшення їх деформації.

В дослідження було включено 150 пацієнтів. Усі пацієнти оперувались в умовах штучного кровообігу. Були сформовані 2 групи. В першу групу (група 1) увійшли пацієнти (n=75), у яких екстракорпоральний контур оброблявся адаптуючою композицією, друга група (група 2) була контрольною (n=75).

Аналіз еритроцитарних індексів дозволяють кількісно і якісно охарактеризувати важливі показники стану еритроцитів. MCV (mean corpuscular volume) – середній корпускулярний об'єм еритроцитів, який вимірюється в фемтолітрах (fl) або кубічних мікрометрів. Значення MCV, що знаходяться в межах 80-100 fl, характеризують еритроцит як нормоцит; менше 80 fl - як мікроцит; більше 100 fl – як макроцит.

MCH (mean corpuscular hemoglobin) – середній вміст гемоглобіну в еритроциті. Цей показник ступеня насичення еритроцита гемоглобіном. MCH самостійного значення не має і завжди співвідноситься з MCV і MCHC.

MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration) – середня концентрація гемоглобіну в еритроцитах (показник насиченості їх

гемоглобіном). У гематологічних аналізаторах MCHC визначається автоматично.

RDW (red cell distribution width) – показник гетерогенності еритроцитів за об'ємом і характеризує ступінь анізоцитозу. Гематологічний аналізатор робить це значно точніше, ніж лікар при візуальному перегляді мазка крові. Оцінка ступеня анізоцитозу під мікроскопом може супроводжуватися помилками. При висиханні в мазках діаметр еритроцитів зменшується на 10-20%; в товстих препаратах він менше ніж в тонких.

Виділяють два типи показників RDW - RDW% і RDW_a. Перший показує відсотковий розподіл клітин за величиною, а другий їх стандартне відхилення, тобто різницю в розмірі між найменшими і найбільшими еритроцитами в зразку крові. Норма RDW% становить 11-15% і безпосередньо залежить від значення MCV. Показник RDW_a не залежить від MCV. RDW_a це вимірювання ширини еритроцитарної гістограми на рівні 20% висоти кривої, де висота RBC-гістограми приймається за 100%. RDW_a є більш чутливим показником, якщо популяція еритроцитів стає більш гетерогенною і реагує навіть на невелику кількість макро- і мікроцитів.

За нашими даними в групі 1 і групі 2 з початком ШК відбувалося статистично значуще зниження показників Hb, Ht і RBC за рахунок гемодилуції.

Аналіз морфології еритроцитів проводили в мазках крові методом світлової мікроскопії. Відповідно до протоколу в пацієнтів набирали кров для загального аналізу і робили мазки крові на 4 етапах оперативного втручання: до початку ШК, 10 хв роботи АШК, 60 хв роботи АШК (етап зігрівання) та наприкінці операції.

Концентрацію нееритроцитарного гемоглобіну (гемоліз) визначали гемоглобінціанідним методом (метод Левіної Л.Д.). Принцип методу заснований на використанні розчину, що трансформує зі стандартного набору реактивів, призначеного для визначення концентрації гемоглобіну цільної крові гемоглобінціанідним методом.

Для визначення осмотичної резистентності еритроцитів використовували модифіковану методику Готтфрида і Робертсона – однопробірочний тест на визначення часу, що проходить до 50% гемолізу зразка крові в буферній гіпотонічній гліцериново-сольовій суміші.

Механічну резистентність еритроцитів вивчали за методом Я.В. Ганиткевич, Л.І. Черненко в модифікації, який базується на визначенні ступеня гемолізу в ізотонічній суспензії еритроцитів, що піддавалися механічному лізису, шляхом механічного впливу.

Оцінку проникності мембрани еритроцитів для низькомолекулярних гідрофільних речовин проводили методом сечовинного гемолізу. У фізіологічних умовах мембрани клітин практично не проникні для сечовини. Механізм гемолітичної дії сечовини полягає в її швидкому проникненні в клітину через пошкоджену мембрану і формуванні гіперосмолярного внутрішньоклітинного середовища, що сприяє переміщенню води з позаклітинного простору в еритроцити і обумовлює їх набухання і руйнування.

Для оцінки стану еритроцитарної мембрани вивчали кислотний гемоліз методом І.А. Терескова і І.І. Гітельзона в модифікації А.І. Воробйова.

Для оцінки кисневого транспорту крові вивчали сатурацію артеріальної ($\text{SaO}_2\%$) і венозної крові ($\text{SvO}_2\%$), парціальний тиск кисню в артеріальній (PaO_2) і венозній крові (PvO_2), індекс доставки кисню (IDO_2), індекс споживання кисню (IVO_2), екстракцію кисню (O_2ER) та індекс екстракції кисню (O_2EI).

РОЗДІЛ 4

РЕЗУЛЬТАТИ ВИКОРИСТАННЯ АДАПТУЮЧОЇ КОМПОЗИЦІЇ В ГІНЕКОЛОГІЇ

Дослідження результатів використання адаптуючої композиції в гінекології проводилось упродовж 2014-2021 років на клінічних базах кафедри акушерства, гінекології та перинатології Українського державного інституту репродуктології, в центрі малоінвазивної хірургії ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» ДУС та в репродуктивній клініці «МІНІ ЕКЗ» (м. Київ, Україна).

У роботі з пацієнтами дотримувалися етичних принципів, що пред'являються Декларацією Всесвітньої медичної асоціації (World Medical Association Declaration of Helsinki, 2000), основні положення «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених ІСН GCP (1996) та Директиви ЄС № 609 (1986) і наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р. Кожна пацієнтка підписувала інформовану згоду на участь у дослідженні, вжиті всі заходи для забезпечення анонімності пацієнток.

Верифікацію діагнозу жіночого безпліддя проводили згідно клінічних протоколів, затверджених МОЗ України та рекомендованих Міжнародною федерацією гінекології та акушерства (FIGO).

Гормональне дослідження рівнів гіпофізарних і статевих стероїдних гормонів в сироватці крові проводили з використанням радіоімунологічних та імуноферментних методів дослідження за стандартним планшетним набором фірми «Biorad» та на імуноферментному аналізаторі фірми «Multiscan» в незалежній лабораторії «DILLA» (Назаренко Г.І., 2018).

Вивчали концентрації наступних гормонів: на 2-3-й день – АМГ, ЛГ, ФСГ та естрадіолу (Е2), з 20-го по 25-й день природного або індукованого менструального циклу (МЦ) – вміст прогестерону (П), дегідроепіандростерон-сульфату (ДЕА-С), дигідротестостерону (ДГТ) та 17-гідроксипрогестерону (17-ОП), а також індекс вільного тестостерону (ІТ); вміст кортизолу (К) визначали в добовій сечі у вищевказані часові параметри.

Оцінка функціонального стану ЩЗ включала дослідження тиреотропного гормону (ТТГ), вільного тироксину (fT4), вільного трийодтироніну (fT3), антитіл

до тиреоглобуліну (АТ-ТГ), антитіл до тиреопероксидази (АТ-ТПО) ТТГ, рівня пролактину (ПРЛ). Динамічну оцінку функції ЩЗ (рівні ТТГ, fT4) перед проведенням стимуляції суперовуляції в день перенесення ембріонів – ембріотрансфер (ЕТ) в порожнину матки, на 14-15-й день після ЕТ (день визначення «позитивного» результату визначення р-субодиниці хоріогонічного гонадотропіну людини (р ХГЛ) в сироватці крові).

Виявлення урогенітальних інфекцій виконували із використанням тест-систем на основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР-діагностики) в незалежній лабораторії «DILLA» (Назаренко Г.И., 2018).

Ехографічну діагностику внутрішніх статевих органів (УЗД) проводили за допомогою ультразвукових апаратів фірми «Canon і 600» та «PHILIPS HD11XE», з використанням трансабдомінального і трансвагінального електронних датчиків з частотою від 6,5 до 10,0 МГц (Бабкіна Т.М. та співавт., 2018).

Обстеження ЩЗ проводили спільно з ендокринологом. За показаннями пацієнткам виконували пункцію ЩЗ. УЗД ЩЗ проводили у всіх пацієнток, включених до дослідницьких груп. Дослідження проводили за допомогою ультразвукових апаратів фірми «Canon 600», «PHILIPS HD11XE» з використанням лінійного датчика 7,5 МГц (Бабкіна Т.М. та співавт., 2018).

Кольорове доплерівське картирування (КДК) використовувалося для оцінки ефективності консервативного лікування хворих з міомою матки (Абдулаев Р.Я. и соавт., 2009).

Гістероскопію пацієнткам виконували на апараті фірми «Karl Storz» із застосуванням відеомонітора Sony, резектоскопу із зовнішнім діаметром 26Ш та помпи із швидкістю подачі рідини 300 мл/хв під тиском 80-100 мм рт. ст. В якості контрастного середовища використовували стерильний розчин глюкози (5%) в обсязі від 3,0 до 6,5 л на одну маніпуляцію.

Імуногістохімічне дослідження проводили за стандартною методикою (Grube M. et al., 2019) з використанням серійних парафінових зрізів товщиною 4-5 мкм, розміщених на адгезивних склах, які були покриті полізіном («Menzel-Glaser», Німеччина), і реактивів компанії DAKO.

Для обробки даних використовувалися стандартні статистичні методи багатовимірною математичного аналізу – параметричної і непараметричної статистики, виконували обчислення середньої арифметичної (т) вибірки; стандартного відхилення (s). При порівнянні даних різних клінічних груп з

метою виявлення статистичних відмінностей по тому або іншому показнику застосували розрахунки t-критерію Ст'юдента для середніх значень двох груп з обчисленням вірогідності помилки (p); для кількісних ознак, що не задовольняють умовам нормального розподілу – непараметричні методи статистичного аналізу Манна–Уїтні. Залежність частоти рецидиву від тих або інших чинників визначали методом множинної регресії. Відмінність між значеннями вважали статистично значимою при $p < 0,05$ (Мінцер О.П. та співавт., 2019).

Критеріями включення в клінічне дослідження: вік до 45 років, бажання зберегти і реалізувати репродуктивну функцію; інформована згода пацієнта на лікування та використання методів ДРТ, наявність матки, функціонально здатної до виношування вагітності, наявність обох яєчників, доступних для аспірації фолікулів, рівень АМГ ≥ 1 нг/мл та АМГ ≤ 5 нг/мл; вміст ФСГ – до 10 МО/л; показник естрадіолу – до 50 пмоль/л на 2-3 день менструального циклу, каріотипи обох з подружжя – в нормі розмір ЛМ ≤ 25 мм, яка не деформує порожнину матки.

Критерії виключення з дослідження: вагітність та лактація, наявність ургентної гінекологічної патології чи гострих запальних процесів будь-якої локалізації на момент дослідження, наявність інфекцій (ВІЛ, сифіліс, гонорея, гепатит, лістеріоз) на момент дослідження, онкопатології будь-якої локалізації, тяжка соматична та органічна патологія ЦНС чи психічні розлади в даний час, чи в анамнезі, дисфункціональні кровотечі неясної етіології, наявність субмукозної міоми матки та маткових кровотеч (важкі менструальні кровотечі), індекс маси тіла (ІМТ) ≤ 18 або ≥ 40 ; розмір матки ≥ 11 см, кісти яєчників ≥ 4 см, наявність вади розвитку матки, несумісної з вагітністю, хворі у віці > 45 років, синдром виснажених яєчників, хворі з імунологічним, чоловічим та ідіоматичними факторами безпліддя та які відмовилися підписати інформовану згоду на участь в дослідженні, чи ті, які з будь-якої нагоди висловили бажання вийти з програми дослідження на будь-якому її етапі.

Дослідження були проведені у три етапи.

На I етапі дослідження ми визначалися з взаємозалежними, чи незалежними прогностичними анамнестичними чинниками, які можуть створити передумови патологічної зміни чутливості рецепторів стероїдних гормонів ендометрію у пацієнток з невдалими імплантаціями.

Усі жінки були розподілені у наступні групи: I основна група – 170 пацієнток із невдалими імплантаціями; II група порівняння – 128 жінок із вдалими імплантаціями; III група порівняння – 80 здорових фертильних пацієнток репродуктивного віку.

На другому етапі роботи були проаналізовані отримані результати дослідження функціонального стану ендометрія у жінок досліджуваних груп в залежності від хронологічної відповідності морфофункціонального стану ендометрія дню та фазі МЦ.

На третьому етапі дослідження на підставі визначення патогенезу арецптивності ендометрія розроблено удосконалений метод проведення ембріотрансферу, який був застосований у пацієнток групи IA (n=40) перед проведенням чергового циклу ДРТ. Пацієнтки групи IIB (n=40) отримали традиційну підготовку до ембріотрансферу циклу ДРТ.

Суть удосконаленого алгоритму проведення допоміжних репродуктивних технологій у пацієнток з порушенням рецптивності ендометрію шляхом персоніфікації лікування безпліддя.

Техніка виконання АК в репродуктології полягає у тому, що отриманий розчин аутосироватки витримують 5 хвилин, а потім за допомогою тонкого катетера вводять в порожнину матки й зрошують нею ендометрій. Пропускання сироватки в такий спосіб дозволяє додатково стерилізувати отриману сироватку за рахунок мембранного фільтра з порами 0,22 мкм, який за сертифікатом виробника дозволяє простерилізувати об'єм рідини до 5 мл. Отже, оброблена за вищевказаним методом аутосировотка матері, особливо з аутоімунною патологією в анамнезі, досягає персоніфікованої адаптації поверхні ендометрію до ембріонів, що нівелює сигнал «свій/чужий» та запобігає їх відторгненню.

Перенесення ембріонів в порожнину матки здійснювали на другу-третю і/або п'яту добу (48-72-120 годин) після початку культивування *in vitro* за допомогою спеціального одноразового катетера типу Edwards–Wallace. Ембріони під мікроскопом поміщали в спеціальний одноразовий катетер і через цервікальний канал вводили в порожнину матки пацієнтки.

При оцінці провідних медико-соціальних аспектів, звертає на себе увагу, що серед жінок трьох досліджуваних груп (n=378 (100%)) – заміжніми були 242 (64,0%) пацієнтки, 106 (28,0%) – в цивільному шлюбі, останні були

розлучені – 30 (8,0%). Майже всі шлюби були тривалими – 83,0% – 5 років і більше. Також, серед усіх пацієнток, 124 (32,9%) – були домогосподарками, а інші – 144 (38,0%) жінки із 378 (100,0%) працювали на керівних посадах в різних сферах, а 10 (2,9%) - відносилися до власників бізнесу чи до топменеджменту у сфері бізнесу, тому серед них ($n=114$ та $n=110$) 45 % мали досить тривалий безперервний трудовий стаж і високий соціальний статус і усвідомлено відкладали народження дитини на пізній репродуктивний вік.

Враховуючи вагомість віку, як одного з факторів, що впливають на функціональний стан репродуктивної системи жінки ми проаналізували віковий склад груп. Середній вік усіх пацієнток склав $34,7 \pm 2,6$ років, а відповідно: активний репродуктивний вік (20-35 р.) - 29,0%, 32,0%, 52,0%, а пізній репродуктивний вік (36-45 р.) мали - 71,0%, 68% та 48,0%, по групах дослідження. Таким чином, згідно з результатами проведеного дослідження демонструє чітку тенденцію до погіршення імплантацій з віком, що відповідає багатьом науковим вітчизняним та зарубіжним дослідженням цієї проблематики [20, 270].

При дослідженні репродуктивного анамнезу було визначено, що серед безплідних пацієнток з невдалими спробами ембріотрансферу ($n=170$, 100%) – первинне безпліддя мали 64 жінки (37,6%, тривалість коливалася від двох до п'яти років і склала, у середньому, $3,6 \pm 0,9$ роки), вторинне – 106 (62,4%) жінок (тривалість склала, у середньому, $5,6 \pm 0,7$ роки). Отже, найбільший відсоток серед безплідних хворих з ЛМ становило вторинне безпліддя – 106 (62,4%) осіб (тривалість його, у середньому, склала $5,6 \pm 0,7$ роки), порівняно з відсотком первинного – 64(37,6%), тривалість якого склала, у середньому, $3,6 \pm 0,9$ роки. Аналізуючи отримані результати, що стосуються структури безпліддя у пацієнток першої основної групи, то можна визначити, що провідне місце серед факторів розвитку безпліддя займає зовнішній геніальний ендометріоз (ЗГЕ) – 34,4% та трубно-перитонеальний фактор (ТПФ) – у 29,8%. У більшості пацієнток з первинним безпліддям звернення було пізнім, через 5-7 років регулярного статевого життя, при цьому частина пацієнток застосовували контрацепцію, а частина вважала, що все відбудеться самотійно. Можливо, це пов'язано із високою питомою вагою розповсюдження доброякісної патології ШД, що не суперечить отриманим результатам зарубіжних та вітчизняних дослідників (De La Cruz

M.S. et al., 2017). При вивченні структури вторинного безпліддя відповідно до усього контингенту безплідних пацієнок, визначалася така ж сама тенденція: ЗГЕ – 41,0%, ТПФ – 33,7%, що майже відповідає відсотку оперативних ургентних втручань з причини позаматкових вагітностей (30,1%), а що стосується ендокринних факторів безпліддя, то вони набували більшої питомої ваги з віком пацієнок, відповідно 19,7 та 28,1% ($p < 0,05$). Матковий фактор, навпаки, мав тенденцію до зниження у віковому аспекті. Так, відповідно, в активному репродуктивному віці він склав 25,0%, а в пізньому – 12,0%.

Отже, найбільший відсоток серед пацієнок репродуктивного віку обох дослідницьких груп становило вторинне безпліддя. Вагітності в анамнезі були у 60,0% пацієнок. Кількість абортів (40,0%) переважала число пологів (30,0%). На мимовільне переривання вагітності вказували 17,9% пацієнок, причому у 19,0% викидні відбувалися в терміні до 18 тижнів. Слід зазначити, що серед жінок з вторинним безпліддям штучні аборти зустрічалися з однаковою частотою в першій та другій групах. Серед усіх жінок, які мали пологи, значна частина була із ускладненнями під час вагітності і пологів (загроза переривання вагітності з гормональною терапією до настання строкових пологів, передчасні пологи, прееклампсія, кровотечі тощо). Пацієнтки з вторинним безпліддям зазначали, що до них застосовували неефективну лікувальну тактику ведення: 48,0 % жінок були рекомендовані неодноразові вишкрібання стінок порожнини матки у зв'язку з рясними менструальними виділеннями, у 28,0 % жінок були проведені реконструктивно-пластичні операції з приводу непрохідності маткових труб, спайкового процесу в малому тазі II-III ступеня, у 15,0% випадків проводились неодноразові гідротубації маткових труб. У переважної більшості етапи обстеження були вкрай тривалими: неодноразові дослідження гормонального статусу, інфекційного скринінгу. Проводили неодноразові курси терапії уrogenітальних інфекцій, застосовували різні гормональні препарати при відсутності показань для їх застосування (De La Cruz M.S. et al., 2017).

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать, що жінки з безпліддям та ЛМ складають групу високого ризику щодо обтяженого репродуктивного анамнезу, а ефективність загальноприйнятих діагностичних

і лікувально-профілактичних заходів є недостатньою, що диктує необхідність їх удосконалення.

Аналізуючи анамнез пацієнтів груп дослідження, що включає в себе інформацію про сімейну захворюваність у родичів жіночої статі першої лінії спадковості пацієнток груп дослідження було виявлено, що серед жінок основних дослідницьких груп ($n=298$ (100,0%)), в анамнезі близьких родичів зустрічалися: бронхіальна астма – у 60 (20,0%); серцево-судинна патологія – у 84 (28,0%); онкологічні захворювання – у 30 (10,7)% осіб. Отримані результати відносно захворювань, у родичів жіночої статі першої лінії спадковості пацієнток груп дослідження, зі сторони статевої системи (нерегулярний менструальний цикл, ендометріоз, гіперпластичні процеси ендометрію, доброякісні пухлини яєчників та матки, ускладнення вагітності у вигляді фетоплацентарної дисфункції, прееклампсії, невиношування), продемонстрували, що вищевказані патологічні явища спостерігалися частіше в I групі на 9,0%, відповідно до показників II-ї - 19% та III-ї - 10,0% груп порівняння.

Найбільш поширеною екстрагенітальною патологією, у близьких родичів безплідних пацієнток групи з невдалими імплантаціями, при порівнянні з отриманими даними II-ї та III-ї груп порівняння, були захворювання щитоподібної залози (ЩЗ) у 32,2%, 30,7% і 10,1% та цукровий діабет у 15,9%, 9,9% та 5,1% відповідно. Що стосується анамнезу про перенесені інфекції в дитячому віці та в період статевого дозрівання, нами не було виявлено жодних відхилень від загальної популяційної норми: вітряна віспа зустрічалася у 37,1%; 32,2% і 10,1%; кір – у 23,2%, 18,2% і 5,1%; краснуха – у 18,9%; 15,1% і 5,1%; епідемічний паротит – у 19,2%; 16,1% і 5,9% осіб, відповідно по групах.

Аналіз даних соматичного анамнезу виявив, що екстрагенітальна патологія була виявлена у 270 (71,5%) з 378 безплідних жінок. При проведенні аналізу соматичного статусу жінок досліджуваних груп було визначено, що відсоток соматичної патології – 135 (50,0%) ; 90 (18,5%) та 45 (31,5%). Отже, за структурою, найпоширенішими, серед пацієнток трьох груп дослідження, порушеннями соматичного здоров'я виявилися ендокринні захворювання – 58 (21,4%), захворювання серцево-судинної системи – 49 (18,4%) та патологія нирок і сечового міхура – 41 (15,2%). Хвороби органів

травлення та органів дихання, у обстеженого контингенту, зустрічалися з однаковою частотою – 30 (11,2%). Звертає на себе увагу, що найбільш високий відсоток ендокринної патології, спостерігається саме в групах безплідних пацієнток – 144 (48,2%), в порівнянні з показниками групи фертильних жінок – 21 (28,8%). В нозології ендокринної патології, саме у безплідних пацієнток з невдалими імплантаціями в анамнезі найчастіше спостерігалися аутоімунний тиреоїдит (AIT – 71,4%), синдром гіперпролактинемії – (21,4%), змішаного типу гіперандрогенії – (7,2%), в порівнянні з результатами другої дослідницької групи – AIT – 45,0%, синдром гіперпролактинемії – 29,0%, гіперандрогенії змішаного генеза – 23,0%. Аналізуючи отримані дані, що стосуються гінекологічного анамнезу обстежених пацієнток, ми виділяли ті захворювання і ускладнення, які могли б вплинути на рецептивність ендометрію (запальні захворювання, аденоміоз, ендокринні порушення).

Висока питома вага ендокринної патології відіграє суттєву роль в патогенезі розвитку резистентності PR та ER в ендометрії у даного контингенту пацієнток (Косей Н.В. та співавт., 2017). За даними Л.М. Семенюк та співавторів (2020), аутоімунна патологія ЩЗ призводить до безпліддя, шляхом зниження чутливості яєчників до гонадотропінів, знижується рівень тестостерон-естрадіолзв'язуючого глобуліну і, відповідно, зростає чутливість рецепторів до естрогенів, виникає відносний дефіцит П, підвищенню рівня зв'язуючих статеві гормони глобулінів, підвищенню вмісту естрогену в плазмі в усіх фазах МЦ у 2–3 рази за норму, порушенню периферичного метаболізму естрогенів, а саме, перехід E2 в естрон. Цей процес призводить до зміни секреції гонадотропінів і виникнення ановуляції (Manta L. et al., 2016).

Аналізуючи отримані результати щодо структури гінекологічних захворювань пацієнтів з груп дослідження було виявлено, що найпоширенішою гінекологічною патологією у обстежених жінок трьох груп дослідження були: порушення менструальної функції – 130 (28,5%) та гіперпластичні процеси ендометрію – у 136 (29,9%), кісти яєчників – у 56 (12,2%), ендометріоз різної локалізації – у 53 (12,0%) осіб обстеженого контингенту зустрічався з однаковою частотою. При аналізі структури гінекологічних захворювань було виявлено, що патологія ендометрію серед

обстежених зустрічалася ізольовано лише у 54 (18,2%) клінічних випадків: 23 (12,0%) та 31 (25,6%), відповідно до груп.

Порушення менструальної функції мали 130 (28,5%) ($n=456$, 100%) жінок, які мали гінекологічні захворювання. При цьому гіперполіменорея, що супроводжувалася розвитком хронічної анемії, відмічена в 40,7% випадків, в легкій формі у 52,3%, середнього ступеня тяжкості, відповідно у 17,0% осіб. За даними багатьох авторів (Reis F.M. et al., 2018), до зниження функціонального стану ендометрію, призводить гіпоксія тканин, яка виникає внаслідок тромбозу мікроциркуляторного русла на тлі анемії у гінекологічних хворих. Інші порушення менструальної функції, такі як альгоменорея, спостерігались у 35,0% хворих усіх груп дослідження.

На порушення регулярності МЦ страждали 9,4% пацієнток з I-шої групи дослідження, а у 6,5% безплідних пацієнток з невдалими імплантаціями в анамнезі. У пацієнток груп дослідження були відмічені певні особливості в частоті виявлення супутньої гінекологічної патології, зокрема відмічена тенденція невідповідність кількості клінічних випадків супутньої гінекологічної патології 456 (100%) кількості осіб, які входять в дослідницькі групи, тому що у однієї пацієнтки спостерігається декілька гінекологічних захворювань, а ізольовано лише в 54-х (18,2%) клінічних випадках. Частота рецидиву ГЕ була дещо вищою в I групі і досягала 13,3 %, проте ця відмінність не була статистично значимою. Схожа картина спостерігалася при рецидивах ПЕ, частота яких склала 16,7 %, проте також не була статистично різною в порівнянні з іншими обстеженими групами ($p=0,1607$). Інші форми внутрішньоматкової патології, такі як внутрішньоматкова перегородка, внутрішньоматкові синехії виявлені в поодиноких випадках, статистично не розрізнялися між групами.

Достовірних статистичних відмінностей по групах щодо поширеності запальних захворювань придатків матки не було.

Отже, результати проведеного клініко-статистичного аналізу, який представляє як подібності, так і відмінності обстежених категорій жінок, показав, що значна частка сумарної кількості супутніх гінекологічних захворювань у безплідних пацієнток групи з невдалими в анамнезі імплантаціями майже вдвічі перевищувала показники жінок групи із вдалими імплантаціями та групи здорових фертильних пацієнток

репродуктивного віку, і ми розцінюємо цей факт як суттєвий для реалізації репродуктивної функції.

На оперативні втручання в анамнезі вказували 181 з 378 (48,0%) осіб дослідницького контингенту. Відповідно, у пацієнток з оперативними втручаннями в анамнезі було проведено детальний аналіз наступних клініко-анамнестичних факторів: хірургічний доступ; профіль оперативного лікування (гінекологічний, хірургічний); обсяг оперативних втручань; терміновість виконання оперативних втручань; кількість перенесених оперативних втручань; давність перенесеного оперативного втручання. Необхідно відзначити, що кількість прооперованих осіб менше за кількість оперативних втручань. Так, на 234 пацієнтки з обтяженим оперативним анамнезом зареєстровано 408 (100%) хірургічних втручань, з яких: вишкрібання стінок порожнини матки та цервікального каналу – 110 (27,0%), гістероскопій – 87 (21,3%), лапароскопій – 140 (34,3%), лапаротомій – 71 (17,3%). Невідповідність числа пацієнток загальній кількості операцій пояснюється наявністю поєднання декількох оперативних втручань у однієї пацієнтки. Середня кількість операцій на одну пацієнтку склала $1,6 \pm 0,8$ при коливаннях від одного до трьох оперативних втручань.

Після втручань в порожнину матки можуть утворюватися синехії, які, залежно від ступеня зарощування порожнини матки, проявляються гіпоменструальним синдромом або аменореєю, безпліддям, невиношуванням вагітності. Згідно з представленими даними, в кожному другому випадку (50,0%) гістероскопію проводили з приводу поліпів та гіперпластичних змін ендометрію, дещо рідше (32,7%) – у зв'язку з хронічними і гіперпластичними процесами. Всі зазначені діагнози були верифіковані гістологічно. Кюретаж порожнини матки проводили у більшості пацієнток у зв'язку з завмерлою вагітністю чи абортom.

Отже, анамнестичні дані про частоту гінекологічних оперативних втручань у жінок з невдалими імплантаціями свідчать про те, що обстежувані жінки представляли собою досить складний контингент для реалізації репродуктивної функції, оскільки 61,9% пацієнток, котрі проходили лікування раніше, та перенесли від однієї до трьох гінекологічних операцій, включаючи лапаротомії, лапароскопії, гістероскопії і діагностичні вишкрібання ендометрію. Також ретроспективний аналіз обсягів хірургічних маніпуляцій

показав, що незалежно від виду оперативного втручання (лапаротомія чи лапароскопія) і показань до нього (безпліддя або різні гінекологічні захворювання), у переважної більшості хворих в ході операції проводилися поєднані маніпуляції, найчастіше на матці і яєчниках. При всіх оперативних ендоскопічних втручаннях найбільший відсоток спостерігався в групі безплідних пацієнток із невдалими імплантаціями.

В анамнезі 378 жінок, всіх груп дослідження, були виявлені 852 (100%) клінічних епізоди запальних інфекційних захворювань статевих органів. Середня кількість захворювань на хвору складала $2,2 \pm 0,8$ на одну жінку. Давність вказівок у анамнезі на запальні захворювання коливалася від 3 до 8 років.

Результати анкетування жінок свідчать, що в анамнезі, інфекції, що передаються статевим шляхом (ІПСШ) мали місце в 349 (40,9%) клінічних випадках, в тому числі і міксові інфекції специфічної етіології у різних комбінаціях. У структурі перенесених ІПСШ у обстежених жінок, переважали кандидозні та рецидивуючі неспецифічні вагініти, відповідно 216 (25,4%) та 173 (20,3%). Достовірної відмінності між групами по цим нозологічних формах мали місце у поодиноких випадках та суттєвого значення, на нашу думку, не мали. Частота виявлення мікоплазмозу і уреоплазмозу статистично не розрізнялася у пацієнток обстежених груп і складала від 10,0 до 40,0 % ($p > 0,05$). Було встановлено, що частота виявлення мікоплазмозу була достовірно вище в групі з невдалими імплантаціями ($p = 0,0156$), і що очевидно є випадковістю, проте не можна остаточно виключати роль персистенції мікробного агента в порушенні репаративних властивостей ендометрія з розвитком його арецептивності. Розподіл пацієнток обстежених груп по частоті носійства вірусів простого герпесу (ВПГ) I і II типу був відносно рівномірним, виявлена дещо більша частота носійства ВПГ I типу в I групі, проте ця відмінність не була статистично достовірною.

Також, характерною особливістю в анамнезі безплідних жінок, який відображає дані по ІПСШ, було те, що, серед них у – 140 (79,0%) в анамнезі спостерігалися епізоди перенесення специфічних ІПСШ або ізолювано хламідіозу – 39 (22,0%), трихомоніазу – 32 (18,0%), гонореї – 10 (5,7%) або ІПСШ у різних комбінаціях – 59 (33,3%). Частота виявлення уrogenітального хламідіозу і уреоплазмозу статистично не розрізнялася у пацієнток

обстежених груп і складала від 10,0 до 40,0 % ($p > 0,05$). Розподіл пацієнток обстежених груп по частоті щодо носійства цитомегаловірусу складала 6,7 % без значимих відмінностей між обстеженими групами. Носійство вірусу папіломи людини у пацієнток обстежених груп виявлялося з частотою від 3,3 до 6,7 %.

Нами було встановлено, що одну хірургічну операцію на органах репродуктивної системи перенесли від 26,7 до 53,3 % пацієнток обстежених груп, дві операції перенесли від 10,0 до 26,7 % пацієнток, три і більше хірургічних втручань на органах репродуктивної системи відзначали від 6,7 до 13,3 % пацієнток, достовірних відмінностей в цих показниках виявлено не було ($p > 0,05$). Ці дані свідчать про серйозну «хірургічну агресію» у пацієнток з безпліддям, четверта частина всіх пацієнток до етапу ДРТ неодноразово оперовані, часто хірургічні втручання лише відкладали необхідність вживання ефективніших методів реалізації репродуктивної функції, а також незрідка виснажували оваріальний резерв.

Вищевказаний факт підтверджується результатами бактеріальних посівів з порожнини матки у пацієнток підгрупи Б, у яких виявлено переважно полімікробні асоціації, в яких домінували умовно патогенні мікроорганізми (*Streptococcus*, *Enterococcus*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* тощо) та анаероби бактероїди (*Clostridium*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium* тощо). Серед усього контингенту підгрупи Б у 3 (18,8%) пацієнток за гістологічно підтвердженим хронічним ендометритом посіви виявилися стерильними, що свідчить про його можливий аутоімунний механізм розвитку та підтверджує дані сучасної літератури (Styer AK. et al., 2016).

За результатами проведених досліджень гормонального балансу в обстежених жінок можна констатувати, що у 63,0% осіб першої та другої груп мали місце дисгормональні порушення. При аналізі показників тиреоїдного гомеостазу встановлено, що арецептивність ендометрію найчастіше розвивається у жінок з хронічним АІТ, здебільшого на тлі нормальної або зниженої функції ЩЗ. Оцінка сумарних даних у пацієнток з невдалим ембріотрансфером показала, що арецептивність ендометрію частіше супроводжувалася гіперпролактинемією (31,0%) ізольованою чи на тлі гіпотиреозу (47,7%) ($p < 0,05$).

Концентрація ЛГ у безплідних жінок з невдалими спробами ембріотрансферу напередодні його була вище майже вдвічі від показників групи жінок з вдалим ембріотрансфером, що пояснюється наявністю виразної гіпогестагенії серед даного контингенту жінок. Так, концентрація П в крові в II фазі МЦ у жінок із невдалими спробами ДРТ за рахунок ненастання вагітності після переносу ембріона різнилася за віком: в активному репродуктивному та в пізньому репродуктивному віці (відповідно, $18,5 \pm 1,5$ та $13,2 \pm 1,2$ нмоль/л), була істотно нижчою, ніж у жінок групи II, відповідно за тими ж віковими періодами ($25,7 \pm 2,4$ і $23,4 \pm 1,9$ нмоль/л, $p < 0,05$). Дослідження естрогенної насиченості показало, що у більшості жінок з першої дослідницької групи вміст естрогенів був у межах норми, однак у жінок з ПЩЗ вміст Е2 був нижче ($E2 = 40,0 \pm 3,9$ пг/мл; $p < 0,05$) і, відповідно рівень ФСГ вище..

Отже, рівень гіперпролактинемії становив 39,4%, змін співвідношення ЛГ/ФСГ – 47,7%, гіпогестагенемії – 41,5%, гіпоестрогенії – 30,4% і гіперандрогенії – 39,4%. Виявлені зміни продукції гонадотропінів на тлі нормальних та підвищених концентрацій естрогенів свідчать про порушення центральних механізмів регуляції та зворотного зв'язку в гіпофізарно-тиреоїдно-яєчниковій системі у безплідних жінок з поєднаною патологією. Це свідчить про те, що дисгормональні зміни на тлі ПЩЗ впливають на патогенез безпліддя так і на його перебіг, зокрема зниження стероїдних гормонів, високі концентрації показників гонадотропних гормонів (Прл, ЛГ і ФСГ), поряд із гіперандрогенією на тлі гіпофункції ПЩЗ. За результатами діагностичної гістероскопії нами було встановлено, що практично у всіх обстежених пацієнток була та або інша форма внутрішньоматкової патології.

Зважаючи на отримані попередні дані, у наступній частині нашої роботи ми включили в наше дослідження медичну документацію пацієнток, яким проводили ЕТ ембріонами високої якості. У рамках програми ДРТ, всім пацієнткам підгруп дослідження проводили УЗ моніторинг стану ендометрію та його ехоструктурних змін в динаміці одного-двох природних чи умовних (п/у МЦ) (на 5-7-й, так і на 19-22-й дні МЦ, в залежності від його тривалості) та морфо-імуногістохімічне дослідження біоптата ендометрію в ранню фолікулярну фазу п/у МЦ, шляхом діагностичної гістероскопії, та пайпель-біоптата, взятого в період імовірного «вікна імплантації». За даними

лікувально-діагностичної гістероскопії та результатами пайпель-біопсії, взятої в період імовірного «вікна імплантації», у пацієнток ІІБ патологічних змін слизової матки не було виявлено.

За результатами УЗД на 5-7 добу МЦ, що характеризували субендометріальний та кровоток в маткових судинах у жінок з невдалим ЕТ були визначені вірогідні відмінності в порівнянні з контролем, які виражалися у зниженні ІП та підвищенні ІР в артеріях на межі з ендометрієм (величини цих показників складали відповідно ІР – $0,94 \pm 0,003$, контроль $1,24 \pm 0,05$, $p < 0,05$; ІР – $0,87 \pm 0,001$, контроль $0,55 \pm 0,001$, $p < 0,05$) і збільшенні ІП та ІР в маткових артеріях (величини показників відповідно дорівнювали ІР – $4,1 \pm 0,36$, контроль $2,33 \pm 0,36$, $p < 0,05$; ІР – $0,88 \pm 0,04$, контроль $0,72 \pm 0,04$, $p < 0,05$).

За результатами ехографічних та морфологічних досліджень, на 5-7 день МЦ, ендометрій був однорідним, з рівними контурами та товщиною в середньому $4,2 \pm 0,5$ мм, що відповідає дню МЦ у пацієнток ІІБ та ІІІ груп. У хворих групи ІА товщина ендометрію, в середньому, відповідала $11,5 \pm 0,3$ мм, що вказувало на невідповідність товщини ендометрію дню МЦ та можливі гіперпластичні зміни в ньому на тлі зміни чутливості його рецептурного апарату.

Відповідність ендометрію «вікну імплантації» при проведенні діагностичної гістероскопії виявлена відповідно по групах від 26,7 % та до 53,7 % в групі ІА без достовірних відмінностей між обстеженими групами ($p = 0,0516$), при цьому ендометрій відповідав фазі «вікна імплантації» лише в третині спостережень в групі пацієнток з невдалим ембріотрансфером (ЕТ), що обумовлено можливо локальними осередковими змінами при збереженому довколишньому ендометрії, частенько інтактному і адекватному для фази менструального циклу, зокрема у вигляді посилення судинного рисунка ендометрія та може бути непрямою ознакою розвитку хронічного ендометриту (ХЕ). При вивченні частоти виявлення посилення судинного рисунка нами були отримані наступні результати – посилення судинного рисунка при гістероскопії констатувалося достовірно частіше ($p = 0,0001$) у пацієнток з оперативними втручаннями на стінках порожнини матки.

У пацієнток з безпліддям на тлі АІТ в 28,4% випадків спостерігаються запальні зміни ендометрія по типу ХЕ, що супроводжується зниженням

експресії естрогенових та прогестеронових рецепторів у фазі секреції, у 51,1% має місце синхронне відставання розвитку ендометрія, в основному за рахунок десинхронізації експресії естрогенових та прогестеронових рецепторів в залозистому компоненті, у 48,9% – асинхронне відставання розвитку ендометрія в фазі секреції пов'язане зі зниженням експресії прогестеронових рецепторів як в стромальному, так і в залозистому компоненті.

Для гіперпластичних процесів ендометрія з супутніми ознаками хронічного запалення також характерні знижені рівні експресії рецепторів стероїдних гормонів. При аналізі частоти виявлення поліпів ендометрію (ПЕ) при різних видах внутрішньоматкової патології у пацієнток з безпліддям було визначено, що частота виявлення ПЕ в ІА групі була достовірно вище, ніж в інших обстежених групах ($p=0,0017$), частота візуалізації ендометріюїдних ходів при діагностичній гістероскопії склала 26,7 %, що було достовірно більше в групі ІА, ніж у всіх інших обстежених групах ($p=0,0448$).

На нашу думку, це можна пояснити частим поєднанням внутрішнього ендометріозу з гіперпластичними процесами ендометрія. У пацієнток з невдалими спробами ДРТ в період передбачуваного вікна імплантації спостерігалися зміни вмісту чинників запальної відповіді імунної системи організму, а саме на момент взяття біопсії під час діагностичної гістероскопії було виявлено, що середні показники вмісту IL-10, що зменшує проінфламаторну активність цитокінового каскаду, також вміст прозапальних цитокінів IL-6 та TNF α , у сироватці крові жінок груп ІА та ІІБ, не мали вірогідної різниці з показниками III групи на відміну від групи ІІ Б, де реєструвалися вірогідно вищі показники вмісту IL-10, IL-6 та TNF α . Коефіцієнт співвідношення (прозапальний індекс) між TNF α /IL також був вірогідно вищим у групі ІА, в порівнянні із групами ІІБ та III, відповідно $1,7\pm0,3$; $0,7\pm0,2$; $0,3\pm0,05$ ($p<0,05$). Рівень прозапальних цитокінів IL-6 та TNF α , через 1 міс. після діагностичної гістероскопії став суттєво вищим у підгрупі ІА, порівняно з показниками групи ІІБ та груп III-ї. У підгрупі ІА вміст IL-10 та TNF α був суттєво нижчим порівняно з підгрупою ІІБ, відповідно: IL – $8,7\pm0,6$; $5,0\pm0,3$; $4,1\pm0,3$; $4,5\pm0,3$ ($p<0,05$); TNF α – $9,1\pm0,9$; $3,2\pm0,1$; $1,2\pm0,1$; $1,2\pm0,1$ ($p<0,05$).

Показники прозапального індексу (TNF α /IL) демонстрували розвиток хронізації запального процесу в ендометрії саме в групі пацієнток з невдалим

ембріотрансфером: $1,0 \pm 0,3$; в порівнянні з показниками групи з вдалим ембріотрансфером: $0,9 \pm 0,05$; $0,2 \pm 0,05$; $0,2 \pm 0,05$, відповідно. ($p < 0,05$). Виявлена тенденція хронізації запалення в ендометрії у групи ІА цілком відповідає попереднім нашим результатам гістологічних досліджень пайпель-біопатів та результатами бактеріальних посівів з порожнини матки у досліджуваних пацієнток, що, безсумнівно, пов'язано зі змінами експресії рецепторів стероїдних гормонів в ендометрії, загальною тенденцією яких було підвищення продукції РЕ α та РП в залозах, в стромі – зниження РП на тлі нормальної експресії РЕ α .

При відповідності ендометрія в день передбачуваного вікна імплантації фазі проліферації IRS РЕ α в залозах склав від аналогічних показників контрольної групи $421,43 \pm 84,17$ % ($p < 0,01$), IRS РП – $357,00 \pm 39,05$ % ($p < 0,01$), а в стромі ендометрія – $133,50 \pm 22,57$ % ($p > 0,05$) і $67,05 \pm 8,67$ % ($p < 0,01$); при відповідності ранній фазі секреції – $406,07 \pm 62,72$ % ($p < 0,01$), $481,52 \pm 42,01$ % ($p < 0,01$) і $117,83 \pm 19,19$ % ($p > 0,05$), $83,20 \pm 5,46$ % ($p < 0,01$); середній фазі секреції – $372,10 \pm 37,07$ % ($p < 0,01$), $366,36 \pm 28,55$ % ($p < 0,01$), $86,92 \pm 6,89$ % ($p > 0,05$), $80,40 \pm 3,58$ % ($p < 0,01$); пізній фазі секреції – $286,94 \pm 87,11$ % ($p > 0,05$), $194,17 \pm 52,17$ % ($p > 0,05$) і $114,10 \pm 29,81$ % ($p > 0,05$), $78,51 \pm 11,35$ % ($p > 0,05$); вендометрії змішаної будови – $266,55 \pm 26,41$ % ($p < 0,01$), $316,05 \pm 39,84$ % ($p < 0,01$) і $111,82 \pm 14,56$ % ($p < 0,01$), $61,69 \pm 5,12$ % ($p < 0,01$).

Так, при наявності ознак хронізації запалення в ендометрії у пацієнток з невдалими спробами ДРТ IRS РЕ α ($39,19 \pm 3,82$ ум.од.) перевищував такий в ІІБ групі в 2,62 разу ($p < 0,01$), IRS до РП ($77,02 \pm 6,63$ ум.од.) – в 3,40 ($p < 0,01$); в стромі IRS до РЕ α ($49,45 \pm 2,50$ ум.од.) був нижчий в 1,27 разу ($p < 0,01$), IRS до РП ($82,29 \pm 4,30$ ум.од.) в 1,60 ($p < 0,01$); при наявності гіперпластичних процесів ендометрія IRS РЕ α в залозах ($84,28 \pm 8,17$ ум.од.) був більше за такий в контролі в 4,61 разу ($p < 0,01$); IRS до РП ($111,36 \pm 7,99$ ум.од.) – в 4,37 разу ($p < 0,01$); в стромі IRS до РЕ α ($84,31 \pm 9,76$ ум.од.) був більший в 1,34 разу ($p < 0,04$), а IRS до РП ($122,58 \pm 7,18$ ум.од.) – менший в 1,20 разу ($p < 0,01$).

У пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі без явищ гіперпластичних та запальних процесів в ендометрії IRS РЕ α ($52,77 \pm 9,44$ ум.од.) перевищував такий в контролі в 3,28 рази ($p < 0,01$), IRS

до РП ($78,94 \pm 10,06$ ум.од.) – в 3,14 ($p < 0,01$); а в стромі IRS до РЕ α ($72,66 \pm 8,83$ ум.од.) і IRS до РП ($135,09 \pm 7,42$ ум.од.) вірогідно не відрізнявся від контрольних показників. Для пацієток з ІА та ІІБ груп в анамнезі характерною рисою було те, що у жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою була більш виражена гіперекспресія РЕ α в залозах: середній відсоток імунореактивних клітин до МАТ до РЕ- α у групі Н ($55,80 \pm 2,52\%$) перевищував такий в групі В ($35,03 \pm 2,11\%$) в 1,59 рази ($p < 0,01$).

Співвідношення РП/РЕ α в залозах в групі В перевищувало таке в групі Н в 1,47 рази ($1,73 \pm 0,04$ проти $1,18 \pm 0,08$, $p < 0,01$). Критичним рівнем цього співвідношення в залозах, при якому наставала вагітність у пацієток групи В було $\geq 1,50$. Суттєвим фактом є той, що співвідношення експресії РП/РЕ α в стромі вірогідно не відрізнялося від контрольних показників ні в групі Н ($1,59 \pm 0,13$), ні в групі В ($1,75 \pm 0,17$). У пацієток з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою спостерігався більш високий рівень IRS РЕ α ($74,50 \pm 5,97$ ум.од. проти $35,75 \pm 2,03$ ум.од., $p < 0,01$) та IRS РП ($101,92 \pm 6,28$ ум.од. проти $80,70 \pm 6,66$ ум.од., $p < 0,02$). IRS РЕ α та IRS РП в залозах у групі Н складав від аналогічних контрольних показників $462,74 \pm 37,06\%$ ($p < 0,01$) і $400,14 \pm 24,65\%$ ($p < 0,01$); у групі В – відповідно $222,03 \pm 12,61$ і $316,83 \pm 26,14\%$. IRS РЕ α і РП в групах Н і В вірогідно не відрізнявся між собою і з групою ІІІ

У день передбачуваного «вікна імплантації» (19-22 день МЦ), за даними ехографічних та морфологічних досліджень ендометрію в період імовірного «вікна імплантації» у пацієток з невдалими спробами ЕТ співпадали з даними пайпель-біопсії. Отже, ендометрій у безплідних жінок ІА групи характеризувався неповною синхронною секреторною трансформацією (НСТЕ) зі зменшенням площі залозистого компонента на 7,8% відносно 10,7% в ІІБ групі, і відставав від стадії розвитку, принаймні на 2 дні МЦ. В підгрупі ІІБ, визначалося рівномірне співвідношення кількості секретуючих епітеліоцитів від кількості війчастих клітин. Секретуючі клітини були кулястої форми, рівномірно розширені, з широким просвітом і рясним вмістом слизу в них. Будова стромы ендометрію характеризувалась чіткою виразністю клітин сполучної тканини зі значною кількістю нейтрофілів та лімфоцитів. При кореляційному аналізі в групі ІІБ виявлявся сильний зв'язок ($r = 0,8$; $p < 0,01$)

між плазматичними клітинами і лімфоцитами, а також середньої сили кореляційний зв'язок – в системі макрофаг – плазмоцит і плазматична клітина – сегментоядерний лейкоцит – макрофаг ($r=0,5$, $r=0,5$, $r=0,5$) ($p < 0,05$). Строма була пухкою, визначалося переважання залозистого компонента із незначними ділянками підвищення залозисто-стромального співвідношення. Клубки спіральних артерій були добре виразні. В інтерстиції спостерігалися діapedезні крововиливи. При ультраструктурному дослідженні на апікальній поверхні секретуючих клітин прослідковувалася мала кількість мікроворсинок; війки війчастих клітин були вкорочені. Аналіз кількості піноподії віковим когортам підгрупи 4.1.2, встановив: в когорті 20-35 років, у середньому, мали місце в 60,0% біоптатів; у віці 36-45 років, відповідно – 40,0% біоптатів. По якості піноподії в підгрупі 4.1.2 також не залежали від віку. Отже, в групі 4.1.2 – 40% біоптатів містили повністю розвинені піноподії – великі та гладкі, 60,0% зразків містили комбінацію повністю розвинених та регресуючих піноподій.

Описана гістологічна картина в ІА свідчить про невідповідність секреторній трансформації ендометрія хронологічному дню МЦ (23-26-й день циклу) з дисинхронним розвитком та відповідністю ендометрію пізній стадії фази секреції, при порівнянні зі зразками підгрупи контролю.

Імуноморфологічна особливість структури ендометрію пацієнток обох вікових когорт – наявність фіксованих імунокомплексів на судинних субепітеліальних мембранах ендометрію. У ІА в біоптатах відзначалося співвідношення залозисто-стромальне і секреторно-війчастих епітеліоцитів були практично рівними. Клубки спіральних артерій визначалися добре структурованими та виразними. Будова залоза строми та судин в різних ділянках ендометрію різнилася: на деяких ділянках залози були з проліферуючим епітелієм, на деяких – розширеними, звитими, кулястої форми, з широким просвітом зі значною кількістю секрету. Клубки спіральних артерій визначалися добре структуровані та виразні.

Також і строма різнилася структурою в одному полі зору: на різних ділянках візуалізувалася або компактна губчастої структури строма, або з ділянками фіброзування на тлі значної кількості нейтрофілів і лімфоцитів. Вільні клітинні елементи цієї групи були поза зв'язком. Секретуючі клітини характеризувалися наявністю «голих полів», позбавлених мікроворсинок або

дуже малою їх кількістю, наявністю у будові ознак деструкції: мікросегрегації ядришка, інвагінації ядерної оболонки, розширення перинуклеарного простору, маргінального розташування гетерохроматину, ущільнення цитоплазми, просвітлення матриксу мітохондрій зі зменшеною кількістю кріст, що не визначалося в зразках осіб 36-45 років підгрупи контролю. У підгрупі ІА, описана гістологічна картина свідчить про наявність асинхронізації процесів секреторної трансформації ендометрія в лютеїнову фазу МЦ та невідповідність “імовірного вікна” імплантації, хронологічному дню МЦ (23-26 день циклу) при порівнянні зі зразками підгрупи контролю.

У групі ІІБ спостерігалось у 63,0% заповнення поля зору повністю розвинутими піноподіями та у 37,0% – маленькими та регресуючими піноподіями; у 63,3% зразків біоптатів було рівне співвідношення вільчастих – секретуючих епітеліоцитів, що характеризувалися нормальною будовою, без ознак деструкції.

При оцінці клітинного складу стромы у пацієнток як із невдалим, так і з вдалим ЕТ була виявлена загальна тенденція до збільшення кількості клітин специфічної резистентності – лімфоцитів і плазмоцитів, з одночасним зниженням кількості клітин неспецифічної резистентності – сегментоядерних лейкоцитів, тобто роз'єднання або відсутність кооперативних зв'язків між специфічними і неспецифічними ланками імунітету. Загальна тенденція до підвищення специфічного імунітету і зниженню неспецифічної резистентності, мабуть, відіграє велику роль в процесах імплантації яйцеклітини.

Таким чином, формування піноподій в день передбачуваного вікна імплантації в ендометрії жінок гарних відповідей з невдалим спробами ДРТ в анамнезі залежить від наявності в ньому таких патологічних процесів, як хронічне запалення та гіперпроліферація, зниження кількості розвинутих піноподій, підвищення чисельності піноподій, які розвиваються; часта наявність ділянок відсутності піноподій; мозаїцизм їх розмірів, форми та стадії розвитку; від однієї чверті до одної третини пацієнток мають рясні короткі, товсті мікрроворсинки; понад половини – їх помірне число, кожна п'ята – малу кількість; характерною є поява циліарних клітин, найбільш виражена при гіперпластичних процесах ендометрія. Також пацієнтки з останньою вдалою спробою ЕТ при порівнянні з жінками з невдалим імплантаціями в циклах

ДРТ характеризуються – більшою кількістю розвинутих піноподій, менш виражений мозаїцизм розмірів та форми та більше число випадків з малою кількістю мікрворсинок.

Узагальнюючи дані по морфометрії ендометрію можна констатувати, що відбувається розрив не тільки горизонтальних, але і вертикальних зв'язків ланок клітинного імунітету – специфічного і неспецифічного, що свідчить про повну дискоординацію клітинної ланки імунітету в ендометрію у жінок з ЛМ матки з невдалими програмами ЕКЗ в анамнезі. Таким чином, основними причинами невдалих спроб допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) є патологічний різнонаправлений вплив супутніх патологічних факторів розвитку безпліддя у пацієнток з невдалим ЕТ (аутоімунний конфлікт на тлі ендокринних порушень чи ендометріоїдного ураження матки та яєчників; інфекційні агенти, які впливають на ендометрій під час оперативних втручань в порожнині матки), що патологічно змінює гемомікроциркуляторне русло, як ендометрію, тим самим змінює його рецептивність, що безпосередньо супроводжується порушенням імплантації заплідненої яйцеклітини в програмі допоміжних репродуктивних технологій. Також експресія молекул імплантації залежить від хронологічної відповідності морфофункціонального стану ендометрія фази і дню МЦ і збільшується та зменшується відповідно зростанню та регресії секреторних змін. В ендометрії безплідних жінок гарних відповідей з невдалими спробами ДРТ в анамнезі реєструється зниження продукції ЛІФ в 1,10 рази ($p < 0,01$), в той час як експресія $\alpha V\beta 3$ -інтегринів взагалі вірогідно не відрізняється від контрольних показників, хоча відмічається вірогідна різниця секреції ендометрієм $\alpha V\beta 3$ -інтегринів порівняно зі здоровими фертильними жінками при хронологічній відповідності його в день передбачуваного вікна імплантації фази проліферації, пізньої секреції та при змішаній його будові. В ендометрії жінок гарних відповідей з невдалими спробами ДРТ в анамнезі реєструється зниження і нерівномірна продукція ЛІФ при наявності хронічних запальних процесів в 1,09 рази ($p < 0,01$), гіперплазії – в 1,12 ($p < 0,01$), при відсутності гіперпластичних і запальних процесів – в 1,10 ($p < 0,01$), в той час як експресія $\alpha V\beta 3$ -інтегринів вірогідно відрізняється від контрольних показників лише при наявності гіперплазії – менше в 1,08 рази ($p < 0,01$). Таким чином, для пацієнток з невдалими імплантаціями в циклах ДРТ в

анамнезі характерною рисою є те, що у жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою знижена секреція ЛІФ в 1,07 рази ($p<0,01$).

На третьому етапі дослідження на підставі визначення причин невдалих спроб ДРТ був розроблений удосконалений метод проведення ембріотрансферу (ЕТ), який був застосований у пацієнток групи ІА ($n=40$) перед проведенням чергового циклу ДРТ. Пацієнтки групи ІІБ ($n=40$) отримали традиційну підготовку до ембріотрансферу циклу ДРТ. Проведена корекція функціонального стану ендометрія за розробленим способом порівняно з існуючим привела до вірогідного зниження у периферичній крові рівня ЛГ на 5-й день МЦ у 1,24 рази ($p<0,01$); підвищення рівня П на 22-й день МЦ в 1,29 ($p<0,01$); зниження таких субпопуляцій НК-клітин, як CD56dimCD16+CD69+ і CD56dimCD16+CD94+ відповідно в 1,91 ($p<0,01$) і в 1,99 рази ($p<0,01$); збільшення числа жінок з наявністю в ендометрії в період передбачуваного вікна імплантації розвинутих піноподій в 1,41 рази ($p<0,03$) та зменшення пацієнток з ділянками відсутності піноподій в 2,00 ($p<0,03$), з різною формою піноподій – в 1,65 ($p<0,01$) і з різними розмірами піноподій – в 1,63 ($p<0,03$); збільшення чисельності жінок з малою кількістю мікроворсинок у 2,11 рази ($p<0,04$); зниження в залозах IRS PE α в 1,58 ($p<0,05$) і РП в 2,02 ($p<0,01$), підвищення IRS РП в стромі в 1,21 рази ($p<0,01$); підвищенням експресії ЛІФ у 1,14 ($p<0,01$); зниження в стромі ендометрія CD45+ в 1,35 рази ($p<0,01$), CD56+ – в 1,53 ($p<0,01$), CD16+ – в 1,53 ($p<0,01$), CD138+ – в 7,55 рази ($p<0,01$); зниження імунопозитивних клітин до Ki-67 в стромі в 1,36 рази ($p<0,02$), в залозах – в 2,38 ($p<0,02$) та збільшення кількості клітин в стані апоптозу в стромі ендометрія в 1,37 рази ($p<0,04$). Поліпшення функціональної активності ендометрія у пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі і з корекцією функціонального стану ендометрія за розробленим способом порівняно з існуючим привело до збільшення настання вагітності в наступному циклі ДРТ в 2,33 рази ($p<0,04$) та збільшення завершення вагітностей, що настали, пологами – в 3,00 ($p<0,03$).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Юзько О.М. Використання допоміжних репродуктивних технологій при лікуванні безпліддя в Україні [Текст] / Юзько О.М., Юзько Т.А., Руденко Н.Г.// Зб. пр. Асоціації акушерів-гінекологів України. – к., 2014.– С. 321-324.
2. MicroRNAs miR-30b, miR-30d, and miR-494 Regulate Human Endometrial Receptivity [Текст] / Altmäe S., Martinez-Conejero J.A., Esteban F.J. [et al.] // Reproductive Sciences. – 2013. – Vol. 20, N 3. – P. 308-317. doi:10.1177/ 1933719112453507
3. Concentration of leukaemia inhibitory factor (LIF) in uterine flushing fluid is highly predictive of embryo implantation [Текст] / Lédée-Bataille N., Laprée-Delage G., Taupin J.L. [et al.] // Hum. Reprod. – 2002. – Vol.17, N 1. – P. 213-218
4. Morphofunctional characteristics of impaired endometrial receptivity in chronic endometritis [Текст] / Kazachkov E.L., Kazachkova E.A., Voropaeva E.E. [et al.] // Arkh. Patol. – 2014. – Vol. 76, № 3. – P. 53-58
5. Decreased expression of aquaporin 2 is associated with impaired endometrial receptivity in controlled ovarian stimulation [Текст] / Zhang D., Xu G., Zhang R. [et al.] // Reprod. Fertil. Dev. – 2014 Sep 19. doi: 10.1071/RD13397.
6. Galliano D. MicroRNA and implantation [Текст] / Galliano D., Pellicer A. // Fertil Steril. – 2014. – Vol. 101, № 6. – P. 1531-1544. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.04.023.
7. Fatemi H.M. Implantation in assisted reproduction: a look at endometrial receptivity / Fatemi H.M., Popovic-Todorovic B. // Reprod. Biomed. Online. – 2013. – Vol. 27, № 5. – P. 530-538. doi: 10.1016/j.rbmo.2013.05.018.
8. Neděla O, Slepíčka P, Švorčík V. Surface Modification of Polymer Substrates for Biomedical Applications. Materials (Basel). 2017 Sep 21;10(10):1115. doi: 10.3390/ma10101115. PMID: 28934132; PMCID: PMC5666921.
9. Sharma I, Pattanayek SK. Effect of surface energy of solid surfaces on the micro- and macroscopic properties of adsorbed BSA and lysozyme. Biophys Chem. 2017 Jul;226:14-22. doi: 10.1016/j.bpc.2017.03.011. Epub 2017 Apr 1. PMID: 28433534.
10. Khan, W., Muntimadugu, E., Jaffe, M., and Domb, A. J. 2014. «Implantable Medical Devices» in Abraham J. Domb and Wahid Khan (eds.), Focal Controlled Drug Delivery (Springer US: Boston, MA)
11. Waldron, K. J., Rutherford, J. C., Ford, D., and Robinson, N. J. 2009. «Metalloproteins and metal sensing», Nature, 460: 823-30 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19675642>
12. Furie, B., and Furie, B. C. 2004. Role of platelet P-selectin and microparticle PSGL-1 in thrombus formation, Trends Mol Med, 10: 171-8 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15059608>
13. Krafts, K. P. 2010. Tissue repair: The hidden drama, Organogenesis, 6: 225-33 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21220961>
14. Wong, V. W., and Crawford, J. D. 2013. Vasculogenic cytokines in wound healing,

- Biomed Res Int, 2013: 190486 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23555076>
15. Ahluwalia, A., and Tarnawski, A. S. 2012. Critical role of hypoxia sensor–HIF-1alpha in VEGF gene activation. Implications for angiogenesis and tissue injury healing», *Curr Med Chem*, 19: 90-7 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22300081>
16. Wan, R., Mo, Y., Chien, S., Li, Y., Li, Y., Tollerud, D. J., and Zhang, Q. 2011. 'The role of hypoxia inducible factor-1alpha in the increased MMP-2 and MMP-9 production by human monocytes exposed to nickel nanoparticles', *Nanotoxicology*, 5: 568-82 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21401309>
17. Pugh, C. W., and Ratcliffe, P. J. 2003. 'Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system', *Nat Med*, 9: 677-84 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12778166>
18. Kim, K. K., Sheppard, D., and Chapman, H. A. 2018. 'TGF-beta1 Signaling and Tissue Fibrosis', *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 10 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28432134>
19. Tan, A. W., Liao, L. L., Chua, K. H., Ahmad, R., Akbar, S. A., and Pingguan-Murphy, B. 2016. 'Enhanced in vitro angiogenic behaviour of human umbilical vein endothelial cells on thermally oxidized TiO2 nanofibrous surfaces', *Sci Rep*, 6: 21828 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26883761>
20. Campbell, P., Ebrahimzadeh, E., Nelson, S., Takamura, K., DeSmet, K., and Amstutz, H. C. 2010. 'Histological features of pseudotumor-like tissues from metal-on-metal hips', *Clin Orthop Relat Res*, 468: 2321-7 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20458645>
21. Major, M. R., Wong, V. W., Nelson, E. R., Longaker, M. T., and Gurtner, G. C. 2015. 'The foreign body response: at the interface of surgery and bioengineering', *Plast Reconstr Surg*, 135: 1489-98 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25919260>
22. Moore, L. B., and Kyriakides, T. R. 2015. 'Molecular Characterization of Macrophage-Biomaterial Interactions', *Adv Exp Med Biol*, 865: 109-22 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26306446>
23. Gibon, E., Amanatullah, D. F., Loi, F., Pajarinen, J., Nabeshima, A., Yao, Z., Hamadouche, M., and Goodman, S. B. 2017. 'The biological response to orthopaedic implants for joint replacement: Part I: Metals', *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 105: 2162-73 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27328111>
24. Blood-contacting biomaterials: in vitro evaluation of the hemocompatibility / Weber M., et al. *Front Bioeng Biotechnol*. 2018. 6. 99. PMID: 30062094. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00099>
25. Basitha K., Sukardi R., Farida Soenarto R., Wardoyo S. The value of procalcitonin in systemic inflammatory response syndrome after open-heart surgery for CHD. *Cardiol Young*. 2019 Nov. 29(11). P. 1335-1339. doi: 10.1017/S1047951119001847
26. Novel Leukocyte Modulator Device Reduces the Inflammatory Response to Cardiopulmonary Bypass / Johnston K. A., et al. *ASAIO J*. 2019 May/Jun. 65(4). P. 401-407. doi: 10.1097/MAT.0000000000000822

27. New Trends, Advantages and Disadvantages in Anticoagulation and Coating Methods Used in Extracorporeal Life Support Devices / Willers A., Arens J., Mariani S., et al. *Membranes* (Basel). 2021. 11(8). 617. Published 2021 Aug 12. doi:10.3390/membranes11080617
28. Pollak U. Heparin-induced thrombocytopenia complicating extracorporeal membrane oxygenation support: Review of the literature and alternative anticoagulants. *J Thromb Haemost.* 2019 Oct. 17(10). P. 1608-1622. doi: 10.1111/jth.14575
29. He T., He J., Wang Z., Cui Z. Modification strategies to improve the membrane hemocompatibility in extracorporeal membrane oxygenator (ECMO) *Adv. Compos. Hybrid Mater.* 2021. 1–18. doi: 10.1007/s42114-021-00244-x.
30. Jaffer I. H., Fredenburgh J. C., Hirsh J., Weitz J.I. Medical device-induced thrombosis: What causes it and how can we prevent it? *J. Thromb. Haemost.* 2015. 13. S72–S81. doi: 10.1111/jth.12961
31. Ranucci M., Baryshnikova E. Inflammation and coagulation following minimally invasive extracorporeal circulation technologies. *J Thorac Dis.* 2019. 11(Suppl 10). P.1480-1488
32. New Trends, Advantages and Disadvantages in Anticoagulation and Coating Methods Used in Extracorporeal Life Support Devices / Willers A., Arens J., Mariani S., et al. *Membranes* (Basel). 2021. 11(8). 617. Published 2021 Aug 12. doi:10.3390/membranes11080617
33. Biran R., Pond D. Heparin coatings for improving blood compatibility of medical devices. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017. 112. P.12-23. PMID: 28042080. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.12.002>
34. Hendrix R.H., Ganushchak Y. M., Weerwind P. W. Oxygen delivery, oxygen consumption and decreased kidney function after cardiopulmonary bypass. *PLoS One.* 2019. 14(11). e0225541. doi: 10.1371/journal.pone.0225541
35. Biran R., Pond D. Heparin coatings for improving blood compatibility of medical devices. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017. 112. P.12-23. PMID: 28042080. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.12.002>
36. Hogan M., Berger J. S. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT): Review of incidence, diagnosis, and management. *Vasc Med.* 2020 Apr. 25(2). P.160-173. doi: 10.1177/1358863X19898253
37. Pabst D., Boone J.B., Soleimani B., Brehm C.E. Heparin-induced thrombocytopenia in patients on extracorporeal membrane oxygenation and the role of a heparin-bonded circuit. *Perfusion.* 2019. 34. 584–589. doi: 10.1177/0267659119842056
38. Silveti S., Koster A., Pappalardo F. Do we need heparin coating for extracorporeal membrane oxygenation? New concepts and controversial positions about coating surfaces of extracorporeal circuits. *Artif Organs.* 2015 Feb. 39(2). 176-9. doi: 10.1111/aor.12335. Epub 2014 Jul 8. PMID: 25041628

39. Comparison of a New Heparin-coated Dense Membrane Lung with Nonheparin-coated Dense Membrane Lung for Prolonged Extracorporeal Lung Assist in Goats / Ichinose K., et al. *Artif. Organs*. 2004. 28. P. 993–1001. doi: 10.1111/j.1525-1594.2004.07312.x
40. Nitric oxide producing coating mimicking endothelium function for multifunctional vascular stents / Yang Z. et al. *Biomaterials*. 2015. 63. P. 80–92. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.06.016
41. New Trends, Advantages and Disadvantages in Anticoagulation and Coating Methods Used in Extracorporeal Life Support Devices / Willers A., Arens J., Mariani S., et al. *Membranes* (Basel). 2021. 11(8). 617. Published 2021 Aug 12. doi:10.3390/membranes11080617
42. Ontaneda A., Annich G.M. Novel Surfaces in Extracorporeal Membrane Oxygenation Circuits. *Front. Med*. 2018. 5. 321. doi: 10.3389/fmed.2018.00321
43. Chiletto R., Horton S., Bednarz A., Bartlett R. Safety of nitric oxide added to the ECMO circuit: A pilot study in children. *Perfusion*. 2018. 33. P. 74–76. doi: 10.1177/0267659117720495
44. Rai N., Chattopadhyaya M. C. Investigations on protein adsorption on in-vivo sensor membrane surfaces. *Indian J Clin Biochem*. 2003 Jan. 18(1). P. 65-70. doi: 10.1007/BF02867667. PMID: 23105373; PMCID: PMC3453746
45. New Trends, Advantages and Disadvantages in Anticoagulation and Coating Methods Used in Extracorporeal Life Support Devices / Willers A., Arens J., Mariani S., et al. *Membranes* (Basel). 2021. 11(8). 617. Published 2021 Aug 12. doi:10.3390/membranes11080617
46. Phosphorylcholine coating of extracorporeal circuits provides natural protection against blood activation by the material surface / De Somer F., François K., Van Oeveren W., Poelaert J., De Wolf D., Ebels T., Van Nooten G. *Eur. J. Cardio-Thoracic Surg*. 2000. 18. P. 602–606. doi: 10.1016/S1010-7940(00)00508-X.
47. Phosphorylcholine coating of extracorporeal circuits provides natural protection against blood activation by the material surface / De Somer F., François K., Van Oeveren W., Poelaert J., De Wolf D., Ebels T., Van Nooten G. *Eur. J. Cardio-Thoracic Surg*. 2000. 18. P. 602–606. doi: 10.1016/S1010-7940(00)00508-X
48. Comparable biocompatibility of Phisio- and Bioline-coated cardiopulmonary bypass circuits indicated by the inflammatory response / Thiara A. S., et al. *Perfusion*. 2010. 25. P. 9–16. doi: 10.1177/0267659110362822
49. Phosphorylcholine coating of extracorporeal circuits provides natural protection against blood activation by the material surface / De Somer F., François K., Van Oeveren W., Poelaert J., De Wolf D., Ebels T., Van Nooten G. *Eur. J. Cardio-Thoracic Surg*. 2000. 18. P. 602–606. doi: 10.1016/S1010-7940(00)00508-X.
50. New Trends, Advantages and Disadvantages in Anticoagulation and Coating Methods

- Used in Extracorporeal Life Support Devices / Willers A., Arens J., Mariani S., et al. Membranes (Basel). 2021. 11(8). 617. Published 2021 Aug 12. doi:10.3390/membranes11080617
51. Clinical performance and biocompatibility of poly(2-methoxyethylacrylate)-coated extracorporeal circuits / Gunaydin S. et al. Ann. Thorac. Surg. 2002. 74. P. 819–824. doi: 10.1016/S0003-4975(02)03796-7
 52. Murakami D., Mawatari N., Sonoda T., Kashiwazaki A., Effect of the Molecular Weight of Poly (2-methoxyethyl acrylate) on Interfacial Structure and Blood Compatibility. Langmuir. 2018. 35. 2808–2813. doi: 10.1021/acs.langmuir.8b02971
 53. An ex vivo evaluation of blood coagulation and thromboresistance of two extracorporeal circuit coatings with reduced and full heparin dose. Interact / Teligui L. et al. Cardiovasc. Thorac. Surg. 2014. 18. P. 763–769
 54. Teligui L., Dalmayrac E., Corbeau J. J. Ex vivo simulation of cardiopulmonary bypass with human blood for hemocompatibility testing. Perfusion. 2015. 31(5)
 55. Modified Surface Coatings and their Effect on Drug Adsorption within the Extracorporeal Life Support Circuit / Preston T.J. et al. J. Extra Corpor. Technol. 2010. 42. P. 199–202
 56. Modified Surface Coatings and their Effect on Drug Adsorption within the Extracorporeal Life Support Circuit / Preston T.J. et al. J. Extra Corpor. Technol. 2010. 42. P. 199–202
 57. Endothelialization and characterization of titanium dioxide-coated gas-exchange membranes for application in the bioartificial lung / Pflaum M., et al. Acta Biomater. 2017. 50. P. 510–521. doi: 10.1016/j.actbio.2016.12.017
 58. Identifying an optimal seeding protocol and endothelial cell substrate for biohybrid lung development / Zwirner U., et al. Tissue Eng. Regen. Med. 2018. 12. P. 2319–2330. doi: 10.1002/term.2764
 59. Endothelialization and characterization of titanium dioxide-coated gas-exchange membranes for application in the bioartificial lung / Pflaum M., et al. Acta Biomater. 2017. 50. P. 510–521. doi: 10.1016/j.actbio.2016.12.017
 60. Roberts T. R., Garren M. R., Handa H., Batchinsky A. I. Toward an artificial endothelium: Development of blood-compatible surfaces for extracorporeal life support. J. Trauma Acute Care Surg. 2020. 89. S59–S68. doi: 10.1097/TA.0000000000002700
 61. Endothelialization and characterization of titanium dioxide-coated gas-exchange membranes for application in the bioartificial lung / Pflaum M., et al. Acta Biomater. 2017. 50. P. 510–521. doi: 10.1016/j.actbio.2016.12.017
 62. Fibronectin coating of oxygenator membranes enhances endothelial cell attachment / Cornelissen C. G., Dietrich M., Gromann K., Frese J., Krueger S., Sachweh J.S., Jockenhoevel S. Biomed. Eng. Online. 2013. 12. P. 7. doi: 10.1186/1475-925X-12-7
 63. Roberts T. R., Garren M. R., Handa H., Batchinsky A. I. Toward an artificial endothelium: Development of blood-compatible surfaces for extracorporeal life support. J. Trauma Acute Care Surg. 2020. 89. S59–S68. doi: 10.1097/TA.0000000000002700

64. Hypertonic solution decreases extravascular lung water in cardiac patients undergoing cardiopulmonary bypass surgery / Lomivorotov V. V., et al. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2013 Apr. 27(2). P. 273-82. doi: 10.1053/j.jvca.2012.06.013
65. Martins M. C., Wang D., Ji J., Feng L., Barbosa M. A. Albumin and fibrinogen adsorption on PU-PHEMA surfaces. *Biomaterials.* 2003 May. 24(12). 2067-76. doi: 10.1016/s0142-9612(03)00002-4. PMID: 12628827
66. Rai N., Chattopadhyaya M. C. Investigations on protein adsorption on in-vivo sensor membrane surfaces. *Indian J Clin Biochem.* 2003 Jan. 18(1). P. 65-70. doi: 10.1007/BF02867667. PMID: 23105373; PMCID: PMC3453746
67. Albumin-coated Amberlite XAD-7 resin for hemoperfusion in acute liver failure. Part II: in vivo evaluation / Hughes R. et al. *Artif Organs.* 1979 Feb. 3(1). P. 23-6. doi: 10.1111/j.1525-1594.1979.tb03800.x.
68. Булавенко О.В. Стрес-індукована гіперпролактинемія у жінок репродуктивного віку з недостатністю лютеїнової фази. З турботою про жінку. 2012;6 (36): 48–50.
69. Запорожченко М.Б. Лейоміома матки – алгоритми лікування жінок репродуктивного віку. *Здоровье женщины.* 2015;5:55–5.
70. Павловська М.О. Соматичні та психологічні предиктори формування лейоміоми матки [автореферат]. Київ; 2017. 20 с.
71. Запорожченко М.Б. Стан системи згортання крові у жінок репродуктивного віку з лейоміомою матки проліферативного типу. *Biomed Biosoc Anthropol.* 2014;23:124
72. Запорожченко М.Б. Характеристика анамнестичних даних з позицій епігенетики у жінок репродуктивного віку з лейоміомою матки. *Одеський медичний журнал.* 2014;5:73–7.
73. Воробей-Вихівська В.М. Роль системи гемостазу в результативності програм допоміжних репродуктивних технологій [автореферат]. Київ: Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика; 2017. 20 с.
74. Литвак О.О. Клінічні аспекти відновлення репродуктивної функції у жінок з міомою матки. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика.* Київ; 2015;24 (6, ч. 3):193–9.
75. Корнацька А.Г., Вовк І.Б., Чубей Г.В. Репродуктивне здоров'я жінок з лейоміомою матки на тлі запальних захворювань органів малого таза. *Збірник наукових праць.* 2016; с. 3–6.
76. Корнацька А.Г. Сучасні погляди на етіологію, патогенез та лікування лейоміоми матки у жінок репродуктивного віку (огляд літератури). *Здоровье женщины.* 2015;1:10–3.
77. Вереснюк Н.С. Роль магнітно-резонансної томографії в діагностиці аномалій розвитку статевих органів у жінок. *Вісник Вінницького національного медичного університету.* 2017;21 (1):326–9
78. Жилка Н.Я. Інноваційні підходи до лікування лейоміоми матки. *Здоровье женщины.*

- 2016;7 (113):104–6.
79. Литвак О.О. Вплив удосконаленої консервативної міомектомії на відновлення репродуктивної функції жінок. Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. А. Шупика. Київ; 2017;28 (1):154–9.
 80. Парницька О.І. Порушення формування «вікна імплантації» у пацієнток із гіперпластичними процесами ендометрія. Патологія. 2013;3 (29):12–5.
 81. Boudjenah R, Molina-Gomes D, Torre A, Boitrelle F, Taieb S, Dos Santos E, et al. Associations between individual and combined polymorphisms of the TNF and VEGF genes and the embryo implantation rate in patients undergoing In Vitro Fertilization (IVF) Programs. PLoS One. 2014;9 (9):e108287. DOI: 10.1371/journal.pone.0108287
 82. Козак А.В., Коваль І.А. Психологічні особливості жінок репродуктивного віку з синдромом хронічного тазового болю. Здоров'я жінки. 2011;10(66): 102–3.
 83. Okada H, Tsuzuki T, Shindoh H, Nishigaki A, Yasuda K, Kanzaki H. Regulation of decidualization and angiogenesis in the human endometrium: mini review. J Obstet Gynaecol Res. 2014;40 (5):1180–7. DOI: 10.1111/jog.12392.
 84. Андрейчин С.М., Андрейчин С.М., Голомаша Т.О. Сучасні уявлення про метаболічну ендогенну інтоксикацію. Інфекційні хвороби. 2012;1:84–8
 85. Науменко Г.М., Чабан О.С. Індивідуально-психологічні характеристики стану жінок після перенесених оперативних втручань з приводу лейоміоми матки. Медицина транспорту України. 2013;1:9-11
 86. Odejinmi F, Maclaran K, Agarwal N. Laparoscopic treatment of uterine fibroids: a comparison of peri-operative outcomes in laparoscopic hysterectomy and myomectomy. Arch Gynecol Obstet. 2015;291 (3):579–84.
 87. Колесніченко І.С. Діагностика та вибір тактики ведення хворих з лейоміомою матки у жінок репродуктивного віку. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2014;2:150–1.
 88. Коренная Е.В. Амбулаторная гистероскопия. Практические рекомендации. Consilium medicum. 2015;17 (6):28–31.
 89. Коритко О.О. Вплив надмірної маси тіла та ожиріння на фертильність і виношування вагітності. Международный эндокринологический журнал. 2016; 7(79):22–6.
 90. Корнацька А.Г., Вовк І.Б., Чубей Г.В. Репродуктивне здоров'я жінок з лейоміомою матки на тлі запальних захворювань органів малого таза. Збірник наукових праць. 2016; с. 3–6.
 91. Корнацька А.Г., Ракша І.І., Колесніченко І.С., Чубей Г.В. Сучасні погляди на етіологію, патогенез та лікування лейоміоми матки у жінок репродуктивного віку (огляд літератури). Здоровье женщины. 2015;97:10–2.
 92. Корнацька А.Г., Флаксемберг М.А., Ревенько О.О. Особливості анатомофункціонального стану органів малого таза та генеративної функції у жінок з лейоміомою матки. Здоровье женщины. 2014;10 (96):134–6.

93. Корнієнко С.М. Патологія ендометрія та репродуктивний профіль жінок в пізньому репродуктивному та перименопаузальному віці. *Science Rise. Medical Science*. 2017;6:37–42
94. Косей Н.В., Задорожна Т.Д., Захаренко Н.Ф., Педаченко Н.Ю., Ганжий І.Ю. Морфофункціональні та імуногістохімічні характеристики різних клініко-патогенетичних варіантів лейоміоми матки. *Патологія*. 2017;14 (3):319–25.
95. Курик О.Г., Литвак О.О., Хабрат Б.В., Лисенко Б.М. Морфологічна характеристика міоматозної тканини і ендометрія у пацієнток з лейоміомою матки 296 після лікування уліпрістала ацетатом. *Репродуктивна ендокринологія*. 2015; 6(26):36–40.
96. Литвак Е.О. Диагностическое значение оценки рецепторного аппарата утеромиоцитов у больных с лейомиомой матки. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. Київ; 2013;22 (5, ч. 2):243–55.
97. Аношина М.Ю., Горяінова Н.В., Кубарова В.О., Басова О.В. Показники молекул середньої маси як критерій об'єктивної оцінки якості життя хворих на гостру мієлоїдну лейкемію. *Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень*. 2018;4 (6):222–30.
98. Литвак Е.О. Влияние аутоиммунного тиреоидита на гинекологическую заболеваемость женщин репродуктивного возраста. *Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики: збірник наукових праць*. Київ–Луганськ; 2012;23:196–203.
99. Клінічне застосування обробки поверхні імплантів адаптуючою композицією для поліпшення їх біосумісних властивостей у реконструктивно-відновлювальній хірургії: методичні рекомендації / М.Т. Картель, О.М. Лазаренко, Т.А. Алексєєва та ін. Київ. 2016. С. 22
100. Удосконалення приживлення алотрансплантатів при герніопластиці методом індивідуальної наноадаптації поверхні імплантів (експериментальне дослідження) / Алексєєва Т. А., Гомоляко І. В., Гришук Я. І., Лазаренко О. М., Фурманов Ю. О. *Журнал Медицина невідкладних станів*. 2013. № 3 (50). С. 164-169
101. Клінічне застосування обробки поверхні імплантів адаптуючою композицією для поліпшення їх біосумісних властивостей у реконструктивно-відновлювальній хірургії: методичні рекомендації / М. Т. Картель, О. М. Лазаренко, Т. А. Алексєєва та ін. Київ. 2016. С. 22
102. F. Ilchenko, M.M. Serbul, Y.I. Grischuk, O. Lazarenko, A. Mahanta, V.Z. Lavreneva Experimental study to reduce the body`sforeign bodyreaction to prosthetic meshimplantationin the surgic treatment of abdominal hernias.- *Журнал HerniaVol. 17-(Suppl 2) -May 2013- P.S66, P110*; Алексєєва Т.А., Гомоляко І.В., Гришук Я.І., Лазаренко О.М., Фурманов Ю.О. Удосконалення приживлення алотрансплантатів при герніопластиці методом індивідуальної наноадаптації поверхні імплантів (експериментальне дослідження).- *Журнал Медицина невідкладних станів*. - 2013.-№ 3 (50).-С. 164-169

103. Aleksyeyeva T.A., Lazarenko O.N. et al. «Klinichne zastosuvannya obrobky poverkhni implantativ adaptuyuchoyu kompozytsiyeyu dlya polipshennya yikh biosumisnykh vlastyvostry u rekonstruktyvno-vidnovlyuval'niy khirurhiyi» Kyiv 58.16/140.16. 2016: 1-23
104. Aleksyeyeva T.A., Lazarenko O.N. Co Ltd "Mabela" CO Ltd MABELA Substance enhancing biocompatibility of implants with recipient body and method of its preparation patent application European patent 2709684B1. 2016 May 25.
105. Алексеева Т.А. Лазаренко О.Н. Композиция для підвищення біосумісності імплантів та клітин для трансплантації з організмом реципієнта та спосіб її приготування Патент України на винахід №104738 від 11.03.2014р
106. Адаптуюча композиція для обробки внутрішньої поверхні контуру оксигенатора при кардіохірургічних операціях: пат. 141109 Україна. № 201908457; заявл. 17.07.2019; опубл. 25.03.2020, бюл. № 6/2020
107. Адаптуюча композиція для обробки внутрішньої поверхні контуру оксигенатора при кардіохірургічних операціях: пат. 141109 Україна. № 201908457; заявл. 17.07.2019; опубл. 25.03.2020, бюл. № 6/2020.
108. Спосіб обробки поверхні контуру оксигенатора при кардіохірургічних операціях: пат. 140413 Україна. № 201908112; заявл. 15.07.2019; опубл. 25.02.2020, бюл. № 4/2020.
109. M. Tsunoda M., Yusa Y., Yamada S. Assay of catechol-O-methyltransferase activity in human erythrocytes using norepinephrine as a natural substrate. Ann Clin Biochem. 2002 Nov. 39(Pt 6). P. 589-94. doi: 10.1177/000456320203900607. PMID: 12564841
110. Tzounakas V. L., Karadimas D. G., Papassideri I. S., Seghatchian J., Erythrocyte-based drug delivery in Transfusion Medicine: Wandering questions seeking answers. Transfus Apher Sci. 2017 Aug. 56(4). P. 626-634. doi: 10.1016/j.transci.2017.07.015. Epub 2017 Jul 16. PMID: 28774826
111. Byrnes J.R., Wolberg A.S. Red blood cells in thrombosis. Blood. 2017 Oct 19. 130(16). P.1795-1799. doi: 10.1182/blood-2017-03-745349
112. Basu A., Chakrabarti A. Defects in erythrocyte membrane skeletal architecture. Adv Exp Med Biol. 2015. 842. P. 41-59. doi: 10.1007/978-3-319-11280-0_4. PMID: 25408336.
113. Red cells' dynamic morphologies govern blood shear thinning under microcirculatory flow conditions / Lanotte L, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016 Vol. 113, № 47. P. 13289-13294. doi: 10.1073/pnas.1608074113.
114. Unit-to-unit variability in the deformability of red blood cells / Barshtein G., Gural A., Zelig O., Arbell D, Yedgar S. Transfus Apher Sci. 2020 Oct. 59(5). 102876. doi: 10.1016/j.transci.2020.102876.
115. Cardiopulmonary bypass with modified fluid gelatin and heparin-coated circuits /

- Jansen P. G., et al. *Br J Anaesth.* 1996 Jan. 76(1). 13-9. doi: 10.1093/bja/76.1.13. PMID: 8672354.
116. Baskurt O. K., Meiselman H. J. Erythrocyte aggregation: basic aspects and clinical importance. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2013. 53(1-2). P. 23-37. doi: 10.3233/CH-2012-1573
117. Fenech M., Garcia D., Meiselman H. J., Cloutier G. A particle dynamic model of red blood cell aggregation kinetics. *Ann Biomed Eng.* 2009 Nov. 37(11). P. 2299-309. doi: 10.1007/s10439-009-9775-1.
118. Erythrocyte deformability and oxidative stress in" inflammatory bowel disease / T. Akman, M. Akarsu, H. Akpinar et al. *Dig Dis Sci.* 2012. Vol. 57, № 2. P. 458-464.
119. Grygorczyk R., Orlov S. N. The effect of hypoxia on the properties of erythrocyte membranes - importance for intravascular hemolysis and purinergic blood flow control. *Front. Physiol.* 22 December 2017 <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.01110>.
120. Ford J. Red blood cell morphology. *Int J Lab Hematol.* 2013 Jun. 35(3). P. 351-7. doi: 10.1111/ijlh.12082
121. Pietya N. Z., Reinhartb W. H., Pourreaux P. H. Shape matters: the effect of red blood cell shape on perfusion of an artificial microvascular network. *Transfusion.* 2016. 56(4). P. 844–851.
122. Sprague R., Ellsworth M., Stephenson A., Kleinhenz M. Deformation-induced ATP release from red blood cells requires CFTR activity. *American Physiological Society.* 2010. H1726-P1732. PMID: 9815080.
123. Haemolysis index: validation for haemolysis detection during extracorporeal membrane oxygenation / Boissier E., Lakhal K., Senage T., Bizouarn P., Lepoivre T., Nicolet J., Roussel J.C., Rozec B, Vourc'h M, Bigot-Corbel E. *Br J Anaesth.* 2020 Aug. 125(2). e218-e220. doi: 10.1016/j.bja.2020.04.080.
124. Comparable biocompatibility of Phisio- and Bioline-coated cardiopulmonary bypass circuits indicated by the inflammatory response / Thiara A. S., et al. *Perfusion.* 2010. 25. P. 9–16. doi: 10.1177/0267659110362822
125. Comparison of blood activation in the wound, active vent,' and cardiopulmonary bypass circuit. *Ann Thorac Surg.* 2008. Vol. 86, № 2. P. 537–541.

STATE SCIENTIFIC INSTITUTION
«SCIENTIFIC AND PRACTICAL CENTER OF PREVENTIVE AND CLINICAL MEDICINE»
OF THE STATE MANAGEMENT OF AFFAIRS

*Chernii V., Lytvak O., Lysenko B., Sobanska L.,
Lazarenko O., Aleksieieva T.*

CLINICAL APPLICATION OF THE ADAPTING COMPOSITION TO IMPROVE THE BIOCOMPATIBILITY OF SYNTHETIC SURFACES AND BIOLOGICAL IMPLANTS

MONOGRAPH

Dallas, USA
«Primedia eLaunch LLC»
2023

Institution-developer:

State Scientific Institution «Scientific and Practical Center of Preventive and Clinical Medicine» of the State Management of Affairs; Ukraine

Reviewers:

VDOVYCHENKO Yuri	First vice-rector, Professor of the Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology of the Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Doctor of Medical Sciences, Professor, Member-correspondent of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine.
HALUSHKO Oleksandr	Vice-rector for Scientific and Pedagogical work and Continuous Professional and Medical Development of the Private Higher Educational Institution «Kyiv Medical University», Doctor of Medical Sciences, Professor.
BOIKO Ihor	Head of the Scientific Department of Minimally Invasive Surgery of the State Scientific Institution «Scientific-Practical Centre of Preventive and Clinical Medicine» of the State Administration of Affairs, Doctor of Medical Sciences.

**Recommended for publication by the Academic Council of the
State Scientific Institution «Scientific-Practical Centre of Preventive and Clinical Medicine»
of the State Administration of Affairs (protocol № 4 dated June 22, 2023)**

Author's team:

CHERNII Volodymyr Illich	LYTVAK Olena Olehivna	LYSENKO Boleslav Mykhailovych	SOBANSKA Lada Oleksandrivna	LAZARENKO Oleh Mykolaiovych	ALEKSIEIEVA Tetiana Anatoliivna
--------------------------------	-----------------------------	-------------------------------------	-----------------------------------	-----------------------------------	---------------------------------------

C 61 **Clinical application of the adapting composition to improve the biocompatibility of synthetic surfaces and biological implants: monograph / Chernii V., Lytvak O. [et al.] — Dallas, CША : Primedia eLaunch LLC, 2023. — 102 p.**

ISBN 979-8-88955-768-5

DOI 10.36074/kzakpbspbi-monograph.2023

This monograph presents the results of technologies for improving the biocompatibility of synthetic and biological materials in various medical fields (traumatology, cardiac surgery, gynecology) thanks to the method of using the patient's autoalbumin, which allows improving the biocompatibility of already known and tested materials.

The monograph is intended for intern doctors, surgeons, gynecologists, anesthesiologists, orthopedic traumatologists and doctors of related specialties.

UDC 616.089.844

© Chernii V., Lytvak O., Lysenko B., Sobanska L., Lazarenko O., Aleksieieva T., 2023

© NGO «European Scientific Platform», 2023

ISBN 979-8-88955-768-5

© Primedia eLaunch LLC, 2023

SCIENTIFIC EDITION

CLINICAL APPLICATION OF THE ADAPTING COMPOSITION TO IMPROVE THE BIOCOMPATIBILITY OF SYNTHETIC SURFACES AND BIOLOGICAL IMPLANTS

MONOGRAPH

in Ukrainian and English

*Responsible for the layout: Bilous T.
Responsible proofreader: Bilous T.
Responsible designer: Bondarenko I.*

Signed for publication 05.07.2023. Format 60×84/16.
Conventionally printed sheets: 5,93. Circulation: 50 copies.
Order № 378. Digital printing. Offset Paper.
The headset is Franklin Gothic Book.

Printed from the finished original layout.

Publisher: Primedia E-launch LLC.
TX 75001, United States, Texas, Dallas.
E-mail: info@primediaelaunch.com
URL: www.primediaelaunch.com

Compositor and publisher of printed copies: NGO «European Scientific Platform»
21037, Ukraine, Vinnytsia, Zodchykh str. 18, office 81
Tel: +38 098 1948380; +38 098 1956755 | E-mail: info@ukrlogos.in.ua
Certificate of the subject of the publishing business: ДК № 7172 of 21.10.2020.

НАУКОВЕ ВИДАННЯ

КЛІНІЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ АДАПТУЮЧОЇ КОМПОЗИЦІЇ ДЛЯ ПОЛІПШЕННЯ БІОСУМІСНОСТІ СИНТЕТИЧНИХ ПОВЕРХОНЬ І БІОЛОГІЧНИХ ІМПЛАНТІВ

МОНОГРАФІЯ

Українською та англійською мовами

*Верстка: Білоус Т.В.
Коректура: Білоус Т.В.
Дизайн: Бондаренко І.В.*

Підписано до друку 05.07.2023. Формат 60×84/16.

Умовно-друк. арк. 5,93. Тираж: 50 примірників.

Замовлення № 378. Цифровий друк.

Папір офсетний. Гарнітура Franklin Gothic Book.

Віддруковано з готового оригінал-макету.

Видавець: Primedia E-launch LLC.
TX 75001, United States, Texas, Dallas.
E-mail: info@primediaelaunch.com
URL: www.primediaelaunch.com

Укладач та виготовлювач друкованої продукції: ГО «Європейська наукова платформа»
21037, Україна, м. Вінниця, вул. Зодчих, 18, офіс 81
Телефони: +38 098 1948380; +38 098 1956755 | E-mail: info@ukrlogos.in.ua
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи: ДК № 7172 від 21.10.2020 р.