

РЕПРОДУКТИВНАЯ МЕДИЦИНА

3 (20)
2014

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ
научно-практический журнал



■ **Д. А. Киншт, М. К. Соболева,
И. В. Айзикович**

Здоровье новорожденных от
одноплодной индуцированной
беременности: собственный опыт
наблюдения МЦ «Авиценна»

■ **А. П. Момот, И. Ю. Кудинова,
Т. А. Батрак, Л. П. Цывкина,
М. В. Медведева**

Фибринолитическая активность крови
при физиологической беременности -
от прегравидарного периода до родов

■ **М. С. Шишиморова,
С. И. Тевкин, В. Н. Локшин**

Эффективность проведения
преимплантационного
генетического скрининга анеуплоидий
методом fluorescent in situ hybridization
(fish) после биопсии бластомера
или трофэктодермы

■ **М. Т. Александров, В. М. Зуев,
В. И. Кукушкин, В. Н. Николенко,
Е. А. Калинина, А. И. Ищенко,
Т. А. Джибладзе, Л. М. Рапопорт,
Т. А. Хомерики, В. Везирова**

Экспериментально-теоретическое
обоснование применения раман-
люминесцентных технологий
в репродуктивной медицине



Казахстанская Ассоциация репродуктивной медицины



РЕПРОДУКТИВНАЯ МЕДИЦИНА

Научно-практический журнал
Казахстанской Ассоциации репродуктивной медицины



Главный редактор

В. Н. Локшин, член-корреспондент НАН РК, профессор

**Заместители
главного редактора**

Т. К. Кудайбергенов, профессор, А. И. Избасаров, профессор

Редакционная коллегия

А. А. Ахметова, О. А. Алимбекова, С. Б. Байкошкарлова, А. А. Байназарова,
Ж. Е. Баттакова, Х. М. Бикташева, Р. К. Валиев, Т. М. Джусубалиева, Е. Т. Длимбетов,
А. М. Дошанова, Л. С. Каюпова, Ш. К. Карибаева, Д. Р. Кайдарова, А. И. Коркан,
Н. М. Мамедалиева, Г. К. Омарова, В. Е. Полумисков, Г. С. Святова, А. Е. Тажиева,
Т. М. Укыбасова, Т. Е. Хусаинов, В. В. Чистяков

Ответственный секретарь

Л. А. Бадельбаева

Редакционный совет

М. К. Алчинбаев (Казахстан), М. Б. Аншина (Россия), Г. У. Асымбекова (Кыргызстан),
Ф. В. Дахно (Украина), М. Dignfeld (Израиль), В. М. Здановский (Россия),
В. Д. Зукин (Украина), Е. А. Калинина (Россия), Н. А. Каюпова (Казахстан),
М. В. Киселева (Россия), И. П. Коркан (Казахстан), В. С. Корсак (Россия),
Р. С. Куздембаева (Казахстан), Л. А. Левков (Финляндия), И. О. Маринкин (Россия),
Н. Н. Мезинова (Казахстан), Т. А. Назаренко (Россия), А. И. Никитин (Россия),
А. А. Попов (Россия), И. Г. Портнов (Россия), Е. Б. Рудакова (Россия),
Т. Ф. Татарчук (Украина), R. Frydman (Франция), Б. В. Шалекенов (Казахстан),
М. А. Шахова (Россия), А. Е. Schindler (Германия), А. М. Юзько (Украина)

Адрес редакции

Республика Казахстан, 050012, г. Алматы, ул. Толе би, 99
тел.: +7 (727) 234 34 34, 234 37 37, факс: +7 (727) 292 77 84
e-mail: karm2008@mail.ru
Электронная версия журнала на сайте www.repromed.kz

Собственник

Казахстанская Ассоциация репродуктивной медицины

Издатель

Республика Казахстан, 050008
г. Алматы, пр. Абылай хана, 58, 2 эт., оф. 209
ул. ул. Макатаева (вход с ул. Макатаева)
тел.: +7 (727) 273 85 84
e-mail: info@medmedia.kz, editormmk@medmedia.kz
skype: medmedia.kz



Издается с 2009 г.

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации и культуры РК

Свидетельство о регистрации № 10329-Ж от 24.08.2009 г.

Периодичность 4 раза в год

Территория распространения – Республика Казахстан

Тираж 100 экз.

Отпечатано в типографии ТОО “DeLuxe Printery”

Казахстан, г. Алматы, ул. Бегалина, 38

Редакция не всегда разделяет мнение авторов публикаций. Ответственность за содержание рекламы несут рекламодатели. Рекламодатели предупреждены об ответственности за рекламу незарегистрированных, неразрешенных к применению МЗ РК лекарственных средств и предметов медицинского назначения. При перепечатке материалов ссылка на журнал «Репродуктивная медицина» обязательна.

Содержание

<i>От главного редактора</i>	3
<i>Общественное здравоохранение</i>	
ВРТ в России по данным регистра 2012 г. <i>В. С. Корсак, А. А. Смирнова, О. В. Шурыгина</i>	4
<i>Проблемы репродукции</i>	
Кисты яичников в программах эко и пз в протоколах с аг-рг <i>Е. Б. Рудакова, Т. В. Стрижова, О. Б. Трубникова, Л. Ю. Замаховская</i>	7
Здоровье новорожденных от одноплодной индуцированной беременности: собственный опыт наблюдения МЦ «Авиценна» <i>Д. А. Кинит, М. К. Соболева, И. В. Айзикович</i>	11
Проблема выбора тактики лечения женщин со сниженным овариальным резервом методами ВРТ <i>Н. Б. Буренкова, Э. В. Комличенко, А. В. Иванов</i>	18
<i>Ведение беременности</i>	
Фибринолитическая активность крови при физиологической беременности - от прегравидарного периода до родов <i>А. П. Момот, И. Ю. Кудинова, Т. А. Батрак, Л. П. Цывкина, М. В. Медведева</i>	25
<i>Генетика</i>	
Эффективность проведения преимплантационного генетического скрининга анеуплоидий методом fluorescent in situ hybridization (fish) после биопсии бластомера или трофобластодермы <i>М. С. Шишиморова, С. И. Тевкин, В. Н. Локин</i>	34
Нарушения репродуктивной функции у мужчин, связанные с аномалиями половых хромосом <i>К. А. Гусейнова, М. С. Шишиморова</i>	41
<i>Инновации в репродуктивной медицине</i>	
Экспериментально-теоретическое обоснование применения раман-люминисцентных технологий в репродуктивной медицине <i>М. Т. Александров, В. М. Зуев, В. И. Кукушкин, В. Н. Николенко, Е. А. Калинина, А. И. Ищенко, Т. А. Джибладзе, Л. М. Рапопорт, Т. А. Хомерики, В. Везирова</i>	46
<i>Женское здоровье</i>	
Современные аспекты диагностики и тактики ведения предопухоловой патологии шейки матки <i>Т. Ф. Татарчук, Н. А. Володько, Н. К. Силина, Т. Н. Силина, И. В. Гнатушок, Т. О. Мамонова</i>	54
<i>Обмен опытом</i>	
Опыт применения препарата «Дистрептаза» в детской и подростковой гинекологии <i>О. Л. Кудина</i>	66
<i>Случай из практики</i>	
Два случая беременности у пациентки с преждевременной недостаточностью яичников <i>Ж. Б. Тайбагарова</i>	69
<i>Обзоры</i>	
Международные рекомендации по диагностике и медикаментозной терапии маточных кровотечений <i>Г. Д. Кошкимбаева</i>	72
<i>Правила оформления статей</i>	76

Content

<i>From the chief of editor</i>	
<i>Public health</i>	
Art in russia according to the register of 2012 <i>V. S. Korsak, A. A. Smirnova, O. V. Shurygina</i>	
<i>Problems of reproduction</i>	
Ovarian cysts in ivf with gnrh-agonists <i>E. B. Rudakova, T. V. Strizhova, O. B. Trubnikova, L. Y. Zamahovskaya</i>	
The health of infants from singleton induced pregnancy: own experience of observing medical center «Avicenna» <i>D. A. Kinst, M. K. Soboleva, I. V. Aizikovich</i>	
The problem of Choosing the strategy of treatment for women with poor ovarian reserve in the ART <i>N. B. Burenkova, E. V. Komlichenko, A. V. Ivanov</i>	
<i>Management of pregnancy</i>	
Fibrinolytic activity of blood in physiological pregnancy - from programadores period before delivery <i>A. P. Momot, Y. U. Kudinova, T. A. Batrak, L. P. Tsyvkina, M. V. Medvedeva</i>	
<i>Genetics</i>	
The efficiency of preimplantation genetic screening of Aneuploidies by fluorescent in situ hybridization (fish) after blastomere or trophoctoderm biopsy <i>M. S. Shishimorova, S. I. Tevkin, V. N. Lokshin</i>	
Violations of reproductive function for men, Related to anomalies of sexual chromosomes <i>K. A. Huseynova, M. S. Shishimorova</i>	
<i>Innovations in reproductive medicine</i>	
Experimental and theoretical approvement of Raman-luminiscential technologies in reproductive medicine <i>M. T. Alexandrov, V. M. Zuev, V. I. Kukushkin, V. N. Nikolenko, E. A. Kalinina, A. I. Ischenko, T. A. Dzhibladze, L. M. Rapoport, T. A. Khomeriki, B. Vezirova</i>	
<i>Women's Health</i>	
Modern aspects of diagnosis and tactics of precancerous cervical pathology <i>T. Tatarchuk, N. Volodko, N. Silina, T. Silina, I. Gnatushok, T. Mamonova</i>	
<i>Exchange of experience</i>	
Experience of use of the preparation Distreptaza in pediatric and adolescent gynecology <i>O. L. Kudina</i>	
<i>Case Study</i>	
Two cases of pregnancy in a patient with Premature ovarian failure <i>J. B. Taybagarova</i>	
<i>Review</i>	
International treatment guidelines for diagnostics and pharmacotherapy of abnormal uterine bleeding <i>G. D. Koshkimbayeva</i>	
<i>Rules of registration articles</i>	

От главного редактора



**Локшин Вячеслав Нотанович,
главный редактор, президент
Казахстанской Ассоциации
репродуктивной медицины**

Уважаемые коллеги!

Мы с Вами отмечаем первый юбилей журнала, ему 5 лет, только на год меньше, чем Казахстанской Ассоциации репродуктивной медицины, объединившей специалистов, занимающихся лечением бесплодия. И вновь очередной номер выходит в преддверии очередного форума КАРМ, получившего в этом году статус международного конгресса.

За период после предыдущего форума репродуктологов Казахстана прошло много важных событий как в жизни республики и ее здравоохранения, так и в развитии вспомогательных репродуктивных технологий в стране. Успешно реализуется программа «Саламатты Қазақстан», внедряется Единая национальная система здравоохранения, растет внимание государства к проблеме бесплодного брака, проявляющееся, прежде всего, в росте финансирования программ ВРТ в рамках ГОМБТ. За прошедшие годы существенно выросла эффективность проведенных программ ВРТ. Важное значение имеет возможность выбора клиники пациентами в соответствии с принципом «деньги за пациентом». Средства, выделяемые государством на проведение программ ВРТ, позволили значительно улучшить техническое оснащение центров. Вопросы, связанные с реализацией государственной программы, постоянно освещаются на страницах журнала, они есть и в настоящем номере.

Слова президента нашей страны Н.А. Назарбаева о необходимости превращения Казахстана в один из центров медицинского туризма в большей мере относятся к репродуктивной медицине, где уже сегодня не менее 10% пациентов составляют граждане других стран и, прежде всего, Центральной Азии.

Продолжается внедрение новейших технологий, как в диагностику, так и в лечение различных форм бесплодия. Нашим пациентам стали доступны микрохирургические методы получения биологического материала в андрологии (микроTESE), криоконсервация ткани яичника и ряд других. Казахстанские специалисты выступают в качестве спикеров на крупнейших международных форумах, публикуются в международных изданиях с высоким индексом цитирования.

Особое внимание уделено проблеме ведения беременности и родов у пациенток после программ ВРТ. В оптимизации этого процесса есть и резервы в снижении перинатальной патологии и смертности. Один из важных моментов – многоплодие в программах ВРТ. Сегодня это становится проблемой, не менее важной, чем рост эффективности программ. При многоплодии значительно возрастают материальные и моральные затраты и, несмотря на это, мы нередко получаем негативные результаты. Здесь необходимо нормативное регулирование числа переносимых эмбрионов в пользу селективного переноса одного или двух эмбрионов по показаниям. И, конечно, наблюдение беременных в центрах ВРТ значительно снижает риски акушерских и перинатальных осложнений. Изучая бесплодный брак с разных позиций, приходишь к выводу о необходимости создания единого взгляда и единых подходов к этой важнейшей мультидисциплинарной медико-социальной проблеме. И задачу журнала я вижу и в этом тоже. Не может не радовать, что среди наших авторов – коллеги из многих стран. Мы стараемся сделать журнал интересным и полезным для практических врачей и специалистов клиник ВРТ. Насколько нам это удастся – судить Вам.

Пользуясь правом главного редактора журнала, хочу поприветствовать всех участников Конгресса, наших гостей из 13 стран мира, ведущих специалистов в области репродуктивной медицины. Ежегодная конференция КАРМ стала хорошей площадкой для профессионального общения акушеров-гинекологов, репродуктологов, эмбриологов, генетиков, андрологов со своими зарубежными коллегами. Выражу уверенность, что наша очередная профессиональная встреча станет новым большим шагом в развитии отрасли в интересах наших пациентов.

Всего Вам доброго, творческих успехов!

С уважением, профессор В. Локшин,
главный редактор,
Президент Казахстанской Ассоциации
репродуктивной медицины

ВРТ В РОССИИ ПО ДАННЫМ РЕГИСТРА 2012 Г. ART IN RUSSIA ACCORDING TO THE REGISTER OF 2012

В. С. Корсак, А. А. Смирнова, О. В. Шурыгина
V. S. Korsak, A. A. Smirnova, O. V. Shurygina

*Российская Ассоциация репродукции человека,
Россия, Санкт-Петербург*
*Russian Association of Human Reproduction,
Russia, St. Petersburg*

Введение

Настоящий отчет за 2012 год является 18 отчетом Регистра ВРТ Российской Ассоциации Репродукции Человека (РАРЧ). Материал для отчета был собран по форме Европейского консорциума по IVF-мониторингу (EIM ESHRE, 2012). В формах отчета EIM все прерывания беременности, начиная с 20 полных недель, отнесены к категории «роды». Для обеспечения соответствия требованиям отечественной медицинской статистики, действующей с 2012 года, мы вынесли случаи прерывания беременности в сроках с 20 до 22 недель в отдельную строку, и в нашем анализе эти данные рассматривали как «аборты». В отчет включены данные циклов ВРТ, начатых в российских центрах в период с 1 января по 31 декабря 2012 года. За прошедшие 18 лет Регистр собрал, проанализировал и опубликовал ретроспективные сведения о 432 928 циклах ВРТ¹.

Участники Регистра, количество циклов ВРТ

В отчете 2012 года приняли участие всего 110 (79,7%) из 138 центров ВРТ, работавших в тот период в России. Доля государственных центров ВРТ, участвующих в отчете 2012 года, составила 38,2% (в 2011 – 38,8%), в них было выполнено 34,2% (в 2011 – 34,5%) от всех лечебных циклов.

Общее количество доступных анализу циклов ВРТ (без учета ВМИ = 12 692 цикла), выполненных в российских центрах ВРТ в 2012 году, составило 62 760 циклов, в 2011 году – 56 908 циклов. В 2012 году население России по данным Федеральной Службы Государственной Статистики составило 143 056 тыс. человек. Таким образом, на 1 миллион населения было выполнено 438,7 цикла ВРТ (в 2011 – 398,3 цикла). Сведения, полученные из других источников информации, позволяют считать, что Регистру не удалось собрать данные приблизительно о 7-8 тысячах лечебных циклов ВРТ, выполненных в российских центрах в 2012 году. С учетом этих цифр на 1 миллион населения России было выполнено от 483 до 495 циклов ВРТ².

Менее 100 циклов ВРТ провели 15 центров из 110, т.е. 13,6%, в 2011 году доля таких центров составляла 13,3%.

География центров ВРТ

Присоединились к Регистру в 2012 году клиники в Москве, Перми, Томске, Тольятти, Сочи, Уфе, Ульяновске. К сожалению, некоторые из постоянных участников Регистра по разным причинам не приняли участие в отчете 2012 года.

Из 110 участвовавших в отчете 2012 года центров, 39 (35,5%) расположены в Москве и Санкт-Петербурге (в 2010 году – 37,8%). Доля циклов ВРТ, выполненных в московских и петербургских центрах, составила 47,7% (29 911 циклов). Этот показатель в 2011 году равнялся 52,8%.

Структура циклов ВРТ

В 2012 году доля ЭКО в российских центрах составила 35,0% (2011 – 38,1%) от всех циклов ВРТ, доля ИКСИ – 41,0% (2011 – 39,9%); смешанный способ оплодотворения ЭКО+ИКСИ был использован в 8,6% циклов (группа «свежих переносов» без циклов ПГД и «Донорство ооцитов»); перенос размороженных эмбрионов был проведен в 16,7% циклов (2011 – 14,9%), программа донорства ооцитов выполнена в 6,1% циклов (2011 – 5,8%), преимплантационная генетическая диагностика – в 1,2% циклов (2011 – 1,2%).

Донорская сперма была использована в 3057 циклах, при этом оплодотворение сперматозоидами, полученными путем хирургического вмешательства, было выполнено в 677 циклах. В соотношении с общим числом доступных анализу циклов ВРТ (62 760) их доля составила соответственно 4,8% и 1,0%.

Дозревание ооцитов *in vitro* (IVM) применялось в 226 (0,4%) циклах, выполнено 206 (91,2%) переносов, наступило 55 беременностей, из них 49 закончились родами. Частота беременности в расчете на цикл составила 24,3%, на перенос – 26,7%, а частота родов соответственно – 21,7% и 23,8%.

Из 74 циклов оплодотворения размороженных собственных ооцитов перенос эмбрионов был сделан в 48 случаях (64,9%), наступило 15 беременностей (чasto-

¹ Включая циклы искусственной инсеминации, сведения о которых собираются Регистром ВРТ РАРЧ с 2005 года

² В ходе обсуждения проблем сбора отчетных данных на заседании консорциума по мониторингу IVF (EIM ESHRE) на заседании 1 июля 2014 года в Мюнхене было отмечено, что Россия вошла в пятерку стран с наибольшим общим числом выполняемых циклов ВРТ, но число циклов на 1 млн населения более чем в 2 раза ниже среднеевропейских значений. Вновь было подчеркнуто, что добиться близкого к 100% участия центров в отчетах национальных Регистров ВРТ удастся лишь в странах, где государственные структуры (Министерства или Агентства) занимаются сбором информации, либо ставят получение разрешения на работу в области ВРТ в зависимость от участия в отчетах Регистров.

та беременности в расчете на цикл размораживания – 20,3%, на перенос – 31,3%), родами закончилось 10 беременностей (частота родов на цикл – 13,3%, на перенос – 20,8%, частота завершения беременности родами – 66,7%).

В программе «Донорство эмбрионов» было проведено 263 переноса эмбрионов, в результате наступило 110 беременностей (41,8%), родами закончились 72 беременности (частота родов на перенос – 20,8%, частота завершения беременности родами – 65,5%)

Число переносимых эмбрионов

Позиция российских центров в отношении числа переносимых эмбрионов практически не изменилась по сравнению с 2011 годом. В 2012 году суммарная доля переносов одного и двух эмбрионов практически не изменилась: в программах ЭКО и ИКСИ она составила соответственно 23,9% и 59,1% (2011 – 17,1% и 61,7%), 3 эмбрионов – 15,3% (2011 – 18,4%), 4 эмбрионов и более – 1,7% (2011 – 2,8%). Увеличение доли переноса одного эмбриона нельзя с уверенностью отнести к позитивной тенденции, так как неизвестно, произошло ли это в связи с увеличением числа селективных переносов или с увеличением доли недостаточного ответа яичников.

Беременности

Известно о наступлении 19 642 беременностей. Частота наступления беременности в циклах ВРТ за последние 5 лет практически не изменилась. Исключение представляет группа переноса размороженных эмбрионов, в которой этот показатель вырос на 6,6% (до 33,2% по сравнению с минимальным значением 26,6%) в 2009 году.

В программе ЭКО частота наступления беременности в 2012 году составила в расчете на цикл – 33,0% (2011 – 32,7%), на пункцию – 34,3% (2011 – 34,2%), на перенос эмбрионов – 38,5% (2011 – 37,1%). В программе ИКСИ эти показатели составили соответственно 29,6%, 30,4%, 36,1% (2011 – 31,4%, 32,0%, 36,2%).

Частота наступления беременности в программе донорства ооцитов составила в расчете на цикл – 40,6% (2011 – 42,4%), на перенос эмбрионов – 44,1% (2011 – 42,6%). Эти же показатели в программе переноса размороженных эмбрионов в расчете на цикл составили – 31,3% (2011 – 26,8%), на перенос эмбрионов – 33,2% (2011 – 30,2%). В программе ПГД: на цикл – 28,8% (2011 – 27,4%), на перенос эмбрионов – 36,9% (2011 – 36,6%).

Роды и другие исходы беременностей

Известен исход 17 114 беременностей, наступивших в результате ВРТ – 87,1% от известных наступивших беременностей (2011 – 79,9%), из них: родами (22 недели и более) закончились 10 813 (63,2%) беременностей (2011 – 74,1%), абортми – 3487 (20,4%), (2011 – 20,0%), эктопических беременностей – 369 (2,2%) (2011 – 1,8%), срок родов неизвестен в 2445 случаях (14,3%). Неизвестен исход 2528 (12,9%) беременностей (2011 – 20,1%).

Среди известных исходов частота завершения наступивших беременностей родами в срок 22 недель и более в ЭКО и ИКСИ суммарно составила 79,3%, РЭ – 68,9%, ДО – 77,9%, в ПГД – 69,4%. Сравнить приведенные

выше цифры с данными до 2012 года нельзя, в связи с изменением критерия родов.

Сроки завершения беременности родами в зависимости от вида процедуры ВРТ и числа плодов

Доля срочных родов в ЭКО и ИКСИ была наибольшей при одноплодной беременности (86,1%). При двойне роды в срок так же состоялись в большинстве случаев, но это преимущество было существенно меньшим (59,2%). При беременности тройней и большем числе плодов преждевременные роды на 33-36 неделях составили 58,7%, а в 28-32 недели – 22,8%.

Возраст пациенток и результаты ВРТ

Анализ исходов лечебных процедур в разных возрастных группах не выявил каких-либо существенных изменений и новых тенденций по сравнению с 2011 годом. В группе 35-39 лет частота наступления беременности и частота родов в программах ЭКО (33,9% и 23,1%) и ИКСИ (27,7% и 18,9%) ниже по сравнению с этими показателями в группе женщин 34 лет и моложе (ЭКО – 38,0% и 28,3%; ИКСИ – 35,1% и 26,0%). Частота наступления беременности в группе женщин 40 лет и старше была ниже более чем в 2 раза (ЭКО – 16,3%, ИКСИ – 15,9%), а частота завершения беременностей родами ниже почти в 3 раза (ЭКО – 9,7%, ИКСИ – 8,4%). При переносе размороженных эмбрионов частота наступления беременности во всех 3 группах оказалась ниже, чем в описанных выше программах, за исключением группы 40 лет и старше (33,9%, 27,9%, 23,6%). Однако доля родов в группе 40 лет и старше (10,5%) также оказалась в 1,5-2 раза ниже, чем у женщин более молодых групп (15,6% и 20,9%). Высокая частота наступления беременности и родов во всех возрастных группах в программе «Донорство ооцитов» (соответственно 45,1% – 40,4% и 33,7% – 26,1%) в сравнении с рассмотренными программами не является неожиданной. Вместе с тем, и в этой программе отрицательное влияние возраста женщины, как и во всех других программах, на главный результат – завершение беременности родами, подтвердилось со всей очевидностью.

Доля родов после ВРТ

В 2012 году, по данным МЗиСР, в России произошло 1 739 807 родов (в 2011 году – 1 641 100). Таким образом, доля родов после ВРТ составила 0,77% (в 2011 году – 0,65%). В 2012 году в России родилось 1 902 084 ребенка (в 2011 – 1 796 629), из них как минимум 15 944 (0,84%) в циклах ВРТ (в 2011 – 14 533 (0,81%)).

Осложнения

В 2012 году частота эктопических беременностей в расчете на циклы, в которых был проведен перенос эмбрионов, равнялась 0,68% (2011 – 0,53%), а среди всех известных исходов беременности составила 2,2% (в 2011 году – 1,9%). Синдром гиперстимуляции яичников, по тяжести течения потребовавший госпитализации, встретился в 592 случаях (2011 – 520 случаев), что в расчете на число начатых циклов составило 0,94% (2011 – 0,9%).

Осложнения в результате пункции яичников встретились в 89 случаях (0,14%) (2011 – 0,17% случаев), из них 85 в виде кровотечений и 4 – инфекции. Зарегистрировано 2 летальных исхода (Случай 1: ЭКО в России, женщина наблюдалась и рожала на дому в Нидерландах, страдала: гипертонической болезнью, миопией высокой степени, в родах развился геморрагический обширный инсульт, умерла через несколько дней после родов (материнская смерть в позднем послеродовом периоде). Случай 2: материнская смерть в раннем послеродовом периоде от тромбоза легочной артерии. Ребенок жив).

Многоплодие

Последний раз сведения по количеству плодов в наступивших беременностях собирались за 2006 год. Частота многоплодной беременности в программах ЭКО и ИКСИ на 2012 год составила 23,5% (2006 – 25,0%); после переноса размороженных эмбрионов – 16,9% (2006 – 16,9%); в программе «Донорство ооцитов» – 25,7% (2006 – 26,3%).

Преимплантационная диагностика

В 2012 году генетическая диагностика была проведена в 810 циклах (2011 – в 762 циклах), перенос эмбрионов был выполнен в 635 случаях (в 2011 – 582 случая), беременность наступила в 229 (37,5%) случаях (2011 – 36,9%), родами завершилось 145 (69,4%) беременностей (2011 – 78,3%).

Суррогатное материнство

В 2012 году в 66 центрах ВРТ (2011 – 57 центров) 943 цикла с участием суррогатных матерей завершились переносом эмбрионов (2011 – 733 цикла). В результате наступило 372 беременности (39,9%) (в 2011 – 308 (42,0%)). Неизвестен исход 29 (7,8%) беременностей. Родами закончились 272 беременности – 79,3% от известных исходов (2011 – 76,4%). Аборты и неразвивающаяся беременность были диагностированы в 62 случаях, внематочная беременность – в 9 случаях.

Внутриматочная инсеминация

Отчет по ВМИ представили 95 центров (2011 – 85 центров). В этих клиниках в 2012 году всего было выполнено 12 692 цикла ВМИ. Из них: с использованием спермы мужа (гомологичные циклы – гВМИ) – 8885 циклов, с использованием донорской спермы (донорские циклы – дВМИ) – 3807 циклов. Частота наступления беременности в гВМИ составила 15,8% (2011 – 15,1%). В группе дВМИ этот показатель равнялся 24,9% (2011 – 21,4%).

«Параметры высокого качества» (Parameters of excellence)

В качестве таких показателей EIM ESHRE определил отношение числа полученных беременностей к числу перенесенных эмбрионов (ЧБ/ЧЭ) и отношение числа перенесенных эмбрионов к числу полученных беремен-

ностей (ЧЭ/ЧБ). Идеальным значением этих параметров является 1. В российских центрах ЧБ/ЧЭ составило 0,19, а ЧЭ/ЧБ = 5,28 (в 2011 – 0,18 и 5,69 соответственно).

Особенности собранной информации

Проанализированный материал представляет собой сумму данных ретроспективных отчетов российских центров/клиник/отделений ВРТ. Практически в каждом из рассматриваемых разделов есть «потери», связанные с отсутствием информации о какой-то части наблюдений. В разделах, непосредственно относящихся к программам ВРТ и исходам лечебных циклов, эти «потери» составили 1,3% (минимум в ЭКО – 0,8%, максимум в ПГД/РЭ – 5,3%). В разделах, касающихся исходов наступивших беременностей, отсутствие сведений встречается в 10 раз чаще и составляет в среднем 12,4% (от ЭКО – 10,3% до ЭКО/ИКСИ – 18,0%). По сравнению с 2011 годом выросла доля неизвестных исходов в программе «Суррогатное материнство» (с 3,5% случаев до 7,8%).

Заключение

• В 2012 году по общему количеству выполненных циклов ВРТ (62 760; включая ВМИ: 75 452)¹ наша страна вышла на 3 место среди европейских стран².

• Возросло число центров, добровольно участвующих в ежегодных отчетах Регистра ВРТ РАРЧ. Доля участников Регистра составила 79,7% и является самой высокой среди Европейских стран с добровольным участием в национальных регистрах, что свидетельствует о высокой профессиональной ответственности членов РАРЧ и их доверии Регистру.

• Доля наблюдений, о которых не удалось получить всех интересующих сведений, в части программ ВРТ составляет менее 10%, что при более 60 тысячах циклов, доступных анализу, позволяет считать представленные данные высоко репрезентативными. При оценке сведений об исходах наступивших беременностей следует учитывать, что потери наблюдений в ряде этих групп превышают 10%, а в программе переноса размороженных эмбрионов составили 27,9%. Не удается объяснить высокую частоту потерь исходов беременности (7,8%) в программе «Суррогатное материнство».

• Снижению доли недоступных анализу данных, характеризующих объем и качество медицинской помощи в области ВРТ, в особенности в отношении исходов наступивших в результате лечения беременностей, может эффективно содействовать поддержка деятельности Регистра ВРТ РАРЧ со стороны государственных структур и страховых компаний.

• Эффективность работы российских центров/клиник/отделений ВРТ находится на уровне среднеевропейских показателей и по ряду основных позиций превышают их.

¹ Данные отчетов, собранных Регистром ВРТ РАРЧ за 2012 год

² Последний опубликованный отчет: Assisted reproductive technology in Europe, 2009: results generated from European registers by ESHRE. Hum. Reprod. first published online July 9, 2013 doi:10.1093/humrep/det278. Количество циклов: Франция 74 475, Германия 67 349, Великобритания 54 314, Италия 52 032, Бельгия 27 675.

УДК 618.11-006

КИСТЫ ЯИЧНИКОВ В ПРОГРАММАХ ЭКО И ПЭ В ПРОТОКОЛАХ С АГ-РГ

Е. Б. Рудакова, Т. В. Стрижова, О. Б. Трубникова, Л. Ю. Замаховская

Московский областной перинатальный центр, отделение ВРТ, МО,
Россия, Балашиха

АННОТАЦИЯ

Вопросы кист яичников в гинекологической практике изучены во многих работах. Возникновение кист яичников в программах ЭКО и ПЭ на этапе десенситизации гипофиза с использованием АГ-РГ является малоизученной и дискуссионной проблемой. В статье освещены результаты ретроспективного и проспективного анализа пациенток с доброкачественными кистами яичников в анамнезе и в программах ВРТ. Изучены особенности стимуляции суперовуляции яичников, эмбриологические аспекты, исходы программ ЭКО и ПЭ, а также выбор оптимальной врачебной тактики при возникновении функциональных кист в программах ВРТ.

Ключевые слова: кисты яичников, ЭКО и ПЭ

Введение

Частота встречаемости доброкачественных образований яичников в популяции за последние 10 лет увеличилась до 25%. При этом, 70,9% всех случаев доброкачественных образований составляют ретенционные кисты яичников (эндометриозидные и функциональные: фолликулярные и кисты желтого тела). Среди всех оперированных кист и кистом на долю эндометриозидных кист приходится до 14% [1,4,6]. Функциональные кисты яичников являются опухолевидными образованиями со скоплением жидкостного содержимого в предсуществующих полостях и отсутствием гистологической капсулы, способной к пролиферативному росту. Наиболее часто возникают на фоне хронического воспалительного процесса и обусловлены нарушением гипоталамо-гипофизарной регуляции функции яичников [1,2,5]. При стимуляции овуляции в лечении женского бесплодия могут формироваться фолликулярные кисты за счет высокой нагрузки эстрогенами, в программах ВРТ – в длинных протоколах на фоне введения АГ-РГ [3,9]. Возникновение кист яичников на фоне АГ-РГ обусловлено двухфазностью их действия: первая фаза – активации, продолжительность ее около 10-14 дней, вторая фаза – десенситизации, наступает через 15-19 дней от момента введения АГ-РГ [7,8,10].

Бесплодие у пациенток с доброкачественными образованиями яичников достигает 41% [7,10,11,16]. Несмотря на большое количество исследований по доброкачественным образованиям яичников, на сегодняшний день остаются недостаточно изученными вопросы: частота встречаемости кист яичников (функциональных и эндометриозидных, в том числе, оперированных в анамнезе) у пациенток с бесплодием в программах ЭКО и ПЭ, особенности ССО и эмбриологические аспекты этих программ. Дискуссионным остается вопрос о выборе оптимальной врачебной тактики при возникновении функциональных кист яичников в программах ЭКО и ПЭ: произвести трансвагинальную аспирацию содержимого кисты или ввести повторные дозы АГ-РГ, или отменить программу ВРТ [12,14,17,19]. Одни авторы считают, что выбранная тактика никак не влияет на исходы программ ЭКО и ПЭ, другие – что консервативное ведение (повторное введение АГ-РГ) повышает результативность

программ ВРТ, третьи – отдают предпочтение оперативной тактике ведения [6,13,15,18].

Цель исследования

Изучить частоту встречаемости кист яичников (в анамнезе и при ССО) у пациенток с бесплодием в программах ЭКО и ПЭ, а также состояние их овариального резерва, особенности протоколов ССО, эмбриологические аспекты и исходы проведенных программ ВРТ.

Материалы и методы

На первом этапе для определения частоты встречаемости кист яичников в анамнезе у пациенток с бесплодием в программах ВРТ проведено ретроспективное когортное исследование 453 протоколов ЭКО и ПЭ.

На втором этапе провели проспективное сравнительное исследование 247 программ ЭКО и ПЭ. Изучали особенности стимуляции суперовуляции яичников, эмбриологических аспектов и исходов программ ВРТ. Также изучали особенности программ в зависимости от выбранной тактики ведения при возникновении кист яичников на этапе десенситизации гипофиза в протоколах с АГ-РГ.

При проспективном исследовании были выделены три группы пациенток:

1 группа (n=122)

Критерии включения: оперативное лечение по поводу односторонних образований яичников в анамнезе (с гистологической верификацией диагноза), бесплодие женского генеза.

• 1А - функциональные кисты яичников – 38% (n=46)

• 1В - эндометриозидные кисты яичников – 62% (n=76)

2 группа (n=68)

Критерии включения: отсутствие оперативного вмешательства на яичниках в анамнезе, женский фактор бесплодия, возникновение функциональных кист в программах ЭКО и ПЭ.

Из них консервативное лечение функциональных кист яичников в анамнезе у 47% (n=32).

• 2А – оперативная тактика (трансвагинальная пункция кисты с последующим цитологическим исследованием полученного аспирата) – 40% (n=27).

• 2В – консервативная тактика (повторное введение АГ – РГ) 60% (n=41).

3 группа – контроль (n=57).

Таблица 1 – Оценка овариального резерва сравниваемых групп пациенток.

Группа	АМГ (нг/мл)	ФСГ (мЕд/мл)	Число антральных фолликулов по УЗИ (в одном яичнике)
1А	1,1±0,7	8,9±0,8	6,2±2,4
1В	0,4±0,2	9,3±1,7	4,6±1,7
3	2,9±1,2	6,8±1,6	8,5±1,4

Критерии включения: пациентки с бесплодием изолированного трубного генеза, отсутствие оперативных вмешательств на яичниках в анамнезе и отсутствие функциональных кист в анамнезе и в протоколе ССО.

Результаты

Проведенный ретроспективный анализ на первом этапе исследования показал, что частота встречаемости кист яичников в анамнезе у пациенток, страдающих бесплодием и проходящих программу ЭКО и ПЭ, составила 27%. При этом доля эндометриоидных кист составила 62 %, функциональных – 38% .

На этапе проспективного исследования, при оценке овариального резерва (АМГ, ФСГ, число антральных фолликулов) выяснили, что у пациенток с кистами яичников в анамнезе (1 группа) овариальный резерв ниже, чем в группе контроля, при этом минимальное значение показателей – у пациенток, оперированных по поводу эндометриоидных кист (табл.1).

При изучении особенностей стимуляции супероовуляции (рис.1) выяснили, что максимальные дозы ГТ потребовались у пациенток, оперированных в анамнезе по поводу эндометриоидных кист (группа 1 В).

При сравнительном анализе эмбриологических аспектов у пациенток первой и третьей групп, оценка качества полученных ооцитов проводилась по кумулюсооцитарному комплексу, а качества эмбрионов по шкале Grade до 4 суток культивирования и по Gardner на 5 сутки культивирования (табл.2).

Оценивая полученные эмбрионы у пациенток сравниваемых групп, выяснилось, что достоверно меньшее количество эмбрионов удовлетворительного качества на 3 и 5 сутки культивирования в группе 1В (рис.2).

Частота наступления беременности также была ниже в группе пациенток с односторонними эндометриоидными кистами яичников в анамнезе – группа 1В (рис.3).

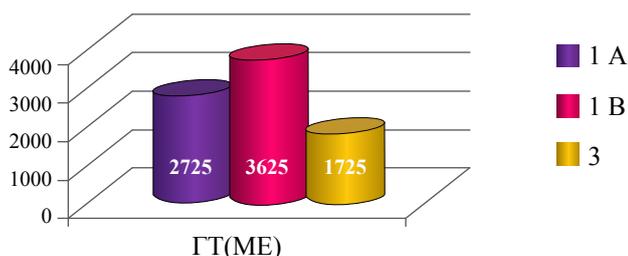


Рисунок 1 – Количество используемых гонадотропинов в программе стимуляции супероовуляции у пациенток сравниваемых групп

Таблица 2 – Оценка полученных ооцитов у пациенток сравниваемых групп

Ооциты Группа	Среднее количество	Степень зрелости		
		III класса	II класса	GV
1 А	8,1±0,8	89%	10%	1%
1 В	6,4±1,3	91%	8%	1%
3	10,4±1,6	88%	8%	4%

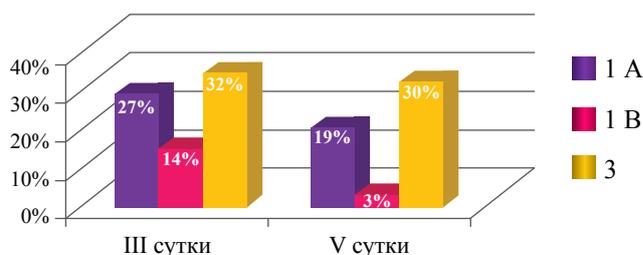


Рисунок 2 – Оценка качества эмбрионов на 3 и 5 сутки культивирования у пациенток сравниваемых групп

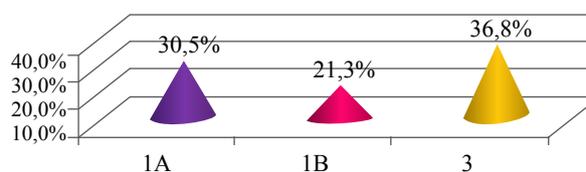


Рисунок 3 – Частота наступления беременности у пациенток сравниваемых групп

Изучая особенности программ стимуляции супероовуляции у пациенток с функциональными кистами яичников в программах ЭКО и ПЭ и различной тактикой их ведения (аспирации содержимого кисты или повторное введение АГ-РГ) значимой разницы в дозировке ГТ, количестве и качестве полученных эмбрионов, частоте наступления беременности выявлено не было (табл.3, рис. 4,5).

Таблица 3 – Оценка полученных ооцитов у пациенток второй группы

Ооциты Группа	Среднее количество	Степень зрелости		
		III класса	II класса	GV
2 А	14,1±0,8	91%	7%	2%
2 В	11,4±1,3	94%	5%	1%

Однако при оценке медико-экономических аспектов программ ВРТ, в группе пациенток с повторным введением АГ-РГ затрачено как минимум в два раза больше средств (рис. 6).

Обсуждение

Кисты яичников – часто встречающаяся патология у пациенток, страдающих бесплодием. По полученным нами данным, частота доброкачественных образований яичников составляет 27%. На долю эндометриоидных кист приходится 62%. При этом, наружный перитонеаль-

ный эндометриоз с формированием кист яичников отрицательно влияет на исходы программ ЭКО и ПЭ даже после оперативного удаления этих кист.

В проведенном исследовании мы выяснили, что кисты яичников в программах ВРТ встречаются в 28% случаев. Врачебная тактика при возникновении кист в протоколах ЭКО и ПЭ остается дискуссионной и сегодня. Более ранние источники литературы свидетельствуют о выборе выжидательной (консервативной) тактики ведения пациенток с формированием кист яичников на этапе десенсилизации гипофиза [12,19]. По данным последних публикаций, возможна и оперативная тактика ведения (трансвагинальная пункция кисты с аспирацией ее содержимого) [11,13,17].

На сегодняшний день в Российской Федерации большинство программ ЭКО и ПЭ выполняются за счет средств бюджета МЗ или за счет средств ОМС. С 2015 года все протоколы ВРТ будут проводиться за счет средств ОМС. Учитывая требования к ведению этих программ, а именно: сроки проведения, количество используемых препаратов и исходы программ – появилась необходимость сократить сроки лечения, не снизив при этом качество исходов программ ЭКО и ПЭ. Исходя из этого, на основании полученных нами данных, следует сделать вывод о том, что выбор оперативной тактики ведения на этапе десенсилизации гипофиза АГ-РГ позволяет сократить сроки проведения протокола ВРТ и получить благоприятные исходы этих программ.

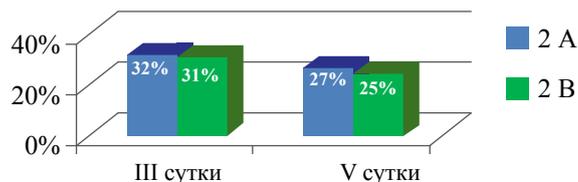


Рисунок 4 – Оценка качества полученных эмбрионов на 3 и 5 сутки у пациенток второй группы

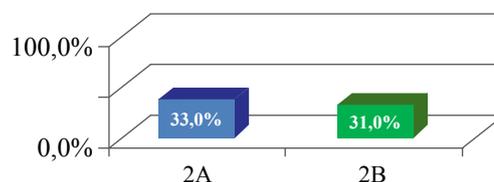


Рисунок 5 – Частота наступления беременности у пациенток второй группы

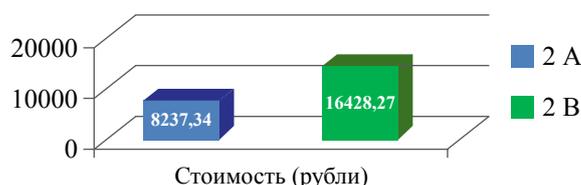


Рисунок 6 – Медико-экономическая эффективность до этапа ССО

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамян Л.В., Бургова Е.Н., Сонова М.М. и др. // Проблемы репродукции. 2008. - Т. 14, № 4, с. 6-9
2. Азиев О.В., Прохоренко Е.В. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2009. - Т. 8, № 4, с. 55-61
3. Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., Машикова Е.А. // Журнал Акушерства и женских болезней. 2009. - Т. LVIII, В. 3, с. 75-85
4. Григорьева Е.Е., Казарян Р.А. // Материалы IX Всероссийского научного форума «Мать и дитя». Москва, 2007, с. 372-373
5. Ковалева Ю.В. // Материалы III Международного конгресса по репродуктивной медицине «Проблемы репродукции». — Москва, 2009, с. 280-281
6. Краснополянская К. В., Горский С.Л., Митюшина Н.Г. и др. // Российский вестник акушера-гинеколога. 2009: — Т. 9, № 7, с. 53-56
7. Кузнецова Е.П., Серебренникова К.Г., Халилов Р.З. // Материалы IX всероссийского научного форума «Мать и дитя». Москва, 2007, с. 436
8. Мишинева Н.Г., Назаренко Т.А., Краснополянская К.В. и др. // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2008. Т. 8: №4
9. Серебренникова К.Г., Кузнецова Е.П., Тетелюткина Ф.К. и др. // Медицинский альманах. 2010. - № 3 (12), с. 83-86
10. Серебренникова К.Г., Кузнецова Е.П., Халгатов Р.З., и др. // Материалы XI Всероссийского научного форума «Мать и дитя». Москва, 2010, с. 505-506
11. Chae H.S., C.H. Rhee // BMC Research Notes. – 2013. – 6:319
12. Feldberg D. et al. // Journal of in Vitro Fertilization and Embryo Transfer. – 1988, vol.5, 6. pp. 372-375
13. Firouzabadi R.D., Sekhavat L., Javardani M. // Gynecology and Obstetrics.-2010.-vol.281, 3.-pp. 545-549
14. Griesinger G., Felberbaum R, Diedrich K. // Human Reproduction. 2005. - Vol. 20, № 9. - P. 2373-2375
15. Kalebic N., Harrison C., Bunting L. et al. // Abstracts of the 26th Annual Meeting of ESHRE. Rome, Italy, 27 June - 30 June, 2010. - P. 149
16. Kawaguchi T. et al. // BMC Research Notes. – 2013. – 6:408
17. Kumbak B., Kahraman S. // Gynecology and Obstetrics. – 2009. – vol.279, 6. – pp. 875-880
18. Nnoaham K.E., Sivanathan S., Hummelshoj L. et al. // Abstracts of the 26th Annual Meeting of ESHRE. Rome, Italy, 27 June - 30 June, 2010.-P. 19
19. Silverberg K.M., Olive D.L., Schenken R.S. // Journal of in Vitro Fertilization and Embryo Transfer. – 1990. – vol.7. – 3. – pp.153-156

REFERENCES

1. Adamyan L.V., Burgova E.H., Sonova M.M. i dr. // Problemyi reproduksii. 2008. - T. 14, # 4, s. 6-9
2. Aziev O.V., Prohorenko E.V. // Voprosyi ginekologii, akusherstva i perinatologii. 2009. - T. 8, # 4, s. 55-61
3. Boyarskiy K. Yu., Gaydukov S.N., Mashkova E.A. // Zhurnal Akusherstva i zhenskih bolezney. 2009. - T. LVIII, V. 3, s. 75-85
4. Grigoreva E.E., Kazaryan P.A. // Materialyi IX Vserossiyskogo nauchnogo foruma «Mat i ditya». Moskva, 2007, s. 372-373
5. Kovaleva Yu.V. // Materialyi III Mezhdunarodnogo kongressa po reproduktivnoy meditsine «Problemyi reproduksii». — Moskva, 2009, s. 280-281

6. Krasnopolskaya K. V., Gorskiy S.L., Mityushina N.G. *i dr.* // *Rossiyskiy: vestnik akushera-ginekologa*. 2009: — T. 9, # G., s. 53-56
7. Kuznetsova E.P., Serebrennikova K.G., Halshov R.Z. // *Materialyi IX vsrossiyskogo nauchnogo foruma «Mat i ditya»*. Moskva, 2007, s. 436
8. Mishieva N.G., Nazarenko T.A., Krasnopolskaya K.V. *i dr.* // *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa*. — 2008. T. 8: #4
9. Serebrennikova K.G., Kuznetsova E.L., Tetelyutina F.K. *i dr.* // *Meditsinskiy almanah*. 2010. - # 3 (12), s. 83-86
10. Serebrennikova K.G., Kuznetsova E.P., Halgtov R.Z., *i dr.* // *Materialyi XI Vserossiyskogo nauchnogo foruma «Mat i ditya»*. Moskva, 2010, s. 505-506
11. Chae H.S., C.H. Rhee // *BMC Research Notes*. — 2013. — 6:319
12. Feldberg D. *et al.* // *Journal of in Vitro Fertilization and Embryo Transfer*. — 1988, vol.5, 6. pp. 372-375
13. Firouzabadi R.D., Sekhvat L., Javerdani M. // *Gynecology and Obstetrics*.-2010.-vol.281, 3.-pp. 545-549
14. Griesinger G., Felberbaum R, Diedrich K. // *Human Reproduction*. 2005. - Vol. 20, # 9. - P. 2373-2375
15. Kalebic N., Harrison S., Bunting L. *et al.* // *Abstracts of the 26th Annual Meeting of ESHRE. Rome, Italy, 27 June - 30 June, 2010.* - P. 149
16. Kawaguchi T. *et al.* // *BMC Research Notes*. — 2013. — 6:408
17. Kumbak B., Kahraman S. // *Gynecology and Obstetrics*. — 2009. — vol.279, 6. — pp. 875-880
18. Nnoaham K.E., Sivananthan S., Hummelshoj L. *et al.* // *Abstracts of the 26th Annual Meeting of ESHRE. Rome, Italy, 27 June - 30 June, 2010.*-P. 19
19. Silverberg K.M., Olive D.L., Schenken R.S. // *Journal of in Vitro Fertilization and Embryo Transfer*. — 1990. — vol.7. — 3. — pp.153-156

ТҮЙІНДЕМЕ

ЭКО БАҒДАРЛАМАСЫНДАҒЫ ЖӘНЕ АГ-РГ ПЭ ХАТТАМАЛАРЫНДАҒЫ АНАЛЫҚ БЕЗ САРЫСУЛЫ ІСІК

Е. Б. Рудакова, Т. В. Стрижова, О. Б. Трубникова, Л. Ю. Замаховская

*Мәскеу облыстық перинатальді орталығы, ҚРТ бөлімі, МО,
Ресей, Балашиха*

Гинекологиялық тәжірибеде аналық бездерінің сарысулы ісігі мәселелері көптеген еңбектерде зерттелген. ЭКО және ПЭ бағдарламаларында АГ-РГ пайдаланып гипофизді десентиздеу кезеңінде аналық бездерінде ірікті ісіктің пайда болуы аз зерттелген және пікірталасты қажет ететін мәселе болып табылады. Мақалада ҚРТ бағдарламаларында және анемнезде аналық безінің зиянсыз ісіктері бар емделушілердің ретроспективті және проспективті талдау нәтижелері қарастырылған. Аналық бездердің суперовуляциясы, эмбриологиялық аспектілер, ЭКО және ПЭ бағдарламаларының салдары, сонымен қатар, ҚРТ бағдарламаларында функционалдық сарысулы ісік пайда болған жағдайдағы оңтайлы дәрігерлік тактика зерттелген.

Түйін сөздер: : *аналық безнің сарысулы ісігі, ЭКО и ПЭ*

SUMMARY

OVARIAN CYSTS IN IVF WITH GNRH-AGONISTS

E. B. Rudakova, T. V. Strizhova, O. B. Trubnikova, L. Y. Zamahovskaya

*Moscow regional perinatal center, Department of ART, MO,
Russia, Balashikha*

Questions about ovarian cysts in gynecological practice are discovered in many studies. Occurrence of ovarian cysts in IVF programs on the pituitary gland desensitization stage with GnRH is a poor studied and discussable problem. In this article the results of a retrospective and a prospective analysis are lightened, including patients with benign ovarian cysts in medical history and IVF treatments. Ovarian superovulation stimulation features, embryological aspects, results of IVF and ET treatment, and choosing of optimal medical tactics in case of functional cysts occurrence in ART programs are discovered.

Key words: *ovarian cysts, IVF and ET*

УДК 618.177-089.888.11

ЗДОРОВЬЕ НОВОРОЖДЕННЫХ ОТ ОДНОПЛОДНОЙ ИНДУЦИРОВАННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ: СОБСТВЕННЫЙ ОПЫТ НАБЛЮДЕНИЯ МЦ «АВИЦЕННА»

Д. А. Киншт¹, М. К. Соболева^{1,2}, И. В. Айзикович¹¹ ЗАО Медицинский центр «АВИЦЕННА»,
Россия, Новосибирск² ГБОУ ВПО НГМУ Минздрава России,
Россия, Новосибирск

АННОТАЦИЯ

Отсутствие единого национального реестра в РФ не дает возможность получить объективные данные при изучении здоровья детей, рожденных после применения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). В связи с чем проведение тщательно спланированного национального многоцентрового исследования состояния здоровья этих детей практически невозможно. Лечение бесплодия родителей, наблюдение за развитием беременности и течением раннего неонатального периода, проведенные в условиях одного центра, позволяют не только осуществить полную преемственность в наблюдении, но и в последующем могут быть использованы при составлении единого реестра. Представлены данные за период 2006-2014 гг. о раннем неонатальном периоде у детей от одноплодной беременности, рожденных после применения ВРТ. Полученные данные подтверждают, что несмотря на распространенность потенциально отрицательных для развития плода факторов, здоровье новорожденных от одноплодной индуцированной беременности существенно не отличается от здоровья детей от спонтанной беременности. В то же время в группе детей с использованием ИКСИ в программе ВРТ снижена толерантность плода к процессу родов, чаще встречаются задержка внутриутробного развития и врожденные аномалии развития.

Ключевые слова: бесплодие, ВРТ, ЭКО, ИКСИ, течение одноплодной индуцированной беременности, здоровье детей, врожденные пороки развития, ЗВУР, ранний неонатальный период.

Введение

Бесплодие относится к тем проблемам, которые не только не теряют, но с каждым годом приобретают все большую актуальность. В лечении женского и мужского бесплодия все шире применяются новые методы, в том числе экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), что существенно увеличило число беременностей и родов у данного контингента женщин [1-3]. При создании методов ЭКО большое внимание исследователей уделялось собственно технологии достижения беременности и возможности ее выносить, соответственно эффективность применения методов вспомогательной репродукции при лечении бесплодия обычно оценивалось по частоте достижения беременности из расчета на число пациенток, пункций фолликулов и переноса. Но известно, что такая оценка далеко не всегда отражает конечный результат проведенной терапии инфертильности. Нередко наступившая беременность заканчивается самопроизвольным абортom в I триместре или останавливается в развитии, а также может стать эктопической. Многоплодие, наступающее после применения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) значительно чаще, чем в популяции, ведет к преждевременному прерыванию беременности и, следовательно, к существенным перинатальным потерям. Учитывая вышесказанное, основными критериями при оценке эффективности методов ЭКО служили снижение репродуктивных потерь, перинатальной смертности и распространенности пороков развития у детей. В центре внимания при обсуждении безопасности и эффективности этих технологий всегда находится качество здоровья детей, рожденных в результате применения ЭКО [4-6]. Поэтому лечение бесплодия можно считать оправданным и целесообразным не только при наступлении беременности как таковой, но и при ее благополучном течении, и, что самое главное, при получении здорового полноценного потомства [7,8].

История развития вспомогательных репродуктивных технологий насчитывает всего несколько десятилетий, а исследования здоровья детей, зачатых вне организма матери, еще моложе. Основное внимание исследователей было сконцентрировано на частоте врожденных пороков [5-7]. В последние годы появились данные о состоянии нервной системы и последующем интеллектуальном развитии детей [8-9], а также распространенности у них онкологических заболеваний [10]. Систематизированных исследований, посвященных здоровью детей, полученных с помощью вспомогательных технологий, в России не много. Их результаты во многом противоречивы, значительная часть исследований, где эти проблемы обсуждаются, выполнена относительно давно, на начальном этапе внедрения и совершенствования вспомогательных технологий. Авторы обращают внимание на повышенную частоту врожденных пороков развития, преждевременных родов, высокий процент детей с малой массой тела, распространенность соматической патологии, в большинстве случаев объясняя это высоким процентом многоплодных беременностей, встречающихся на порядок выше по сравнению с общей популяцией [11-13]. По данным МЦ «Авиценна» (г. Новосибирск), за рассматриваемый период рождено 425 детей от индуцированной беременности, что составило 17,7% от всех новорожденных детей. Многоплодие встречается в 21-22% случаев – рождено 135 детей от многоплодной беременности, из них три тройни. 52,5% детей из многоплодных беременностей рождены при доношенном сроке (при сроке 34 недели гестации и более – 90,8%).

Цель исследования

Изучить течение раннего неонатального периода у детей от одноплодной беременности, рожденных с помощью применения ВРТ.

Материалы и методы

Обследовано 404 ребенка в периоде новорожденности от одноплодной беременности: 264 ребенка от индуцированной беременности и 140 детей от спонтанной беременности. Все дети появились на свет в родильном отделении Медицинского центра «Авиценна» в период с 2006 по 2014 год. Дети от индуцированной беременности были разделены на две группы: первая группа составила 140 детей от матерей с преимущественно женским бесплодием, зачатых с помощью метода экстракорпорального оплодотворения (ЭКО); вторую группу составили 124 ребенка, зачатые с помощью метода интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ), у которых первопричиной бесплодия родителей в большинстве случаев являлся мужской фактор. Дети от спонтанной беременности составили группу сравнения. Наряду с детьми исследовалось здоровье матерей соответствующих групп.

Клинические методы обследования включали в себя оценку состояния здоровья родителей, оценку гинекологического анамнеза матерей, течения настоящей беременности. При определении состояния новорожденных учитывались: толерантность плода к процессу родов и связанный с ней вид родоразрешения; общее состояние при рождении, оценка по шкале Аргаг, необходимость проведения реанимационных мероприятий в родильном зале и интенсивной терапии в первые дни жизни; массо-ростовые показатели, степень зрелости, соматический и неврологический статусы, наличие врожденных пороков развития. В течение раннего неонатального периода внимание уделялось транзитным состояниям, виду вскармливания детей, возможности вакцинации, длительности пребывания ребенка в условиях стационара и показателю «Take home baby».

Результаты исследования и обсуждение

Средний возраст родителей в исследуемых группах был сопоставим ($p > 0,05$), превышал 30 лет, подавляющее число которых распределялось в возрастной группе от 33 до 38 лет. Максимальный возраст в группе детей ЭКО у матерей был 48 (средний $34,24 \pm 0,51$), у отцов – 59 лет (средний $34,98 \pm 0,55$); в группе детей ИКСИ он составил 56 (средний $32,51 \pm 0,33$) и 56 лет (средний $35,05 \pm 0,43$) соответственно. Следует также отметить, что в обеих исследуемых группах более трети жен-

щин в репродуктивный период вступили в возрасте старше 35 лет (32,4% в группе детей ЭКО и 37,8% в группе детей ИКСИ). В контрольной группе детей преобладали матери более молодого возраста (35,7% женщин были в возрасте от 25 до 30 лет). Хотелось бы отметить, что родители новорожденных мальчиков во всех исследуемых группах были относительно более старшего возраста, чем родители новорожденных девочек (таблица 1).

Состояние здоровья женщин в I и II исследуемых группах было сравнимо, у большинства из них отмечалась патология щитовидной железы (30 и 31% соответственно); другая эндокринная патология, в большинстве случаев представленная ожирением, в среднем отмечена у каждой десятой женщины; высока распространенность воспалительных изменений органов мочевыделительной системы – 15,8% и 24,5% соответственно; артериальная гипертензия (АГ) в обеих исследуемых группах встречается в 11,5% случаев. Другая соматическая патология (анемии, хроническая венозная недостаточность, патология ЖКТ и желчевыводящих путей, тонзиллит) встречалась в 73 и 72 процентах случаев соответственно. Следует отметить, также, что «практически здоровых» женщин ни в одной из исследуемых групп не было. В первой группе (дети ЭКО) на 140 матерей приходилось 432 диагноза соматической патологии, что в среднем составило 3 диагноза на одну женщину. Этот же показатель в группе детей ИКСИ составил 2 диагноза/чел. В контрольной группе состояние здоровья матерей отличалось от исследуемых групп в лучшую сторону: существенно реже встречалась эндокринная патология (ожирение у 5,7%, патология щитовидной железы у 19,3%); гестационный сахарный диабет отмечен у 3 женщин (2,1%); артериальная гипертензия – у каждой десятой женщины; и лишь распространенность воспалительных изменений мочевыводящих путей сравнима с исследуемыми группами – 23,6%. Воспалительные гинекологические заболевания преобладали в первой группе и составили 83,2%. В группе детей ИКСИ они также были распространены, но в меньшем проценте случаев – 72%. В контрольной группе распространенность воспалительных заболеваний женской половой сферы составила 49,3%.

Представленные данные убеждают в том, что крайне распространено в обеих исследуемых группах количество

Таблица 1 – Возраст родителей в обследованных группах детей

Возраст родителей, лет	Дети в группе ЭКО (n=140)		Дети в группе ИКСИ (n=124)		Дети от спонтанной беременности (n=140)	
	Мать*	Отец**	Мать*	Отец**	Мать	Отец
До 25	5 (3,9%)	4 (3,0%)	1 (0,8%)	2 (1,7%)	12 (9,6%)	4 (4,4%)
45 и более	8 (6,2%)	10 (7,8%)	3 (2,7%)	20 (17%)	1 (0,7%)	10 (13,2%)
Средний возраст	$34,24 \pm 0,51$	$34,98 \pm 0,55$	$32,51 \pm 0,33$	$35,05 \pm 0,43$	$30,73 \pm 0,41$	$33,69 \pm 0,57$
p 1-2, 1-3, 2-3	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Мальчики	$34,56 \pm 0,92$	$35,46 \pm 0,98$	$34,86 \pm 0,70$	$37,34 \pm 0,95$	$30,54 \pm 0,57$	$33,84 \pm 0,86$
Девочки	$33,99 \pm 0,55$	$34,59 \pm 0,62$	$34,05 \pm 0,66$	$35,71 \pm 0,81$	$30,95 \pm 0,59$	$33,52 \pm 0,71$

Примечание: *Учитывается возраст матерей, самостоятельно выносивших беременность (без программы «Суррогатное материнство»).

** В донорских программах учитывается средний возраст доноров.

потенциально отрицательных для развития плода факторов. Однако для женщин исследуемых групп достаточно сложно выделить какую-либо специфичность симптомов.

При анализе данных становится очевидным, что у большинства женщин исследуемых групп беременность протекала патологически. Наиболее частым осложнением являлась угроза прерывания беременности, наиболее характерная для I триместра (с более ярким подъемом на ранних сроках – до 5 недель беременности и в 12-14 недель) в 62,5 и 65 процентах случаев в I и II группах соответственно. В контрольной группе этот показатель был существенно ниже и составил – 35,5%. Во II триместре риск спонтанного прерывания существенно снижался и составлял уже 14,7% и 11% соответственно (в группе контроля отмечался умеренный рост – 17,1%). Но у 10,3% и 8,7% женщин в исследуемых группах (в меньшем количестве в группе контроля – 5,7%) он сохранялся в течение всего периода беременности. У 27 женщин (19,3%) в I группе и у 35 (28,2%) во II группе была выявлена фетоплацентарная недостаточность, в большинстве случаев представленная компенсированными формами. И только у 2,9 и 12,9% женщин в I и II группах соответственно она привела к синдрому задержки развития плода. В контрольной группе нарушение плацентарного кровотока также отмечалось – в 18,6%, что привело к развитию СЗРП в 8,6%. Частота встречаемости гестоза в III триместре при одноплодной беременности в исследуемых группах была невысокой и составила 2,9% и 4,3 % соответственно. В контрольной группе этот показатель был равен 13,6%.

Особенностью родов у женщин исследуемых групп было преобладание оперативного родоразрешения, что обусловлено, прежде всего, желанием снизить риск возможного травматизма в родах. Дети из I группы в 55% случаев были извлечены при операции кесарева сечения, в 45% – рождены при самопроизвольных родах. Во II группе – данные практически сопоставимы – 56,5% и 43,5% соответственно. Но следует отметить, что в I группе план родоразрешения был изменен в экстренном порядке только в 25 случаях (17,5%), в то время как во II группе – в 30 (24,2%). В контрольной группе данные показатели были следующими: самопроизвольные роды преобладали (72,9%); оперативные составили в общей сложности 27,1%, причем смена плана родоразрешения отмечена лишь в 11,4% случаев. В обеих исследуемых группах преобладали доношенные сроки беременности, что, с одной стороны, обусловлено особенностями родильного дома, но также, вероятно, зависит от преимущества, существующей в МЦ «Авиценна» на всех этапах ведения женщин с бесплодием. В группе детей ЭКО недоношенными родились 4,3% детей, в группе детей ИКСИ этот показатель был несколько выше и составил 6,5%; в этой же группе отмечалась тенденция к перенашиванию – на 41-42 неделе родились 5,6% детей (в группе детей ЭКО это не отмечалось). В группе сравнения – 4,3% детей родились недоношенными; на 41-42 неделе гестации родились 7,0% детей. Показатели физического развития новорожденных представлены в таблице 2.

Толерантность плода к процессу родов по нашим данным была более низкой в группе детей ИКСИ: оценка по Аргар на 1 минуте жизни в 23,3% случаев была 7 и менее баллов, двое детей рождены в асфиксии средней степени тяжести (что составило 1,6 %) и 6 с аспирацией око-

лоплодных вод (4,84 %). В группе детей ЭКО оценка по Аргар на 1 минуте жизни только в 16,7% случаев была 7 и менее баллов, один ребенок родился в асфиксии тяжелой и 1 – в асфиксии средней степени тяжести (1,4 %); у 2 детей отмечена аспирация околоплодных вод (1,4 %). В группе сравнения асфиксии и аспирации в 2,1% и 5,7% соответственно. Соответственно, проведения реанимационных мероприятий в родильном зале потребовало в I группе – 3,7% детей, во II группе – 7,8%, а в группе детей от спонтанной беременности даже несколько больше – в 9,3% случаев, поскольку еще двое детей родились с проявлениями тяжелой внутриутробной пневмонии. Чаще всего во всех исследуемых и контрольной группах речь идет об асфиксии средней степени тяжести и аспирации светлых околоплодных вод. Лишь в 1 случае в группе детей ЭКО была отмечена асфиксия тяжелой степени (Аргар 3/5/7) и 1 случай аспирации мекония в контрольной группе. Все дети живы и выписаны домой в удовлетворительном состоянии.

На территории РФ, согласно Приказу Министерства здравоохранения № 268 (от 10.09.98), к врожденным порокам, подлежащим обязательному мониторингованию, относятся: анэнцефалия, спинномозговая грыжа, энцефалоцеле, гидроцефалия, микроглия, расщелина губы, расщелина неба, врожденные пороки сердца, атрезия пищевода, атрезия ануса, гипоспадия, редукционные пороки конечностей, полидактилия, диафрагмальные грыжи, агенезия и дисгенезия почек, грыжа пупочного канатика, гастрошизис, синдром Дауна, множественные врожденные пороки развития. В тоже время МКБ 10 в разделе «Врожденные аномалии (пороки развития), деформации и хромосомные нарушения» содержит 87 нозологий и более 800 их разновидностей. Для любого практического врача более приемлемым является разделение врожденных пороков на те, которые могут негативно повлиять на функционирование органа и качество жизни, и на ВПР, серьезно не влияющие на общее состояние здоровья пациента. Тем не менее, в проводимом исследовании нами учитывались все диагностированные отклонения от нормального строения органов и тканей, вне зависимости от их влияние на здоровье новорожденных детей. Все встречающиеся в исследуемых группах ВПР, подлежащие обязательной регистрации, перечислены в таблице 3. Среди ВПР, не подлежащих обязательной регистрации, и малых аномалий развития встречались следующие: ВПР скелета (аплазия малоберцовой кости), врожденная косолапость, дисплазия тазобедренных суставов, спондилоэпифизарная дисплазия аутосомно-доминантного типа, врожденный вывих головок бедер, киста брюшной полости, крипторхизм, гипоплазия яичка, пиелоктазии, водянка оболочек яичка, синдактилия пальцев ног, множественные стигмы ДЭГ, добавочная хорда в полости ЛЖ, альвеолярные зубы, врожденная аномалия развития грудной клетки: деформация III-IV ребра.

Ниже представлены основные причины бесплодия родителей в исследуемых группах детей с врожденными пороками и малыми аномалиями развития (рис. 1). Следует отметить, что во II группе (ИКСИ) чаще встречалось сочетание причин бесплодия, преобладал мужской тип бесплодия, встречались причины (иммунные, связанные с эндометриозом невыясненной этиологии), отсутствующие у родителей

Таблица 2 – Показатели физического развития при рождении и распространенность ЗВУР в обследованных группах

	I группа (ЭКО) n=140	II группа (ИКСИ) n=124	Дети от спонтанной беременности n=140	p
Масса детей при рождении				
Все новорожденные	3507,02±41,25	3390,91±31,87	3442,18±40,45	p1-2>0,05 p1-3>0,05 p2-3>0,05
Мальчики	3595,44±65,89	3448,11±74,24	3532,11±54,23	
Девочки	3436,05±51,23	3217,98±62,84	3335,39±58,37	
Рост детей				
Все новорожденные	52,60±0,19	52,32±0,17	52,45±0,22	p1-2>0,05 p1-3>0,05 p2-3>0,05
Мальчики	53,25±0,28	52,75±0,39	52,89±0,3	
Девочки	52,08±0,24	51,60±0,34	51,92±0,3	
Окружность головы				
Все новорожденные	34,67±0,07	34,47±0,07	34,56±0,08	p1-2>0,05 p1-3>0,05 p2-3>0,05
Мальчики	34,79±0,11	34,55±0,16	34,7±0,12	
Девочки	34,58±0,08	34,21±0,12	34,39±0,12	
Окружность груди				
Все новорожденные	33,21±0,1	32,91±0,09	33,04±0,11	p1-2>0,05 p1-3>0,05 p2-3>0,05
Мальчики	33,44±0,16	33,17±0,19	33,24±0,15	
Девочки	33,03±0,13	32,33±0,16	32,81±0,17	
Число недоношенных	6 (4,29%)	8 (6,45%)	6 (4,29%)	p1-3>0,05 p2-3>0,05
Число детей с ЗВУР	4 (2,86%)	16 (12,9%)	12 (8,6%)	p1-3<0,05 p1-2<0,05

I группы. В группе новорожденных, зачатых с помощью ЭКО (I группа) диагностированы только трубно-перитонеальный и эндокринный тип бесплодия.

Наличие воспалительных процессов женской половой сферы, а также иных хронических очагов инфекции (хронический тонзиллит, инфекция МВП) отмечено во всех исследуемых группах. Влияние инфекционных факторов неспецифической этиологии также может являться одной из причин формирования ВПР и МАР. Этот фактор может иметь особое значение у родителей молодого возраста, что прослеживается при анализе встречаемости аномалий развития у детей в контрольной группе. Этот фактор может иметь меньшее значение у родителей в группах детей от индуцированной беременности, поскольку все они проходят тщательную подготовку к беременности с санацией основных очагов инфекции. Патология щитовидной железы, ожирение и анемия у матери – основная соматическая патология, встречающаяся в группах детей с ВПР. В группе контроля анемия встречается реже, но, в то же время, чаще, чем в I и II группах, сопровождает течение беременности у детей с аномалиями развития. Метаболические дисфункции у беременных женщин также могут являться возможными факторами, приводящими к нарушению онтогенеза.

В исследуемых группах ВПР и МАР были зарегистрированы: в I группе – у 12 детей (что составило 8,5%); во II группе – у 16 детей (12,9%); в группе контроля – у 23 детей (16,4%). При пересчете с учетом только врожденных пороков развития, подлежащих обязательной регистрации, все же сохранялась более высокая частота регистрируемых ВПР: во II группе – 4,0%; в I группе – 1,4%; в группе контроля – 2,85%.

При этом, в I группе все врожденные аномалии были изолированными; во II группе – у трех детей зарегистрированы множественные врожденные пороки развития: 1) ВПР ЧЛС: двусторонняя неполная расщелина твердого и мягкого неба, двусторонний врожденный вывих головок бедер, разгибательная контрактура коленных суставов в сочетании с множественными стигмами дисэмбриогенеза (ДЭГ); 2) двусторонний крипторхизм, двусторонняя пиелозктазия, реципрокная транслокация между 3 и 13 хромосомами; 3) сочетанный врожденный порок сердца (ВПС): дефекты межжелудочковой (ДМЖП) и межпредсердной перегородки (ДМПП) в сочетании с функционирующим овальным окном. В этой же группе рожден ребенок с синдромом Дауна.

У всех детей в исследуемых группах оценивалось со-

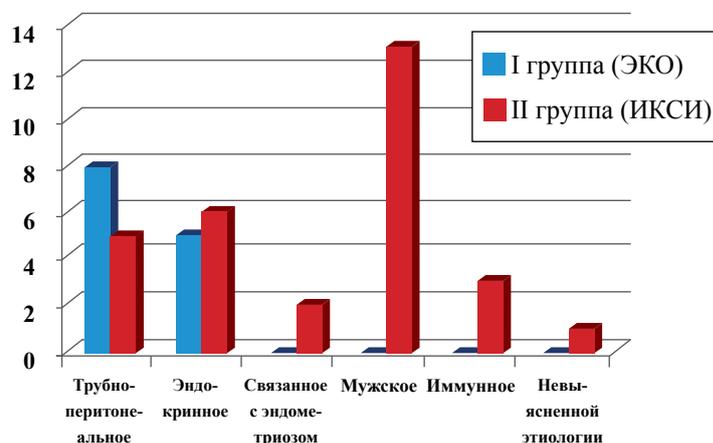


Рис. 1 – Основные причины бесплодия родителей у детей с ВПР и МАР

Таблица 3 – Виды врожденной патологии

Вид ВПР, МАР	I группа (ЭКО) n=140	II группа (ИКСИ) n=124	Контрольная группа n=140
Врожденные пороки развития, подлежащие обязательной регистрации			
Синдром Дауна	–	1	–
Множественные ВПР: • ВПР ЧЛС: двусторонняя неполная расщелина твердого и мягкого неба • двусторонний врожденный вывих головок бедер • разгибательная контрактура коленных суставов	–	1 1 1	
ВПР почки (односторонняя гидронефротическая трансформация III степени)	–	–	1
Полидактилия (кожная форма)	1	–	–
ВПС: ДМЖП	1	1	3
ВПС: ДМЖП+ДМПП+ООО	–	1	–
ВПР ЖКТ: атрезия двенадцатиперстной кишки	–	1	–

стояние нервной системы в периоде новорожденности – те или иные неврологические нарушения отмечались в среднем у 18,8% детей (15,4% в I группе и 23,2% во II исследуемой группе). В группе контроля неврологические расстройства встречались даже в большем проценте случаев – 27%. Но при этом следует заметить, что у большинства этих детей речь шла о негрубой и нестойкой неврологической симптоматике. По своему характеру они могли быть оценены как транзиторные (не более 7 дней жизни) и обратимые, в основном выражались повышенной нервно-рефлекторной возбудимостью.

При исследовании инфекционной заболеваемости у детей исследуемых групп были выявлены как легкие, так и более тяжелые формы инфекции. В I группе инфекционные процессы отмечены у 7,9% детей (что сопоставимо с группой контроля – 10%), во II группе реализация инфекции встречалась у 5,5% детей. При этом тяжелые инфекционные процессы (представленные двусторонними пневмониями и генерализованными инфекциями) отмечены у 4,3% и 2,8% детей первой и контрольной группы соответственно. Локальные формы были представлены неонатальной инфекцией мочевыводящих путей и врожденным дакриоциститом. Во II исследуемой группе у детей выявлены только локальные формы. Все дети были выписаны домой в удовлетворительном состоянии.

Другая соматическая патология была представлена: гемолитической болезнью по АВО-системе (максимальное количество отмечено в группе детей ЭКО, течение данной патологии было средне-тяжелым, в лечении не потребовалось ОЗПК, проводилась инфузия ВВИГ); респираторными нарушениями (транзиторное тахипноэ новорожденных, респираторный дистресс-синдром недоношенных); диабетической фетопатия (отмечена у 2 детей из группы ИКСИ), геморрагическая болезнь новорожденного (желудочное кровоотечение) отмечена у одного ребенка в группе детей ЭКО – проводилась гемостатическая терапия, инфузия СЗП.

В исследуемых группах оценивался уровень гипербилирубинемии, как одного из возможных постнатальных показателей высокой антенатальной лекарственной нагрузки у женщин. Следует отметить, что в обеих исследуемых груп-

пах уровень гипербилирубинемии, превышающей физиологические нормы для данного возраста, отмечался в 7,0% и 7,8% случаев, что было сравнимо с данным показателем в группе контроля (7,9%). Средние показатели максимального уровня билирубина на 3–4 сутки жизни в исследуемых группах были следующими: группа детей ЭКО – 150,21±5,83; ИКСИ – 149,59±3,69; группа детей от спонтанной беременности – 151,29±5,02 мкмоль/л.

Дети в исследуемых группах вскармливались из груди в 91,7% и 93,3% соответственно, в группе контроля приверженцев грудного вскармливания было несколько больше – 95%. Большинство детей вакцинировано во всех исследуемых группах. Традиционно, процент вакцинации против вирусного гепатита В ниже (в 63,6% и 54,8% в I и II группах соответственно), за счет достаточно высокого процента отказов родителей от вакцинации (23% и 27,8% соответственно). В группе контроля эти показатели составили 53,5% и 36,4% соответственно. Вакцинация против туберкулеза проведена у существенно большего количества детей: 80,7% и 80,6% в исследуемых группах соответственно (в группе контроля – 77,8%). Среднее пребывание детей в условиях отделения новорожденных во всех группах составило около 5 дней, менее 2% детей были переведены на второй этап выхаживания, и показатель «Take home baby» составил около 98%.

Заключение

Полученные данные позволяют утверждать, что лечение бесплодия с использованием методов ЭКО и ИКСИ является эффективным и обоснованным, поскольку при соблюдении определенных показаний и ограничений, а также преимущества на всех этапах ведения беременности способствует рождению детей, физический и неврологический статус которых в раннем неонатальном периоде не отличается от детей, зачатых естественным путем. Несмотря на то, что в обеих исследуемых группах распространено количество потенциально отрицательных для развития плода факторов, и возраст женщин, вступивших в репродуктивный период выше, чем в группе сравнения, здоровье новорожденных от индуцированной беременности существенно не отличается от детей контрольной группы. Толерантность

к процессу родов, по нашим данным, оказалась ниже в группе детей ИКСИ, в которой также чаще, чем в группе детей ЭКО, встречались асфиксия и аспирация околоплодных вод, а также изначально отмечалась более низкая оценка по шкале Аргар на первой минуте жизни. Ранний неонатальный период у детей от одноплодной беременности обычно протекает без грубых нарушений в функционировании органов и систем. Физическое развитие детей ЭКО соотносится с развитием детей от спонтанной беременности – задержка внутриутробного развития встречается почти в 2 раза реже, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). В группе детей ИКСИ этот показатель выше, чем в группе детей ЭКО (12,9%, $p < 0,05$), что вероятнее всего объясняется более тяжелыми формами бесплодия у родителей в данной группе. Тщательная подготовка женщин с санацией хронических очагов инфекции перед вступлением в программу ЭКО позволяет снизить

возможное негативное влияние инфекционных факторов на процессы онтогенеза. Большая часть аномалий развития, а также самые серьезные из них, относятся ко II исследуемой группе (ИКСИ), в бесплодии родителей у которых превалирует мужской фактор, чаще встречается сочетание нескольких видов бесплодия, в том числе иммунное. Возможно, для данной категории пациентов необходимо более тщательное обследование с использованием предимплантационной генетической диагностики и донорских программ. При исследовании инфекционной заболеваемости у детей в I группе отмечается более высокая заболеваемость и более тяжелые формы с генерализацией инфекционного процесса, что можно объяснить преобладанием и более длительным течением инфекционных процессов женской половой сферы, которые в конечном итоге и приводят к развитию трубно-перитонеальных форм бесплодия у женщин первой группы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кулакова В.И. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению / Под ред. М., 2006
2. ESHRE Capri Workshop Group Fertility and ageing // *Hum. Reprod. Update*. 2005. Vol. 11, № 3. P. 261-276
3. Devroey P., Steirteghem A. van. A Review of Ten Years Experience of ICSI // *Hum. Reprod. Update*. 2004. Vol. 10, № 1. P. 19-28.
4. Kurinczuk J.J. Safety issues in Assisted Reproduction Technology // *Hum. Reprod*. 2003. Vol. 18, № 5. P. 925-931
5. Davies M.J., Moore V.M., Willson K.J., Essen P., Priest K., Scott H., Mgmt B., Haan E.A., Chan A. Reproductive Technologies and the Risk of Birth Defects // *N. Eng. J. Med*. 2012. Vol 7. P. 1-11
6. Jakson R.A., Gibson K.A., Wu Y.W., Croughan M.S. Perinatal Outcomes in Singletons Following in vitro Fertilization: A Metaanalysis // *Obstet. Gynecol*. 2004. Vol. 103, № 3. P. 551-563
7. Hansen M., Bower C., Molne E., de Klerk N., Kurinczuk J.J. Assesster Reproductive Technologdies and the Risk of Birth Defects – A Systematic Review // *Hum. Reprod*. 2005. Vol 20, № 2. P. 328-338
8. Middelburg K.J., Heineman M.J., Bos A.F., Hadders-Alga M. Neuromotor, Cognitive, Language and Bechavioural Outcome in Children Born Following IVK or ICSI - A Systematic Review // *Hum. Reprod. Update*. 2008. Vol. 14. P. 19-31
9. Leslie G.I. Mental Development of Children Conceived Using Intracytoplasmic Sperm Injection. The Current Evidence // *Minerva Gynecol*. 2004. Vol. 56. P. 247-257
10. Hargreave M., Jensen A., Deltour I., Brinton L.A., Andersen K.K., Kjaer S.K. Increased risk for Cancer Among Offspring of Women with Fertility Problems // *Int. J. Cancer*. 2013. Vol. 133, № 5. P. 1180-1186
11. Бахтиярова В.О. Состояние здоровья детей, родившихся в результате экстракорпорального оплодотворения и искусственного осеменения / Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1993
12. Кузнецова В.С., Логинова И.Н., Коротких Н.Н. Особенности адаптации в раннем неонатальном периоде новорожденных детей, рожденных у женщин с бесплодием в анамнезе после циклов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) // *Журн. теоретической и практической медицины*. 2004. Т. 2., № 1, с. 59-62
13. Рицук С.В., Мирский В.Е. Состояние здоровья детей и особенности течения беременности после применения вспомогательных репродуктивных технологий // *Terra Medica Nova*. 2010. № 1, с. 34-37

REFERENCES

1. Kulakova V.I. Besplodnyiy brak. Sovremennyye podhodyi k diagnostike i lecheniyu / Pod red.. M., 2006
2. ESHRE Capri Workshop Group Fertility and ageing // *Hum. Reprod. Update*. 2005. Vol. 11, № 3. P. 261-276
3. Devroey P., Steirteghem A. van. A Review of Ten Years Experience of ICSI // *Hum. Reprod. Update*. 2004. Vol. 10, № 1. P. 19-28.
4. Kurinczuk J.J. Safety issues in Assisted Reproduction Technology // *Hum. Reprod*. 2003. Vol. 18, № 5. P. 925-931
5. Davies M.J., Moore V.M., Willson K.J., Essen P., Priest K., Scott H., Mgmt B., Haan E.A., Chan A. Reproductive Technologies and the Risk of Birth Defects // *N. Eng. J. Med*. 2012. Vol 7. P. 1-11
6. Jakson R.A., Gibson K.A., Wu Y.W., Croughan M.S. Perinatal Outcomes in Singletons Following in vitro Fertilization: A Metaanalysis // *Obstet. Gynecol*. 2004. Vol. 103, № 3. P. 551-563
7. Hansen M., Bower C., Molne E., de Klerk N., Kurinczuk J.J. Assesster Reproductive Technologdies and the Risk of Birth Defects – A Systematic Review // *Hum. Reprod*. 2005. Vol 20, № 2. P. 328-338
8. Middelburg K.J., Heineman M.J., Bos A.F., Hadders-Alga M. Neuromotor, Cognitive, Language and Bechavioural Outcome in Children Born Following IVK or ICSI - A Systematic Review // *Hum. Reprod. Update*. 2008. Vol. 14. P. 19-31

9. Leslie G.I. *Mental Development of Children Conceived Using Intracytoplasmic Sperm Injection. The Current Evidence* // *Minerva Gynecol.* 2004. Vol. 56. P. 247-257
10. Hargreave M., Jensen A., Deltour I., Brinton L.A., Andersen K.K., Kjaer S.K. *Increased risk for Cancer Among Offspring of Women with Fertility Problems* // *Int. J. Cancer.* 2013. Vol. 133, № 5. P. 1180-1186
11. Bahtiarova V.O. *Sostoyanie zdorovya detey, rodivshihsvya v rezultate ekstrakorporalnogo oplodotvoreniya i iskusstvennogo osemneniya / Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. M., 1993*
12. Kuznetsova V.S., Loginova I.N., Korotkih N.N. *Osobennosti adaptatsii v rannem neonatalnom periode novorozhdennyih detey, rozhdennyih u zhenschin s besplodiem v anamneze posle tsiklov ekstrakorporalnogo oplodotvoreniya (EKO)* // *Zhurn. teoreticheskoy i prakticheskoy meditsiny.* 2004. T. 2., # 1, s. 59-62
13. Rischuk S.V., Mirskiy V.E. *Sostoyanie zdorovya detey i osobennosti techeniya beremennosti posle primeneniya vspomogatelnyih reproduktivnyih tehnologiy* // *Terra Medica Nova.* 2010. # 1, s. 34-37

ТҮЙІНДЕМЕ

ӘЛЕУМЕТТІК ТҮА БІТКЕН ЖҮРЕК АҚАУЫМЕН ЖАҢА ТУҒАН НӘРЕСТЕЛЕРДІҢ ТҮУ ТУРАЛЫ ПРЕДИКТОРЛАРЫ РЕТІНДЕ АНАСЫ ФАКТОРЛАР

Д. А. Киншт¹, М. К. Соболева^{1,2}, И. В. Айзикович¹

*Ана мен бала қорғау ұлттық орталығы
Қырғызстан, Бішкек*

РФ бірыңғай ұлттық тізілімнің болмауы қосалқы репродуктивті технологияларды (ҚРТ) қолданғаннан кейін өмірге келген сәбилердің денсаулығын зерттеу барысында нақты объективті мәліметтер алуға мүмкіндік бермейді. Осыған байланысты мұқият жоспарланған осындай сәбилердің денсаулық жағдайын ұлттық көп орталықты зерттеуді жүзеге асыру мүмкін емес. Бір орталы шеңберінде ата-аналарының белсіздігін емдеу, жүктіліктің дамуын және ерте неонатальді кезеңдің барысын қадағалау бақылаудың толық сабақтастығын қамтамасыз етіп, болашақта бірыңғай тізілім жасау үшін де қолданылуы ықтимал. 2006-2014 жылдар аралығындағы ҚРТ қолданғаннан кейін бір ұрықты жүктіліктен туған балалардың ерте неонатальді кезеңдегі жағдайы туралы мәліметтер ұсынылған. Алынған мәліметтер ұрықтың дамуы үшін әлеуетті теріс факторлардың кең таралуына қарамастан бір ұрықты индуцирленген жүктіліктен туған сәбилердің денсаулығы кенеттен болған жүктіліктен туған сәбилерден ерекшеленбейтінін көрсетті. Сонымен қатар, ҚРТ бағдарламасында ИКСИ пайдалану нәтижесінде дүниеге келген балаларда ұрықтың туу үдерісіне тұрақтылығы төмен болады, жатыршілік даму кідірістері жиі кездеседі және туа біткен даму ақаулықтары орын алады.

Түйін сөздер: *бедеулік, ҚРТ, ЭКО, ИКСИ, бір ұрықты индуцирленген жүктілік барысы, балалар денсаулығы, туа біткен даму кемістігі, ЖІДК, ерте неонатальді кезең.*

SUMMARY

THE HEALTH OF INFANTS FROM SINGLETON INDUCED PREGNANCY: OWN EXPERIENCE OF OBSERVING MEDICAL CENTER «AVICENNA»

D. A. Kinst¹, M. K. Soboleva^{1,2}, I. V. Aizikovich¹

¹ *UAB Medical center «AVICENNA»,
Russia, Novosibirsk*

² *GBOU VPO C Ministry of health Russia,
Russia, Novosibirsk*

The lack of a single national registry in Russia does not allow to obtain objective data in the study of the health of children born after assisted reproductive technology (ART). In this connection, conducting a carefully planned national multicenter study of the health status of these children is almost impossible. Treatment of infertility parents, monitoring of the development of pregnancy and during the early neonatal period, performed in a single center, not only allow for complete continuity of observation, but may be subsequently used in the preparation of a single registry. The objective of research was to observe the early neonatal period at children after IVF from the one-fetal pregnancy during 2006-2014. The obtained data confirm that, despite prevalence potentially negative factors of development, health of newborns from the one-fetal induced pregnancy significantly doesn't differ from children from spontaneous pregnancy. But in group of children born from parents with ICSI use in the ART program, it is shown lowered tolerance to process of childbirth, the delay of pre-natal development and congenital anomalies of development meet more often.

Key words: *infertility, ART, IVF, ICSI, the course of the one-fetal induced pregnancy, health of children, congenital developmental anomalies, SGA, the early neonatal period.*

УДК 618.177-089.888.11

ПРОБЛЕМА ВЫБОРА ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ ЖЕНЩИН СО СНИЖЕННЫМ ОВАРИАЛЬНЫМ РЕЗЕРВОМ МЕТОДАМИ ВРТ

Н. Б. Буренкова, Э. В. Комличенко, А. В. Иванов

ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова»
Минздрава России,
Россия, Санкт-Петербург

АННОТАЦИЯ

Сниженный овариальный резерв у женщин репродуктивного возраста – одна из самых актуальных, до сих пор нет решенных проблем в репродуктивной медицине. Многие современные достижения в оказании вспомогательных репродуктивных технологий направлены на преодоление «бедного» ответа при стимуляции суперовуляции, возможность селекционирования эмбрионов лучшего качества и повышение частоты наступления беременности, а следовательно и рождаемости у данной категории пациенток. Тем более важной данная проблема становится в настоящее время, когда количество женщин со сниженным овариальным резервом возрастает с каждым годом. Наше исследование направлено на разработку новых схем стимуляции суперовуляции, в том числе с применением новых препаратов, с целью оптимизировать лечение методом ЭКО у этой группы пациенток.

Ключевые слова: ЭКО, сниженный овариальный резерв, «болонские» критерии, корифоллитропин-альфа, частота наступления беременности.

Одной из самых значимых медикосоциальных проблем нашей страны, и мира в целом, является возрастающее количество бесплодных браков [1], которое ведет к существенному падению суммарного коэффициента рождаемости и снижению доли повторных рождений (рождений более одного ребенка) с 51% до 41% [2]. Тем более сложной и актуальной эта проблема становится в результате увеличения числа женщин со сниженным овариальным резервом, а следовательно, и низким репродуктивным потенциалом. По опубликованным данным исследований, недостаточный ответ на стимуляцию гонадотропинами в программах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) возникает более чем у 20% женщин до 35 лет [3]. Ситуация усугубляется также за счет увеличивающегося количества пациенток старшего репродуктивного возраста (более 37% – женщины старше 35 лет) [4]. Данные обстоятельства приводят к снижению процента наступления беременности и количества родов у этой категории женщин, а так же обуславливают низкую эффективность программ ЭКО [таб.1].

На лечение бесплодия направлены многие отрасли медицины, государствам обеспечиваются программы помощи для бесплодных пар, созданы ассоциации врачей во всем мире для решения данной проблемы. Немалая доля беременностей (до 6% – страны Европы и 0,3-0,7% – Россия) в мире наступает в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

Обращает на себя внимание ежегодный прирост доли

новорожденных от общего числа родов после применения вспомогательных репродуктивных технологий. Согласно сведениям «Annual Register» (2011г.), число рожденных детей на начало цикла экстракорпорального оплодотворения постоянно растет: с 14% в 1991 году до 24,5% в 2010 году. За последние 30 лет в мире родилось более 5 млн детей после применения вспомогательных репродуктивных технологий. Из отчета Российской Ассоциации Репродукции Человека (РАРЧ): «В 2012 году, по данным МЗиСР, в России произошло 1 739 807 родов (в 2011 году – 1 641 100).

Таким образом, доля родов после ВРТ составила 0,77% (в 2011 году – 0,65 %). В 2012 году в России родилось 1902084 ребенка (в 2011 – 1796629), из них как минимум 15944 (0,84%) – в циклах ВРТ (в 2011 – 14533 (0,81%)). Количество циклов ВРТ так же возрастает с каждым годом: в период с 1995г. по 2012г. с 3690 до 62762.

Основными причинами увеличения количества пациенток со сниженным овариальным резервом являются:

– социально-экономические (позднее формирование браков и отсрочка планирования рождения детей). Количество женщин старшего репродуктивного возраста (старше 35 лет) (диагр. №2), обращающихся в центры ЭКО, достигает почти 40% [4]; а по данным РАРЧ от 2000-2012 гг. процент пациенток, проходящих лечение методом экстракорпорального оплодотворения 35-и лет и старше, увеличился с 33,1% до 43,3% (диагр. №3).

Таблица 1 – Причины снижения репродуктивного потенциала под влиянием возрастного фактора (Назаренко Т. А. Бедный ответ. - М.: МЕДпресс-информ, 2012, с. 28)

Возраст		
Ухудшение качества ооцитов и, как следствие, получаемых эмбрионов	Редукция фолликулярного аппарата (снижение овариального резерва)	Ослабление андроген-секретирующей функции яичников
Уменьшение вероятности зачатия		

Рисунок 1 – Количество циклов ВРТ в России за 1995-2012 гг.

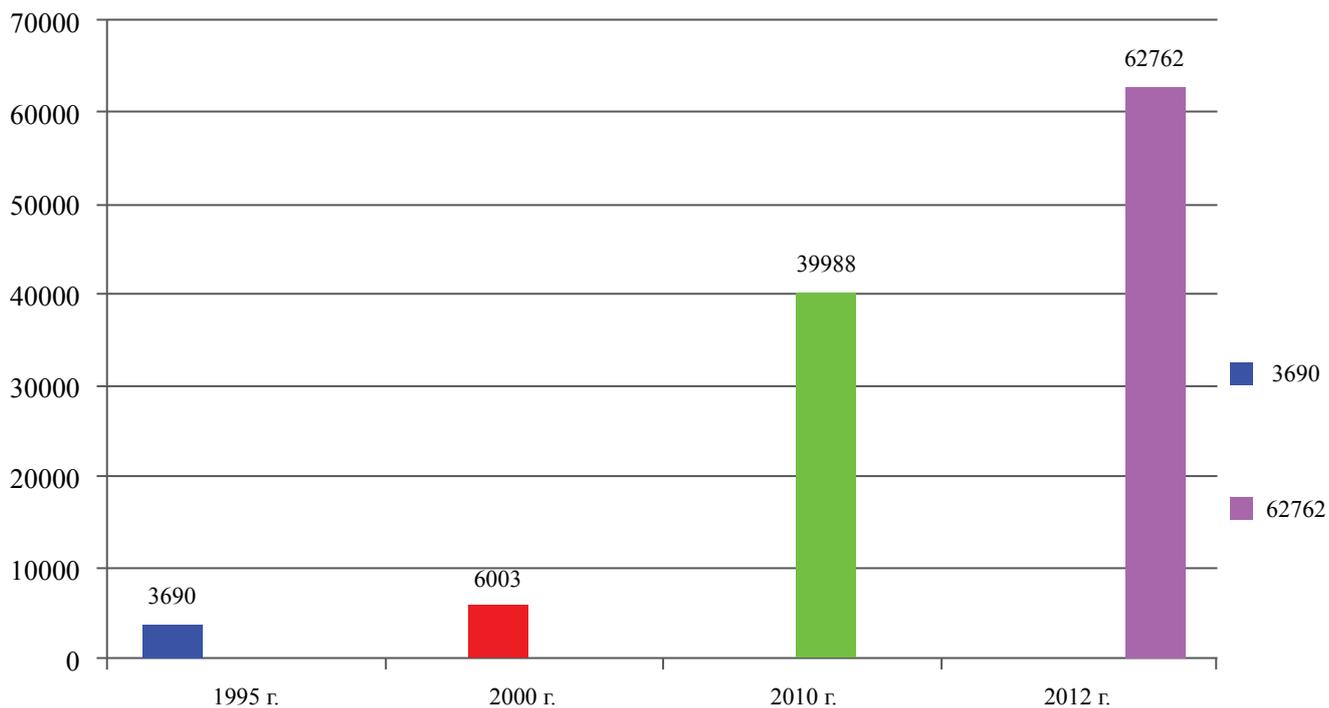


Рисунок 2 – Структура пациенток, нуждающихся в лечении методом ЭКО в зависимости от возраста

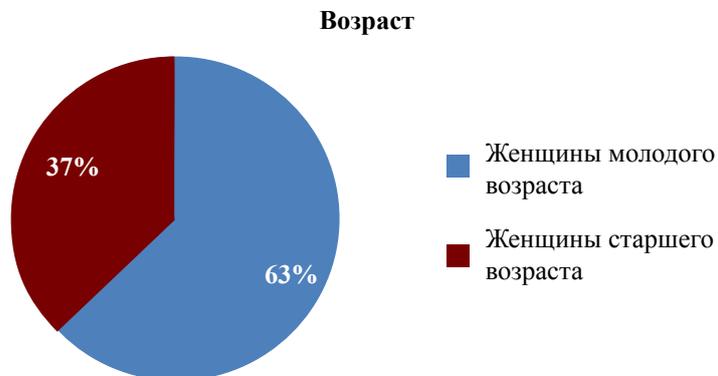
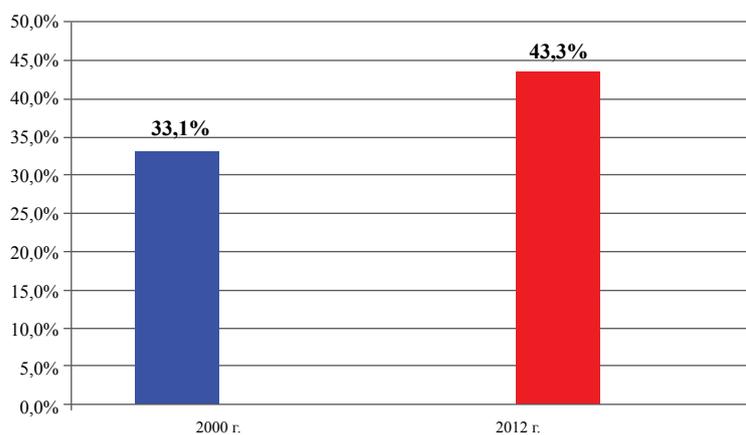


Рисунок 3 – Старший репродуктивный возраст



– медицинские (преждевременное истощение яичников, связанное с хромосомными, генетическими, аутоиммунными и др. причинами, оперативные вмешательства на органах малого таза, химиолучевая и другая гонадотоксичная терапия, эндометриоз и др.), включают в данную группу женщин молодого возраста.

По данным работ, опубликованных в Human Reproduction за 2000-2009 года, количество женщин со сниженным ответом на стимуляцию суперовуляции при лечении методом ЭКО (без учета возраста) более 35%.

В настоящее время нет единого подхода к лечению пациенток со сниженным овариальным резервом, что во многом связано со сложностями унифицированного определения критериев, выделяющих данную когорту женщин. В разных центрах для определения «сниженного овариального резерва» и «бедного ответа» используют свои параметры, учитывающие в одних случаях число созревающих фолликулов или число полученных ооцитов, в других – уровни гормонов в крови, число антральных фолликулов в яичниках на начало стимуляции, оценивают курсовую дозу затраченных гонадотропинов и т.д., что делает невозможным достоверный анализ ста-

тистических и клинических параметров. В связи с данными сложностями, ESHRE в 2011 году была создана рабочая группа, на которой были утверждены стандартные критерии для определения «сниженного овариального резерва» [6], которые так же были утверждены ASRM и были названы «болонскими критериями».

Проблема недостаточного ответа яичников на стимуляцию гонадотропинами в программах ЭКО у женщин репродуктивного возраста волнует специалистов на протяжении длительного времени [7]. Первый случай «бедного ответа» на стимуляцию был описан более 30 лет назад [8,9]. Несмотря на многочисленные исследования и различные методы лечения, процент наступления беременности у женщин с плохим ответом на стимуляцию суперовуляции независимо от причин в среднем не превышает 10% [10].

Важную роль в показателе наступления беременности играет возраст пациентки, а так же количество полученных ооцитов [11,12,13]. По данным систематического обзора Human Reproduction 2011г., в старшей возрастной группе показатель наступления беременности снижается до 1,5-0%.

Таблица 2 – Зависимость частоты наступления беременности в циклах ЭКО от различных факторов

Частота наступления беременности в зависимости от овариального резерва	
Пациентки с нормальным овариальным резервом	Пациентки со сниженным овариальным резервом
34,5 %	14,8 %
Частота наступления беременности у женщин со сниженным овариальным резервом в зависимости от возраста	
Пациентки до 35 лет	Пациентки 35 лет и старше
До 13 %	До 1,5 %
Частота наступления беременности у женщин со сниженным овариальным резервом в зависимости от количества полученных ооцитов	
1 ооцит	2-4 ооцита
0-1,5%	до 11,5%

Специалисты разных отраслей и стран мира пытаются решить проблему «бедного ответа». Врачи осуществляют попытки улучшить результаты лечения методами ВРТ у данной категории пациенток путем применения различных схем стимуляции суперовуляции, предварительным назначением лютеинизирующего гормона, андрогенов, гормона роста, эстрогенов в лютеиновую фазу предыдущего цикла и других неспецифических средств [14]. Опубликовано множество научных работ «за» и «против» таких методик у данной категории пациенток как создание своего криобанка эмбрионов, хетчинг [15, 16], ежемесячные стимуляции суперовуляции, предимплантационная диагностика [17,18] и т.д.

Наиболее часто перед врачом стоит проблема выбора тактики лечения пациентки со сниженным овариальным резервом: проведение ЭКО в естественном (ЭКО-ЕЦ), не стимулированном цикле или попытка стимуляции суперовуляции высокими дозами ежедневных инъекций гонадотропинов (более 300 МЕ). Следует отметить, что метод ЭКО-ЕЦ отличается низкой частотой наступления беременности даже у пациенток молодого возраста [20],

поскольку треть фолликулов может не содержать полноценную яйцеклетку; здесь ниже процент оплодотворения, дробления эмбрионов и имплантации [19].

Результаты лечения с применением стимуляции суперовуляции снижаются за счет получения малого количества ооцитов, отсутствия возможности селекционирования эмбрионов или невозможности проведения этапа переноса эмбрионов в полость матки из-за их отсутствия. И, как справедливо указывают некоторые авторы, отбор ооцитов и эмбрионов основывается не на показателе их качества, а лишь на характеристике жизнеспособности [21].

Во всем мире предпринимаются попытки повысить результаты лечения у пациенток со сниженным овариальным резервом. С появлением нового препарата пролонгированного действия, рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона, корифоллитропина-альфа, появилась возможность более простого и экономически доступного проведения цикла стимуляции. Новая молекула р-ФСГ состоит их фолликулостимулирующего гормона и карбокси-терминального пептида хорионического гонадотропина.

Данная молекула обладает потенциальным преимуществом при проведении стимуляции суперовуляции у пациенток со сниженным овариальным резервом благодаря своему фармакокинетическому профилю. Максимальная концентрация препарата в крови достигается в течение 25-45 часов после инъекции, а при применении ежедневных инъекций – через 5 дней стимуляции [22,23]. Исключение ежедневных инъекций высоких доз гонадотропинов является немаловажным психологическим фактором для пациентки, облегчает работу медицинского персонала, а также снижает материальные затраты на проведенный цикл лечения [24]. Однократное введение препарата поддерживает необходимый для роста фолликулов уровень циркулирующего ФСГ в крови на протяжении недели и, по данным множества мировых исследований, не снижает числа наступления беременности при применении вспомогательных репродуктивных технологий [25].

Нами проводится исследование, в котором изучаются основные характеристики индуцированного цикла, при

использовании разных протоколов стимуляции суперовуляции у женщин со сниженным овариальным резервом. Примером для проведения данной работы были исследования в области применения корифоллитропина альфа у данной категории женщин [26], которые указывают на возможный положительный результат в лечении бесплодия, исходя из особенностей фармакодинамики и фармакокинетики новой молекулы р-ФСГ [27,28]. На первом этапе нашего исследования была проведена работа по изучению структуры пациенток, нуждающихся в проведении лечения методом ЭКО, в зависимости от оценки овариального резерва, с учетом «болонских критериев», обратившихся в отделение вспомогательных репродуктивных технологий СПбГБУЗ «Городская Мариинская больница». Из 570 пациенток, начинающих лечение методом ЭКО, 91 была со сниженным овариальным резервом (в соответствии с «болонскими критериями») (Диагр. №4). Из исследования были исключены программы донации ооцитов.

Овариальный резерв



Рисунок 4 – Структура распределения пациенток с учетом оценки овариального резерва

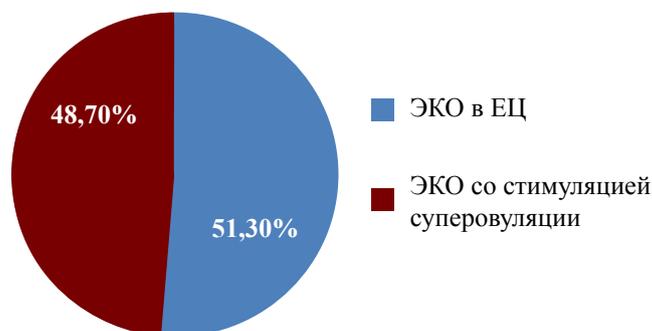


Рисунок 5 – Структура проведенных циклов ЭКО у женщин со сниженным овариальным резервом.

Была проанализирована частота применения стимуляции суперовуляции у данной группы пациенток и количество пациенток, где выбором тактики лечения врача стало проведение ЭКО в естественном, не индуцированном цикле. Из 191 пациентки стимуляцию суперовуля-

ции начали 93 (с количеством антральных фолликулов на второй-третий день менструального цикла в яичниках два и более). ЭКО в естественном цикле – 98 (Диагр. №5). Изучена структура исходов в данных программах ВРТ (Диагр. №6, №7).

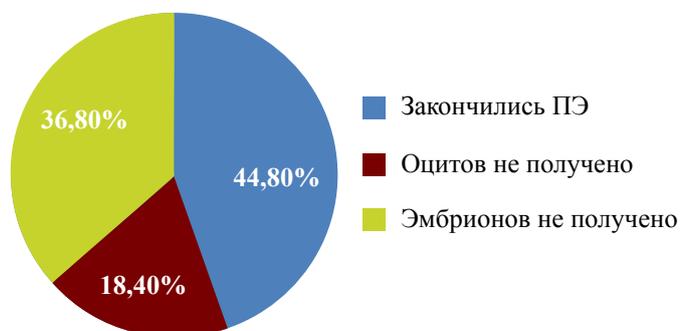


Рисунок – Структура исходов проведенных циклов ЭКО в ЕЦ

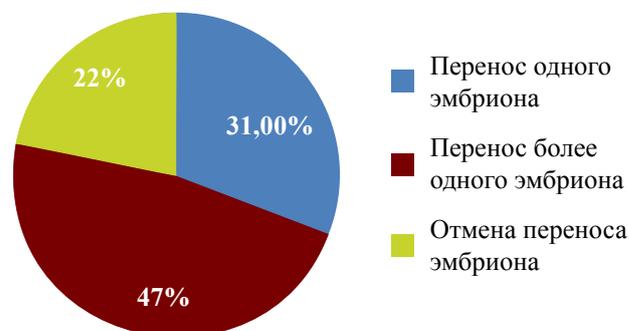


Рисунок 7 – Структура исходов циклов ЭКО со стимуляцией суперовуляции

В настоящий момент в практику внедряются различные схемы лечения, препараты новых поколений и многое другое с единственной целью: преодолеть бесплодие у женщин со сниженным овариальным резервом. В нашем центре также ведется работа, направленная на улучшение результатов лечения методами ВРТ у данной категории пациенток. Одно из направлений этой работы – оптимизировать протокол стимуляции суперовуляции. На данном этапе исследования проводится сравнительная оценка параметров индуцированного цикла при использовании пролонгированной и ежедневной формы р-ФСГ. Далее планируется проведение анализа эффективности различных схем стимуляции и экономических затрат на лечение.

На основании полученных клинико-эмбриологических и экономических показателей, предусмотренных в данном исследовании, планируется разработка практических рекомендаций по использованию разных протоколов стимуляции су-

перовуляции в программах ВРТ у пациенток со сниженным овариальным резервом.

На основании уже полученных нами данных, можно сделать вывод, что количество пациенток со сниженным овариальным резервом составляет более трети от всех обращающихся за помощью в центр лечения бесплодия. Только в половине случаев врач предпринимает попытку стимуляции суперовуляции, ожидая роста более, чем одного фолликула. Из них меньше чем в половине случаев для переноса в полость матки есть более, чем один эмбрион, а треть случаев в этой группе пациентов оканчивается отменой переноса эмбрионов.

При проведении ЭКО в естественном цикле лишь в 45% случаев есть эмбрион, пригодный для переноса в полость матки.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о сверхнизком уровне фертильности у данной категории женщин, что требует дальнейшего совершенствования схем стимуляции и, возможно, разработки новых лекарственных препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бутов В.И., Правовые основы и важнейшие направления демографической политики Российского государства // Демография: уч. пособ. Рекомендован Минобразования РФ. – М.: ИКЦ «МарТ», 2005, 1,3 п.л.
2. Кулаков В.И., Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006, с.616
3. Ubaldi F.M., Rienzi L., Ferrero S., et al. Management of poor responders in IVF // *Reprod Biomed Online* 2005; 10: 235-46 [PubMed]
4. Назаренко Т.А., Краснопольская К.В., «Бедный ответ». Тактика ведения пациенток со сниженной реакцией на стимуляцию гонадотропинами в программах ЭКО//«Бедный ответ». – М.: МЕДпресс-информ, 2012, с.80
5. Oudendijk J.F., Yarde F., Eijkemans M.J., Broekmans F.J., Broer S.L., The poor responder in IVF: is the prognosis always poor?// *Hum Reprod Update* 2012; Jan-Feb; 18(1):1-11
6. Ferraretti A.P., La Marca A., Fauser B.C., Tarlatzis B. and on behalf of the ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition// *ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria*
7. Краснопольская К.В., Калугина А.С. Феномен «бедного» ответа яичников на стимуляторы суперовуляции в программах ЭКО (обзор литературы) // *Пробл. репрод.* 2004, №1, с.51-58
8. Garcia J.E., Jones G.S., Acosta A.A., Wright G. HMG / hCG follicular maturation for oocytes aspiration: phase II, 1981. // *Fertil. Steril.* 1983; 39: 174-179
9. Garcia-Velasco J.A., Isaza V., Requena A., Martínez-Salazar F.J., Landazábal A., Remohí J., Pellicer A., Simón C. High doses of gonadotrophins combined with stop versus non-stop protocol of GnRH analogue administration in low responder IVF patients: a prospective, randomized, controlled trial // *Hum. Reprod.* 2000; 15: 2292-2296
10. El-Toukhy T., Sunkara S.K., Coomarasamy A. et al. Outpatient hysteroscopy and subsequent IVF cycle outcome: a systematic review and meta-analysis. // *Reprod Biomed Online*, 2008, 16, pp.712-719
11. Haas J., Zilberberg E., Machtinger R., Kedem A., Hourvitz A., Orvieto R. Do poor-responder patients benefit from increasing the daily gonadotropin dose during controlled ovarian hyperstimulation for IVF? // *Gynecol Endocrinol.* 2014, Sep 16:1-4
12. Боярский К.Ю. Влияние возраста на частоту наступления беременности в программе ЭКО / К.Ю. Боярский // *Пробл. репрод.* 1999, № 1, с.33-37
13. Боярский К.Ю. Клиническое значение тестов определения овариального резерва в лечении бесплодия: автореф. дис. канд. мед. наук / К.Ю. Боярский. Санкт-Петербург, 2000, с.26
14. Никитин А.И. Фитоэстрогены – тератогенный фактор? // *Пробл. репрод.*, 2011, №2, с.6-11
15. Schoolcraft W.B., Schlenker T., Gee M. et al. Assisted hatching in the treatment of poor prognosis in vitro fertilization candidates // *Fertil. Steril.*, 1994, Vol. 63, N.3, P.551-554
16. Назаренко Т.А. Стимуляция функции яичников, М.: МЕДпресс-информ, 2011, с.271
17. Munne S., Sandalinas M., Escudero T., et al. Improved implantation after preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy // *Reprod. Biomed. Online*, 2003, Vol.7, №1, P.91-97
18. Stevens J., Wale P., Surrey E.S. Is aneuploidy screening for patients aged 35 or over beneficial? A prospective randomized trial // *Fertil. Steril.*, 2004, Vol. 82, P.249
19. Марченко Л.А., Бутарева Л.Б., Жахур Н.А. Преждевременная недостаточность функции яичников, как результат анеуплоидии половых хромосом (обзор литературы) // *Пробл. репрод.*, 2010, №6, с. 30-38
20. Kedem A., Tsur A., Haas J., Yerushalmi G. Is the modified natural in vitro fertilization cycle justified in patients with «genuine» poor response to controlled ovarian hyperstimulation? // *Fertil. Steril.* 2014 Jun; 101(6):1624-8.
21. Lian F., Jiang X.Y. Effect of kantai capsule on the number of retrieved oocytes, high-quality oocytes and embryos in

- in vitro* fertilization of poor ovarian response patients. // *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 2014 Aug; 34(8): 917-21. Chinese
22. Fatemi H.M., Blockeel C., Devroey P. Ovarian stimulation: today and tomorrow. // *Curr. Pharm. Biotechnol*. 2012 Mar; 13(3):392-7
 23. Fauser B., Alper M., Ledger W., Pharmacokinetics and follicular dynamics of corifollitropin alfa versus recombinant FSH during ovarian stimulation for IVF. // *Reprod. Biomed Online*. 2012 Jun 13;6: CD009577
 24. Pouwer A.W., Farquhar C., Kremer J.A. Long-acting FSH versus daily FSH for women undergoing assisted reproduction. // *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Jun 13; 6:CD009577
 25. Fatemi H.M., Doody K., Griesinger G., Witjes H., Mannaerts B. High ovarian response does not jeopardize ongoing pregnancy rates and increases cumulative pregnancy rates in a GnRH-antagonist protocol. // *Hum. Reprod*. 2013 Feb; 28(2):442-52. doi: 10.1093/humrep/des389. Epub 2012 Nov 7
 26. Polyzos N.P., Camus M., Llacer J., Pantos K., Tournaye H. Corifollitropin α followed by menotropin for poor ovarian responders' trial (COMPORT): a protocol of a multicentre randomised trial. // *BMJ Open*. 2013 Jun 20;3(6)
 27. Polyzos N.P., De Vos M., Corona R., Vloeberghs V., Ortega-Hrepich C., Stoop D., Tournaye H. Addition of highly purified HMG after corifollitropin alfa in antagonist-treated poor ovarian responders: a pilot study. // *Hum. Reprod*. 2013 May; 28(5):1254-60
 28. Polyzos N.P., De Vos M., Corona R., Vloeberghs V., Ortega-Hrepich C. Corifollitropin alfa followed by rFSH in a GnRH antagonist protocol for poor ovarian responder patients: an observational pilot study. // *Fertil. Steril*. 2013 Feb; 99(2):422-6

REFERENCES

1. Butov V.I., Pravovyye osnovy i vazhneyshie napravleniya demograficheskoy politiki Rossiyskogo gosudarstva // *Demografiya: uch. posob. Rekomendovan Minobrazovaniya RF*. – M.: IKTs «MarT», 2005, 1,3 p.l.
2. Kulakov V.I., Besplodnyiy brak. Sovremennyye podhodyi k diagnostike i lecheniyu – M.: GEOTAR-Media, 2006, s.616
3. Ubaldi F.M., Rienzi L., Ferrero S., et al. Management of poor responders in IVF // *Reprod Biomed Online* 2005; 10: 235-46 [PubMed]
4. Nazarenko T.A., Krasnopolskaya K.V., «Bednyiy otvet». Taktika vedeniya patsientok so snizhennoy reaktivnoy na stimulyatsiyu gonadotropinami v programmah EKO//«Bednyiy otvet». – M.: MEDpress-inform, 2012, s.80
5. Oudendijk J.F., Yarde F., Eijkemans M.J., Broekmans F.J., Broer S.L., The poor responder in IVF: is the prognosis always poor? // *Hum Reprod Update* 2012; Jan-Feb; 18(1):1-11
6. Ferraretti A.P., La Marca A., Fauser B.C., Tarlatzis B. and on behalf of the ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition// ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria
7. Krasnopolskaya K.V., Kalugina A.S. Fenomen «bednogo» otveta yaichnikov na stimulyatoryi superovulyatsii v programmah EKO (obzor literaturyi) // *Probl. reprod.* 2004, №1, s.51-58
8. Garcia J.E., Jones G.S., Acosta A.A., Wright G. HMG / hCG follicular maturation for oocytes aspiration: phase II, 1981. // *Fertil. Steril*. 1983; 39: 174-179
9. Garcia-Velasco J.A., Isaza V., Requena A., Martínez-Salazar F.J., Landazábal A., Remohi J., Pellicer A., Simón C. High doses of gonadotrophins combined with stop versus non-stop protocol of GnRH analogue administration in low responder IVF patients: a prospective, randomized, controlled trial // *Hum. Reprod*. 2000; 15: 2292-2296
10. El-Toukhy T., Sunkara S.K., Coomarasamy A. et al. Outpatient hysteroscopy and subsequent IVF cycle outcome: a systematic review and meta-analysis. // *Reprod Biomed Online*, 2008, 16, pp.712-719
11. Haas J., Zilberberg E., Machtinger R., Kedem A., Hourvitz A., Orvieto R. Do poor-responder patients benefit from increasing the daily gonadotropin dose during controlled ovarian hyperstimulation for IVF? // *Gynecol Endocrinol*. 2014, Sep 16:1-4
12. Boyarskiy K.Yu. Vliyaniye vozrasta na chastotu nastupleniya beremennosti v programme EKO / K.Yu. Boyarskiy // *Probl. reprod.* 1999, № 1, s.33-37
13. Boyarskiy K.Yu. Klinicheskoe znachenie testov opredeleniya ovarialnogo rezerva v lechenii besplodiya: avtoref. dis. kand. med. nauk / K.Yu. Boyarskiy. Sankt-Peterburg, 2000, s.26
14. Nikitin A.I. Fitoestrogenyi – teratogennyiy faktor? // *Probl. reprod.*, 2011, №2, s.6-11
15. Schoolcraft W.B., Schlenker T., Gee M. et al. Assisted hatching in the treatment of poor prognosis in vitro fertilization candidates // *Fertil. Steril.*, 1994, Vol. 63, N.3, P.551-554
16. Nazarenko T.A. Stimulyatsiya funktsii yaichnikov, M.: MEDpress-inform, 2011, s.271
17. Munne S., Sandalinas M., Escudero T., et al. Improved implantation after preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy // *Reprod. Biomed. Online*, 2003, Vol.7, №1, P.91-97
18. Stevens J., Wale P., Surrey E.S. Is aneuploidy screening for patients aged 35 or over beneficial? A prospective randomized trial // *Fertil. Steril.*, 2004, Vol. 82, P.249
19. Marchenko L.A., Butareva L.B., Zhahur N.A. Prezhdevremennaya nedostatochnost funktsii yaichnikov, kak rezultat aneuploidii polovyih hromosom (obzor literaturyi) // *Probl. reprod.*, 2010, №6, s. 30-38
20. Kedem A., Tsur A., Haas J., Yerushalmi G. Is the modified natural in vitro fertilization cycle justified in patients with «genuine» poor response to controlled ovarian hyperstimulation? // *Fertil. Steril*. 2014 Jun;101(6):1624-8.

21. Lian F., Jiang X.Y. Effect of kuntai capsule on the number of retrieved oocytes, high-quality oocytes and embryos in in vitro fertilization of poor ovarian response patients. // *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 2014 Aug; 34(8): 917-21. Chinese
22. Fatemi H.M., Blockeel C., Devroey P. Ovarian stimulation: today and tomorrow. // *Curr. Pharm. Biotechnol*. 2012 Mar; 13(3):392-7
23. Fauser B., Alper M., Ledger W. Pharmacokinetics and follicular dynamics of corifollitropin alfa versus recombinant FSH during ovarian stimulation for IVF. // *Reprod. Biomed Online*. 2012 Jun 13; 6: CD009577
24. Pouwer A.W., Farquhar C., Kremer J.A. Long-acting FSH versus daily FSH for women undergoing assisted reproduction. // *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Jun 13; 6:CD009577
25. Fatemi H.M., Doody K., Griesinger G., Witjes H., Mannaerts B. High ovarian response does not jeopardize ongoing pregnancy rates and increases cumulative pregnancy rates in a GnRH-antagonist protocol. // *Hum. Reprod*. 2013 Feb; 28(2):442-52. doi: 10.1093/humrep/des389. Epub 2012 Nov 7
26. Polyzos N.P., Camus M., Llacer J., Pantos K., Tournaye H. Corifollitropin α followed by menotropin for poor ovarian responders' trial (COMPORT): a protocol of a multicentre randomised trial. // *BMJ Open*. 2013 Jun 20; 3(6)
27. Polyzos N.P., De Vos M., Corona R., Vloeberghs V., Ortega-Hrepich C., Stoop D., Tournaye H. Addition of highly purified HMG after corifollitropin alfa in antagonist-treated poor ovarian responders: a pilot study. // *Hum. Reprod*. 2013 May; 28(5):1254-60
28. Polyzos N.P., De Vos M., Corona R., Vloeberghs V., Ortega-Hrepich C. Corifollitropin alfa followed by rFSH in a GnRH antagonist protocol for poor ovarian responder patients: an observational pilot study. // *Fertil. Steril*. 2013 Feb; 99(2):422-6

ТҮЙІНДЕМЕ

ҚРТ ӘДІСТЕРІНІҢ ТӨМЕНДЕТІЛГЕН ОВАРИАЛЬДІ РЕЗЕРВІ БАР ӘЙЕЛ АДАМДАРДЫ ЕМДЕУ ТАКТИКАСЫН ТАҢДАУ МӘСЕЛЕСІ

Н. Б. Буренкова, Э. В. Комличенко, А. В. Иванов

Ресей денсаулық сақтау министрлігі «В.А. Алмазов атындағы федералды медициналық зерттеу орталығы»

Ресей, ФМБМ, Санкт-Петербург

Репродуктивті жастағы әйел адамдарда төмендетілген овариальді резерв – ең маңызды мәселелердің, қазіргі кезге дейін репродуктивті медицинада шешімін таппаған жағдай. Қосалқы репродуктивті технологияларды қолданудағы көптеген заманауи жетістіктер суреповуляцияны ынталандыру барысында «жұтаң» жауаптың алдын алуға, сапасы жақсы ұрықтарды сұрыптауға және жүктіліктің орын алу жиілігін арттыруға бағытталған, сәйкесінше бұл емделушілердің аталмыш санатының туу көрсеткішін арттыруды көздейді. Бүгінгі таңда төмен овариальді резерві бар әйел адамдардың саны жыл сайын артып келеді. Біздің зерттеуіміз суперовуляцияны ынталандырудың жаңа сызбаларын әзірлеуге бағытталған, мұнда емделушілердің аталмыш тобында ЭКО әдісімен емдеуді оңтайландыру мақсатында жаңа препараттарды қолдану қарастырылады.

Түйін сөздер: ЭКО, төмен овариальді резерв, «болонский» критерилері, орифоллитропинальфа, жүктіліктің орын алу жиілігі.

SUMMARY

THE PROBLEM OF CHOOSING THE STRATEGY OF TREATMENT FOR WOMEN WITH POOR OVARIAN RESERVE IN THE ART

N. B. Burenkova, E. V. Komlichenko, A. V. Ivanov

TFederal Almazov Medical Research Centre,

Russia, Saint-Peterburg

Poor ovarian reserve in women of reproductive-age is one of the most important and still unsolved problems in reproductive medicine. Many recent advances in assisted reproductive technology are aimed at overcoming a «poor» response during superovulation in order to select the embryos of higher quality to increase pregnancy rate and birth rate, in this category of patients. This problem became important nowadays, because the number of women with reduced ovarian reserve is increasing every year. Our research is aimed to develop new schemes of superovulation, including the use of new drugs in order to optimize the IVF treatment in this group of patients.

Key words: IVF, poor ovarian responders, Bologna criteria, corifollitropin alfa, pregnancy rate.

УДК 616-005

ФИБРИНОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КРОВИ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ - ОТ ПРЕГРАВИДАРНОГО ПЕРИОДА ДО РОДОВ

А. П. Момот^{1,2}, И. Ю. Кудинова³, Т. А. Батрак², Л. П. Цывкина^{1,2}, М. В. Медведева⁴

¹ Алтайский филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Гематологический научный центр» Минздрава России, Россия, Барнаул

² Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, Барнаул

³ Краевое государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Краевая клиническая больница», Россия, Барнаул

⁴ ООО «Инвитро-Сибирь», Россия, Новосибирск

АННОТАЦИЯ

В данной работе проведен анализ значений ряда ведущих участников фибринолитической системы крови (уровня плазминогена, тканевого активатора плазминогена и ингибитора активатора плазминогена 1 типа) и ее интегрального показателя – ХПа-зависимого лизиса эуглобулинового сгустка фибрина (ХПа-3Л) в прегравидарном периоде, на разных сроках физиологической беременности и после естественных родов. Полученные данные могут быть использованы в качестве ориентировочных при исследованиях системы гемостаза у беременных женщин и при формировании групп риска по кровотечениям и тромбозам.

Ключевые слова: фибринолиз, тканевой активатор плазминогена, ингибитор активатора плазминогена 1 типа, время лизиса сгустка фибрина, физиологически протекающая беременность.

Вынашивание беременности обычно связывается с глубокой физиологической перестройкой функционирования многих органов и систем. Это проявляется в локальных и системных изменениях гемостатического и фибринолитического потенциалов крови, протромбогенных эффектах эндотелия кровеносных сосудов [1-3].

Фибринолитическая активность крови, противопоставляемая в ряде авторитетных источников системе гемостаза, в силу методических сложностей ее анализа остается недооцененной для клинической практики, а беременность тем более скрывает этот важнейший механизм поддержания жидкого состояния крови от внимания врачей. Тем не менее, проблемы фибринолиза при беременности, в родах и в послеродовом периоде ассоциируются со значительной заболеваемостью и смертностью для матери и плода [4-8], что подчеркивает актуальность исследований в данной области.

Современный уровень технологий лабораторной оценки отдельных участников системы фибринолиза позволяет обеспечить достаточно глубокую и точную характеристику фибринолитического потенциала крови и сосудистой стенки, дистанцируясь от различных вариантов оценки так называемого «времени лизиса сгустка» и мало информативной регистрации полиморфизма гена ингибитора активатора плазминогена 1 типа PAI-1, генотип 4G/5G с переходом на аналитические измерения таких важных компонентов изучаемой системы, как уровень плазминогена, количество и активность тканевого активатора плазминогена (t-PA), урокиназного активатора плазминогена (u-PA), ингибиторов активатора плазминогена 1 и 2 типа (PAI-1 и PAI-2), α2-антиплазмина, а также тромбин-активируемого ингибитора фибринолиза (ТАФИ), каждый из которых имеет самостоятельное значение в реализации событий, пред-

шествующих растворению фибрина. Можно отметить и то, что, несмотря на имеющиеся публикации, касающиеся нормативных значений показателей системы фибринолиза при физиологической беременности [3,9,10], данных в этой области крайне мало.

Цель настоящей работы заключалась в определении динамики изменений и референтных значений ряда ведущих показателей фибринолиза (плазминогена, t-PA и PAI-1, ХПа-3Л) в различные сроки физиологически протекающей беременности и в первые дни после родоразрешения.

Материалы и методы

В рамках проспективного исследования были получены данные о 301 женщине, обследованной в женских консультациях и родильном доме № 2 г. Барнаула. Исследования выполнялись в лаборатории патологии гемостаза КГБУЗ «Краевая клиническая больница» (г. Барнаул) при участии сотрудников Алтайского филиала ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, лаборатории гематологии ЦНИЛ ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России и лаборатории ООО «Инвитро-Сибирь» (г. Новосибирск). Представленное исследование было одобрено Локальным этическим комитетом ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава РФ (выписка из протокола № 14 от 11.12.2013 г.), и все участники дали свое информированное согласие.

С учетом результатов клинического и лабораторного обследования проводилась консультация акушером-гинекологом, терапевтом и гематологом, после чего решался вопрос о включении женщины на том или ином сроке беременности в настоящее исследование. Учитывались данные у перво- и повторнобеременных в возрасте от 18 до 35 лет. Критерии включения и ис-

ключения из исследования, характеристика обследованных женщин и рожденных детей при настоящей беременности были приведены в недавно опубликованных нами работах [1,11].

Выбраны следующие контрольные этапы для исследования системы гемостаза, учитывающие «критические» сроки беременности: прегравидарный период, 6-8 недель, 12-13 недель, 22-24 недели, 34-36 недель и 2-3-и сутки после родоразрешения. Все женщины, принятые в исследование, обследовались, как правило, однократно.

Методика лабораторных исследований

Взятие венозной крови осуществлялось из локтевой вены в пробирки VACUETTE с буферным раствором цитрата натрия в соотношении 9:1 (9NC Coagulation sodium citrate 3,2%). Кровь центрифугировали при 1400g в течение 15 мин при комнатной температуре. Перед проведением иммуноферментных анализов плазму хранили при температуре -40°C в низкотемпературном холодильнике MDF-192 Ultralow temperature freezer (Sanyo) от одних суток до одного месяца.

Содержание плазминогена в плазме крови определяли амидолитически – с помощью набора реагентов «ХромоТех-Плазминоген» (фирмы Технология-Стандарт) на спектрофотометре «Photometr 5010 v5+» (Robert Riele GmbH&Co KG). При оценке уровней антигена тканевого активатора плазминогена (t-PA) и ингибитора активатора плазминогена 1 типа (PAI 1), применялись наборы реагентов для иммуноферментных исследований фирмы Technoclone GmbH, соответственно, «t-PA Combi Actibind ELISA» и «TECHNOZYМ® PAI-1 Actibind® ELISA». Данные тесты выполнялись с помощью фотометра «Bio-Rad 680» (Bio-Rad Laboratories). Исследование времени XIIa-3Л осуществлялось с применением набора реагентов «ТехФибринолиз-тест» (фирмы Технология-Стандарт).

Исследования проводились в соответствии с рядом известных руководств и рекомендаций в области лабораторной диагностики нарушений гемостаза [12,13].

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программ Microsoft Office Excel 2003, Statistica 6.1. Использовался непараметрический критерий Манна-Уитни для двух независимых групп. Статистически значимыми принимались различия $p < 0,05$. Для показателей каждого теста на разных этапах обследования были рассчитаны: медиана (Me), среднее значение (X) и референтные интервалы (2,5% - 97,5%).

На рисунках представлены 95% допустимые интервалы значений (ДИ 95%).

Результаты и обсуждение

По итогам проведенного исследования уровень плазминогена значительно увеличивался по мере течения беременности, а прирост (по медиане, в сравнении с данными до беременности) составил 12,6%, 56,3%, 57,9% и 68,5%, соответственно, на 2, 3, 4 и 5 этапах (таблица 1).

Можно видеть также, что вслед за повышением умеренное снижение концентрации плазминогена произошло в первые дни после родоразрешения (на 17,8%), в сравнении с данными, полученными на 34-36 неделе беременности.

Найденные в работе динамические изменения уровня плазминогена отражены на рисунке 1, в соответствии с которым достоверно значимые изменения наблюдались уже в ранние сроки беременности (6-8 недель), а с 12-13 недели изучаемый показатель был максимально выраженным вплоть до 34-36 недели.

Интересно, что данный параметр фибринолитической системы крови отсутствует в справочной таблице для клиницистов, опубликованной Abbassi-Ghanavati M. et al. [3]. Kruithof E. K. et al. [14], измеряя плазминоген методом ракетного иммуноэлектрофореза, не нашли существенных отличий у беременных и не беременных женщин. Однако в более поздних работах увеличение концентрации плазминогена при беременности, отмеченное нами, также описывалось рядом авторов [15,16].

Увеличение уровня плазминогена во время беременности по литературным данным ассоциируется с нарастанием концентрации фибриногена и замедленной секрецией эндотелием кровеносных сосудов [17,18]. В работе Uchikova E.H. et al. [16] отмечается, что положительная динамика концентрации плазминогена связана с как с гиперпродукцией данного профермента, так и со сниженным его использованием при физиологической беременности. Эти же авторы полагают, что такое изменение уровня плазминогена может рассматриваться и как защитная реакция, снижающая вероятность внутрисосудистого тромбообразования. Возвращаясь к полученным данным обращает на себя внимание также относительное, но достоверно выраженное снижение концентрации плазминогена в первые 2-3 дня после родоразрешения. Учитывая, что плазминоген имеет сродство к фибрину, в толще которого он активируется [19], этот факт хорошо объясним, учитывая интенсивное фибринообразование в травмированных в родах кровеносных сосудах. Во

Таблица 1 – Результаты оценки уровня плазминогена в плазме крови, %

Этап обследования	Срок беременности	Me	X	Референтный интервал (2,5% и 97,5%)
1	До беременности (n=48)	98,50	99,48	83,00-120,00
2	6-8 неделя (n=50)	111,00	111,70	87,00-140,00
3	12-13 неделя (n=38)	154,50	151,48	107,55-177,08
4	22-24 неделя (n=52)	155,50	156,63	132,80-185,45
5	34-36 неделя (n=37)	166,00	165,00	142,60-193,60
6	На 2-3 сутки после родов (n=46)	136,50	137,48	110,13-164,88

всяком случае, имеются сообщения о принципиальной связи венозного тромбоза с уменьшением концентрации плазминогена в кровотоке [20,21].

Как известно, для реализации своего назначения плазминогену необходимо трансформироваться в активную форму молекулы – плазмин. В число основных активаторов плазминогена входит t-PA, имеющий эндотелиальное происхождение и секретирующийся в кровоток при воздействии известных стимулов, таких как десмопрессин, венозная окклюзия (в том числе при проведении «манжеточной» пробы) или физической нагрузки [19,22,23]. Данный активатор уникален, поскольку его действие высокоспецифично по отношению к фибрину. Так, трансформация плазминогена в плазмин под воздействием t-PA, но в отсутствие фибрина идет крайне медленно и только на фибрине t-PA обеспечивает превращение Glu-плазминогена в протеолитически активный плазмин [19,24].

В соответствии с полученными в настоящей работе данными уровень t-PA имел умеренную тенденцию к увеличению на протяжении течения всей беременности (таблица 2).

По результатам расчетов уровень t-PA на 2-м этапе исследования повысился на 14,7%, далее прирост составил 40,0% на 3-м, 58,9% на 4-м и 97,7% на 5-м этапах (в сравнении с данными, полученными в прегравидарном периоде, по медиане), что, однако, не было статистически значимым.

В работах ряда авторов также сообщается об умеренном увеличении уровня t-PA в плазме крови беременных женщин без какой-либо выявленной патологии [25, 26]. Снижение уровня и активности t-PA обычно связывается как с повышенным риском тромбозов [22, 27], так и с осложнениями течения беременности [28]. В частности, установлено, что уровень t-PA при синдроме потери плода в первом триместре в два раза ниже, чем в эти же сроки физиологически протекающей беременности [29]. В другой работе снижение t-PA ассоциировалось с задержкой внутриутробного развития и преэклампсией [30].

К числу основных ингибиторов t-PA относится PAI-1 [24, 31]. Как и t-PA данный ингибитор продуцируется эндотелиальными клетками кровеносных сосудов, гепатоцитами, моноцитами, макрофагами, фибробластами, мышечными клетками и относится к семейству серпинов. PAI-1 проникает в сгустки фибрина в концентрации, в 500 раз превышающей его уровень в плазме крови, что приводит к стабилизации тромба и увеличивает его резистентность к разрушению [24, 32].

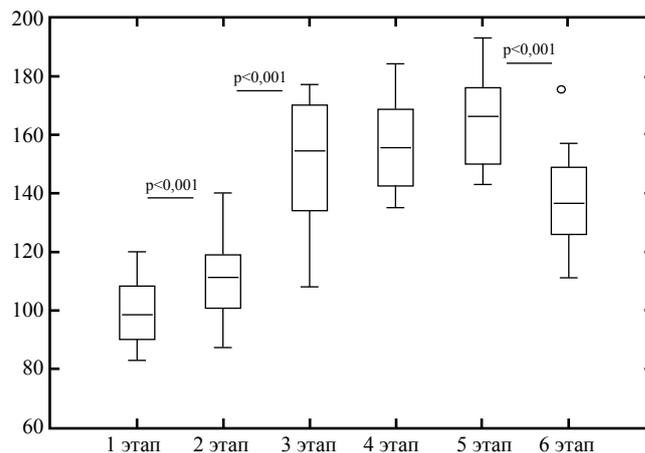


Рисунок 1 – Динамика концентрации плазминогена в плазме крови при беременности.

В соответствии с полученными нами данными уровень PAI-1 во время физиологической беременности (вплоть до 12-13 недель гестации) находился в пределах колебаний значений этого показателя у небеременных женщин. Однако в последующем, во второй половине беременности, отмечался «взрывной» рост концентрации PAI-1 – в 1,5 и 5,0 раз (по медиане, от исходного уровня, соответственно, на 4 и 5 этапах исследования) (таблица 3).

После родоразрешения уровень этого ингибитора вернулся к исходным (до беременности) данным, достоверно снизившись (по медиане) на 82% в сравнении с данными на 34-36 неделях беременности (рисунок 2).

Приведенные результаты вполне согласуются с имеющимися в литературе данными об увеличении уровня PAI-1 на поздних стадиях беременности [25, 33]. Важно отметить, что ряд исследователей обнаруживали более раннее по срокам беременности нарастание концентрации PAI-1 при таких осложнениях гестации как преэклампсия и задержка внутриутробного развития плода [33, 34]. Можно учесть и интересную информацию Е.Ю. Ишутиной [29], в соответствии с которой показано превышение уровня PAI-1 над уровнем t-PA при привычном невынашивании в первом триместре беременности (в сравнении с физиологической нормой), что позволило автору рассматривать увеличение уровня PAI-1 и снижение уровня t-PA в качестве маркерных сдвигов, отражающих степень эндотелиопатии в рассмотренных клинических случаях.

Таблица 2 – Результаты оценки уровня тканевого активатора плазминогена (t-PA), нг/мл

Этап обследования	Срок беременности	Me	X	Референтный интервал (2,5% и 97,5%)
1	До беременности (n=48)	5,23	6,21	1,09-14,86
2	6-8 неделя (n=49)	6,00	6,04	0,98-15,00
3	12-13 неделя (n=41)	7,31	8,42	0,87-20,27
4	22-24 неделя (n=54)	8,30	8,83	2,24-25,14
5	34-36 неделя (n=37)	10,34	10,21	1,86-26,31
6	На 2-3 сутки после родов (n=43)	7,59	8,18	1,84-19,14

Таблица 3 – Допустимый диапазон значений уровня PAI-1, ед/мл

Этап обследования	Срок беременности	Me	X	Референтный интервал (2,5% и 97,5%)
1	До беременности (n=48)	3,01	3,87	2,32-10,96
2	6-8 неделя (n=50)	2,84	3,27	2,33-7,20
3	12-13 неделя (n=42)	2,99	3,55	2,54-8,59
4	22-24 неделя (n=57)	4,54	6,05	2,77-14,10
5	34-36 неделя (n=37)	15,26	19,44	2,95-54,86
6	На 2-3 сутки после ро-дов (n=46)	2,74	3,14	2,27-6,37

Таблица 4 – Медиана и допустимый диапазон значений отношения t-PA к PAI-1.

Этап обследования	Срок беременности	Me	X	Референтный интервал (2,5% и 97,5%)
1	Вне беременности (n=43)	1,54	1,81	0,17-4,98
2	6-8 неделя (n=48)	1,60	2,01	0,30-5,48
3	12-13 неделя (n=40)	2,49	2,63	0,31-7,15
4	22-24 неделя (n=52)	1,53	1,76	0,51-5,30
5	34-36 неделя (n=35)	0,53	0,89	0,07-3,26
6	На 2-3 сутки после ро-дов (n=42)	2,66	2,91	0,67-7,03

Для визуализации этих и полученных в настоящей работе данных был проведен расчет отношения уровней t-PA к PAI-1 в разные сроки физиологически протекающей беременности (таблица 4). Это отношение резко снижалось в период времени, начиная с 22-24 недель вплоть до окончания срока беременности.

На рисунке 3 отображена динамика изменения отношения t-PA к PAI-1 и достоверности различий между отдельными этапами предпринятого исследования.

Полученные данные косвенно свидетельствуют о снижении, несмотря на гиперплазминогемию, пристеночных реакций фибринолиза в период перед родоразрешением, что должно учитываться при принятии решения о применении такого системного гемостатического препарата как транексамовая кислота, уменьшающего кровотечение в родах, но способного вызвать окклюзию почечных артерий или системный тромбоз [35]. Как известно, данный препарат по механизму действия явля-

ется аналогом PAI-1, блокирующим лизин-связывающие участки в плазминогене, в связи с чем последний не способен взаимодействовать с фибрином. По этой причине плазминоген не может активироваться при посредстве t-PA в активный плазмин [36].

Наряду с исследованием отдельных участников фибринолиза был изучен такой интегральный показатель фибринолитических реакций, как время ХПа-зависимого лизиса эуглобулинового сгустка фибрина (ХПа-ЗЛ), методика которого описана в руководстве З.С. Баркагана и А.П. Момота [12]. Как известно, в его основе лежит осаждение эуглобулиновой фракции стабилизированной цитратом натрия плазмы в кислой среде, в ходе которой удаляются ингибиторы фибринолиза. Далее, при выполнении методики, путем рекальцификации восстановленного раствора эуглобулинов вызывают образование сгустка и отмечают время его полного растворения при фиксированной температуре (+37°C).

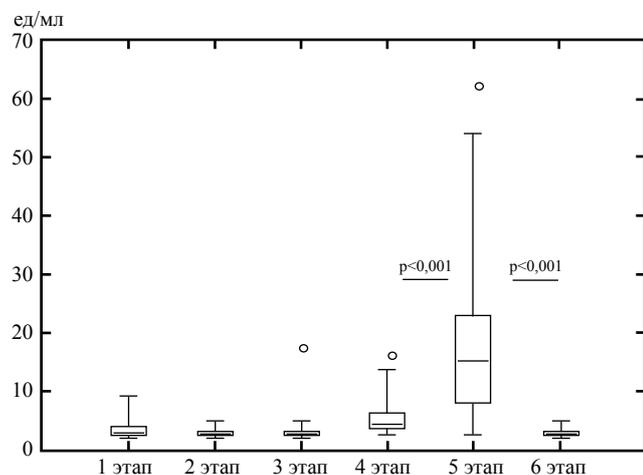


Рисунок 2 – Динамика уровня PAI-1 в плазме крови при беременности.

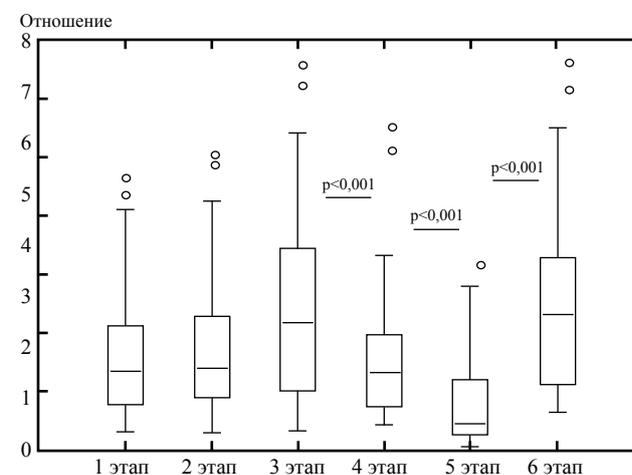


Рисунок 3 – Динамика отношения t-PA к PAI-1 при беременности.

Таблица 5 – Результаты оценки показателей XIIa-зависимого лизиса эуглобулинов, мин.

Этап обследования	Срок беременности	Me	X	Референтный интервал (2,5% и 97,5%)
1	Вне беременности (n=40)	11,00	11,20	5,98-17,00
2	6-8 неделя (n=46)	13,00	15,02	8,00-26,88
3	12-13 неделя (n=42)	18,00	20,71	9,03-38,00
4	22-24 неделя (n=53)	18,00	21,32	9,30-42,40
5	34-36 неделя (n=37)	22,00	22,92	12,00-44,60
6	На 2-3 сутки после ро-дов (n=47)	26,00	32,36	13,30-61,00

В нашей работе при физиологически протекающей беременности время XIIa-ЗЛ прогрессивно увеличивалось, начиная с ранних сроков беременности (таблица 5 и рисунок 4).

В частности, время XIIa-ЗЛ увеличивалось (в сравнении с прегравидарным этапом) на 18,2% к 6-8 неделе беременности (по медиане), на 63,4% к 12-13 неделе, оставаясь без существенной динамики во II триместре и значительно возрастало в III триместре.

Существует достаточное количество доказательств того, что во время беременности фибринолитическая активность плазмы крови (измеренная посредством метода эуглобулинового лизиса) снижается, особенно в поздние сроки [37-39].

Заключение

В настоящем исследовании оценена динамика уровня ряда известных участников фибринолитических реакций в разные сроки физиологически протекающей беременности, определены допустимые интервалы значений концентрации плазминогена, t-PA и его ингибитора - PAI-1. В ходе работы выявлен феномен гиперплазминогемии, усиливающийся по мере приближения к срокам родоразрешения. В это же время отмечено и преобладание уровня PAI-1 над уровнем t-PA, что свидетельствовало, с учетом полученных данных, об ингибировании пристеночных фибринолитических реакций перед родами. В целом, по данным интегральной оценки фибринолиза отмечалось угнетение активности этой протеолитической системы по мере прогрессирования беременности.

Представленная информация может быть полезна для лучшего понимания механизмов уникального гемостази-

ческого баланса во время беременности, а приведенные расчеты могут быть использованы в качестве ориентировочных при исследовании системы гемостаза у беременных женщин и формирования групп риска по кровотечениям и тромбозам.

Отметим также, что в работе были изучены и другие участники и продукты фибринолитических реакций – урокиназный активатор плазминогена (u-PA), $\alpha 2$ -антиплазмин, тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза (ТАFI) и D-димеры. Эти материалы будут включены в последующие публикации в рамках поднятой темы.

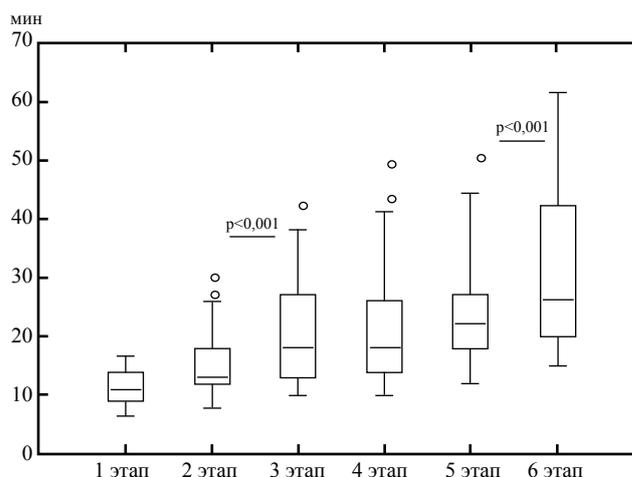


Рисунок 4 – Динамика показателей XIIa-зависимого лизиса эуглобулинов в плазме крови при беременности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Момот А.П., Тараненко И.А., Трухина Д.А., Романов В.В. Особенности сосудисто-тромбоцитарного гемостаза на разных сроках физиологической беременности // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. 2014. № 2(1), с. 27-31
2. Бышевский А.Ш., Полякова В.А., Рудзевич А.Ю. Гемостаз при физиологической беременности, беременности с артериальной гипертензией и преэклампсией // Тромбоз, гемостаз и реология. 2010. № 4 (44). с. 13-30
3. Abbassi-Ghanavati M., Greer L.G., Cunningham F.G. Pregnancy and laboratory studies: a reference table for clinicians. // Obstet Gynecol. 2009 Dec. № 6 (114), p. 1326-1331
4. Бицадзе В.О., Макацария А.Д., Хизроева Д.Х., Макацария Н.А., Яшенина Е.В. Тромбофилия как важнейшее звено патогенеза осложнений беременности // Практическая медицина. 2012. № 5(60), с. 22-29
5. Момот А.П., Молчанова И.В., Цхай В.Б. Фармакотерапия массивных акушерских кровотечений // Акушерство и гинекология. 2010. № 4, с. 3-10
6. Brenner V. Haemostatic changes in pregnancy // Thromb Res. 2004. № 5-6(114), p. 409-414
7. O'Riordan M.N., Higgins J.R. Haemostasis in normal and abnormal pregnancy // Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2003. № 3(17), p. 385-396

8. Franchini, M. Haemostasis and pregnancy // *Thromb Haemost.* 2006. № 3(95), p. 401-413
9. Klajnbard A., Szecsi P.B., Colov N.P., Andersen M.R., Jørgensen M., Bjørngaard B., Barfoed A., Haahr K., Stender S. Laboratory reference intervals during pregnancy, delivery and the early postpartum period. *Clin Chem Lab Med.* 2010. № 2(48), p. 237-248.
10. Ramsay M. Normal hematological changes during pregnancy and the puerperium // *The Obstetric Hematology Manual / ed by S. Pavord, B. Hunt.* New York: Cambridge University Press, 2010, p. 3-12.
11. Момот А.П., Кирющенко П.А., Трухина Д.А., Тараненко И.А., Томилина О.П., Пыхтеева М.В., Фадеева Н.И., Цыпкина Л.П., Сердюк Г.В., Белозеров Д.Е., Романов В.В. Референтные значения уровня и активности фактора Виллебранда, металлопротеиназы ADAMTS-13, активности тромбоцитов при физиологически протекающей беременности // *Акушерство и гинекология.* 2014. № 2, с. 46-52.
12. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. Изд. 3-е. М.: Изд-во Ньюдиамед, 2008, с. 292
13. *Practical Hemostasis and Thrombosis.* – 2nd ed. / ed. Be Key N., Makris M., O’Shaughnessy, Lillicrap D. – Oxford: Blackwell publishing Ltd, 2009, p. 311
14. Kruithof E.K., Tran-Thang C., Gudinchet A., Hauert J., Nicoloso G., Genton C., Welti H., Bachmann F. Fibrinolysis in pregnancy: a study of plasminogen activator inhibitors // *Blood.* 1987. № 2(69), p. 460-466
15. Blombäck M. Changes in blood coagulation and fibrinolysis during pregnancy and the menstrual cycle: new methods for detecting the changes // *Adv. Contracept.* 1991. № 7, p 259 -272
16. Uchikova E.H., Ledjev I.I. Changes in haemostasis during normal pregnancy // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005. № 2 (119), p. 185-188
17. Серов В.П., Макацария А.Д. Тромботические и геморрагические осложнения в акушерстве. М.: Медицина, 1987, с. 288
18. Koelbe H., Kirchheimer J., Tatra G. Influence of delivery on plasminogen activator inhibitor activity // *J. Perinat. Med.* 1989. № 2(17), p. 107-111
19. Фибринолиз. Современные фундаментальные и клинические концепции. Пер. с англ. Ред. Гаффни П.Дж., Балкув-Улютин С. М.: Изд-во Медицина, 1982. с. 240
20. Girolami A., Lazzaro A., Simioni P. Thrombotic manifestations in plasminogen deficiency and in plasminogen abnormalities // *Thromb. Haemostas.* 1988. № 3(60), p. 528
21. Hach-Wunderle V., Scharrer J., Lottenberg R. Congenital deficiency of plasminogen and its relationship to venous thrombosis // *Thromb. Haemostas.* 1988. № 2(59), p. 277-280
22. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. Изд. 2-е. М.: Изд-во Медицина, 1988. с. 528
23. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. СПб.: Изд-во Формат, 2006. с. 208
24. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита: Экспресс-издательство, 2010. с. 832
25. Borelli A., De Lucia D., Bernacchi M., Napolitano M, Di Domenico A, Felicetti M, Ferrara C, Meo D, Raffio R, Rivetti A, Sessa M, Tagliaferri A, Torella M. Haemocoagulative modifications correlated with pregnancy // *Minerva Ginecol.* 2006 Aug. № 4(58), p. 315-322.
26. Choi J.W., Pai S.H. Tissue plasminogen activator levels change with plasma fibrinogen concentrations during pregnancy // *Ann Hematol.* 2002. № 11(81), p. 611-615
27. Meltzer M.E., Lisman T., de Groot P.G., Meijers J.C., le Cessie S., Doggen C.J., Rosendaal F.R. Venous thrombosis risk associated with plasma hypofibrinolysis is explained by elevated plasma levels of TAFI and PAI-1 // *Blood.* 2010. № 1(116), p. 113-121
28. Maiello M., Torella M., Caserta L. Hypercoagulability during pregnancy: evidences for a thrombophilic state // *Minerva Ginecol.* 2006. № 5(58), p. 417-422
29. Ишутина Е.Ю. Состояние фибринолитической системы крови в первом триместре беременности у женщин с привычным невынашиванием: Автореф. дис. канд. мед. наук. Спб., 2004, с. 21
30. Lindoff C., Astedt B. Plasminogen activator of urokinase type and its inhibitor of placental type in hypertensive pregnancies and in uterine growth retardation; possible markers of placental function // *Am J Obstet Gynecol.* 1994. № 1(171), p. 60-64
31. Booth N.A., Mac Gregor I.R., Hunter N.R., Bennett B. Plasminogen activator inhibitor from human endothelial cells. Purification and partial characterization // *Eur J Biochem.* 1987. № 6(165), p. 595-600.
32. Шиффман Ф.Дж. Патофизиология крови. Пер. с англ. М.: Изд-во БИНОМ, 2007, с. 448
33. Saleh Y., Pawelec M., Siewinski M., Karmowski A., Sebzda T. Expression of urokinase plasminogen activator, its receptor and plasminogen activator inhibitor in the plasma of pathological pregnancy women // *The Intern. J. Gynecol. Obstet.* 2004. № 1(5). (ispub.com/IJGO/5/1/10594)
34. Estelles A., Gilabert J., Espana F., Aznar J., Gomez-Lechon M.J. Fibrinolysis in preeclampsia // *Fibrinolysis.* 1987. №. 1, p. 209-214
35. Момот А.П., Шойхет Я.Н., Молчанова И.В., Цыпкина Л.П. Управление гемостазом при критических состояниях. Аргументы «за» и «против» фармакологического подавления фибринолиза в профилактике и

- купировании массивных кровотечений // Проблемы клинической медицины. 2011. № 3-4 (25), с. 98-104
36. Gleeson N.C., Buggy F., Sheppard B.L., Bonnar J. The effect of tranexamic acid on measured menstrual loss and fibrinolytic enzymes in dysfunctional uterine bleeding // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 1994. № 3(73), p. 274-277
 37. Юрченко Л.Н., Чернышев В.А., Гусев Е.Ю., Медвинский И.Д., Серов В.К. Спонтанное воспаление и система гемостаза в акушерской патологии. Екатеринбург: УрО РАН, 2004, с. 82-92.
 38. Condie R.G. Components of the haemostatic mechanism at birth in preeclampsia with particular reference to fetal growth retardation // *Br. J. Obstet. Gynecol.* 1976. №83, p. 943-947.
 39. Howie P.W. Blood clotting and fibrinolysis in pregnancy // *Postgrad. Med. J.* 1979. №55, p. 362-366

REFERENCES

1. Momot A.P., Taranenko I.A., Truhina D.A., Romanov V.V. Osobennosti sosudisto-trombotsitarnogo gemostaza na raznyih srokah fiziologicheskoy beremennosti // *Meditsinskiy al'favit. Sovremennaya laboratoriya.* 2014, №1, s. 27-31
2. Byishevskiy A.Sh., Polyakova V.A., Rudzevich A.Yu. Gemostaz pri fiziologicheskoy beremennosti, beremennosti s arterialnoy gipertenziey i preeklampsiey // *Tromboz, gemostaz i reologiya.* 2010. № 4 (44). s. 13-30
3. Abbassi-Ghanavati M., Greer L.G., Cunningham F.G. Pregnancy and laboratory studies: a reference table for clinicians. // *Obstet Gynecol.* 2009 Dec. № 6 (114), p. 1326-1331
4. Bitsadze V.O., Makatsariya A.D., Hizroeva D.H., Makatsariya N.A., Yashenina E.V. Trombofiliya kak vazhneyshee zveno patogeneza oslozhneniy beremennosti // *Prakticheskaya meditsina.* 2012. № 5(60), s. 22-29
5. Momot A.P., Molchanova I.V., Tshay V.B. Farmakoterapiya massivnykh akusherskikh krovotacheniy // *Akusherstvo i ginekologiya.* 2010. № 4, s. 3-10
6. Brenner B. Haemostatic changes in pregnancy // *Thromb Res.* 2004. № 5-6(114), p. 409-414
7. O'Riordan M.N., Higgins J.R. Haemostasis in normal and abnormal pregnancy // *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2003. № 3(17), p. 385-396
8. Franchini, M. Haemostasis and pregnancy // *Thromb Haemost.* 2006. № 3(95), p. 401-413
9. Klajnbard A., Szecsi P.B., Colov N.P., Andersen M.R., Jørgensen M., Bjørngaard B., Barfoed A., Haahr K., Stender S. Laboratory reference intervals during pregnancy, delivery and the early postpartum period. *Clin Chem Lab Med.* 2010. № 2(48), p. 237-248.
10. Ramsay M. Normal hematological changes during pregnancy and the puerperium // *The Obstetric Hematology Manual / ed by S. Pavord, B. Hunt.* New York: Cambridge University Press, 2010, p. 3-12.
11. Momot A.P., Kiryuschenkov P.A., Truhina D.A., Taranenko I.A., Tomilina O.P., Pyihteeva M.V., Fadeeva N.I., Tsyivkina L.P., Serdyuk G.V., Belozherov D.E., Romanov V.V. Referentnyie znacheniya urovnya i aktivnosti faktora Villebranda, metalloproteinazy ADAMTS-13, aktivnosti trombotsitov pri fiziologicheskoy protekayuschey beremennosti // *Akusherstvo i ginekologiya.* 2014. # 2, s. 46-52.
12. Barkagan Z.S., Momot A.P. Diagnostika i kontroliruemaya terapiya narusheniy gemostaza. Izd. 3-e. M.: Izd-vo Nyudiamed, 2008, s. 292
13. *Practical Hemostasis and Thrombosis. – 2nd ed. / ed. Be Key N., Makris M., O'Shaughnessy, Lillicrap D. – Oxford: Blackwell publishing Ltd, 2009, p. 311*
14. Kruithof E.K., Tran-Thang C., Gudinchet A., Hauert J., Nicoloso G., Genton C., Welti H., Bachmann F. Fibrinolysis in pregnancy: a study of plasminogen activator inhibitors // *Blood.* 1987. № 2(69), p. 460-466
15. Blombäck M. Changes in blood coagulation and fibrinolysis during pregnancy and the menstrual cycle: new methods for detecting the changes // *Adv. Contracept.* 1991. № 7, p. 259-272
16. Uchikova E.H., Ledjev I.I. Changes in haemostasis during normal pregnancy // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005. № 2 (119), p. 185-188
17. Serov V.P., Makatsariya A.D. Tromboticheskie i gemorragicheskie oslozhneniya v akusherstve. M.: Meditsina, 1987, s. 288
18. Koelbe H., Kirchheimer J., Tatra G. Influence of delivery on plasminogen activator inhibitor activity // *J. Perinat. Med.* 1989. № 2(17), p. 107-111
19. Fibrinoliz. Sovremennyye fundamentalnyie i klinicheskie kontseptsii. Per. s angl. Red. Gaffni P.Dzh., Balkuv-Ulyutin S. M.: Izd-vo Meditsina, 1982. s. 240
20. Girolami A., Lazzaro A., Simioni P. Thrombotic manifestations in plasminogen deficiency and in plasminogen abnormalities // *Thromb. Haemostas.* 1988. № 3(60), p. 528
21. Hach-Wunderle V., Scharrer J., Lottenberg R. Congenital deficiency of plasminogen and its relationship to venous thrombosis // *Thromb. Haemostas.* 1988. № 2(59), p. 277-280
22. Barkagan Z.S. Gemorragicheskie zabolovaniya i sindromy. Izd. 2-e. M.: Izd-vo Meditsina, 1988. s. 528
23. Momot A.P. Patologiya gemostaza. Printsipy i algoritmy kliniko-laboratornoy diagnostiki. SPb.: Izd-vo FormaT, 2006. s. 208
24. Kuznik B.I. Kletochnyie i molekulyarnyye mehanizmy regulyatsii sistemy gemostaza v norme i patologii. Chita: Ekspress-izdatelstvo, 2010. s. 832
25. Borelli A., De Lucia D., Bernacchi M., Napolitano M, Di Domenico A, Felicetti M, Ferrara C, Meo D, Raffio R, Rivetti A, Sessa M, Tagliaferri A, Torella M. Haemocoagulative modifications correlated with pregnancy // *Minerva Ginecol.* 2006 Aug. № 4(58), p. 315-322.

26. Choi J.W., Pai S.H. Tissue plasminogen activator levels change with plasma fibrinogen concentrations during pregnancy // *Ann Hematol.* 2002. № 11(81), p. 611-615
27. Meltzer M.E., Lisman T., de Groot P.G., Meijers J.C., le Cessie S., Doggen C.J., Rosendaal F.R. Venous thrombosis risk associated with plasma hypofibrinolysis is explained by elevated plasma levels of TAFI and PAI-1 // *Blood.* 2010. № 1(116), p. 113-121
28. Maiello M., Torella M., Caserta L. Hypercoagulability during pregnancy: evidences for a thrombophilic state // *Minerva Ginecol.* 2006. № 5(58), p. 417-422
29. Ishutina E.Yu. Sostoyanie fibrinoliticheskoy sistemyi krovi v pervom trimestre beremennosti u zhenshin s privyichnyim nevyinashivaniem: Avtoref. dis. kand. med. nauk. SpB., 2004, s. 21
30. Lindoff C., Astedt B. Plasminogen activator of urokinase type and its inhibitor of placental type in hypertensive pregnancies and in uterine growth retardation; possible markers of placental function // *Am J Obstet Gynecol.* 1994. № 1(171), p. 60-64
31. Booth N.A., Mac Gregor I.R., Hunter N.R., Bennett B. Plasminogen activator inhibitor from human endothelial cells. Purification and partial characterization // *Eur J Biochem.* 1987. № 6(165), p. 595-600.
32. Shiffman F.Dzh. Patofiziologiya krovi. Per. s angl. M.: Izd-vo BINOM, 2007, s. 448
33. Saleh Y., Pawelec M., Siewinski M., Karmowski A., Sebza T. Expression of urokinase plasminogen activator, its receptor and plasminogen activator inhibitor in the plasma of pathological pregnancy women // *The Intern. J. Gynecol. Obstet.* 2004. № 1(5). (ispub.com/IJGO/5/1/10594)
34. Estelles A., Gilabert J., Espana F., Aznar J., Gomez-Lechon M.J. Fibrinolysis in preeclampsia // *Fibrinolysis.* 1987. №. 1, p. 209-214
35. Momot A.P., Shoyhet Ya.N., Molchanova I.V., Tsyvkina L.P. Upravlenie gemostazom pri kriticheskikh sostoyaniyakh. Argumenty «za» i «protiv» farmakologicheskogo podavleniya fibrinoliza v profilaktike i kupirovani massivnykh krovotечeniy // *Problemyi klinicheskoy meditsiny.* 2011. # 3-4 (25), s. 98-104
36. Gleeson N.C., Buggy F., Sheppard B.L., Bonnar J. The effect of tranexamic acid on measured menstrual loss and fibrinolytic enzymes in dysfunctional uterine bleeding // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 1994. № 3(73), p. 274-277
37. Yurchenko L.N., Chernyishev V.A., Gusev E.Yu., Medvinskiy I.D., Serov V.K. Si-stemnoe vospalenie i sistema gemostaza v akusherskoy patologii. Ekaterinburg: UrO RAN, 2004, c. 82-92.
38. Condie R.G. Components of the haemostatic mechanism at birth in preeclampsia with particular reference to fetal growth retardation // *Br. J. Obstet. Gynecol.* 1976. №83, p. 943-947.
39. Howie P.W. Blood clotting and fibrinolysis in pregnancy // *Postgrad. Med. J.* 1979. №55, p. 362-366

ТҮЙІНДЕМЕ

ФИЗИОЛОГИЯЛЫҚ ЖҮКТІЛІК ЖАҒДАЙЫНДА АЛДЫН АЛА ГРАВИДАРЛЫҚ КЕЗЕҢНЕН БАСТАП ТУУҒА ДЕЙІНГІ ҚАННЫҢ ФИБРИНОЛОГИЯЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІ

А. П. Момот^{1,2}, И. Ю. Кудинова³, Т. А. Батрак², Л. П. Цывкина^{1,2}, М. В. Медведева⁴

¹ Ресей денсаулық сақтау министрлігі «Гематологиялық ғылым орталығы» ФМБМ Алтай филиалы,
Ресей, Барнаул

² Ресей денсаулық сақтау министрлігі ГБОУ ВПО «Алтай мемлекеттік медицина университеті» ЖКБ МББМ,
Ресей, Барнаул

³ «Әлжелік клиникалық аурухана» әлжелік мемлекеттік бюджеттік денсаулық сақтау мекемесі,
Ресей, Барнаул

⁴ «Инвитро-Сибирь» ААҚ,
Ресей, Новосибир

Бұл жұмыста қанның фибринолитикалық жүйесінің жетекші қатысушыларының қатарының мәндеріне талдау жасалған (плазминоген, плазминогеннің ұлпалық активаторы және I типті плазминоген активаторының ингибиторы деңгейі) және оның интегралды көрсеткіштері – XII тәуелді фибрин эуглобулинді қойыптыпағының (ХIIа-ЗЛ) алдын ала гравидарлы көрсеткіштері физиологиялық жүктілік жағдайында және табиғи босанудан кейін қарастырылған. Алынған мәліметтер жүкті әйелдердің гомеостаз жүйесін зерттеу барысында бағдар ретінде қолданылуы мүмкін.

Түйін сөздер: фибринолиз, плазминогеннің ұлпалық активаторы, I типті плазминоген активаторының ингибиторы, фибрин қойыртпағы лизисі уақыты, физиологиялық жүктілік барысы.

SUMMARY

FIBRINOLYTIC ACTIVITY OF BLOOD IN PHYSIOLOGICAL PREGNANCY - FROM PROGRAMADORES PERIOD BEFORE DELIVERY

A. P. Momot^{1,2}, Y. U. Kudinova³, T. A. Batrak², L. P. Tsyvkina^{1,2}, M. V. Medvedeva⁴

¹ *Altai branch of Federal state budgetary institution
« Hematological research center» of the Ministry of health, Russia,
Russia, Barnaul*

² *State budgetary educational institution of higher professional education*

³ *«Altai state medical University» of Ministry of health, Russia,
Russia, Barnaul*

⁴ *Regional state budgetary health care institution «Regional clinical hospital», Barnaul (Russia)
LLC «Invitro-Siberia»,
Russia, Novosibirsk*

In this paper, we performed an analysis of the values of a number of leading members of fibrinolytic system of blood (plasminogen level, tissue-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1) and its integrated index - XIIIa-dependent lysis of a fibrin clot in the preconception period, at different stages of physiological pregnancy and after vaginal delivery. The obtained data can be used as a guideline in the study of the hemostatic system in pregnant women and in the formation of groups at risk for bleeding and thrombosis.

Key words: *fibrinolysis, tissue plasminogen activator; plasminogen activator inhibitor type 1, lysis of a fibrin clot, physiological pregnancy.*

УДК 618.177-089.888.11

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОВЕДЕНИЯ ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО СКРИНИНГА АНЕУПЛОИДИЙ МЕТОДОМ FLUORESENT IN SITU HYBRIDIZATION (FISH) ПОСЛЕ БИОПСИИ БЛАСТОМЕРА ИЛИ ТРОФЭКТОДЕРМЫ

М. С. Шишиморова, С. И. Тевкин, В. Н. Локшин

*Институт Репродуктивной Медицины, Центр «ЭКО»,
Казахстан, Алматы*

АННОТАЦИЯ

Преимплантационный генетический скрининг (ПГС) анеуплоидий занимает наибольший удельный вес в рамках программы генетической диагностики. Широко используемым в программе ПГС является генетический скрининг анеуплоидий методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) после биопсии бластомера на 3 день развития эмбриона. Использование данного метода имеет ряд недостатков: риск остановки развития эмбрионов, высокий процент мозаицизма, отсутствие или потеря ядра при фиксации, уменьшения, в результате микроманипуляций, количества клеток для дальнейшего формирования бластоцисты и др. Проведение биопсии трофэктодермы на стадии бластоцисты – новый подход, дающий ряд преимуществ над методом биопсии бластомера на стадии дробления эмбриона. Преимуществом биопсии трофэктодермы является снижение рисков потери ядра при фиксации, быстрая регенерация бластоцисты, снижение риска задержки эмбрионов в развитии и низкий уровень мозаицизма, получение большего количества материала для проведения анализа и постановка более точного диагноза, что в результате может положительно сказываться на эффективности проведения циклов ВРТ. В ходе исследования проводилось сравнение эффективности проведения скрининга анеуплоидий методом FISH в циклах ВРТ после биопсии бластомера (I группа) или трофэктодермы (II группа). Количество зуплоидных и анеуплоидных эмбрионов в I группе составило 52,7 и 47,3%, во II группе 69,5 и 30,5% соответственно. В результате проведенного исследования установлено, что частота наступления клинической беременности и частота имплантации после трофэктодермальной биопсии были достоверно выше и составили 60 и 42,2%, в то время как эффективность программ после биопсии бластомера на 3 сутки составила 34,5 и 23,7%, соответственно.

Ключевые слова: *преимплантационный генетический скрининг (ПГС), биопсия трофэктодермы, бластоцисты, анеуплоидии.*

Введение

Развитие методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) позволяет повышать эффективность программ ЭКО/ИКСИ. Все более распространенным дополнением в лечении бесплодия методами ЭКО/ИКСИ становится преимплантационная генетическая диагностика (ПГД), доказавшая свою высокую эффективность. В рамках программы ПГД наибольший удельный вес занимает преимплантационный генетический скрининг (ПГС) анеуплоидий, при котором исследуются количественные хромосомные аномалии у пар с нормальным кариотипом, которые имеют проблемы в лечении бесплодия. Информация, полученная в результате исследований, является важным аргументом селекционного процесса, основанном не только на морфологических, но и генетических характеристиках эмбриона [16,17]. Генетический скрининг анеуплоидий позволяет определить хромосомный статус эмбрионов и выбрать зуплоидные эмбрионы на перенос. Наличие у эмбрионов хромосомной патологии может являться причиной остановки в развитии, так как даже эмбрионы с хорошими морфологическими характеристиками имеют высокий процент хромосомных нарушений [19]. Результат анализа генетического материала после биопсии преимплантационных эмбрионов позволяет получить информацию о моногенных заболеваниях или хромосомных аномалиях, которая помогает отобрать эмбрион с наибольшим имплантационным

потенциалом и снизить уровень спонтанных аборт, уменьшить риск рождения детей с генетическими отклонениями, т.е. увеличивает вероятность рождения здорового ребенка [17, 25]. На сегодняшний день опубликовано большое количество исследований, посвященных изучению эффективности ПГС в программах ВРТ. Некоторые авторы указывают на повышение частоты наступления клинической беременности (ЧКБ) при программах ЭКО/ИКСИ с проведением ПГС у пациентов различных возрастных групп [2, 11, 17], а другие исследователи сообщают о снижении эффективности программ [15, 24].

Основной метод, применяемый для определения у эмбрионов «нормального» набора хромосом – флуоресцентная *in situ* гибридизация (fluorescent *in situ* hybridization, FISH). Наборы ДНК, используемые для проведения ПГС, сфокусированы на анеуплоидии хромосом, которые наиболее часто выявляются при исследовании спонтанных аборт в I триместре и в аномальных пренатальных образцах. Так как существующие методы исследования 24 хромосом (CGH, array CGH, SNP) достаточно дороги, то применение FISH является привлекательной альтернативой [18].

Биопсия материала для проведения ПГС в зависимости от цели исследования, проводится на различных стадиях: биопсия полярных тел (0 день), биопсия бластомера (3день) и биопсия от 3 до 10 клеток трофэктодермы (TE) на 5-6 день. Хотя проведение биопсии бластомера является наиболее часто исполь-

зуемым методом забора материала [11], установка в лабораториях ЭКО современного и высокотехнологичного оборудования дает возможность проведения биопсии трофэктодермы на стадии бластоцисты. Этот подход дает ряд потенциальных преимуществ над биопсией blastomera: возможность получения при биопсии сразу нескольких клеток для диагностики, снижение рисков потери ядра при фиксации, быстрая регенерация бластоцисты, снижение риска ошибки при анализе и, как следствие, увеличение эффективности метода [2, 19, 20, 25].

Цель исследования

Сравнить эффективность проведения скрининга анеуплоидий методом FISH в циклах ВРТ после биопсии blastomera или трофэктодермы, оценить частоту наступления клинической беременности и частоту имплантации.

Материалы и методы

Были проанализированы программы ПГС, выполненные в Центре «ЭКО» Института Репродуктивной Медицины (ИРМ) г. Алматы с января 2011 по сентябрь 2014 года, на эмбрионах 3-их (I группа, биопсия blastomera) и 5-х суток развития (II группа, биопсия трофэктодермы). В циклах ЭКО/ИКСИ было исследовано 613 эмбрионов на 3 сутки и 768 blastocyst на 5 сутки развития. Показания к проведению ПГС: возраст пациентки более 35 лет; 2 и более неудачные попытки ВРТ в анамнезе; привычное невынашивание – два и более выкидыша или замерших беременностей на ранних сроках в анамнезе; наличие генетических заболеваний у супружеской пары или близких родственников; наличие хромосомных аномалий у плода или в абортном материале; тяжелый мужской фактор бесплодия; в некоторых случаях – обоснованное желание пациентов.

Индукцию стимуляции суперовуляции проводили по стандартным схемам: длинные и короткие протоколы с агонистами ГнРГ или короткие протоколы с антагонистами ГнРГ, в которых применяли обычные стартовые и курсовые дозы гонадотропинов в соответствии с фолликулярным резервом и возрастными данными. В качестве триггера овуляции назначали хорионический гонадотропин человека (ХГч), рекомбинантный ХГч или аналог гонадотропин-релизинг гормона. Мониторинг развития фолликулов в яичниках проводился путем трансвагинального ультразвукового исследования (УЗИ). Через 36-38 ч после триггера овуляции выполняли трансвагинальную пункцию (ТВП) фолликулов.

Оплодотворение проводилось стандартными методами ЭКО/ИКСИ, через 3 ± 1 ч после ТВП. Культивирование ооцитов/эмбрионов проводилось в течение 5 дней до стадии бластоцисты в инкубаторах SANYO (Japan) и мини-инкубаторах PLANER (UK) в соответствии с рекомендуемыми параметрами для культуральных сред. Для непрерывного мониторинга CO₂, pH и T в инкубаторах использовалась система неинвазивного контроля pH Online™ OSTAХ

Log&Guard™ (MTG, Germany).

Оценка эмбрионов выполнялась через фиксированные промежутки времени после оплодотворения. Утром 3-го дня оценивали стадию развития эмбрионов и отбирали для проведения биопсии эмбрионы, имеющие не менее шести blastomeres с менее чем 25% фрагментации [7,8]. Для проведения биопсии отбирали blastocysts, качества не ниже 2BB по классификации Gardner [5,6].

При помощи лазерной системы Saturn 5 Active (Research Instrument, UK) выполняли биопсию blastomeres и клеток трофэктодермы. Фиксацию ядер на слайде и гибридизацию проводили по стандартной методике с некоторыми модификациями [21]. Для FISH-анализа использовали флуоресцентные зонды Vysis MultiVysion (Abbott Molecular, USA) на 5 хромосом (13, 18, 21, X, Y). Обработку и анализ флуоресцентных меток проводили на микроскопе Olympus BX61 (Japan) в соответствующих фильтрах с использованием программного обеспечения CytoVision® (Leica Biosystems, Germany).

Переносы исследованных эуплоидных эмбрионов в полость матки в I-й группе проводили на 5 сутки, во II-й – на 5 или 6 сутки (первая половина дня), в среде UTM™ (Origio, Denmark). Время от начала проведения биопсии до переноса эмбрионов составляло в среднем от 5 до 6 часов (II группа, биопсия трофэктодермы).

Анализ на ХГЧ проводился на 12-14 день после проведения переноса эмбрионов. При положительном результате (ХГЧ+), через 10 дней проводилось ультразвуковое исследование для визуализации плодного яйца. Результаты исследования оценивались по следующим параметрам: частота наступления клинической беременности на перенос, частота имплантации. Достоверность эффектов оценивали с использованием t-критерия для трех степеней свободы при сравнении разности между выборочными долями [1].

Результаты исследования и обсуждение

В исследование были включены пациентки, прошедшие лечение бесплодия в центре «ЭКО» ИРМ г. Алматы с применением программ ВРТ в возрасте от 35 до 44 лет. Структура проведенных программ в зависимости от показаний к проведению ПГС представлена на рисунке 1. В результате данного исследования, наибольшую долю в структуре показаний к проведению программ скрининга анеуплоидий методом FISH в циклах ВРТ после биопсии blastomera или трофэктодермы составляют: женщины старшего репродуктивного возраста (35%), с 2 и более неудачными попытками ВРТ в анамнезе (23%) и с привычным невынашиванием (21%).

В соответствии с критериями отбора по качеству развития, биопсия blastomeres и трофэктодермы была проведена у 730 эмбрионов (3-й день) и 768 blastocyst (5-й день), соответственно. Результаты эффективности фиксации ядер на слайде показали, что после проведения биопсии трофэктодермы потери при фиксации отсутствуют, в то время как при фиксации blastomeres потери составили 17%, данные достоверны (табл. 1).



Рисунок 1 – Структура проведенных программ в зависимости от показаний к проведению ПГС

Таблица 1 – Эффективность проведения фиксации ядер на слайде (3 день или 5)

Показатели	I группа (3 день)	II группа (5 день)
Пробиопсировано эмбрионов, всего	730	768
Зафиксировано ядер	613	768*
Потери при фиксации, %	17	–

* P<0,01.

В таблице 2 представлены результаты проведенных программ скрининга анеуплоидий методом FISH в циклах ВРТ после биопсии blastomera (3 день) или трофэктодермы (5 день). Средний возраст пациенток составил $35,9 \pm 4,5$ и $36,8 \pm 3,2$ лет в I и II опытных группах, соответственно. В обеих группах среднее число эмбрионов на перенос составило 1,5.

В ходе проведенного исследования количество эуплоидных и анеуплоидных эмбрионов после биопсии blastomera

составило 52,7 и 47,3%, и 69,5 и 30,5 % после биопсии трофэктодермы. Результаты анализа эффективности программ ПГС анеуплоидий методом FISH в циклах ВРТ показали, что частота наступления клинической беременности и частота имплантации (7 нед. гестации) в группе после биопсии ТЭ были достоверно выше и составили 60% (68/114) и 42,2% (76/180), соответственно, против 34,5% (37/107) и 23,7% (39/164) в группе после биопсии blastomera.

Высокая ЧКБ (60%) и ЧИ (42,2%) после биопсии троф-

Таблица 2. Сравнительная эффективность проведения скрининга анеуплоидий методом FISH после биопсии blastomera (день 3) или трофэктодермы (день 5)

Показатели	I группа (3 день)	II группа (5 день)
Средний возраст пациенток, лет	$35,9 \pm 4,5$	$36,8 \pm 3,2$
Количество циклов ПГС	141	158
Количество завершенных циклов	107	114
Пробиопсировано, всего	730	768
Результат анализа: эуплоидный, %	52,7	69,5
анеуплоидный, %	47,3	30,5
Перенесено эмбрионов	164	180
Среднее число эмбрионов на перенос	1,5	1,5
ЧКБ, % (на ET)	34,5 (37/107)	60 (68/114) *
ЧИ 7 нед. гестации, %	23,7 (39/164)	42,2 (76/180) *

* P<0,001

эктодермы при проведении ПГС методом FISH в циклах ВРТ выглядит обнадеживающе, что особенно актуально для женщин старшего репродуктивного возраста, пациенток с многочисленными неэффективными попытками ЭКО/ИКСИ в анамнезе и неудачами имплантации, а это, возможно, позволит увеличить эффективность программ ВРТ [5, 12, 13, 14].

Наши данные также согласуются с результатами исследования, где показано достоверное увеличение ЧКБ в циклах ЭКО/ИКСИ+ПГС после биопсии трофэктодермы (37%) по сравнению с биопсией blastomera (25%). Применение метода биопсии трофэктодермы позволило снизить риск остановки в развитии эмбрионов, получить более достоверные результаты проведенного анализа и значительно увеличить эффективность проводимых программ [15].

При проведении ПГД используют различные методы: биопсия полярных тел, биопсия blastomera на стадии дробления и биопсия трофэктодермы на стадии бластоцисты [9]. Потенциальным преимуществом биопсии трофэктодермы является возможность получения большего количества клеток для анализа, что способствует более точному и качественному проведению генетической диагностики. Опубликованные на сегодняшний день материалы исследований по проведению биопсии трофэктодермы на «свежих» эмбрионах демонстрирует высокую жизнеспособность бластоцист после проведения биопсии, а также высокий уровень частоты наступления клинической беременности (более 40%) и живорождения [19].

При проведении ПГС с использованием биопсии трофэктодермы наблюдаются более высокие показатели по частоте наступления беременности, а также снижение выкидышей и замерших беременностей на ранних сроках [4].

Влияние проведения биопсии на стадии дробления эмбриона на потенциал имплантации в естественных условиях плохо изучены. Современные знания основываются на результатах экспериментов проведенных *in vitro* [10, 22]. Извлечение клеток при биопсии эмбрионов можно сравнить с потерей клеток после разморозки эмбрионов. Описывается снижение уровня потенциала имплантации в зависимости от количества клеток, взятых при проведении биопсии. Извлечение 25% или большего числа blastomeres является опасным и значительно влияет на потенциал имплантации [3, 23].

Сообщается, что процедура биопсии трофэктодермы не сказывается отрицательно на имплантации и рождении жизнеспособного потомства [20]. Но, несмотря на все преимущества проведения биопсии на эмбрионах 5-х суток развития, все же существуют некоторые ограничения в использовании данного метода. Важными моментами являются стадия развития бластоцисты и ее качество. В наших исследованиях мы отбирали бластоцисты только отличного и хорошего ка-

чества, без фрагментаций и признаков дегенерации, которые потенциально имели высокие шансы к имплантации. Критическую роль играет время проведения генетического анализа и переноса эмбрионов, поскольку важным фактором является «окно имплантации». В стандартных условиях время, затрачиваемое на проведение генетического анализа, занимает от 12 до 24 часов. Подобранные нами условия проведения фиксации ядер, гибридизации и интерпретации результатов дают возможность проводить полный цикл ПГС (биопсия, FISH диагностика и перенос тестированных эмбрионов в полость матки) в максимально короткие сроки от 5 до 6 часов.

Выводы

Сравнительный анализ проведения преимплантационного генетического скрининга анеуплоидий методом FISH после биопсии blastomera (3 день) или трофэктодермы (5 день) свидетельствует о значительном преимуществе трофэктодермальной биопсии с последующим переносом эмбрионов в этот же день. По результатам данной работы, частота наступления клинической беременности и частота имплантации (7 нед. гестации) в группе после биопсии ГЭ были достоверно выше и составили 60 и 42,2% соответственно, против 34,5 и 23,7% в группе после биопсии blastomera.

Проведение биопсии трофэктодермы на стадии бластоцисты – подход с большей эффективностью и преимуществом над методом биопсии blastomera на стадии дробления эмбриона. Применение данного метода позволяет снизить потери ядра при фиксации, способствует быстрой регенерации бластоцисты, позволяет снизить риск задержки эмбрионов в развитии, снизить уровень мозаицизма, получить больше материала для проведения анализа с целью постановки более точного диагноза. Биопсия трофэктодермы дает возможности для проведения ПГС анеуплоидий методом FISH на замороженных бластоцистах, что может являться одним из способов повышения эффективности циклов ВРТ. Таким образом, применение в программах ПГД менее травматичных методик при биопсии эмбрионов с высокой вероятностью постановки точного диагноза способствует лучшей выживаемости эмбрионов и их дальнейшему развитию с последующей имплантацией.

Подбор условий для проведения ПГС анеуплоидий методом FISH с проведением биопсии трофэктодермы на стадии бластоцисты позволяет в максимально короткие сроки осуществлять отбор эмбрионов без хромосомной патологии для их селективного переноса в полость матки, что наиболее актуально для возрастных пациентов, а также тех, кто сталкивается с генетическими нарушениями у плода, замершими беременностями и многочисленными неудачными попытками ЭКО/ИКСИ в анамнезе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Плохинский Н.А. Биометрия. Новосибирск: СО АН СССР 1961; 364
2. de Boer K.A., Catt J.W., Jansen R.P., Leigh D., McArthur S. Moving to blastocyst biopsy for preimplantation genetic diagnosis and single embryo transfer at sydney IVF. *Fertil. Steril.* 2004; 82:p. 295-298
3. Cohen J., Wells D., Munner S. Removal of 2 cells from cleavage stage embryos is likely to reduce the efficacy of chromosomal tests that are used to enhance implantation rates. *Fertil. Steril.* 2007; 87:p. 496-503
4. Forman E.J., Tao X., Kerry K.M., Taylor D., Treff N.R., Scott R.T., Jr. Single embryo transfer with comprehensive chromosome screening results in improved ongoing pregnancy rates and decreased miscarriage rates. *Hum Reprod.* 2012; 27:p. 1217-1222
5. Gardner D.K., Schoolcraft W.B. *In vitro culture of human blastocysts. Fertility and Genetics Beyond.* 1999; 2:p. 378-388

6. Gardner D.K., Lane M., Stevens J., Schlenker T., Schoolcraft W.B. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil. Steril.* 2000; 73:p. 1155-1158
7. Goossens V. et al. Diagnostic efficiency, embryonic development and clinical outcome after the biopsy of one or to blastomeres for preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod.* 2008; 23:p. 481-492
8. Joris H. et al. Comparison of the results of human embryo biopsy and outcome of PGD after zona drilling using acid Tyrode medium or a laser. *Hum Reprod.* 2003; 18:p. 1896-1902
9. Treff N.R. et al. Development and validation of an accurate quantitative real-time polymerase chain reaction-based assay for human blastocysts comprehensive chromosomal aneuploidy screening. *Fertil. Steril.* 2012; 97:p. 819-824
10. Hardy K., Martin K., Leese H., Winston R., Handyside A. Human preimplantation development in vitro is not adversely affected by biopsy at the 8-cell stage. *Hum Reprod.* 1990; 5:p. 708-714
11. Harper J.C. et al. ESHRE PGD consortium data collection VII: cycles from January to December 2004 with pregnancy follow-up to October 2005. *Hum Reprod.* 2008; 23:p. 741-755
12. Lathi R.B., Behr B. Pregnancy after trophectoderm biopsy of frozen-thawed blastocyst. *Fertil. Steril.* 2009; 91:p. 1938-194
13. Lyerly A.D. et al. Fertility patients' views about frozen embryo disposition: results of a multi-institutional U.S. survey. *Fertil. Steril.* 2010; 93:p. 499-509
14. Rubio C. et al. Chromosomal abnormalities and embryo development in recurrent miscarriage couples. *Hum Reprod.* 2003; 18:p. 182-188
15. Mastenbroek S. et al. In vitro fertilization with preimplantation genetic screening. *New England Journal of Medicine.* 2007; 357:p. 9-17
16. Munne S. et al. Spontaneous abortions are reduced after preconception of translocations. *J Ass Reprod Genet* 1998; 15(5):p. 290-296
17. Munne S. et al. Positive outcome after preimplantation diagnosis of aneuploidy in human embryos. *Hum Reprod* 1999; 14:p. 2191-2199
18. Munné S. et al. Improved detection of aneuploid blastocysts using a new 12-chromosome FISH test. *Reprod Biomed Online.* 2010; 20:p. 92-97
19. McArthur S.J. et al. Pregnancies and live births after trophectoderm biopsy and preimplantation genetic testing of human blastocysts. *Fertil. Steril.* 2005; 84:p. 1628-1636
20. Scott R.T. et al. Cleavage-stage biopsy significantly impairs human embryonic implantation potential while blastocyst biopsy does not: a randomized and paired clinical trial. *Fertil. Steril.* 2013; 100:p. 624-630
21. Tarkowsky A.K. An air drying method for chromosome preparation from mouse eggs. *Cytogenetic.* 1964; 5:p. 394-400
22. Tarin J.J., Conaghan J., Winston R.M.L., Handyside A.H. Human embryo biopsy on the 2nd day after insemination for preimplantation diagnosis: removal of a quarter of embryo retards cleavage. *Fertil. Steril.* 1992; 58:p. 970-976
23. Tang R., Catt J., Howlett D. Towards defining parameters for a successful single embryos transfer in frozen cycles. *Hum Reprod.* 2006; 21:p. 1179-1183
24. Twisk M. et al. Preimplantation genetic screening for abnormal number of chromosomes (aneuploidies) in vitro fertilisation or intracytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006; 1:p. 1105
25. Simpson J.L. Preimplantation genetic diagnosis at 20 years. *Prenat. Diagn.* 2010; 30:p. 682-695

REFERENCES

1. Plohinskiy N.A. *Biometriya.* Novosibirsk: SO AN SSSR 1961; 364
2. de Boer K.A., Catt J.W., Jansen R.P., Leigh D., McArthur S. Moving to blastocyst biopsy for preimplantation genetic diagnosis and single embryo transfer at sydney IVF. *Fertil. Steril.* 2004; 82:p. 295-298
3. Cohen J., Wells D., Munner S. Removal of 2 cells from cleavage stage embryos is likely to reduce the efficacy of chromosomal tests that are used to enhance implantation rates. *Fertil. Steril.* 2007; 87:p. 496-503
4. Forman E.J., Tao X., Kerry K.M., Taylor D., Treff N.R., Scott R.T., Jr. Single embryo transfer with comprehensive chromosome screening results in improved ongoing pregnancy rates and decreased miscarriage rates. *Hum Reprod.* 2012; 27:p. 1217-1222
5. Gardner D.K., Schoolcraft W.B. In vitro culture of human blastocysts. *Fertility and Genetics Beyond.* 1999; 2:p. 378-388
6. Gardner D.K., Lane M., Stevens J., Schlenker T., Schoolcraft W.B. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil. Steril.* 2000; 73:p. 1155-1158
7. Goossens V. et al. Diagnostic efficiency, embryonic development and clinical outcome after the biopsy of one or to blastomeres for preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod.* 2008; 23:p. 481-492
8. Joris H. et al. Comparison of the results of human embryo biopsy and outcome of PGD after zona drilling using acid Tyrode medium or a laser. *Hum Reprod.* 2003; 18:p. 1896-1902
9. Treff N.R. et al. Development and validation of an accurate quantitative real-time polymerase chain reaction-based assay for human blastocysts comprehensive chromosomal aneuploidy screening. *Fertil. Steril.* 2012; 97:p. 819-824
10. Hardy K., Martin K., Leese H., Winston R., Handyside A. Human preimplantation development in vitro is not adversely affected by biopsy at the 8-cell stage. *Hum Reprod.* 1990; 5:p. 708-714
11. Harper J.C. et al. ESHRE PGD consortium data collection VII: cycles from January to December 2004 with pregnancy follow-up to October 2005. *Hum Reprod.* 2008; 23:p. 741-755

12. Lathi R.B., Behr B. Pregnancy after trophoctoderm biopsy of frozen-thawed blastocyst. *Fertil. Steril.* 2009; 91:p. 1938-194
13. Lysterly A.D. et al. Fertility patients' views about frozenembryo disposition: results of a multi-institutional U.S. survey. *Fertil. Steril.* 2010; 93:p. 499-509
14. Rubio C. et al. Chromosomal abnormalities and embryo development in recurrent miscarriage couples. *Hum Reprod.* 2003; 18:p. 182-188
15. Mastenbroek S. et al. In vitro fertilization with preimplantation genetic screening. *New England Journal of Medicine.* 2007; 357:p. 9-17
16. Munne S. et al. Spontaneous abortions are reduced after preconception of translocations. *J Ass Reprod Genet* 1998; 15(5):p. 290-296
17. Munne S. et al. Positive outcome after preimplantation diagnosis of aneuploidy in human embryos. *Hum Reprod* 1999; 14:p. 2191-2199
18. Munné S. et al. Improved detection of aneuploid blastocysts using a new 12-chromosome FISH test. *Reprod Biomed Online.* 2010; 20:p. 92-97
19. McArthur S.J. et al. Pregnancies and live births after trophoctoderm biopsy and preimplantation genetic testing of human blastocysts. *Fertil. Steril.* 2005; 84:p. 1628-1636
20. Scott R.T. et al. Cleavage-stage biopsy significantly impairs human embryonic implantation potential while blastocyst biopsy does not: a randomized and paired clinical trial. *Fertil. Steril.* 2013; 100:p. 624-630
21. Tarkowsky A.K. An air drying method for chromosome preparation from mouse eggs. *Cytogenetic.* 1964; 5:p. 394-400
22. Tarin J.J., Conaghan J., Winston R.M.L., Handyside A.H. Human embryo biopsy on the 2nd day after insemination for preimplantation diagnosis: removal of a quarter of embryo retards cleavage. *Fertil. Steril.* 1992; 58:p. 970-976
23. Tang R., Catt J., Howlett D. Towards defining parameters for a successful single embryos transfer in frozen cycles. *Hum Reprod.* 2006; 21:p. 1179-1183
24. Twisk M. et al. Preimplantation genetic screening for abnormal number of chromosomes (aneuploidies) in vitro fertilisation or intracytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006; 1:p. 1105
25. Simpson J.L. Preimplantation genetic diagnosis at 20 years. *Prenat. Diagn.* 2010; 30:p. 682-695

ТҮЙІНДЕМЕ

БЛАСТОМЕР НЕМЕСЕ ТРОФЭКТОДЕРМА БИОПСИЯСЫНАН КЕЙІН FLUORESENT IN SITU HYBRIDIZATION (FISH) ӘДІСІМЕН АНЕУПЛОДИЯ ПРЕИМПЛАТАЦИЯЛЫҚ ГЕНЕТИКАЛЫҚ СКРИНИНГІН ЖҮРГІЗУ ӘДІСТЕМЕСІ

М. С. Шишиморова, С. И. Тевкин, В. Н. Локшин

*АРепродуктивті медицина институты, «ЭКО» орталығы,
Қазақстан, Алматы*

Анеуплодияның преимплантациялық генетикалық скринингі (ПГС) генетикалық диагностика бағдарламасы шеңберінде ең жоғары меншікті үлеске ие. ПГС бағдарламасында кеңінен қолданылатын ұрық дамуының 3 күнінде бластомер биопсиясынан кейін флуоресцентті in situ гибридизация (FISH) әдісімен анеуплоидияның генетикалық скринингі болып табылады. Аталмыш әдісті пайдаданудың бірқатар кемшіліктері бар: ұрық дамуының тоқтау қаупі, мозаицизмнің жоғары пайызы, фиксация кезінде ядроның болмауы немесе жоғалуы, микроманипуляция нәтижесінде бластоциста қалыптастыруға арналған жасушалардың кемуі және т.б. Бластоциста кезеңінде трофэктодерма биопсиясын жүргізу – ұрықтың бөлінуі кезеңінде бластомер биопсиясы әдісінен бірқатар артықшылықтары бар жаңа тәсіл. Трофэктодерма биопсиясының артықшылықтары бекіту кезінде ядроны жоғалту қаупі, бластоцистаның жылдам регенерациялануы, ұрықтың тежелу тәуекелін төмендету және мозаицизмнің төмен деңгейі болып табылады, осының нәтижесінде ҚРТ айналымдарын жүргізу тиімділігіне оң ықпалын тигізеді. Зерттеу барысында бластомер биопсиясынан кейін (I топ) немесе трофэктодерма (II топ) биопсиясынан кейін ҚРТ айналымында FISH әдісімен анеуплодия скринингін жүргізу тиімділігі салыстырылған. I топтағы эуплоидті және анеуплоидті ұрықтардың саны сәйкесінше 52,7 және 47,3%, II топта 69,5 және 30,5% құраған. Жүргізілген зерттеу нәтижесінде клиникалық жүктіліктің орын алу жиілігі мен трофэктодермалық биопсиядан кейін имплантация жиілігі біршама жоғары болып 60 және 42,2 % жеткені анықталған, ал бластомер биопсиясынан кейінді бағдарлама тиімділігі 3 тәулікте сәйкесінше 34,5 және 23,7 % құраған.

Түйін сөздер: преимплантациялық генетикалық скрининг (ПГС), трофэктодерма биопсиясы, бластоцисталар, анеуплоидиялар.

SUMMARY

THE EFFICIENCY OF PREIMPLANTATION GENETIC SCREENING OF ANEUPLOIDIES BY FLUORESENT IN SITU HYBRIDIZATION (FISH) AFTER BLASTOMERE OR TROPHECTODERM BIOPSY

M. S. Shishimorova, S. I. Tevkin, V. N. Lokshin

*Institute of Reproductive Medicine, IVF center,
Kazakhstan, Almaty*

Preimplantation genetic screening (PGS) aneuploidies take the greatest part in the programs of genetic diagnosis. Widely used PGS is genetic screening of aneuploidies by fluorescence in situ hybridization (FISH) after blastomere biopsy on day 3. It has a few disadvantages such as the risk of stopping of embryos development, a high percentage of mosaicism, lack or loss of the nucleus during fixation, reducing the number of cells for further blastocyst formation and others. The trophectoderm biopsy at the blastocyst stage is a new approach which gives advantages. That is reducing the risk of loss of the nucleus at a fixed, fast regeneration of the blastocyst, reducing the risk of delays in the development of embryos and the low level of mosaicism, producing large amounts of nucleus for analysis and formulation of a more accurate diagnosis which can increase the effectiveness of ART cycles. In this study was compared the effectiveness of aneuploidy screening by FISH after blastomere biopsy (I group) and trophectoderm (II group). The number of euploid and aneuploid embryos in group I was 52.7 and 47.3% in group II 69.5 and 30.5%, respectively. As a result of the study the frequency of clinical pregnancy and implantation rate after trofektodermal biopsy were significantly higher 60 and 42.2%, while the efficiency of the programs after blastomere biopsy on day 3 was 34.5 and 23.7%, respectively.

Key words: *preimplantation genetic diagnosis screening (PGS), trophectoderm biopsy, blastocyst, aneuploidy.*

УДК 616.092.18

НАРУШЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У МУЖЧИН, СВЯЗАННЫЕ С АНОМАЛИЯМИ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ

К. А. Гусейнова, М. С. Шишиморова

*Институт Репродуктивной Медицины, Центр «ЭКО»,
Казахстан, Алматы*

АННОТАЦИЯ

Наличие хромосомных аномалий - одна из причин мужского бесплодия. В общей структуре нарушений репродуктивной функции у мужчин они занимают от 5 до 15%. На мужскую фертильность оказывают влияние половые хромосомы – Y и X, их доля от всех хромосомных аномалий составляет 75%. Среди хромосомных патологий выделяют количественные (моносомии, полисомии) и структурные нарушения (делеции, дупликации, инверсии, инсерции и транслокации). Несмотря на большое количество проведенных в этом направлении исследований, роль и механизмы действия многих генов, локализованных на разных участках половых хромосом, не изучены до конца.

Ключевые слова: половые хромосомы, мужское бесплодие, хромосомные aberrации.

Цель исследования

Изучить и проанализировать данные литературы, посвященные исследованию аномалий в половых хромосомах у мужчин и влиянию как количественных, так и качественных хромосомных перестроек на мужскую репродуктивную систему.

С развитием вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) важное значение приобретает изучение причин бесплодия супружеских пар. Мужской фактор в общей структуре бесплодия достигает 50%. От 10 до 20% мужчин страдают нарушениями в показателях спермограммы и около 10% состоят в бездетных браках, при этом носителями различных хромосомных патологий могут быть от 5 до 15% мужчин репродуктивного возраста [12]. В связи с этим, исследование кариотипа супружеской пары приобретает большую актуальность с целью выявления причин и определения дальнейшей тактики лечения бесплодия различными методами ВРТ. Согласно Приказу № 627 Министерства Здравоохранения Республики Казахстан «Об утверждении правил проведения ВРТ» от 30.10.2009 г., все лица, вступающие в программу ВРТ, обязаны пройти обследование на наличие генетических отклонений. Это связано с тем, что любые хромосомные перестройки могут отразиться не только на качестве эмбрионов, но и, в конечном итоге, на исходе проведенной программы ВРТ, и, как следствие, на здоровье будущего ребенка. Пациентам с отклонениями в кариотипе рекомендуются программы ВРТ с проведением преимплантационной генетической диагностики (ПГД), а в случаях тяжелых патологий – программы с использованием донорских клеток.

Кариотип генетически здорового мужчины (46, XY) состоит из 22 пар аутосом и двух половых хромосом (гоносом). Обе половые хромосомы играют решающую роль в процессе сперматогенеза, а также в формировании пола. Изучение роли гоносом в мужской репродуктивной системе актуально, так как каждый мужчина имеет по одной половой хромосоме в наборе и любые аномалии в них могут привести к нарушениям сперматогенеза и репродуктивной функции. Так, по исследованиям различ-

ных авторов, мужская фертильность напрямую связана с половыми хромосомами – Y и X, где доля всех хромосомных аномалий составляет 75% [16].

Основной хромосомой у мужчин является Y-хромосома. С 1976 г. начались ее интенсивные исследования, была построена цитогенетическая, физическая и патологическая карта. Y-хромосома делится на три участка: эухроматиновая проксимальная часть длинного плеча Yq11, гетерохроматиновый дистальный участок Yq12 и эухроматиновое короткое плечо Yp11 (рис.1) [14].

На коротком плече Y-хромосомы расположен ген SRY (sex determining region Y) – участок, определяющий половую принадлежность, ответственный за развитие семенников и формирование мужского фенотипа [4]. Кроме того, на коротком плече были обнаружены гены ZFY (zinc finger protein - белок цинковых пальцев) и TSPY (testis specific protein - тестикулярный специфический белок), но их роль в сперматогенезе еще не ясна [10].

На длинном плече Y-хромосомы локализованы гены, ответственные за репродуктивную функцию. Например, H-Y антиген ответственен за формирование семенных канальцев, а нарушения в гене AZF (azoospermia factor) могут сопровождаться отсутствием сперматозоидов в эякуляте [21]. Предполагается, что наличие мутаций в локусах AZFa, AZFb и AZFc, на участке Yq11 (рис. 1), приводят к различным нарушениям сперматогенеза на разных стадиях процесса [10, 20].

Генетические aberrации при мейозе оставляют организм с недостаточным или избыточным количеством половых хромосом, а также могут приводить к мозаичности (комбинации более чем одного хромосомного паттерна у одного индивидуума). Среди аномалий гоносом различают количественные нарушения (моносомии, полисомии) и структурные перестройки (делеции, дупликации, инверсии, инсерции и транслокации). Наиболее часто встречающиеся количественные нарушения – это синдром Клайнфельтера и дисомии Y-хромосомы.

Синдром Клайнфельтера, кариотип 47, XXY, является генетическим нарушением, которое отражается на репродуктивной функции у мужчин, частота встречаемости от

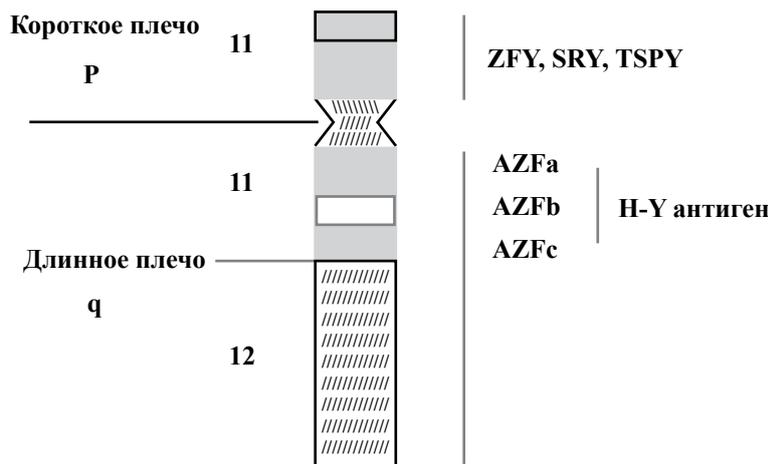


Рисунок 1 – Строение и цитогенетическая карта Y-хромосомы

0,5 до 2 на 1000 новорожденных мальчиков [8]. Новорожденные с синдромом Клайнфельтера фенотипически не отличаются от здоровых мальчиков, клинические признаки проявляются в пубертатном возрасте. Характерными особенностями являются выраженная гипоплазия внутренних половых органов, обнаруживаются дегенерация и гиалинизация семенных канальцев, отсутствие сперматозоидов в эякуляте [16]. Увеличение числа X хромосом в мужском кариотипе (48, XXXY; 49, XXXXY) приводит к усугублению всех вышеописанных признаков. В гонадах половых клеток не обнаруживается, интерстициальные клетки, как правило, гипоплазированы [2].

Полисомия Y-хромосомы встречается от 0,75 до 1 на 1000 мужчин [29,30]. Характерными признаками этой патологии являются различные психологические нарушения и асоциальное поведение, у 30% пациентов с кариотипом 47, XYY наблюдается нарушение репродуктивной функции [17]. Описано несколько случаев обнаружения кариотипа 48, XYYY. В результате цитогенетического анализа в половине метафазных пластинок присутствовал мозаицизм с сочетанием нормальной клеточной линии 46, XY. Азооспермия у этих пациентов обусловлена атрофией семенных канальцев и полным отсутствием сперматогенеза [26].

Очень редким типом анеуплоидий гоносом у мужчин является кариотип 48, XXYY, впервые описанный в 1960 г. и названный «дважды мужчиной» [23]. Клинические характеристики во многом совпадают с таковыми при классическом синдроме Клайнфельтера [29].

Структурные перестройки половых хромосом встречаются значительно реже количественных [5,24]. Среди них выделяют делеции различных локусов Y-хромосомы. Так, при потере гетерохроматина дистальной части длинного плеча (Yq12) и незначительной части эухроматина, происходит нормальное развитие гениталий и дифференцировка пола, а делеции проксимального участка длинного плеча (Yq11), вызывают азооспермию. Делеции на этом участке хромосомы затрагивают локус, несущий генетическую информацию и связанный с дифференцировкой мужских половых клеток. При этом пациенты имеют нормальные размеры гениталий, однако гистологический анализ

биоптата семенников таких пациентов выявляет отсутствие половых клеток, а иногда и клеток Сертоли [9].

Y-хромосома обладает выраженным полиморфизмом, что затрудняет дифференцировку структурных аномалий. Кроме того, нормальная по длине хромосома Y у стерильных мужчин может полностью утрачивать гетерохроматиновый блок [24]. Такие хромосомы получили название «nl Y nf» (нефлюоресцирующая хромосома Y нормального размера). Позже такие хромосомы были определены как дицентрические изохромосомы с точками разрыва в проксимальной части длинного плеча Y-хромосомы (Yq11) и с инактивированной второй центромерой [13]. Чаще при подобных аномалиях кариотипа встречается мозаицизм в сочетании с клеточной линией 45, X0 (46, XYnf/45, X0) [19].

Другой структурной перестройкой является дупликация, т.е. удвоение какого-либо участка Y-хромосомы. В случаях дупликации небольшого участка AZFc локуса существенных изменений в репродуктивной системе выявлено не было. Другие исследователи изучали влияния дупликаций различных участков Y-хромосомы, в том числе и AZFc локуса, на сперматогенез, и пришли к выводу, что подобные перестройки намного опаснее делеций, так как чаще вызывают патологии в репродуктивной функции мужчин [11].

Одной из разновидностей структурных аномалий является кольцевая Y-хромосома, которая образуется при разрыве в коротком и длинном плечах хромосомы, и последующем их соединении в точках разрыва с потерей каких-либо участков. Мужчины с кариотипом 46, X, r(Y) часто имеют нормальные наружные половые органы, но страдают азооспермией, так как кольцевая хромосома Y вызывает нарушение развития клеток сперматогенеза [18].

Особое место занимают транслокации с Y-хромосомой. Транслокации между двумя хромосомами Y отличаются от Yq-изохромосом размерами обоих плеч. В случаях транслокации участка хромосомы Y на хромосому X пациенты чаще всего имеют мужской фенотип, для них характерны бесплодие с азооспермией. Транслокации X- и Y-хромосом, не выявляемые в результате цитогенетического анализа, часто наблюдаются

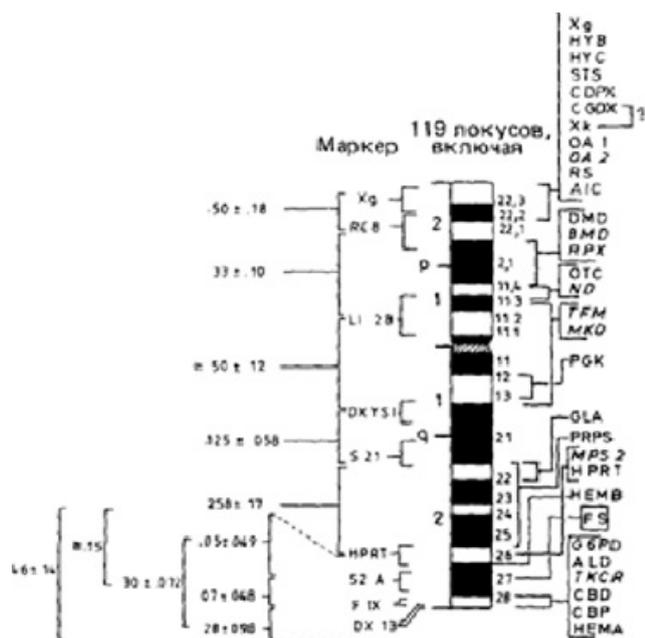


Рисунок 2 – Строение X-хромосомы

у стерильных мужчин с кариотипом 46, XX (синдром Ла Шапелля) [7]. У большинства пациентов материал хромосомы Y транслоцирован на короткие плечи одной из хромосом X, длинное плечо хромосомы Y в таких случаях утрачивается, что и объясняет азооспермию [25].

Аномалии, связанные с X-хромосомой, вызывают более широкий спектр нарушений, в том числе затрагивающие репродуктивную функцию (рис. 2). Наличие на X-хромосоме генов, ответственных за сперматогенез, вызывает немало споров. Одни авторы утверждают, что X-хромосома практически не содержит генов, участву-

ющих в сперматогенезе [24], другие авторы экспериментально доказали, что X-хромосома содержит гены, отвечающие за процесс мейоза и сперматогенеза [28].

Ген USP26, обнаруженный на X-хромосоме, оказывает влияние на функции гематотестикулярного барьера и развитие клеток Сертоли. Позже был проведен функциональный анализ этого гена и доказана его роль в активации рецепторов андрогена при мужском бесплодии [27].

Также на X-хромосоме обнаружено несколько микроРНК, роль которых в процессе сперматогенеза и мейоза согласно многим исследованиям очень велика, однако механизм их действия до конца не изучен [15].

Анализ численных и структурных аномалий геномом цитогенетическими и молекулярно-цитогенетическими методами позволит установить значительный удельный вес различных aberrаций у пациентов с бесплодием [31]. Современные методы, такие как FISH (Fluorescent in situ hybridization), в том числе для двух- и трехцветной флуоресцентной гибридизации in situ, а также метода праймированного мечения in situ, позволяют изучать особенности хромосом на всех стадиях клеточного цикла [1].

Выводы

Несмотря на многочисленные исследования и публикации о влиянии половых хромосом на мужскую фертильность, роль этих хромосом еще недостаточно изучена и вызывает постоянные споры среди исследователей. Высказывания различных авторов в отношении генетики половых хромосом, в частности X-хромосомы, иногда весьма противоречивы. Дальнейшее изучение геномом является очень важным для понимания причин возникновения мужского бесплодия и выбора дальнейшей тактики ведения супружеских пар в циклах ВРТ с целью преодоления проблем бесплодия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ворсанова С.Г., Казанцева Л.З., Демидова И.А., Дерягин Г.В. Цитогенетическая диагностика у супружеских пар с отягощенным акушерским анамнезом. *Вопросы охраны материнства и детства*. 1989;34:6:52 - 56
2. Лазюк Г.И. *Тератология человека*. М. Медицина, 1991;434
3. Козлова С.И., Демикова Н.С., Семанова Е., Блинникова О.Е. *Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование*. М. Практика, 1996;305
4. Осипова Г.Р. Исследование гена SRY при некоторых нарушениях детерминации пола (XY «чистой» дисгенезии гонад, синдроме Шерешевского-Тернера, XX-инверсии пола). *Автореф.* М 1997;24
5. Курило Л.Ф., Шилейко Л.В., Мхитарова Е.В. и др. Структура наследственной патологии половой системы при обследовании пациентов с нарушением репродукции. *Тез. конф. «Инвалидиз. Наследственные заболевания»*, МГНЦ РАМН, Москва, XI 1997
6. Курило Л.Ф. Возможности цитогенетического исследования мейоза при мужском бесплодии. *Цитол и генет* 1989;23:2:63 - 70
7. Курило Л.Ф., Козлов Г.И., Федотов В.П. и др. Клинико-цитогенетическое обследование пациента с кариотипом 46,XX, азооспермией и бесплодием. *Проблемы эндокринологии* 1994;40:12:50 - 51
8. Rives N.I., Joly G., Machy A., Siméon N., Leclerc P., Macé B. Assessment of sex chromosome aneuploidy in sperm nuclei from 47, XXY and 46,XY/47,XXY males: comparison with fertile and infertile males with normal karyotype. *Mol Hum Reprod*. 2000 Feb; 6 (2):107-12
9. Tiepolo L., Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976; 34:119 - 124
10. Vogt P.H., Edelmann A., Kirsch S. et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Molec Genet* 1996;5:7:933 - 943
11. Bourgoyne P. Y chromosome function in mammalian development. *Developmental biology* 1991;1:1 - 29
12. Uchchekwu I.O. Ezech Beyond the clinical classification of azoospermia: *Opinion Hum Reprod*. 2000 Nov; 15 (11):2356-9

13. Speleman F, Van der Auwera B., Mangelschots K. et al. Identification and characterization of normal length nonfluorescent Y chromosomes: cytogenetic analysis, Southern hybridization, and nonisotopic in situ hybridization. *Hum Genet* 1990;85:569 - 575
14. ISCN An international system for human cytogenetic nomenclature, Mitelman F. (ed); S.Karger; Basel, 1995;5 - 115
15. M.D. Papaioannou, S. Nef microRNAs in the testis: building up male fertility *J. Androl.*, 31 (2010), pp. 264–272
16. Maiburg M.I., Repping S., Giltay J. The genetic origin of Klinefelter syndrome and its effect on spermatogenesis. *Fertil Steril.* 2012 Aug;98(2):253-60
17. Fryns J.P., Kleczkowska A., Kubien E., van den Berghe H. XYY syndrome and other Y chromosome polysomies. Mental status and psychological functioning. *Genet Counsel* 1995;6:3:197 - 206
18. Daniel A. Y isochromosomes and rings. In: A.A.Sandberg *The Y chromosome, Part B: Clinical aspects of Y chromosome abnormalities.* Alan R. Liss, Inc., NY, 1985;105 - 135
19. Lin C.C., Meyne J., Sasi R. et al. Determining the origin and the structural aberration of small marker chromosomes in two cases of 45,X/46,X,+mar by use of chromosomespecific DNA probes. *Am J Med Genet* 1990;37:71 - 78
20. Affara N., Bishop C., Brown W. et al. Report of the international workshop on Y chromosome mapping. *Cytogenet Cell Genet* 1996;73:33 - 76
21. Cantrell M.A., Simpson E., Bicknell J.N. et al. Absence of H - Y antigen expression in a patient with deletion of the long arm of the Y chromosome and isolation of a new DNA probes for region 6 of the Y chromosome. *J Hum Genet* 1989; 45:134
22. Lin Y.W., Hsu T.H., Yen P.H. Localization of ubiquitin specific protease 26 at blood-testis barrier and near Sertoli cell-germ cell interface in mouse testes *Int. J. Androl.*, 34 (2011), pp. 368–377
23. Muldal S., Ockey C.H. The «double male»: a new chromosome constitution in Klinefelter's syndrome. *Lancet* 1960; pp.492 - 493
24. Stouffs K.I., Tournaye H., Liebaers I., Lissens W. Male infertility and the involvement of the X chromosome. *Hum Reprod Update.* 2009 Nov-Dec;15(6):623-37
25. Zelante L., Dallapicola B., Calvano S. et al. Two mosaic-YY males carrying asymmetric Y chromosomes. *Clin Genet* 1997; 51:65 - 68
26. Teyssier M., Pousset G. 46,XY/48,XYYY mosaicism case report and review of the literature. *Genet Couns* 1994;5:4:357 - 361
27. Stouffs K., Lissens W., H., Tournaye A. Van Steirteghem, Liebaers I. Possible role of USP26 in patients with severely impaired spermatogenesis *Eur. J. Hum. Genet.*, 13 (2005), pp. 336–340
28. Wang P.J., McCarrey J.R., Yang F., D.C. An abundance of X-linked genes expressed in spermatogonia *Nat. Genet.*, 27 (2001), pp. 422–426
29. Borgaonkar D.S. Chromosomal variation in man. A catalog of chromosomal variants and anomalies. Alan R.Liss, Inc., NY, 5th edition, 1989
30. Rothwell N.Y. Understanding genetics: sex chromosome anomalies in humans, 3rd edn. NY: Oxford university press,1983;113 - 118
31. Kurilo L., Mchitarova E., Schilejko L. et al. Chromosomal anomalies in patients with reproductive failures. *Abst. ESMG-28th An Meet IV-1996, London*

REFERENCES

1. Vorsanova S.G., Kazantseva L.Z., Demidova I.A., Deryagin G.V. Tsitogeneticheskaya diagnostika u supruzheskih par s otyagoschemnyim akusherskim anamnezom. *Voprosy ohranyi materinstva i detstva.* 1989;34:6:52 - 56
2. Lazyuk G.I. Teratologiya cheloveka. *M. Meditsina*, 1991;434
3. Kozlova S.I., Demikova N.S., Semanova E., Blinnikova O.E. Nasledstvennyye sindromy i mediko-geneticheskoe konsultirovanie. *M. Praktika*, 1996;305
4. Osipova G.R. Issledovanie gena SRY pri nekotoryih narusheniyah determinatsii pola (XY «chistoy» disgenезii gonad, sindrome Shereshevskogo-Ternera, HH-inversii pola). *Avtoref. M* 1997;24
5. Kurilo L.F., Shileyko L.V., Mhitarova E.V. i dr. Struktura nasledstvennoy patologii polovoy sistemy pri obsledovanii patsientov s narusheniem reproduksii. *Tez. konf. »Invalidiz. Nasledstvennyye zabolevaniya.*, MGNTs RAMN, Moskva, XI 1997
6. Kurilo L.F. Vozmozhnosti tsitogeneticheskogo issledovaniya meyoza pri muzhskom besplodii. *Tsitol i genet* 1989;23:2:63 - 70
7. Kurilo L.F., Kozlov G.I., Fedotov V.P. i dr. Kliniko-tsitogeneticheskoe obsledovanie patsienta s kariotipom 46,HH, azoospermiey i besplodiem. *Problemy endokrinologii* 1994;40:12:50 - 51
8. Rives N.I., Joly G., Machy A., Siméon N., Leclerc P., Macé B. Assessment of sex chromosome aneuploidy in sperm nuclei from 47,XXY and 46,XY/47,XXY males: comparison with fertile and infertile males with normal karyotype. *Mol Hum Reprod.* 2000 Feb; 6 (2):107-12
9. Tiepolo L., Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976; 34:119 - 124
10. Vogt P.H., Edelman A., Kirsch S. et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Molec Genet* 1996;5:7:933 - 943
11. Bourgoyne P. Y chromosome function in mammalian development. *Developmental biology* 1991;1:1 - 29
12. Uchechukwu I.O. Ezech Beyond the clinical classification of azoospermia: *Opinion Hum Reprod.* 2000 Nov; 15 (11):2356-9
13. Speleman F, Van der Auwera B., Mangelschots K. et al. Identification and characterization of normal length nonfluorescent Y chromosomes: cytogenetic analysis, Southern hybridization, and nonisotopic in situ hybridization. *Hum Genet* 1990;85:569 - 575
14. ISCN An international system for human cytogenetic nomenclature, Mitelman F. (ed); S.Karger; Basel, 1995;5 - 115
15. M.D. Papaioannou, S. Nef microRNAs in the testis: building up male fertility *J. Androl.*, 31 (2010), pp. 264–272

16. Maiburg M.I., Repping S., Giltay J. The genetic origin of Klinefelter syndrome and its effect on spermatogenesis. *Fertil Steril.* 2012 Aug;98(2):253-60
17. Fryns J.P., Kleczkowska A., Kubien E., van den Berghe H. XYY syndrome and other Y chromosome polysomies. Mental status and psychological functioning. *Genet Counsel* 1995;6:3:197 - 206
18. Daniel A. Y isochromosomes and rings. In: A.A.Sandberg *The Y chromosome, Part B: Clinical aspects of Y chromosome abnormalities.* Alan R. Liss, Inc., NY, 1985;105 - 135
19. Lin C.C., Meyne J., Sasi R. et al. Determining the origin and the structural aberration of small marker chromosomes in two cases of 45,X/46,X,+mar by use of chromosomespecific DNA probes. *Am J Med Genet* 1990;37:71 - 78
20. Affara N., Bishop C., Brown W. et al. Report of the international workshop on Y chromosome mapping. *Cytogenet Cell Genet* 1996;73:33 - 76
21. Cantrell M.A., Simpson E., Bicknell J.N. et al. Absence of H - Y antigen expression in a patient with deletion of the long arm of the Y chromosome and isolation of a new DNA probes for region 6 of the Y chromosome. *J Hum Genet* 1989; 45:134
22. Lin Y.W., Hsu T.H., Yen P.H. Localization of ubiquitin specific protease 26 at blood-testis barrier and near Sertoli cell-germ cell interface in mouse testes *Int. J. Androl.*, 34 (2011), pp. 368–377
23. Muldal S., Ockey C.H. The «double male»: a new chromosome constitution in Klinefelter's syndrome. *Lancet* 1960; pp.492 - 493
24. Stouffs K.I., Tournaye H., Liebaers I., Lissens W. Male infertility and the involvement of the X chromosome. *Hum Reprod Update.* 2009 Nov-Dec;15(6):623-37
25. Zelante L., Dallapicola B., Calvano S. et al. Two mosaic-YY males carrying asymmetric Y chromosomes. *Clin Genet* 1997; 51:65 - 68
26. Teyssier M., Pousset G. 46,XY/48,XYYY mosaicism case report and review of the literature. *Genet Couns* 1994;5:4:357 - 361
27. Stouffs K., Lissens W., H., Tournaye A. Van Steirteghem, Liebaers I. Possible role of USP26 in patients with severely impaired spermatogenesis *Eur. J. Hum. Genet.*, 13 (2005), pp. 336–340
28. Wang P.J., McCarrey J.R., Yang F., D.C. An abundance of X-linked genes expressed in spermatogonia *Nat. Genet.*, 27 (2001), pp. 422–426
29. Borgaonkar D.S. *Cromosomal variation in man. A catalog of chromosomal variants and anomalies.* Alan R.Liss, Inc., NY, 5th edition, 1989
30. Rothwell N.Y. *Understanding genetics: sex chromosome anomalies in humans, 3rd edn.* NY: Oxford university press, 1983; 113 - 118
31. Kurilo L., Mchitarova E., Schilejko L. et al. Chromosomal anomalies in patients with reproductive failures. *Abst. ESMG- 28th An Meet IV-1996, London*

ТҮЙІНДЕМЕ

ЖЫНЫС ХРОМОСОМАЛАРЫНЫҢ АУЫТҚУЛАРЫНА БАЙЛАНЫСТЫ ЕР АДАМДАРДЫҢ РЕПРОДУКТИВТІ ҚЫЗМЕТІНІҢ БҰЗЫЛУЫ

К. А. Гусейнова, М. С. Шишиморова

Репродуктивті медицина орталығы, «ЭКО» орталығы, Қазақстан, Алматы

Хромосомалық ауытқуларды болуы – ер адамдардың белсіздігінің себептерінің бірі. Ер адамдардың репродуктивті қызметінің жалпы құрылымында олар 5-15% дейін жетеді. Ер адамдардың фертильділігіне олардың жыныс хромосомалары – Y және X әсер етеді, олардың жалпы хромосомалық ауытқудағы үлесі 75% құрайды. Хромосомалық патологиялар ішінде сандық (моносомия, полисомия) және құрылымдық (делеция, дупликация, инверсия, инсерция және транслокация) бұзылуларды жіктеуге болады. Осы бағытта жүргізілген зерттеулердің көп болуына қарамастан жыныс хромосомаларының әр түрлі бөліктеріне шоғырланған көптеген гендердің ролі мен механизмі жеткілікті зерттелмеген.

Түйін сөздер: жыныс хромосомалары, ер адамдар белсіздігі, хромосомалық абберрация.

SUMMARY

VIOLATIONS OF REPRODUCTIVE FUNCTION FOR MEN, RELATED TO ANOMALIES OF SEXUAL CHROMOSOMES

K. A. Huseynova, M. S. Shishimorova

Institute of Reproductive Medicine, IVF,

Kazakhstan, Almaty

The chromosomal abnormalities are one of the causes of male infertility. In the overall structure of reproductive disorders in men takes from 5 to 15%. Male fertility depends of sex chromosomes are Y and X, as a proportion of all chromosomal abnormalities is 75%. Of chromosomal abnormalities distinguish quantitative (monosomy, polysomy) and structural alterations (deletions, duplications, inversions, insertions, and translocations). Despite the large number carried out in this area of research, the role and mechanisms of action of many genes located on different parts of the sex chromosomes have not been studied comprehensively.

Key words: sex chromosomes, male infertility, chromosomal aberration.

УДК 618-7

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ РАМАН-ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В РЕПРОДУКТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

М. Т. Александров, В. М. Зуев, В. И. Кукушкин, В. Н. Николенко, Е. А. Калинина,
А. И. Ищенко, Т. А. Джигладзе, Л. М. Рапопорт, Т. А. Хомерики, В. Везирова

*Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Институт физики твердого тела РАН,
клиника репродуктивного здоровья «Арт-Эко»,
Россия, Москва*

АННОТАЦИЯ

В статье представлены данные о применении широкого диапазона ЛРД-технологий в медицинской практике, а также показана возможность их использования в соответствии с современными требованиями ВОЗ – диагностика «по месту лечения». Быстрота анализа получаемых данных, ее высокая чувствительность и специфичность (диагностическая и аналитическая) позволяют считать, что современная отечественная клиническая практика в репродуктивных методиках получила возможность использовать достижения как физических, так и биологических наук во благо человека. Разработанный метод раман-люминесцентной диагностики оказался высокоэффективным и полезным неинвазивным методом оценки структурно-функционального состояния эндометрия, коррелирующим с известными методами морфологической и функциональной оценки состояния эндометрия – гистологическим и ультразвуковым.

Ключевые слова: Раман-люминесцентные технологии, эндометрий, репродуктивная медицина

Взаимное обогащение научных и клинических дисциплин является могучим стимулом их развития. Не вызывает сомнений, что медицина – это важнейшая научно-практическая дисциплина, на которой основывается здоровье нации. Положительная роль научно-технического прогресса различных направлений медицинской науки и практики через инновации способствует развитию смежных медицинских дисциплин. Это относится к биофизике, лазерной технике, физиологии, фармакологии, репродуктивной медицине [1]. В полной мере это определило инновационные подходы к развитию медицинских технологий реабилитации женщин с бесплодием, хроническими воспалительными и онкологическими заболеваниями органов репродуктивной системы (патент на полезную модель № 2013154656/14(085323) от 16.05.2014. Устройство раман-флюоресцентной диагностики состояния тканей человека в норме и при патологии).

Принимая во внимание, что воспалительные заболевания органов малого таза составляют 60-65% в структуре заболевания среди гинекологических больных, возрастает частота их последствий в виде бесплодия, нарушения менструальной функции, и, в тоже время, из-за недостатка высокоэффективных методов диагностики и лечения указанных больных возрастает потребность в разработке инновационных технологий, способных значительно улучшить состояние проблемы. Для этого требуется разработка новых экспресс-технологий профилактики, диагностики и повышения эффективности лечения.

Для достижения этих целей творческим коллективом проведены фундаментальные исследования и предложены к клиническому применению инновационные лазерные раман-люминесцентные экспресс-мониторинговые «прикроватные» методы и аппаратура лазерной конверсионной диагностики.

Аппаратура, материалы и методы исследования

Для определения максимальной аналитической чувствительности проводилось сравнение аппаратно-программных комплексов «ИнСпектр М», «ФЛЮ-ОЛ», «Спектролюкс-МБ», «ЛЭСА-01-БИОСПЕК» с использованием лазерной конверсионной диагностики (ЛКД) (в случае комплекса «ИнСпектр М» использовалась рамановская и люминесцентная составляющие, а в случае комплексов «ФЛЮОЛ», «Спектролюкс-МБ» и «ЛЭСА-01-БИОСПЕК» использовалась только люминесцентная составляющая ЛКД).

В основе технологии раман-люминесцентной диагностики лежит уникальное комбинирование рамановского и люминесцентного методов. Большинство веществ имеет ярко выраженный рамановский спектр – «отпечаток пальца», который определяется молекулярным строением вещества и позволяет его однозначно идентифицировать.

Эффект Рамана (комбинационное рассеяние света) – неупругое рассеяние оптического (лазерного) излучения на молекулах вещества (твердого, жидкого или газообразного), сопровождающееся изменением его частоты.

Однако вероятность рамановского рассеяния является чрезвычайно низкой – для большинства органических молекул интенсивность рамановского сигнала составляет порядка 10^{-6} от интенсивности лазерной накачки. Регистрация такого слабого потока при анализе микродоз исследуемых веществ является чрезвычайно сложной задачей. Однако после открытия явления гигантского усиления рамановского рассеяния за счет применения неровных металлических поверхностей (SERS-подложек) ситуация радикально изменилась, и появилась возможность детектирования и идентификации следовых количеств молекул [6, 7].

Люминесцентный метод связан с приведением исследуемого вещества световыми квантами в одно из возбужденных состояний, быстрой релаксацией из возбужденного состояния в промежуточное долгоживущее неравновесное состояние и последующей релаксацией в основное состояние с испусканием световых квантов меньшей энергии. Аналогично спектрам рамановского рассеяния, спектр люминесценции содержит информацию о возбужденных состояниях исследуемого вещества, однако, вследствие более широких полос люминесценции и меньшего числа долгоживущих возбужденных состояний, спектр люминесценции менее специфичен, чем спектр рамановского рассеяния.

Вместе с тем, одновременное измерение и анализ двух типов рассеяния, рамановского и люминесцентного, что достигается в аппаратно-программном комплексе «ИнСпектр М», позволяют получить существенно более полную информацию об исследуемом объекте, поскольку данные типы рассеяния света связаны с различными физическими характеристиками исследуемого вещества.

Всего было исследовано 160 тест-объектов верифицированного гистологами биопсийного материала (лаборатория РОНЦ, зав. Проф. А.И. Карселадзе).

Для улучшения результата исследований – повышения чувствительности метода – применяли SERS-подложки, которые позволяют увеличить сигнал рамановского рассеяния в сотни тысяч раз. В этом случае для исследования производили мазок-отпечаток исследуемого биопсийного материала на SERS-подложку, дожидались высыхания, записывали полученный спектр, проводили его анализ и интерпретацию.

В отдельном исследовании при изучении диапазона применения разрабатываемой методики изучали раман-люминесцентные спектры плазмы крови на SERS-подложках доноров (40 чел.), больных эндометриозом (24 чел.), беременных женщин с преэклампсией (19 чел.) и здоровых спортсменов (12 чел.) после изнурительных тренировок.

Для возможности применения разработанной медицинской технологии при исследовании метаболических показателей оксигенации тканей проводили эксперимент и измерения In Vivo на руке человека в опущенном и поднятом состоянии, а так же с вдыханием O₂.

Ниже (Рис. 1) представлены и описаны медицинские комплексы, которые предназначены для записи сигнала люминесценции.



Рисунок 1 – Медицинские комплексы, регистрирующие сигнал люминесценции (слева – медицинский комплекс ФЛЮОЛ, справа – лазерно-флуоресцентный комплекс “Спектролюкс-МБ”)

Микробиологический мониторинг состояния организма с помощью лазерно-флуоресцентного комплекса «Спектролюкс-МБ» и «ФЛЮОЛ» представляется технологическим и интеллектуальным средством диагностики, оперативного массового скрининга населения и динамичного мониторинга процесса коррекции и выбора эффективной медикаментозной стратегии лечения.

Установка «ЛЭСА-01-БИОСПЕК» позволяет локально определять степень накопления фотосенсибилизатора в органах пациента, доступных для волоконно-оптического зонда. Установка для локальной спектроскопии может использоваться в ходе фотодинамической терапии внутриполостных, внутритканевых и поверхностных опухолей.

Перечисленные установки для медицинских приложений не имеют адекватного для медицины аппаратно-программного решения. В них не решены в полном объеме вопросы воспроизводимости результатов при диагностике пациентов из-за отсутствия процесса нормировки при записи спектров. Эти медицинские комплексы обладают недостаточной чувствительностью. К тому же они являются стационарными и громоздкими. Они не позволяют регистрировать спектры рамановского рассеяния, что существенно снижает их диагностические возможности и диапазон применения.

Рамановские методы в медицине до недавнего времени не применялись, поскольку не существовало компактной и простой в использовании аппаратуры для проведения измерений. К настоящему времени закончена разработка основных базовых элементов портативных рамановских комплексов: мощных миниатюрных твердотельных лазеров; многослойных интерференционных фильтров с узкими спектральными характеристиками; миниатюрных матричных фотодетекторов с высокой чувствительностью, низкими шумами и высоким разрешением.

На рис. 2 представлен портативный раман-люминесцентный медицинский спектрометр «ИнСпектр М».



Рисунок 2 – Портативный раман-люминесцентный медицинский спектрометр «ИнСпектр М» (слева – для применения In Vitro, справа – для применения In Vivo)

1 серия исследований

Проводилась серия экспериментов для объективного определения и сравнения чувствительности и специфичности (диагностической и аналитической) метода и аппаратно-программного комплекса «ИнСпектр М» с другими медицинскими комплексами («ФЛЮОЛ», «Спектролюкс-МБ», «ЛЭСА-01-БИОСПЕК»).

Для этого разводилась концентрация золотистого стафилококка до эталона мутности 109 КОЕ/мл (число колоний в 1 мл) и разбавлялась с шагом в 10 раз до концентрации 10². На обычном раман-люминесцентном спектрометре (без возможности визуализации с помощью оптического микроскопа) с использованием SERS-подложек удалось увидеть SERS-спектр золотистого стафилококка при концентрации 10⁵ КОЕ/мл (10⁵ колоний было в пробирке объемом 1 мл). На SERS-подложку мы наносили каплю объемом 1 мкл, т.е. 100 колоний, что обеспечивало после высыхания на поверхности подложки слой одиночно располагающихся колоний бактерий.

В случае, когда мы имели возможность визуализации полученной картинки в оптический микроскоп, сочлененный с рамановским спектрометром, мы регистрировали сигнал с единичной клетки бактерии с помощью SERS-подложки. Поэтому в данном случае не совсем уместно говорить об объемной концентрации, т.к. с помощью раман-люминесцентного микроскопа удается обнаружить единичную клетку бактерии, встать на нее лазерным пучком и записать ее уникальный SERS-спектр.

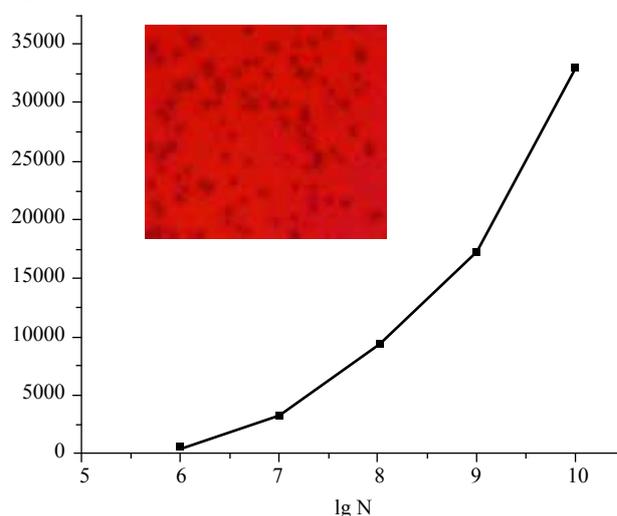


Рисунок 3 – Калибровочная зависимость интенсивности основной рамановской линии золотистого стафилококка от его объемной концентрации в логарифмическом масштабе оси x.

На рисунке 3 сверху изображена фотография золотистого стафилококка при объемной концентрации 10⁶, полученная на оптическом микроскопе (отчетливо видно, что при такой объемной концентрации на подложке образуется много пустых мест и поэтому требуется применение раман-люминесцентного микроскопа для съема сигнала с конкретной одиночной бактерии). На графике представлена калибровочная зависимость интенсивности основной рамановской линии золотистого стафилококка от его объемной концентрации в логарифмическом масштабе оси x.

При использовании люминесцентного спектрометра «ИнСпектр М» с длиной волны возбуждающего излучения 405 нм чувствительность определения пигментно-содержащих или пигментно-образующих бактерий (на примере *Pseudomonas aeruginosa*) составляет 104 КОЕ/мл.

На Рис. 4 показаны спектры люминесценции суспензий *Pseudomonas aeruginosa* при разных объемных кон-

центрациях. Сверху на этой картинке изображен график калибровочной зависимости интенсивности люминесценции микробов *Pseudomonas aeruginosa* в зависимости от концентрации в логарифмическом масштабе оси x .

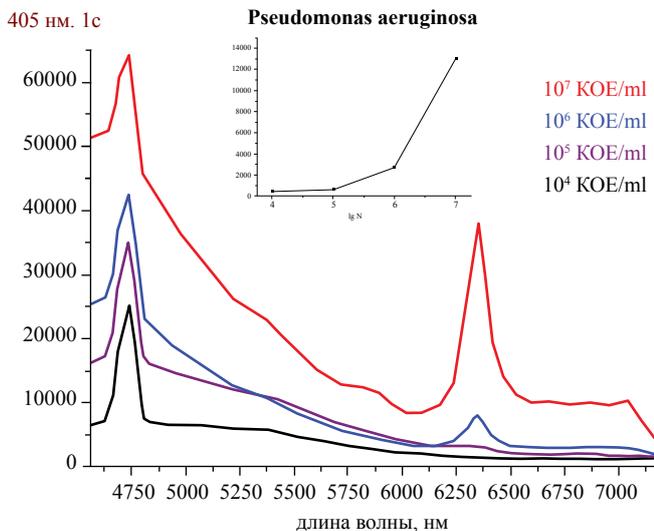


Рисунок 4 – Спектры люминесценции суспензий *Pseudomonas aeruginosa* при разных объемных концентрациях

При использовании люминесцентного спектрометра «ИнСпектр М» с длиной волны возбуждающего излучения 405 нм чувствительность определения бактерий, не содержащих пигменты (на примере *Morganella morganii*), составляет 105 КОЕ/мл.

На Рис. 5 показана калибровочная зависимость интенсивности люминесценции микробов *Morganella morganii* в зависимости от концентрации в логарифмическом масштабе оси x .

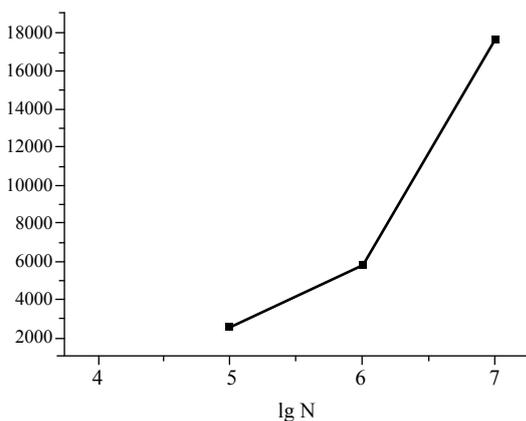


Рисунок 5 – Зависимость интенсивности люминесценции бактерии *Morganella morganii* от ее концентрации в логарифмическом масштабе оси x . Чувствительность 105

Таким образом, на примере исследования суспензий различных бактерий, показано, что применение раман-люминесцентной методики для медицинской диагностики на программно-аппаратном комплексе «ИнСпектр М» является на несколько порядков (в 100-1000 раз) более чувствительным, чем на существующих медицинских комплексах, использующих только люминесцентную диагностику. Для получения еще большей чувствительности, в сочетании

с комплексом «ИнСпектр М» используются специализированные SERS-подложки, предназначенные для анализа микродоз биологических веществ. Именно эти найденные нами преимущества программно-аппаратных комплексов «ИнСпектр М» показывают, что для проведения наиболее эффективной диагностики и мониторинга процесса лечения и реабилитации необходимо использовать именно их.

Примеры применения данной технологии

2 серия исследований

На рис. 6 показаны примеры спектров, записанных на SERS-подложках с двух бактерий (*Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*).

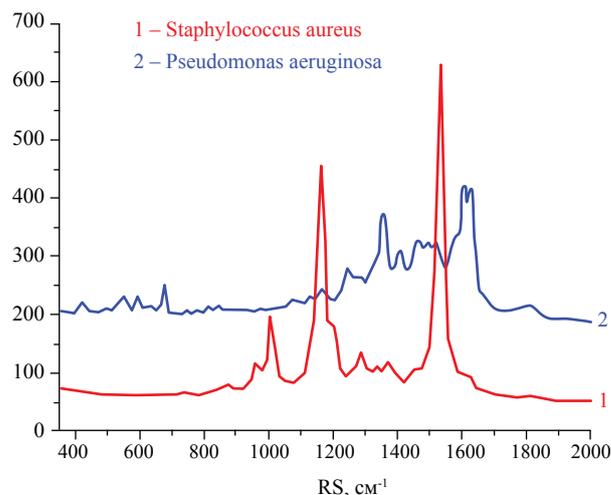


Рисунок 6 – Спектры *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*

На представленных выше спектрах видны отличительные линии для каждого из бактерий. Для бактерии *Staphylococcus aureus* индивидуальные следующие рамановские пики – 959 cm^{-1} , 1006 cm^{-1} , 1160 cm^{-1} , 1284 cm^{-1} , 1530 cm^{-1} , а для *Pseudomonas aeruginosa* – 675 cm^{-1} , 1353 cm^{-1} , 1404 cm^{-1} , 1605 cm^{-1} , 1630 cm^{-1} .

На Рис. 7 представлены спектры трех разных видов стафилококков – они различны, но одинаковы по показателям рамановских пиков у разных штаммов одного и того же вида (на этом рисунке представлены по два спектра каждого вида).

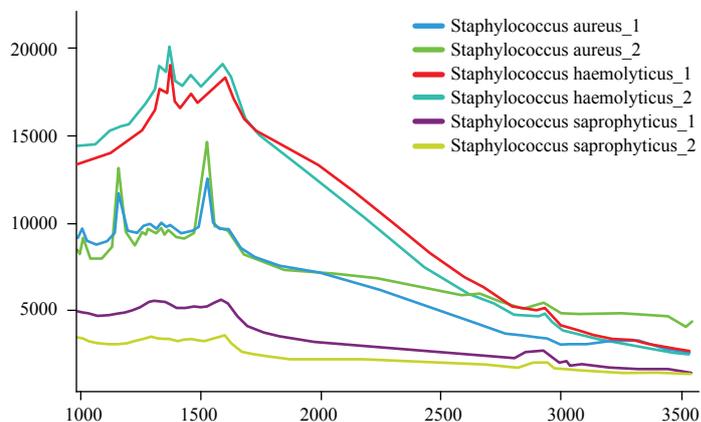


Рисунок 7 – Спектры различных клинических штаммов стафилококка

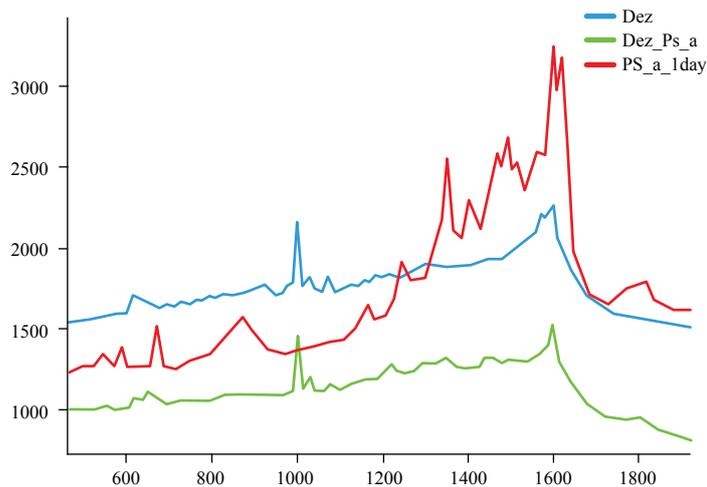


Рисунок 8 – Сравнительный анализ спектров антисептика 1% хлорамина при воздействии на штамм бактерий. Время исследования 2-3мин

Из представленных данных следует, что всем бактериям присущи, во-первых, отличительные индивидуальные рамановские линии, а во-вторых – различное соотношение интенсивностей большинства рамановских линий, которое количественно характеризует концентрацию веществ, входящих в состав мембран разных микроорганизмов. На основании этого можно создавать электронные паспорта (базу данных) микроорганизмов.

Ниже представлена раман-люминесцентная методика для определения чувствительности микробов к антимикробным препаратам.

На рис. 8 представлены три спектра с SERS-подложки для одинаковых концентраций синегнойной палочки, хлорамина и смеси хлорамина и синегнойной палочки (раствор 1:1). Видно, что после внесения хлорамина спектр синегнойной палочки исчез и спектр раствора хлорамина + синегнойная палочка (1:1) стал похож на спектр хлорамина. Это означает, что бактерии разрушились под действием данного антисептика. Таким образом, раман-люминесцентная диагностика позволяет быстро и надежно определять предпочтительный антисептический препарат, который «убивает» рассматриваемый вид бактерий.

Исследование плазмы крови доноров и пациентов (3 серия исследований)

На рис. 9 отображены раман-люминесцентные спектры плазмы крови доноров (черный и синий спектры), здоровых спортсменов после изнурительных тренировок (сиреневый спектр), больных с эндометриозом (красный спектр) и беременных с преэклампсией (зеленый спектр), которые имеют существенные и характерные отличия.

Из представленного рисунка следует, что раман-люминесцентные спектры доноров, здоровых спортсменов, больных с эндометриозом и беременных с преэклампсией имеют существенные характерные отличия, поэтому рассматриваемая методика и аппаратура могут быть использованы как для исследования различных тканей органов малого таза у женщин, так и биологических жидкостей человека.

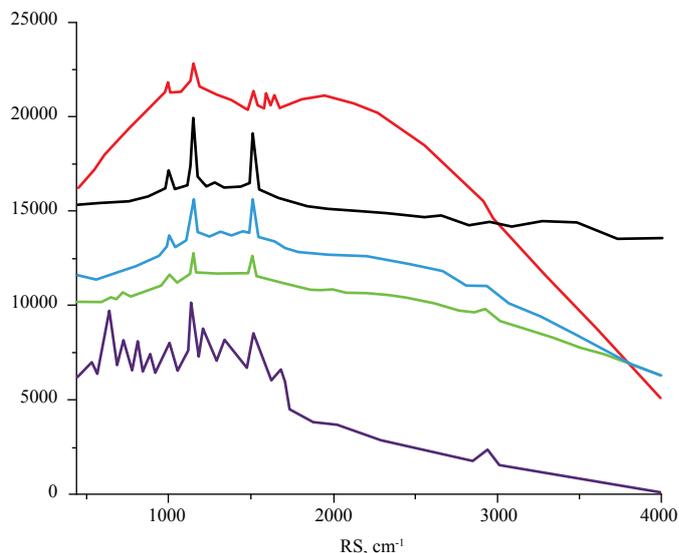


Рисунок 9 – Спектры плазмы крови доноров, здоровых спортсменов после изнурительных тренировок, больных с эндометриозом и беременных с преэклампсией

На рис. 10 показаны усредненные результаты по 4-м измерениям (ошибка измерения, связанная с выгоранием и небольшим возможным отклонением от перпендикулярного положения волокна составляет порядка 10%).

В результате оксигенации (сравнение показателей поднятой и опущенной руки) показатели интегральной интенсивности изменяются на 20%, а показатели индекса аэробности на 5%.

Результаты исследований тканей репродуктивных органов (5 серия исследований)

В этом разделе приведены раман-люминесцентные спектры разных типов опухолевых (доброкачественных и злокачественных (раковых)) и интактных тканей органов малого таза у женщин. Для выявления отличий в спектрах опухолевых (раковых) и интактных тканей необходимо правильно проводить нормировку интенсивности (чтобы относительная интенсивность не зависела от параметров установки). Чтобы избавиться от всех чужеродных факторов, интенсивность люминесценции (или рамановской линии) делят на интенсивность (нормируют), которая также зависит от всех этих факторов-помех.

Измерение	Интегральная интенсивность	Индекс аэробности
НАЧАЛЬНОЕ ИЗМЕРЕНИЕ	3030	1,22
ПОДНЯТАЯ РУКА 1 мин	2512	1,20
ПОДНЯТАЯ РУКА 2 мин	2409	1,19
ПОДНЯТАЯ РУКА 3 мин	2153	1,17
ОПУЩЕННАЯ РУКА 1 мин	2757	1,21

Таблица 1 – Результаты исследований метаболических показателей оксигенации тканей (4 серия исследований)

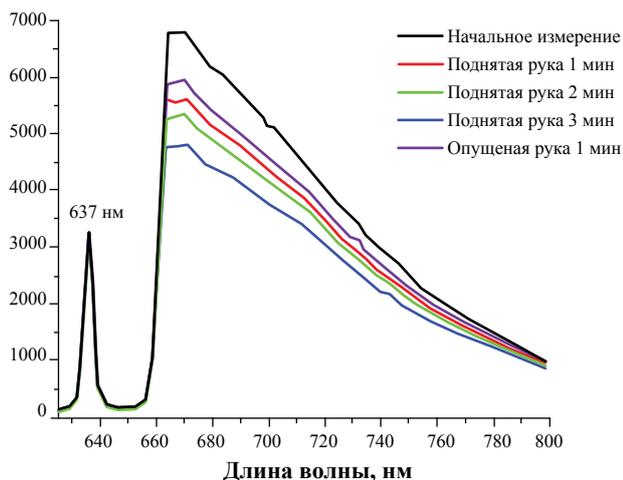


Рисунок 10 – Спектры люминесценции руки в двух положениях – опущенном и поднятом

Такой нормировочной интенсивностью, которая стоит в знаменателе, может быть интенсивность рассеянной лазерной компоненты или интенсивность рамановской линии воды, которая содержится в исследуемом объекте. Ниже представлены результирующие данные.

Ниже на рис. 11 представлено сравнение интактных и раковых раман-люминесцентных спектров следующих тканей: молочной железы, сальника и яичника.

Раковые спектры иногда имеют двугорбую люминесценцию, сходную с люминесценцией здоровой области.

Это означает, что при записи спектра мы встали лазером на здоровую область в раковой ткани. Такие спектры действительно должны иногда быть, потому что в раковой ткани могут попадаться здоровые клеточные структуры, размер которых соизмерим с размером лазерного пучка.

Клиническая апробация (6 серия исследований)

Всего обследовано 968 пациенток с неудачными программами экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона (ЭКО и ПЭ) в анамнезе.

В исследование вошли 340 пациенток в возрасте от 28 до 47 лет с неуспешными программами ЭКО в анамнезе в количестве от 2 до 12. Из них у 315 (92,6%) был диагностирован хронический эндометрит, подтвержденный морфологически.

У 25 (7,4%) женщин признаки хронического воспаления отсутствовали, а отсутствие циклических изменений в эндометрии были обусловлены, вероятно, гормональной дисфункцией разного генеза [2-5, 8-11].

Комплексное обследование включало: цито-морфологические, иммуногистохимические, УЗИ и доплерометрические исследования, а также минигистероскопию и оперативную гистероскопию по показаниям.

С целью экспресс-диагностики и оценки морфо-функционального состояния эндометрия, его лечения и мониторинга проведенного воздействия применяли лазерную раман-люминесцентную диагностику и фотоиммунную терапию.

В качестве базовой лечебно-диагностической установки использовали программно-аппаратный комплекс,

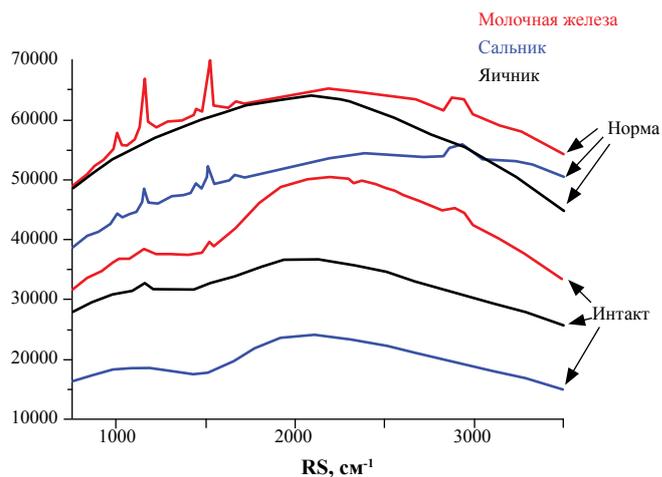


Рисунок 11 – Спектры интактных и раковых тканей молочной железы, сальника и яичника

состоящий из лазерного излучателя с длиной волны 0,637 мкм и выходной мощностью 5-15 мВт, спектрометра для регистрации и индикации ЛКД-характеристик тканей (люминесцентная составляющая), аппарата NO-терапии «Плазон», держателя световолоконного датчика (для экстра- и интракорпоральной люминесцентной диагностики воспалительных и онкологических заболеваний органов малого таза и одномоментного внутриматочного облучения тканей эндометрия), компьютера с специализированным программным продуктом.

С диагностической целью определяли спектральную характеристику эндометрия в 3-х разных точках (дно, середина полости матки, нижняя треть и область внутреннего зева матки). В качестве эталона брали реперную точку (внутренняя поверхность бедра). Затем определяли показатель аэробности (преобладающую микрофлору), показатели пролиферации и метаболизма, оценивали однородность развития и фазового преобразования эндометрия, производили забор материала для мазков, изучение мазков с помощью гигантского рамановского рассеяния на серебряных подложках. Определяли показатель отражения, характеризующий интенсивность кровотока.

В качестве ведущего критерия состояния оксигенации эндометрия использовали «индекс аэробности». Индекс аэробности / анаэробности – отношение интегральной интенсивности люминесценции на длине волны лазерного излучения 670 нм (+/- 5нм) к интенсивности люминесценции на длине волны 700 нм (+/- 5нм).

Индекс аэробности нормального эндометрия – 1,2 – 1,7. отн. Ед.

Индекс аэробности при морфо-функциональной неспособности эндометрия- 0,95 – 1,1 отн. Ед.

Индекс аэробности радохлорофилла 2С» составляет – 2,2 – 2,5 отн. Ед.

Комплексное лечение включало: использование препарата радахлорофилл «С», в течение 2-6 недель в зависимости от исходного морфо-функционального состояния эндометрия и степени выраженности последствий воспаления и внутриматочное лазерное облучения эндометрия.

Контроль за накоплением препарата и его действием на эндометрий осуществляли с помощью раман-люминисцентной спектроскопии. После достижения накопления препарата до определенного уровня начинали лазерное внутриматочное облучение эндометрия. Разовые и суммарные дозы облучения выбирали индивидуально по совокупности исходных клинико-морфологических данных и результатов лазерной спектроскопии.

В отдельных случаях при глубоких нарушениях микроциркуляции в тканях эндометрия (при отсутствии регистрации кровотока в базальных и спиральных артериях при доплерометрии) комплекс лечебных мероприятий включал NO – терапию на принципе обратной связи.

Проведенные клинические наблюдения показали, что минимальная продолжительность приема «Радахлорофилла-С» для активации фотоиммуннохимической терапии составляла 12-14 дней. За это время появляется достаточно выраженное самостоятельное активное действие «Радахлорофилла-С» с точки зрения повышения аэробности, активации пролиферативной активности и метаболизма эндометрия. Контролем явились, прежде всего, данные спектроскопии. Пациенткам, у которых накопление препарата не достигало необходимого минимального уровня (показатели аэробности были ниже 1,05), рекомендовали продолжить прием «Радахлорофилла-С» и только после достижения соответствующего уровня аэробности (1,06 – 1,08) начинали внутриматочное облучение эндометрия.

После 2-х недельного приема «Радахлорофилла-С» эти показатели составили 6-7* 107 отн. Ед., 1,1 отн. Ед., 5-6* 104 отн. Ед. соответственно.

В результате лазерного облучения эндометрия показатели составили 8-9* 107 отн. Ед., 1,1-1,3 отн. Ед., 14-20* 104 отн. Ед. соответственно.

Таким образом, уже после приема «Радахлорофилла-С» у большинства пациенток наблюдалось улучшение микроциркуляции, пролиферации и метаболизма в эндометрии на 15-30%. А после комплексной терапии с использованием «Радахлорофилла-С» и внутриматочного облуче-

ния эндометрия восстановление указанных показателей морфо-функционального состояния эндометрия отмечены у 296 (87,0 %) женщин, существенное улучшение у 26 (7,6%) женщин, незначительное изменение у 18 (5,4 %).

По данным УЗИ, после комплексного лечения имело место существенное улучшение эхоструктуры эндометрия в 1 фазе цикла в виде структуризации, появления четких контуров, достоверное увеличение толщины эндометрия (с 5,6 + 0,1 мм до 9,6 + 1,5 мм) и нормализация его эхоструктуры (84,6%) во 2 фазу менструального цикла. При доплерометрии было выявлено улучшение кровотока в крупных сосудах и появление кровотока в базальных и радиальных артериях у 32 (9,4%) женщин.

После завершения комплексной терапии по восстановлению структурно-функционального состояния эндометрия, женщины вступали в программу ВРТ. При этом 305 (89,7%) женщинам была произведена заместительная гормональная терапия с последующим переносом эмбрионов и у 35 (10,3%) пациенток были выполнены классические программы ЭКО со стимуляцией овуляции и переносом эмбрионов. В группе женщин, которым был произведен криоперенос, имплантация наступила у 122 (40%) женщин, у 14 из них беременность прекратила развитие на сроке 4-6 недель.

В группе женщин с классической программой ЭКО и ПЭ беременность наступила у 9 (25,7%) пациенток.

Высокоточная и информативная «он-лайн» диагностика (скрининг и мониторинг) метаболических и морфометрических характеристик воспалительных и онкологических заболеваний женских половых органов (аналогов не выявлено) сравнима с данными гистологических исследований на 80%.

Сокращение времени диагностики по сравнению с традиционными исследованиями (биопсийный материал) составляет 200 раз (ЛКД-диагностика – 1-2мин, результат биопсий – 8-10 дней). Впервые отмечено наступление беременности у женщин, страдающих длительным бесплодием более 5 лет и имевших 2-12 неудачных программ ЭКО и ПЭ в 36-40% случаев.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров М.Т. Лазерная клиническая биофотометрия. М: Техносфера- 2008.- 553с. беременности. Автореф. Дисс... к.м.н., Москва, 2007 г.
2. Борцвадзе Ш.Н., Джигладзе Т.А., Иценко А.И. Значение офисной гистероскопии в диагностике маточного фактора бесплодия и лечения таких болезней // Ж. «Российский вестник акушера-гинеколога», 2012, 35, т. 12, с. 53-56
3. Гузов И.И. Введение в медицину репродукции. Зачатие у человека.- М., 1984
4. Зуев В.М., Александров М.Т., Кукушкин В.В., А.И. Карселадзе А.И., Иценко А.И., Джигладзе Т.А. Исследование спектральных характеристик органов малого таза у женщин и их клиническое значение. // Ж. «Онкогинекология», 2013, №3, с. 61-67
5. Кукушкин В.И., Ваньков А.Б., Кукушкин И.В. Взаимосвязь гигантского усиления сигналов рамановского рассеяния и люминисценции на наноструктурированных металлических поверхностях // Письма в ЖЭТФ, 2013, 98:6, 383-388
6. Кукушкин В.И., Ваньков А.Б., Кукушкин И.В., К вопросу о дальнем действии поверхностно-усиленного рамановского рассеяния // Письма в ЖЭТФ, 2013, 98:2, 72-77
7. Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности, «Триала-Х». 2002
8. Сухих Г.Т., Шуришалина А.В. Хронический эндометрит: руководство. М.: ГЭОТАР- Медиа, 2010
9. Antiero M., Luttun A., Tjwa M., Carmeliet P., // *Throm. Haemost-2003- Vol.1., №7-p. 1356-1357*
10. Chien L.W., Au H.K., Chen P.L., Xiao J. Tzeng C.R. Assessment of uterine receptivity by the endometrial-subendometrial blood flow distribution pattern in women undergoing in vitro fertilization embryo transfer: *Ferti.l Steril.* 2002; 78: 245-51

REFERENCES

1. Aleksandrov M.T. Lazernaya klinicheskaya biofotometriya. M: Tehnosfera- 2008.- 553s. beremennosti. Avtoref. Diss... k.m.n., Moskva , 2007 g.
2. Bortsvadze Sh.N., Dzhibladze T.A., Ischenko A.I. Znachenie ofisnoy gisteroskopii v diagnostike matochnogo faktora besplodiya i lecheniya takih bolezney // Zh. «Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa», 2012, 35, t. 12, s. 53-56
3. Guzov I.I. Vvedenie v meditsinu reproduksii. Zachatie u cheloveka.- M., 1984
4. Zuev V.M., Aleksandrov M.T., Kukushkin V.V., A.I. Karseladze A.I., Ischenko A.I., Dzhibladze T.A. Issledovanie spektralnykh harakteristik organov malogo taza u zhenshin i ikh klinicheskoe znachenie. // Zh. «Onkoginekologiya», 2013, #3, s. 61-67
5. Kukushkin V.I., Vankov A.B., Kukushkin I.V. Vzaimosvyaz gigantskogo usileniya signalov ramanovskogo rasseyaniya i lyuministsentsii na nanostrukturirovannykh metallicheskikh poverhnostyakh // Pisma v ZhETF, 2013, 98:6, 383-388
6. Kukushkin V.I., Vankov A.B., Kukushkin I.V., K voprosu o dalnodeystvii poverhnostno-usilennogo ramanovskogo rasseyaniya // Pisma v ZhETF , 2013, 98:2, 72-77
7. Sidelnikova V.M. Privyichnaya poterya beremennosti, «Triala-H». 2002
8. Suhii G.T., Shurshalina A.V. Hronicheskiiy endometrit: rukovodstvo. M. : GEOTAR- Media, 2010
9. Antiero M., Luttun A., Tjwa M., Carmeliet P., // Throm. Haemost-2003- Vol.1., №7-p. 1356-1357 10. Chien L.W., Au H.K., Chen P.L., Xiao J. Tzeng C.R. Assessment of uterine receptivity by the endometrial-subendometrial blood flow distribution pattern in women undergoing in vitro fertilization embryo transfer. Ferti.l Steril. 2002; 78: 245-51

ТҮЙІНДЕМЕ

РЕПРОДУКТИВТИ МЕДИЦИНАДА РАМАН-ЛЮМИНЕЦСЕНТТИ ТЕХНОЛОГИЯЛАРДЫ ҚОЛДАНУДЫ ТӘЖІРИБЕЛІК-ТЕОРИЯЛЫҚ НЕГІЗДЕУ

М. Т. Александров, В. М. Зуев, В. И. Кукушкин, В. Н. Николенко, Е. А. Калинина, А. И. Ищенко, Т. А. Джибладзе, Л. М. Рапопорт, Т. А. Хомерики, В. Везирова

*И.М. Сеченов атындағы бірінші МММУ, РҒА қатты дене физикасы институты,
«Арт-Эко» репродуктивті денсаулық емханасы,
Ресей, Мәскеу*

Мақалада медициналық тәжірибеде ЛРД-технологияларының кең ауқымын қолдану туралы мәліметтер ұсынылған және оларды ДСҰ заманауи талаптарына сәйкес пайдалану мүмкіндігі – «емдеу орны бойынша» диагностика көрсетілген. Алынған мәліметтерді талдау жылдамдығы, оның жоғары сезімталдығы мен сипаттамасы (диагностикалық және аналитикалық) заманауи отандық емханалық тәжірибенің репродуктивті әдістемелері физика мен биология ғылымдарының жетістіктерін адам игілігіне пайдалануға мүмкіндік берді. Өзірленген раман-люминесцентті диагностика әдісінің тиімділігі жоғары және эндометрия жағдайын – гистологиялық және ультрадыбыстық морфологиялық және функционалдық белгілі әдістермен арақатынастылықта құрылымдық-функционардық бағалау үшін пайдалы екенін анықтаған.

Түйін сөздер: Раман-люминесцентті технология, эндометрия, репродуктивті медицина

SUMMARY

EXPERIMENTAL AND THEORETICAL APPROVEMENT OF RAMAN-LUMINISTENTIAL TECHNOLOGIES IN REPRODUCTIVE MEDICINE

M. T. Alexandrov, V. M. Zuev, V. I. Kukushkin, V. N. Nikolenko, E. A. Kalinina, A. I. Ischenko, T. A. Dzhibladze, L. M. Rapoport, T. A. Khomeriki, B. Vezirova

*1st Setchenov MMSU, The Institute of State solid physics, Clinic of reproductive Medicine «Art-Eco»,
Russia, Moscow*

In the article data are presented about application of wide range of LRD-technologies in medical practice, and possibility of their use is similarly shown in accordance with the modern requirements of WHO – diagnostics «at the place of treatment». The quickness of analysis of the got data, its high sensitiveness and specificity (diagnostic and analytical), allow to consider that modern home clinical practice in reproductive methodologies got possibility to draw on accomplishments of both physical and biological sciences for the sake of man. The worked out method of raman-luministential diagnostics proved the high-efficiency and usefulness of uninvational method of estimation of the structural-functional state of endometrium, correlating with the known methods of morphological and functional estimation of the state of endometrium – histological and ultrasonic.

Key words: Raman-luminescent technologies, endometrium, reproductive medicine

УДК 618.146

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ И ТАКТИКИ ВЕДЕНИЯ ПРЕДОПУХОЛЕВОЙ ПАТОЛОГИИ ШЕЙКИ МАТКИ

Т. Ф. Тагарчук¹, Н. А. Володько², Н. К. Силина³, Т. Н. Силина⁴, И. В. Гнатушок⁵, Т. О. Мамонова⁶

¹ Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины,
Украина, Киев

² Национальный Львовский медицинский университет,
Украина, Львов

³ Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины,
Украина, Киев

⁴ Национальная медицинская академия последипломного образования им. П. Л. Шупика, г. Киев (Украина)

⁵ Медицинский центр «Добробут»,
Украина, Киев

⁶ Киевский городской клинический эндокринологический центр,
Украина, Киев

АННОТАЦИЯ

Во всем мире рак шейки матки является одним из наиболее распространенных видов рака среди женщин, и второй, наиболее частой, причиной онкологической смертности. В данной статье представлены современные аспекты ВПЧ-ассоциированного канцерогенеза, тактика вторичного скрининга и основные методы ведения пациентки с предопухоловой патологией шейки матки.

Ключевые слова: рак шейки матки, скрининг, патология шейки матки, вирус папилломы человека

Во всем мире рак шейки матки (РШМ) является одним из наиболее распространенных видов рака среди женщин, и второй наиболее частой причиной онкологической смертности. На долю РШМ приходится почти 300 тысяч смертей ежегодно. В Европе РШМ является основной причиной смерти среди женщин 15-44 лет [3]. РШМ – одно из немногих заболеваний, которое можно предотвратить, однако патология шейки матки чрезвычайно редко является состоянием, сопровождающимся какими-либо симптомами, и практически никогда не нарушает качество жизни женщины на начальных стадиях. И, как следствие этого, часть пациенток обращаются к доктору уже на стадии инвазивного рака шейки матки. Каждый год на инвазивный РШМ приходится 500 000 женщин и каждые две минуты от данной патологии в мире умирает одна женщина.

В Украине РШМ занимает второе место по заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований у женщин 30-54 лет. РШМ приносит больше смертей, чем туберкулез, СПИД и материнские смерти вместе взятые и за последние 20 лет РШМ в возрастной группе от 15 до 29 лет вырос в 5 раз (Национальный канцерореестр).

Учитывая актуальность данной проблемы, мы считаем чрезвычайно важным понимание врачом акушером-гинекологом физиологии шейки матки (ШМ), а также тех процессов, которые происходят в шейке в ходе ВПЧ-ассоциированного канцерогенеза. Это позволит не только правильно определить компетенцию гинекологов, но и с пониманием относиться к диагностике, лечению и наблюдению пациенток с патологией ШМ.

Физиология шейки матки

Шейка матки покрыта многослойным плоским эпителием (МПЭ), который состоит из 35-40 слоев клеток, которые имеют четкую стратификацию: глубже всего располагаются базальные клетки с крупным, хорошо окрашиваемым ядром, находящимся в центре. Затем следует ряд парабазальных клеток, которые отличает меньший по сравнению с предыдущими размер ядер и большее количество цито-

плазмы. Над парабазальными клетками эпителия находится несколько слоев промежуточных клеток, имеющих прозрачную цитоплазму, округло-овальное центрально расположенное ядро с одним или двумя ядрышками и уже содержащих большое количество гликогена. По мере приближения к поверхности их форма уплощается, и они переходят в заключительный поверхностный слой, клетки которого содержат небольшое овальное или круглое пикнотическое ядро. По мере созревания клеток ядро уменьшается и увеличивается количество цитоплазмы в клетке. Базальный и парабазальный слои МПЭ содержат рецепторы к эстрогенам и эпидермальному фактору роста (ЭФР). Эстрогены стимулируют ДНК синтез, а ЭФР стимулирует митотическую активность клетки и индуцирует процесс кератонизации. Созревание сквамозных клеток – это эстрогенозависимый процесс. Созревание клетки – от базального слоя до поверхностного – занимает около трех недель.

Цилиндрический канал выстлан однорядным кубическим эпителием, который формирует крипты в толщу шейки матки перпендикулярно каналу на глубину 5-8 мм. Об этом надо помнить во время проведения кюретажа цервикального канала и конусовидной биопсии, т.к. именно в глубине крипты могут быть измененные клетки, которые не попадут в материал для гистологического исследования при проведении кюретажа.

Именно зона перехода или зона стыка ЦЭ и МПЭ должна являться объектом пристального внимания акушера-гинеколога.

До 75% девочек рождается с ЦЭ, покрывающим поверхность шейки матки. В процессе полового созревания происходит замещение цилиндрического эпителия МПЭ. В период полового созревания эстрогены увеличивают количество гликогена в эпителиальных клетках влагалища, который под действием лактобактерий превращается в молочную кислоту, уменьшая рН влагалища и, тем самым, запуская процесс плоскоклеточной метаплазии. Зона трансформации (ЗТ) – это зона метаплазии, участок между оригинальным

стыком ЦЭ и МПЭ (с которым девочка родилась) и новым стыком. Существует 3 типа ЗТ:

Тип I – полностью расположена на эктоцервиксе и полностью визуализируется (малая или большая);

Тип II – ЗТ имеет эндоцервикальный компонент, который полностью поддается визуализации, эктоцервикальный компонент может быть малым или большим;

Тип III – ЗТ имеет эндоцервикальный компонент, который не визуализируется полностью, также может иметь малый или большой эктоцервикальный компонент.

ЗТ III тип – это противопоказание для абляцияционных методик лечения шейки матки.

ВПЧ инфекция – причина развития патологии шейки матки

В 1996 году ВОЗ наряду с Европейской организацией исследований по Генитальной инфекции и Неоплазии и Национального института здоровья определили ВПЧ как основную причину рака шейки матки. ВПЧ был выявлен в 99,7% случаев биоптатов плоскоклеточного рака шейки матки (по всему миру). Аденокарцинома шейки матки также связана с ВПЧ, но корреляция менее выражена и зависит от возраста. У женщин моложе 40 лет ВПЧ присутствовал в 89% биоптатов аденокарциномы, тогда как у женщин в возрасте 60 лет и старше ВПЧ наблюдалось только у 43% (Andersson S., E. Rylander et al, 2001). Две трети цервикальных раков вызваны именно ВПЧ 16/18 типов. По данным многоцентрового европейского исследования HERACLES (в котором приняли участие

3979 женщин из 13 стран Европы, включая Россию, с High Grade-CIN (ЦИН 2,3 и аденокарцинома in situ)) наиболее часто выявляли ВПЧ 16 тип (70,2%), ВПЧ 33 (9,9%), ВПЧ 31 (5%), ВПЧ 52 (3,7%) и ВПЧ 58 (3,1%). Типы ВПЧ 18, 35, 45 и 51 встречались редко – у 0,6-2,5% женщин. ВПЧ низкого онкогенного риска (34, 40, 42, 43, 44, 53, 54, 70 и 74) у женщин с HG-CIN обнаружены не были. Почти три четверти участниц исследования (74,6%) находились в возрасте от 21 года до 40 лет. Наиболее частыми типами ВПЧ в данных возрастных категориях были ВПЧ 16 (48-55,4%), 31 (1,8-12,5%) и 33 (4,2-14%) типов. В 24-30,4% случаев одновременно были выявлены сразу несколько типов ВПЧ. Среди женщин Российской Федерации поражения шейки матки CIN 2/3 наиболее часто ассоциированы с ВПЧ 16, 31 и 33 типов.

На сегодняшний день доказаны следующие факторы риска возникновения РШМ:

1. Раннее начало половой жизни [7]. Сексуальный дебют в возрасте до 20 лет повышает риск инвазивного РШМ в 2 раза; а также наличие более 4 половых партнеров в течение жизни увеличивает риск РШМ в два раза; более 6 партнеров – в 14 раз;

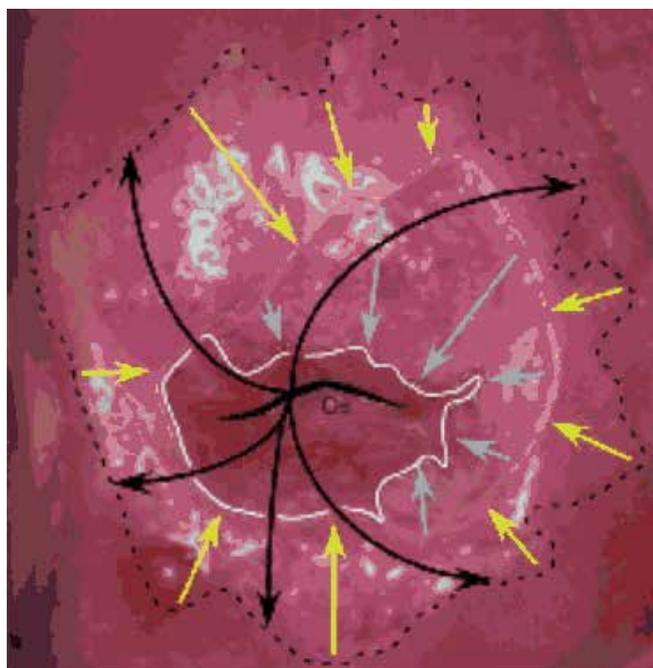
2. Курение. Исследования Franco E. L. et al. выявили, что взаимосвязь между ВПЧ и РШМ и HSIL выше, чем между курением и раком легких. У активных и пассивных курильщиц вдвое больше шансов заболеть РШМ, чем у некурящих женщин. Никотин и ему подобные вещества выявляются в цервикальной слизи и способны повреждать ДНК цервикальных клеток, а также подавляют иммунную систему;

3. Иммунодефицит. Пациентки с ВИЧ, принимающие иммунодепрессанты, входят в группу повышенного риска по развитию РШМ. В виду того, что их иммунная система не способна элиминировать поврежденные клетки, промежуток перехода ЦИН в РШМ у данной категории пациенток значительно сокращен.

Также считается, что женщины с ожирением имеют больше шансов заболеть аденокарциномой шейки матки. У женщин, принимающих КОК, риск РШМ возрастает в два раза только через пять лет после их непрерывного приема и возвращается к популяционному через 10 лет после прекращения приема КОК.

Интересные данные были опубликованы в Lancet 2011 группой европейских ученых (Xavier Castellsagué, Mireia Díaz, Salvatore Vaccarella, Silvia de Sanjosé) касательно риска РШМ и внутриматочной спирали (ВМС). Использование ВМС ассоциируется со сниженным риском развития плоскоклеточной карциномы (0,56, 0,43-0,72; $p < 0,0001$), аденокарциномы и аденосквамозной карциномы (0,46, 0,22-0,97; $p = 0,035$). Возможно, что ВМС выступает в качестве раздражителя клеточного иммунитета, что опосредованно способствует своевременной элиминации мутировавших клеток.

Кроме этого, женщины с тремя и более доношенными беременностями входят в повышенную группу риска развития РШМ. У девушек, у которых была доношенная беременность до 17 лет, риск РШМ воз-



— оригинальная зона перехода (стык МПЭ и ЦЭ)
 — незрелый метаплазированный эпителий
 — зрелый метаплазированный эпителий
 — новая зона перехода

Рисунок 1 –

растает в два раза по сравнению с теми, у кого беременность наступила после 25 лет. И, конечно, наличие РШМ у мамы или сестры повышает риск цервикальной онкопатологии в 2-3 раза (American Cancer Society).

ВПЧ – это самый распространенный вид ИППП, хотя его распространенность полностью зависит от региональных особенностей культуры, религии, сексуального поведения. В США каждый год 6 миллионов человек заражаются генитальными типами ВПЧ и около 15% населения США имеют ВПЧ позитивный ПЦР-тест. Среди них большинство в возрасте 15-25 лет. Считается, что половина сексуально активных людей заразятся ВПЧ в течение жизни и около 80% сексуально активных женщин будут инфицированы до 50 лет [4]. Среди них 50% инфицированы ВПЧ высокоонкогенного риска (ВР-ВПЧ). В этой группе только 10% будут иметь персистенцию именно ВПЧ 16/18 типа и ЦИН 3. И среди этих женщин только примерно у 1,3% разовьется инвазивный РШМ. Почему так? Потому что ВПЧ – это транзиторная инфекция.

ВПЧ состоит из ДНК и белкового капсида, которому для репликации нужна другая клетка. ВПЧ инфицирует исключительно базальный слой эпителия, и не может попасть в зрелую клетку МПЭ. Только клетки базального слоя экспрессируют рецепторы, благодаря которым ВПЧ попадает в клетку. Поэтому самым уязвимым участком является зона перехода многослойного плоского эпителия в цилиндрический эпителий (зона стыка МПЭ и ЦЭ). В парабазальном слое происходит репликация ДНК, но вирус не имеет своей оболочки. В поверхностном слое происходит «сборка» ВПЧ. В процессе десквамации МПЭ ВПЧ покидает организм. Таким образом, при наличии двухфазного менструального цикла, адекватного состояния иммунной системы, ВПЧ не вызывает запуск процесса канцерогенеза. А нарушения строения клеток, которые цитологи характеризуют как цервикальная интраэпителиальная неоплазия легкой степени или ASC (атипичные сквамозные клетки), имеют тенденцию к спонтанной регрессии примерно в 75% случаев у взрослых и до 90% у подростков [12]. В зараженной клетке вирус существует в двух формах: эпигеномно и интегрированным в геном клетки. Все вышеописанные процессы происходят эпигеномно. Инкорпорация ВПЧ в клетку является пусковым механизмом канцерогенеза. Данный процесс необратим. Гистологически данный процесс соответствует цервикальной интраэпителиальной неоплазии тяжелой степени. Инкорпорация вируса возможна только при его персистенции (процесс, когда ВПЧ не элиминируется из организма через 6 месяцев после заражения). Необходимо понимать, что весь жизненный цикл ВПЧ проходит эпигеномно, рак – это уже заболевание генома. Важно помнить, что ЦИН 3 и *carcinoma in situ* имеют одинаковые риски на развитие инвазивного процесса. ПЦР-диагностика не дает нам информации о процессе инкорпорации ВПЧ. На сегодняшний день существуют следующие методики диагностики ВПЧ, инкорпорированного в геном: *in situ* гибридизация; ам-

плификация ВПЧ онкогенных транскриптов в обратнотранскриптазной PCR и Ligation-mediated PCR.

ВПЧ и другие ИППП

Роль ВПЧ в цервикальном канцерогенезе на сегодняшний день уже не подвергается сомнению, а вот роль ВПГ-1,2 является дискуссионной. Достаточно много исследований проводится по влиянию ЦМВ, вируса Эпштейн-Барра (ВЭБ), ВПГ-1,2 на риск развития РШМ. Работы Szostek S., Zawilińska (2009) показали возможное влияние и роль ЦМВ и ВЭБ в интеграции ВПЧ 16 в геном и развитии рака шейки матки.

Герпетические поражения на шейке матки делают доступным базальный слой для ВПЧ. Кроме этого, воспалительный процесс, вызванный ВПГ, подавляет Т-клеточный иммунный ответ. ВПГ усиливает продукцию оксида азота, приводя к повреждению клеточной ДНК, и ускоряет процесс репликации ВПЧ [16].

Также не были выявлены интегрированные ДНК ВПГ и *Chlamydia trachomatis* в аденокарциномах шейки матки, что показало отсутствие влияния данной коинфекции на этиологию данного вида РШМ [17].

Таким образом, вышеописанные ИППП самостоятельно не повышают риск развития РШМ, но способствуют персистенции ВПЧ. Поэтому у ВПЧ-позитивной пациентки очень важно провести санацию ИППП, строго учитывая рекомендации ВОЗ касательно последовательности лечения ИППП.

ВПЧ-ассоциированный канцерогенез

Вирусный геном состоит из многочисленных различных генов, кодирующих всевозможные пептиды. Пептиды E2, E6 и E7 представляют особый интерес в связи с их отношением к инвазивной карциноме. Белок E2 функционирует путем связывания, как с E6, так и с E7 белками. Когда E6 и E7 связаны с E2, они не могут выполнять свои функции, а именно взаимодействие с p53. Белок p53 обеспечивает геномный гомеостаз, образуясь в крови человека при появлении клеток, подвергшихся мутации. Его основная задача – остановка бесконтрольного деления клеток. Клетка человека с инкорпорированным ВПЧ будет продуцировать белок E6, который, в свою очередь, будет инактивировать клеточный белок p53, что является пусковым моментом в развитии неопластического процесса [11].

Другой белок ВПЧ E7 также играет ключевую роль в контроле клеточного цикла. Когда E7 не связан с E2, он взаимодействует с белком ретинобластомы (Rb), что также запускает процесс малигнизации, т.к. белок Rb предотвращает репликацию поврежденной ДНК. Во время инкорпорации ВПЧ в геном человека, кольцо ДНК рвется в месте, кодирующем белок E2. Это означает, что белок E2 не может образовываться, так как необходимая информация для его синтеза разделена на две части. Следовательно, в клетках человека с интегрированной ДНК ВПЧ продуцируются только белки E6 и E7 (но не E2). Это приводит к инактивации белков p53 или Rb и позволяет клетке входить в новые и новые циклы деления и одновременно поддерживает гиперэкспрессию p16INK4a (поэтому данный белок используют как прогностический маркер).

Методы диагностики патологии шейки матки

Цитологическое исследование в течение многих лет остается основополагающим в диагностике патологии шейки матки, т.е. в проведении цервикального скрининга.

Основным инструментом скрининга являются окрашенные по Папаниколау мазки (ПАП-тест). С момента своего появления мазок по Папаниколау способствовал снижению заболеваемости раком шейки матки и смертности примерно от половины до двух третей.

В 1940-х годах рак шейки матки был основной причиной смерти среди женщин детородного возраста в США. Однако с введением в 1950 г. ПАП-теста, заболеваемость инвазивным раком шейки матки резко сократилась. В период с 1955 по 1992 год, в США заболеваемость раком шейки матки и смертность снизились более чем на 60% (National Cancer Institute at the National Institutes of Health).

Целью взятия ПАП-теста является выявление изменений в клетках зоны трансформации шейки матки. Час-тота проведения ПАП-теста определяется временными параметрами развития патологии шейки матки, учитывая течение ВПЧ-инфекции и наличие факторов риска. Так, развитие РШМ (от момента инфицирования, затем персистенции, затем развития ЦИН) занимает, в среднем, 10-12 лет. Но наличие упомянутых выше факторов риска значительно ускоряет этот процесс.

Для оценки результатов цитологического исследования на сегодняшний день во всем мире широко используется терминологическая система Бетезда 2002 г., которая представлена в таблице 1. Отличительной чертой данной системы является оценка взятого материала цитологом, что дисциплинирует клинициста, проводящего забор материала для ПАП-теста. Так, удовлетворительная цитология должна содержать клетки из зоны перехода. Неудовлетворительная цитология может быть из-за выраженного воспалительного процесса, большого количества эритроцитов или неправильно взятого мазка. Рекомендации по тактике трактовки результата цитологического результата, а также тактике ведения пациентки при обнаружении аномальной цитологии описаны в разделе ниже.

Чем мазок ПАП-тест (мазок по Папаниколау) отличается от обычного мазка на онкоцитологию?

В отличие от обычных цитологических мазков, которые делают в наших женских консультациях, при проведении мазка по Папаниколау используется специально подобранный состав фиксаторов и красителей, позволяющий с наибольшей степенью достоверности выявить ранние предраковые заболевания шейки матки. Эта методика является стандартной для стран Европы и Америки, так как дает наименьшее количество ложноотрицательных результатов. При заборе материала для ПАП-теста материал на стекле медленно обрабатывается фиксирующей смесью.

Таблица 1 –

Аббревиатура	Расшифровка аббревиатуры	Клиническая трактовка
NILM	Negative for intraepithelial lesion or malignancy Негативный в отношении интраэпителиального поражения или малигнизации	Норма
ASCUS	Atypical squamous cell undetermined significance Атипические сквамозные клетки неопределенного значения	Означает, что обнаруживаются клетки неопределенного значения. Наиболее частой причиной являются воспалительные процессы шейки матки, ВПЧ-инфекция. Однако в ряде случаев появление клеток неопределенного значения может свидетельствовать о начинающихся неопластических изменениях эпителия шейки матки. В подавляющем большинстве случаев наблюдается спонтанная регрессия изменений, особенно после проведенного лечения воспалительного процесса. Повторный контроль через 3-6 месяцев. Пациентки с ASCUS, но ВПЧ-отрицательные подлежат дальнейшему наблюдению без использования инвазивных методик, так как риск развития CIN 3 у женщин с ASCUS, ВПЧ-отрицательных составляет менее 2%.
ASC-H	Atypical squamous cell cannot exclude HSIL Атипические клетки плоского эпителия, при которых цитолог не может исключить HSIL	Необходимо провести кольпоскопию и биопсию с измененного участка. Если кольпоскопия отрицательная, проводим ВПЧ и ПАП-тест, кольпоскопию дважды, с интервалом в 6 месяцев
LSIL	Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Плоскоклеточные интраэпителиальные поражения низкой степени выраженности	LSIL объединяют цитологические изменения, указывающие на слабую дисплазию и вызванные ВПЧ морфологические изменения (койлоцитотическая атипия). LSIL часто регрессируют самостоятельно, даже если они были вызваны ВР – ВПЧ. Однако у 25% ВПЧ-положительных женщин с LSIL в течение 4 лет наблюдается прогрессия в HSIL

HSIL	High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Плоскоклеточные интраэпителиальные поражения высокой степени выраженности	Плоскоклеточные интраэпителиальные поражения высокой степени выраженности включают умеренную дисплазию, тяжелую дисплазию и карциному <i>in situ</i> , могут спонтанно регрессировать, но в большинстве случаев отмечается прогрессирование в рак <i>in situ</i> и плоскоклеточную карциному. Необходимо провести кольпоскопию и взять биопсию с измененного участка. Если кольпоскопия отрицательная, – цервикальный кюретаж. Если у данной пациентки не визуализируется ЗТ и биопсия отрицательная, необходимо решить вопрос о проведении диагностической конусовидной биопсии.
AGC: AGC-N AGC-NOS	Atypical glandular cells (атипические железистые клетки) AGC-favour neoplasia (атипические железистые клетки, сходные с неопластическим процессом) AGC- not otherwise specified	Атипические железистые клетки: эндоцервикальные клетки и эндометриальные клетки (могут присутствовать у менструирующей женщины, однако у женщин в постменопаузе их быть не должно). Всем пациенткам данной группы рекомендована кольпоскопия и цервикальный кюретаж или РДВ полости матки.
AIS	Adenocarcinoma in situ	Аденокарцинома <i>in situ</i>

Кольпоскопия

Кольпоскопия – метод визуальной диагностики патологии ШМ, вульвы, стенок влагалища, проведение которой важно для взятия биопсии с измененных участков. Проводится по результатам абнормальной цитологии или если во время взятия ПАП-теста видны измененные участки тканей невооруженным глазом.

Кольпоскопия считается удовлетворительной в случае полной визуализации зоны трансформации. Классификация кольпоскопических терминов, принятая в Барселоне в 2002 была пересмотрена Номенклатурным Комитетом Международной Федерации по кольпоскопии и патологии шейки матки и была одобрена в ходе 14-го Всемирного Конгресса IFCPC (Международной Федерации Патологии Шейки Матки и Кольпоскопии) в Рио-де-Жанейро в 2011 году [6]. Данную классификацию от предыдущей отличают следующие изменения:

- введена классификация экцизионного материала в зависимости от размера проведенной экцизии и типа ЗТ;
- введена классификация состояния вульвы и влагалища;
- введен «общий раздел», регламентирующий описание адекватности визуализации шейки матки и стыка между ЦЭ и МПЭ и типа ЗТ;

- в разделе «Нормальные кольпоскопические картины» уточнены варианты (оригинального) МПЭ (зрелый и атрофический) и отдельно выделены элементы ЗТ: метапластический эпителий, открытые железы и наботовы кисты. К норме добавлен децидуоз при беременности;

- введены термины – признак внутренней границы (Inner border sign) и признак гребня или бугристости (Ridge sign), которые достоверно характеризуют тяжелые ВПЧ-поражения, которые гистологически соответствуют CIN II-III;

- раздел неспецифических изменений, включающий кольпоскопические картины, которые не являются специфическими и могут соответствовать как LSIL, так и HSIL, т.е. йод-негативный эпителий и ацетобелая бляшка (лейкоплакия), которые могут быть обнаружены как при CIN I, так и при cancer *in situ*;

- введен термин «Врожденной Зоны трансформации», который характеризует выявленные при первом осмотре у женщин, только что начавших половую жизнь, элементы зоны трансформации с аномальными изменениями.

Таблица 2 – Классификация кольпоскопических терминов IFCPC, Рио-де-Жанейро, 2011 г.

Типы экцизии	Экцизия I, II, III типа (в зависимости от объема удаленной ткани и типа ЗТ)
Характеристика экцизионного конуса	Длина – расстояние от наружного (дистального) до внутреннего (проксимального) края конуса Толщина – кратчайшее расстояние между противоположными краями стромы, проходящее через центр конуса Окружность – длина окружности конуса

Количественная оценка вирусной нагрузки

Широко обсуждается использование количественной нагрузки как прогностического критерия развития РШМ. Несколько исследований показало, что действительно количественная оценка ВПЧ-нагрузки обеспечивает информацию о риске для по-

следующего развития инвазивного рака, но степень сильно коррелирует с типом ВПЧ [10]. Тест дает возможность прогнозировать и проводить мониторинг течения вирусной инфекции (Keith Wing-Kit Lo et al, 2005; van Duin et al, 2002; Dalstein et al, 2003; Moberg et al, 2004, 2005):

Общий раздел	Адекватная/неадекватная картина (с указанием причины; например, объективная оценка цервикса затруднена из-за воспаления, кровотечения, рубцовых изменений и т.д.) Граница между многослойным плоским и цилиндрическим эпителием: визуализируется полностью; частично; не визуализируется Зона трансформации: тип I, II, III		
Нормальные кольпоскопические картины	Многослойный плоский эпителий: • Зрелый • Атрофический Цилиндрический эпителий: • Эктопия Метапластический эпителий: • Наботовы кисты • Открытые железы (крипты) Децидуоз (при беременности)		
Абнормальные кольпоскопические картины	Общие принципы	Локализация поражения: в пределах или вне зоны трансформации; соответствие с циферблатом Размеры области поражения: в процентном соотношении с цервиксом и с указанием пораженных квадрантов	
	Степень I (слабо выраженное поражение) Чаще всего соответствует LSIL или ASC-US	Тонкий ацетобелый эпителий с неровными нечеткими краями	• Нежная мозаика • Нежная пунктация
	Степень II (выраженное поражение) Чаще всего соответствует HSIL или карциноме	Плотный ацетобелый эпителий с четкими контурами Быстрое побеление Ацетобелый плотный ободок вокруг открытых желез	• Грубая мозаика • Грубая пунктация • Признак внутренней границы (Inner border sign) • Признак гребня или бугристости (Ridge sign)
	Неспецифические признаки	• Лейкоплакия (кератоз, гиперкератоз) • Эрозия • Окрашивание раствором Люголя (проба Шиллера): йод-положительное/йод-негативное	
Подозрение на инвазию	Атипические сосуды Дополнительные признаки: «ломкие» сосуды; неровная поверхность; экзофитные поражения; области некроза, изъязвления		
Другие кольпоскопические картины	<ul style="list-style-type: none"> • Врожденная зона трансформации • Последствия ранее проведенного лечения • Врожденные аномалии • Полипы • Кондиломы • Стеноз • Воспаление • Эндометриоз 		

– выявлять клинически малозначимую концентрацию вируса (менее 103 копий ДНК ВПЧ на 105 клеток), что характеризуется минимальным риском развития ЦИН и почти в 100% случаев транзитным течением вирусного процесса;

– выявлять клинически значимую концентрацию вируса (более 103 копий ДНК ВПЧ на 105 клеток), что расценивается как наличие хронической инфекции с высоким риском развития дисплазии и РШМ;

– более 105 копий ДНК ВПЧ на 105 клеток при установленном факте персистентного течения инфекции (ВПЧ выявляется более 1 года) расценивается как повышенная нагрузка ВПЧ и ассоциировано с повышенным риском ЦИН 3 и чаще встречается при РШМ;

– снижение вирусной нагрузки в 10 раз за 6 месяцев – инфекционный процесс расценивается как транзитная инфекция;

– рост вирусной нагрузки через 6 и более месяцев после проведенного лечения свидетельствует о возможности рецидива.

Однако необходимо помнить, что рутинно вводить в скрининг вирусную нагрузку нельзя, так как у женщин с отрицательным ПАП-тестом повышение вирусной нагрузки является признаком транзитной инфекции.

Иммуноцитохимическое выявление капсидного белка L1 ВПЧ

Исследования Н. Griesser; Heinz Sander и Ralf Hilfrich показали, что выявление капсидного белка L1 можно использовать как прогностический фактор регресса цервикальных неоплазий. Поскольку капсидный белок L1 является одной из основных мишеней опосредуемой Т-клетками иммунной защиты, иммунная система может влиять на диспластически

измененные клетки и способствовать ремиссии интраэпителиальных поражений. Инфицированные эпителиальные клетки избегают распознавания иммунной системой, если белок L1 отсутствует или если его количество оказывается резко сниженным. Это также связано с индукцией синтеза антител, защищающих от эндогенной и экзогенной реинфекции. Диспластически измененные клетки могут клонально размножаться, оставаясь незамеченными иммунной системой, и подвергаться злокачественному перерождению. Поэтому при отсутствии капсидного белка L1 (в отрицательном капсидном тесте) до 76% случаев ЦИН будут прогрессировать у данной пациентки. Эти наблюдения были подтверждены ретроспективным гистологическим исследованием материала биопсий при интраэпителиальной неоплазии шейки матки CIN 1 (J. Hariri, Sonderburg, Denmark, and R. Hilfrich, 2005).

Можно считать рациональным подход «подожди и посмотри» в L1-положительных случаях ЦИН 1, 2 в мазках с мониторингом в среднем через 5 месяцев. Однако в случаях из группы ЦИН 1, 2, отрицательных по капсидному белку L1, при одновременном выявлении ВПЧ-ВП-инфекции рекомендуется гистологическое исследование, поскольку при кратковременном наблюдении прогрессирование поражений в CIN3 отмечается более, чем в 50% случаев.

Использование иммуногистохимических методов позволяет провести:

- объективную оценку степени дисплазии эпителия шейки матки (Ki-67, p16INK4a);
- разграничение ранней инвазивной формы рака шейки матки от канцеризации подслизистых желез при карциноме *in situ* (коллаген IV типа).

Маркер p16INK4a – белок супрессии опухолевого роста. Избыточная экспрессия p16INK4a происходит под действием высокоонкогенных типов вируса папилломы человека. Избыточная экспрессия p16INK4a приводит к ускоренному росту клеток эпителия, а инактивация белка p53 приводит к накоплению нарушений в ДНК.

Было выявлено, что 100% больных с CIN 3, 71-87% с CIN 2, 30-60% с CIN 1 имеют экспрессию p16INK4a. Частота прогрессирования CIN 1 в CIN 3 составляет 62,2% у пациенток p16INK4a+ против 28,6% у больных p16INK4a- [2]. Пациентки, имеющие CIN 2 с гиперэкспрессией белка p16INK4a и HR-HPV, относятся к группе высокого риска развития РШМ.

Использование маркера пролиферации Ki 67 и p16 могут играть решающую роль в выборе тактики лечения молодых и нерожавших пациенток с ЦИН 2, 3. При отрицательном результате данного иммуногистохимического исследования может быть выбрана тактика динамического наблюдения. Возможно иммуногистохимическое определение маркера опухолевой супрессии p16, одновременно с забором материала для жидкостной цитологии, что очень важно для женщин из группы высокого риска по развитию РШМ. А также необходимо помнить, что до 15-20% женщин с

LSIL в ПАП-тесте имеют HSIL, и положительный результат маркеров пролиферации p16 и Ki 67 подтвердит наличие именно HSIL у данной пациентки.

Кроме вышеперечисленных методов исследования возможно проведение гибридизации *in situ* для определения локализации ВПЧ (эписомально или интрасомально), либо в гистологическом образце или в материале для жидкостной цитологии.

Учитывая все вышеперечисленное, перед врачом акушером-гинекологом и семейным врачом во всем мире стоит задача организации профилактики инвазивного РШМ. Профилактика бывает первичная (направлена на исключение факторов, вызывающих РШМ) и вторичная (организация скрининга на РШМ). Во всем мире вакцинация против ВПЧ считается прорывом 21 века в профилактике РШМ.

Понятие скрининга включает в себя выявление заболеваний у бессимптомного населения. Скрининг на патологию шейки матки не является тестом на рак. Он выявляет возможные нарушения или изменения в клетках, которые могут развиться в рак, если их не лечить. Почти все изменения, обнаруженные при скрининге, успешно лечатся. За последние 20 лет в Великобритании смертность от РШМ уменьшилась на 40% в основном за счет внедрения скрининга на РШМ. Американское Общество Рака считает, что скрининг достоверно снижает случаи и смертность от РШМ.

Как показывает опыт работ Воробьевой Л.И., Володько Н.А., залогом эффективного скрининга является участие всего населения в скрининговом процессе [1]. Женщины, которые никогда не проходили скрининг или не участвуют в скрининге РШМ систематически, формируют основную группу по развитию инвазивного РШМ.

Факторы, влияющие на успех скрининговой программы:

1. Хорошо организованная информационная компания среди широкого круга населения.
2. Создание базы данных женщин, проходящих скрининг, и тех женщин, которые не участвовали в скрининге.
3. Обязательно фиксировать дату прохождения ПАП-теста и его результата, даже если результат отрицательный. Знание результата предыдущей цитологии является очень важным. Предыдущий отрицательный результат ПАП-теста может сыграть решающую роль в выборе тактики лечения пациентки.
4. Обратная связь. Пациентка должна всегда получать результат ПАП-теста с его разъяснением и рекомендациями по дальнейшему поведению.

В данной статье мы публикуем общие рекомендации касательно скрининга на РШМ, учитывая наш клинический протокол и рекомендации мировых научных обществ, специализирующихся на цервикальной патологии, а уже учитывая вышеизложенные факторы риска у каждой конкретной пациентки сроки скрининга могут сокращаться.

Скрининг в возрасте 21-29 лет: ПАП-тест каждые 3 года. ВПЧ-тест не должен использоваться в

данной возрастной группе в качестве скрининга, в виду нижеперечисленных причин:

- высокая степень распространенности онкогенных штаммов в данной возрастной группе;
- низкая степень персистенции ВПЧ;
- в большинстве случаев происходит самостоятельная элиминация вируса из организма;
- выявление высокоонкогенного штамма ВПЧ приводит к необоснованной тревожности и беспокойству пациентки.

Интервал в 3 года объясняется следующими данными. Риск РШМ через 18 месяцев после 3 отрицательных ПАП-тестов составляет 1,5/100 000. В свою очередь, риск РШМ через 36 месяцев после 3 отрицательных ПАП тестов составляет 4,7/100 000 [14].

Скрининг в возрасте 30-64 лет: Пап-тест + ВПЧ-тест (co-testing) 1 раз в пять лет, или, возможно, проведение ПАП-теста один раз в 3 года. Преимущества двойного теста (co-testing) в возрасте 30-64 лет заключается в повышении выявляемости аденокарциномы и распространенных CIN 3, а также минимизирует количество проводимых кольпоскопий и их последствий. Проведение ежегодного двойного теста не имеет смысла, так как учащение данной процедуры приведет к выявлению транзитной инфекции, а не к истинной предраковой патологии, а целью данного теста является своевременное выявление CIN 3.

Пациентки с отрицательным ПАП-тестом, ВПЧ-положительные

В данной группе необходимо повторить двойной тест через 12 месяцев.

Если повторный двойной тест – отрицательный, пациентка возвращается на рутинный скрининг, если положительный – женщина направляется на кольпоскопию.

Когортные исследования показали, что в большинстве случаев транзитная инфекция элиминируется самостоятельно в течение 12 месяцев, что позволяет вернуться пациентке к рутинному скринингу.

Когда возможно прекратить проведение скрининга рака шейки матки?

Прекращение скрининга РШМ после 65 лет:

- если в анамнезе в течение последних 20 лет нет истории умеренной или тяжелой дисплазии шейки матки и если три последних проведенных подряд ПАП-тестов (в течение последних 10 лет) имеют отрицательный результат при условии, что последний тест проведен в течение последних 5 лет;
- или если два последних проведенных подряд co-testing (ПАП-тест + ВПЧ-тест) (в течение последних 10 лет) имеют отрицательный результат при условии, что последний co-testing проведен в течение последних 5 лет;
- у женщин после гистерэктомии, при условии отсутствия в анамнезе CIN 2+.

Прекратить скрининг после 65 лет при условии соблюдения вышеперечисленных условий возможно, так как инфицированность ВПЧ вряд ли успеет привести к развитию РШМ в течение оставшейся жизни

и непосредственно риск инфицирования ВПЧ после 65 лет составляет 5-10% [13].

Тактика ведения пациенток с абнормальной цитологией

В данных схемах мы отобрали тактику доктора при получении абнормальной цитологии. Хотим остановиться на некоторой терминологии, используемой в данных схемах. Под термином «оценка цервикального канала» подразумевается осмотр эндоцервикса, взятие материала для гистологического исследования (цервикальный кюретаж). Очень важно помнить, что тактика ведения пациентки зависит от возраста, акушерского и гинекологического анамнеза, наличия удовлетворительной кольпоскопии (визуализируется зона перехода (зона стыка МПЭ и ЦЭ)). Мы можем не визуализировать измененной кольпоскопической картины, но зона стыка не видна, и мы не можем считать данную кольпоскопию удовлетворительной.

Пациенткам с неудовлетворительным результатом цитологии необходимо провести курс терапии (противовоспалительной или местными эстрогенами, в зависимости от причины неудовлетворительной цитологии) и через 2-4 месяца повторить ПАП-тест.

ASC-US является самым распространенным результатом среди абнормальной цитологии, но обладает самым низким риском по развитию CIN 3 [8]. Данной категории женщин рекомендуется дообследование и проведение санации выявленных инфекций, и контроль цитологии каждые 6-12 месяцев в зависимости от возраста и результатов ВПЧ-теста.

Пациенткам с LSIL и ВПЧ-положительным результатом необходимо проведение кольпоскопии и взятие прицельной биопсии. В случае, когда у женщины с LSIL отрицательный ВПЧ-тест, возможен контроль ПАП-теста в динамике.

Женщины с ASC-H входят в группу высокого риска по развитию CIN 3+, но в меньшей степени, чем с HSIL. Проведение ВПЧ-теста в данной категории женщин не является целесообразным в виду высокой распространенности ВПЧ у женщин с ASC-H [5]. Однако риск развития рака в течение 5 лет у женщин с ASC-H, ВПЧ-отрицательных, составляет 5% [9]. Независимо от ВПЧ статуса, всем пациенткам этой группы необходимо проведение кольпоскопии с прицельной биопсией. Дальнейшая тактика ведения зависит от гистологического заключения полученного биоптата.

У пациенток с HSIL в 60% обнаруживается абнормальная кольпоскопическая картина II степени. Женщины старше 30 лет ВПЧ-положительные с HSIL составляют группу повышенного риска по развитию рака, поэтому в этой группе оправдано проведение немедленной экцизионной биопсии ЗТ, особенно у женщин, которые не посещают регулярно гинеколога [16]. Конусовидная биопсия шейки матки у женщин данной группы проводится в случае неудовлетворительной кольпоскопии.

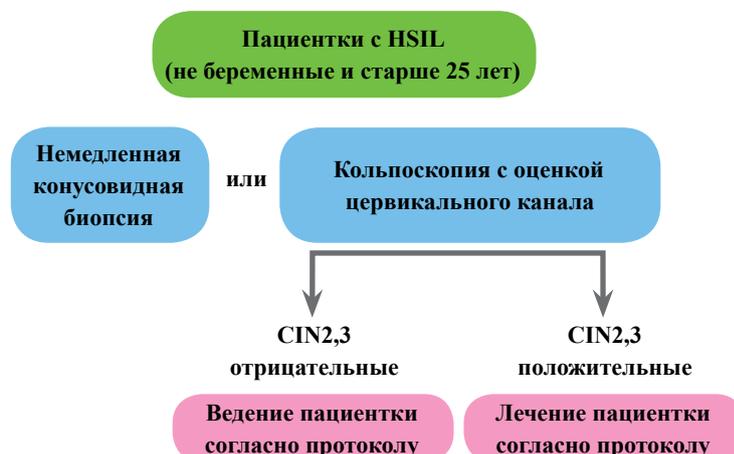
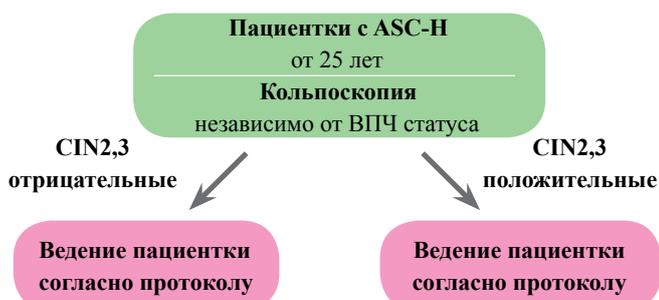
Атипичические железистые клетки (AGC) – редкие цитологические находки, которые могут быть связаны с полипами, метаплазией, а также с опухолевыми процес-

сами (аденокарциномой). Риск наличия неопластического процесса или AIS выше у женщин с цитологическим результатом AGC- N. Всем пациенткам данной категории показано проведение кольпоскопии с оценкой состояния цервикального канала (кюретаж цервикальный или РДВ).

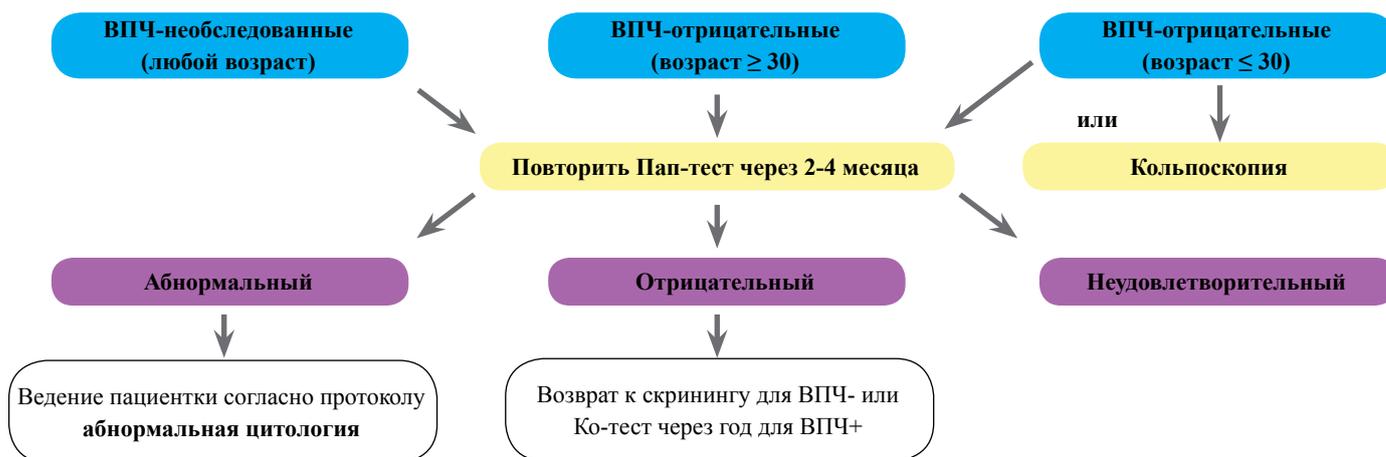
При получении гистологического результата CIN 2,3, пациентка должна быть проконсультирована онкогинекологом, а дальнейшая тактика лечения и на-

блюдения должна быть согласована с онкогинекологом. Тактика данной группы пациенток зависит от возраста, кольпоскопической картины, типа ЗТ.

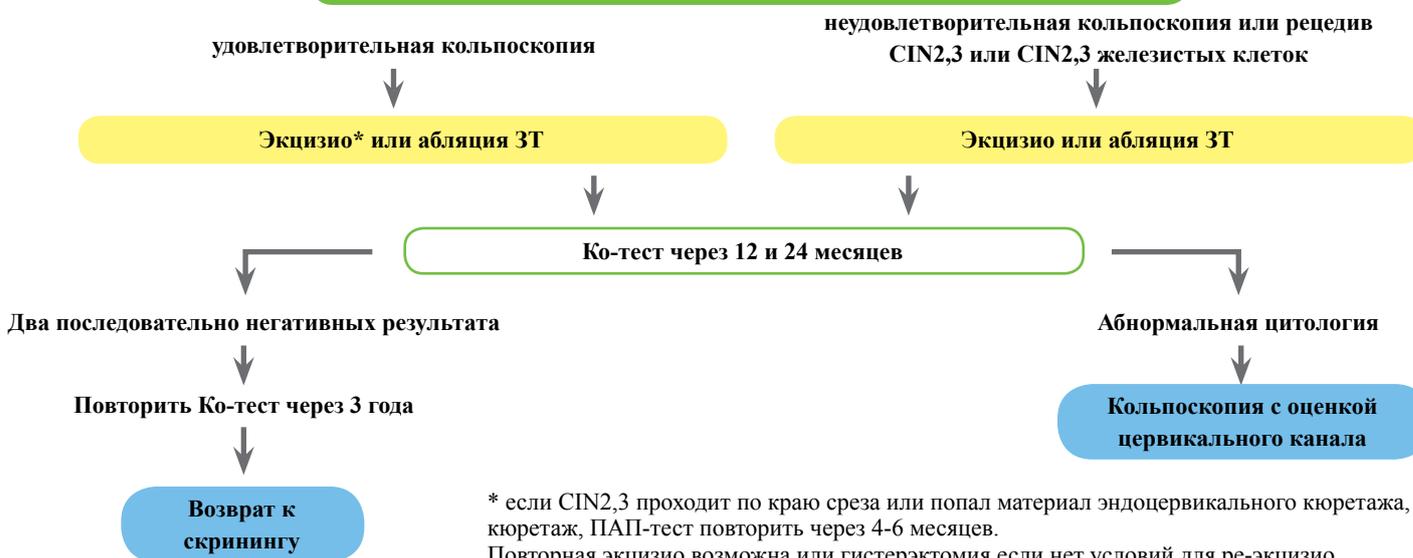
Подводя итог всей вышеперечисленной информации хотелось бы отметить, что своевременная диагностика предопухоловой патологии шейки матки позволит снизить количество объемных оперативных методик при РШМ и сохранить репродуктивное здоровье женщин.



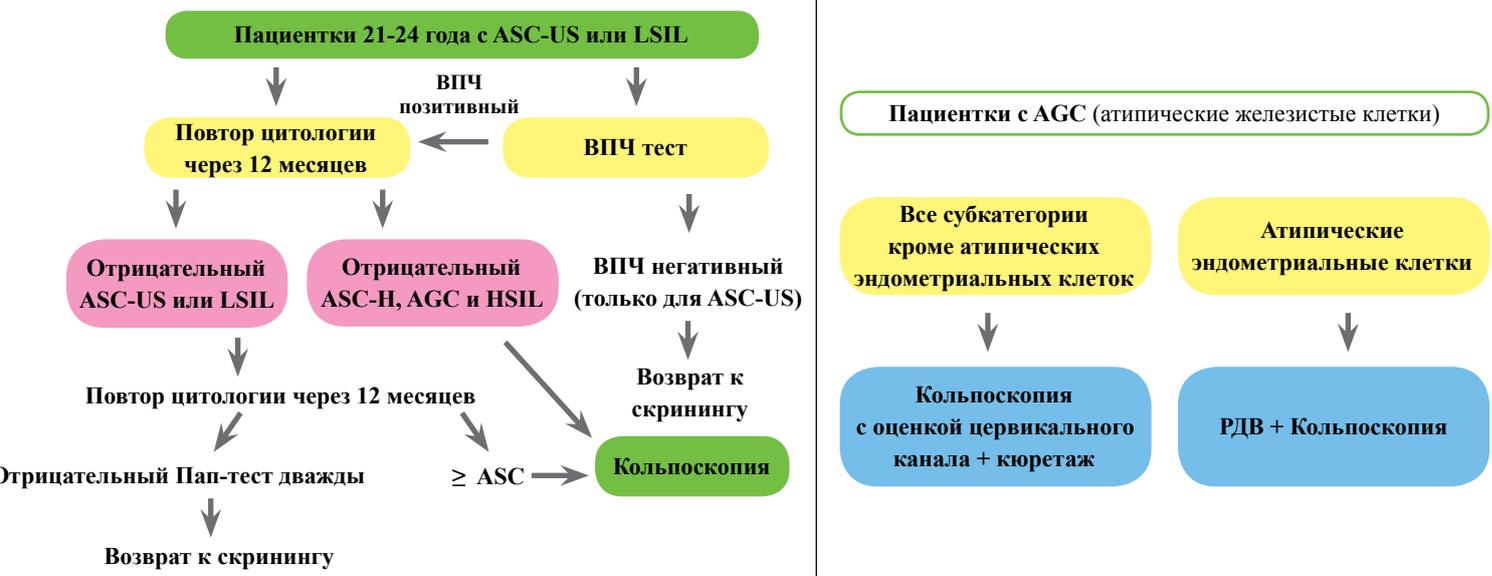
Неудовлетворительные результаты Пап-теста



Пациентки с CIN2,3 (по гистологии) (не беременные и старше 25 лет)



* если CIN2,3 проходит по краю среза или попал материал эндоцервикального кюретажа, кюретаж, ПАП-тест повторить через 4-6 месяцев. Повторная экцизио возможна или гистерэктомия если нет условий для ре-экцизио



Пациентки с CIN2,3 (по гистологии) (молодые и с особыми условиями)

Тактика наблюдения возможна при удовлетворительное кольпоскопии.

Если CIN3 и неудовлетворительная кольпоскопия, необходимо выбрать тактику лечения, а не наблюдения.

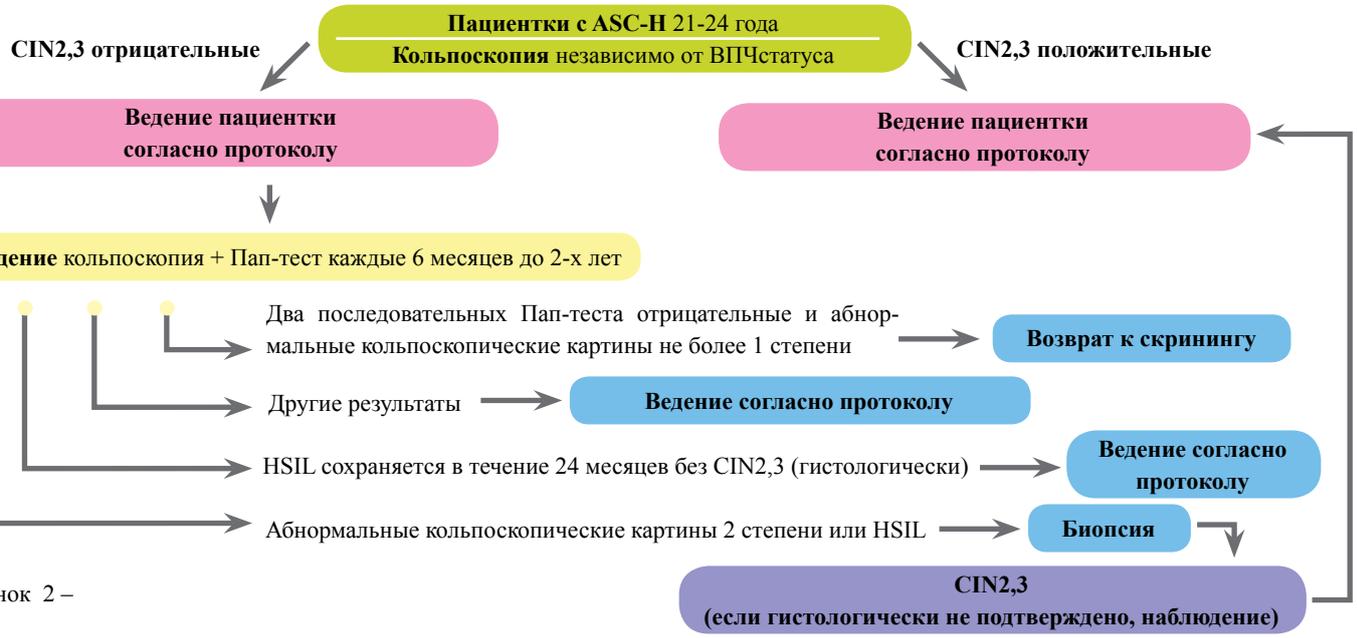
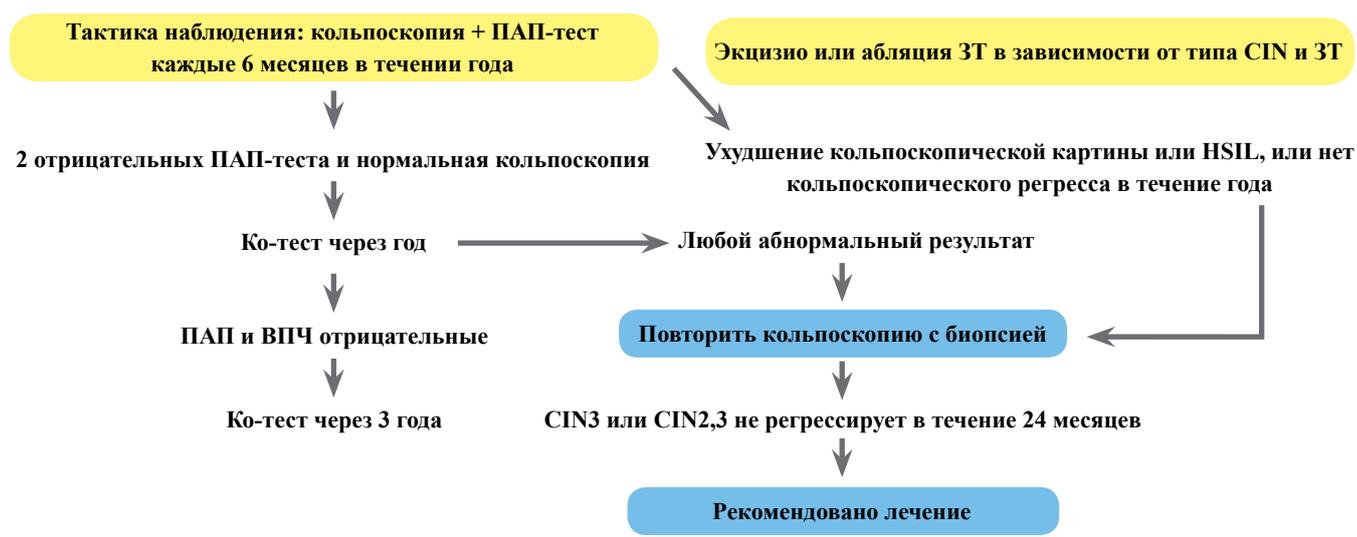


Рисунок 2 –

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Воробьева Л.И. Рак шейки матки: пути усовершенствования диагностики и лечения//Здоровье Украины. – 2009, – №1/1, с. 15
2. Захарцева Л.М., Пекур Е.А. Частота экспрессии белка p16INK4a и наличие ВПЧ при дисплазии шейки матки// Онкология, 2013, – т. 51, №1, с. 9-13
3. HPV Vaccination Across Europe, April, 2009, www.ecca.info
4. American Cancer Society Guideline for HPV Vaccine Use to Prevent Cervical Cancer and Its Precursors. *CA Cancer J Clin* 2007; 57:7-28
5. ASC-US-LSIL Triage Study (ALTS) Group. A randomized trial on the management of low-grade squamous intra- epithelial lesion cytology interpretations. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188:1393Y400
6. Bornstein J., Bentley J., Bosze P., Girardi F., Haefner H., Menton M., Perrotta M., Prendiville W., Russell P., Sideri M., Strander B., Torne A., Walker P. 2011, IFCPC colposcopic nomenclature
7. Diane Cooper, Margaret Hoffman, Henri Carrara. Determinants of sexual activity and its relation to cervical cancer risk among South African Women
8. Katki H.A., Schiffman M., Castle P.E., Fetterman B., Poitras N.E., Lorey T., et al. Five-Year Risk of CIN 3+ and Cervical Cancer Among Women With HPV Testing of ASC-US Pap Results. *J Low Genit Tract Dis* 2013; 17:S36YS42
9. Katki H.A., Gage J.C., Schiffman M., Castle P.E., Fetterman B., Poitras N.E., et al. Follow-up Testing After Colposcopy: Five-Year Risk of CIN 2+ After a Colposcopic Diagnosis of CIN 1 or Less. *J Low Genit Tract Dis* 2013; 5:S69YS77
10. Moberg M., Gustavsson I. High viral loads of human papillomavirus predict risk of invasive cervical carcinoma. *British Journal of Cancer* 2005, March 14; 92(5) 891-894
11. Moody C.A., Laimins L.A. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer*. 2010 Aug; 10(8):550-60. Epub 2010, Jul 1
12. Moscicki A.B., Shiboski S., Hills N.K., et al. Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women. *Lancet* 2004; 364:1678-1683
13. Rodrigues A.C. et al. *JNCI* 2009; 101:721
14. Chen H.C. et al. *JNCI* 2011; 103:1387-96
15. Sawaya G.F. et al. *Acta Cytol* 2005; 49:391-7
16. Saslow D., Solomon D., Lawson H.W., Killackey M., Kulasingam S.L., Cain J., Garcia F.A., Moriarty A.T., Waxman A.G., Wilbur D.C., Wentzensen N., Downs L.S. Jr, Spitzer M., Moscicki A.B., Franco E.L., Stoler M.H., Schiffman M., Castle P.E., Myers E.R., ACS-ASCCP-ASCP Cervical Cancer Guidelines Committee. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *CA Cancer J Clin*. 2012 May; 62(3):147-72
17. Wael I Al-Daraji, John H.F. Smith. Infection and Cervical Neoplasia: Facts and Fiction. *Int. Journal of clinical and experimental pathology*. 2009, – №2(1), – с. 48-64
18. Zereu M., Zettler C.G., Cambuzzi E., Zelmanowicz A. Herpes simplex virus type 2 and Chlamydia trachomatis in adenocarcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol*. 2007 Apr; 105(1):172-5.

REFERENCES

1. Vorobeveva L.I. Rak sheyki matki: puti usovershenstvovaniya diagnostiki i lecheniya//Zdorove Ukrainyi. – 2009, – №1/1, s. 15
2. Zahartseva L.M., Pekur E.A. Chastota ekspressii belka p16INK4a i nalichie VPCh pri displazii sheyki matki// Onkologiya, 2013, – t. 51, №1, s. 9-13
3. HPV Vaccination Across Europe, April, 2009, www.ecca.info
4. American Cancer Society Guideline for HPV Vaccine Use to Prevent Cervical Cancer and Its Precursors. *CA Cancer J Clin* 2007; 57:7-28
5. ASC-US-LSIL Triage Study (ALTS) Group. A randomized trial on the management of low-grade squamous intraepithelial lesion cytology interpretations. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188:1393Y400
6. Bornstein J., Bentley J., Bosze P., Girardi F., Haefner H., Menton M., Perrotta M., Prendiville W., Russell P., Sideri M., Strander B., Torne A., Walker P. 2011, IFCPC colposcopic nomenclature
7. Diane Cooper, Margaret Hoffman, Henri Carrara. Determinants of sexual activity and its relation to cervical cancer risk among South African Women
8. Katki H.A., Schiffman M., Castle P.E., Fetterman B., Poitras N.E., Lorey T., et al. Five-Year Risk of CIN 3+ and Cervical Cancer Among Women With HPV Testing of ASC-US Pap Results. *J Low Genit Tract Dis* 2013; 17:S36YS42
9. Katki H.A., Gage J.C., Schiffman M., Castle P.E., Fetterman B., Poitras N.E., et al. Follow-up Testing After Colposcopy: Five-Year Risk of CIN 2+ After a Colposcopic Diagnosis of CIN 1 or Less. *J Low Genit Tract Dis* 2013; 5:S69YS77
10. Moberg M., Gustavsson I. High viral loads of human papillomavirus predict risk of invasive cervical carcinoma. *British Journal of Cancer* 2005, March 14; 92(5) 891-894

11. Moody C.A., Laimins L.A. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer*. 2010 Aug; 10(8):550-60. Epub 2010, Jul 1
12. Moscicki A.B., Shiboski S., Hills N.K., et al. Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women. *Lancet* 2004; 364:1678-1683
13. Rodrigues A.C. et al. *JNCI* 2009; 101:721
14. Chen H.C. et al. *JNCI* 2011; 103:1387-96
15. Sawaya G.F. et al. *Acta Cytol* 2005; 49:391-7
16. Saslow D., Solomon D., Lawson H.W., Killackey M., Kulasingam S.L., Cain J., Garcia F.A., Moriarty A.T., Waxman A.G., Wilbur D.C., Wentzensen N., Downs L.S. Jr, Spitzer M., Moscicki A.B., Franco E.L., Stoler M.H., Schiffman M., Castle P.E., Myers E.R., ACS-ASCCP-ASCP Cervical Cancer Guidelines Committee. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *CA Cancer J Clin*. 2012 May; 62(3):147-72
17. Wael I Al-Daraji, John H.F. Smith. Infection and Cervical Neoplasia: Facts and Fiction. *Int. Journal of clinical and experimental pathology*. 2009, – №2(1), – с. 48-64
18. Zereu M., Zettler C.G., Cambuzzi E., Zelmanowicz A. Herpes simplex virus type 2 and Chlamydia trachomatis in adenocarcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol*. 2007 Apr; 105(1):172-5.

ТҮЙІНДЕМЕ

ЖАТЫР МОЙНЫ ІСІК АЛДЫ ПАТОЛОГИЯСЫ ДИАГНОСТИКАСЫ МЕН ТӘЖІРИБЕСІНІҢ ЗАМАНАУИ АСПЕКТІЛЕРІ

Т. Ф. Татарчук¹, Н. А. Володько², Н. К. Силина³, Т. Н. Силина⁴, И. В. Гнатушок⁵, Т. О. Мамонова⁶

*1 Украина ҰМФА педиатрия, акушерлік және гинекология институты,
Украина, Киев*

*2 Ұлттық Львовский медициналық университеті,
Украина, Львов*

*3 Украина ҰМФА педиатрия, акушерлік және гинекология институты,
Украина, Киев*

*4 П. Л. Шупик атындағы дипломнан кейінгі білім беретін ұлттық медициналық академиясы,
Украина, Киев*

*5 «Добробут» медициналық орталығы,
Украина, Киев*

*6 Киев қалалық емханалық эндокринология орталығы,
Украина, Киев*

Дүние жүзінде жатыр мойны ісігі әйел адамдар арасында кең таралған ісік түрлерінің бірі болып табылады және онкологиялы өлім себептері тұрғысынан екінші орында. Аталмыш мақалада АПВ-ассоцирленген каценогенездің заманауи аспектілері, екіншілік скрининг тәжірибесі және жатыр мойны ісігі бар емделушіде жүргізудің негізгі әдістері қарастырылған.

Түйін сөздер: жатыр мойны ісігі, скрининг, жатыр мойны патологиясы, адам папиломасы вирусы

SUMMARY

MODERN ASPECTS OF DIAGNOSIS AND TACTICS OF PRECANCEROUS CERVICAL PATHOLOGY

T. Tatarchuk¹, N. Volodko², N. Silina³, T. Silina⁴, I. Gnatyshok⁵, T. Mamonova⁶

*¹ SI Institute of pediatrics, obstetrics and gynecology of NAMS of Ukraine,
Ukraine, Kiev*

*² Danylo Halytsky Lviv National Medical University,
Ukraine, Kiev*

*³ SI Institute of pediatrics, obstetrics and gynecology of NAMS of Ukraine,
Ukraine, Kiev*

*⁴ National Medical Academy of Postgraduate Education named after P. L. Shupyk,
Ukraine, Kiev*

*⁵ Medical centre «Dobrobut»,
Ukraine, Kiev*

*⁶ Clinical Endocrinology Center of Kiev,
Ukraine, Kiev*

Worldwide, cervical cancer is one of the most common cancers among women and the second most common cause of cancer-related deaths. This article presents the modern aspects of HPV-associated cancerogenesis, tactics of secondary screening and basic methods of administration of patients with pre-cancer cervical pathology.

Key words: cervical cancer screening, cervical pathology, human papilloma virus

УДК 618.2

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА «ДИСТРЕПТАЗА» В ДЕТСКОЙ И ПОДРОСТКОВОЙ ГИНЕКОЛОГИИ

О. Л. Кудина

Белорусская медицинская академия последипломного образования,
Беларусь, Минск

АННОТАЦИЯ

Целью работы было изучение возможности использования свечей «Дистрептаза» в детской и подростковой гинекологии, в послеоперационном периоде (хирургические вмешательства на органах малого таза и брюшной полости), в случаях спаечного процесса. Оптимизация терапевтического комплекса для лечения пациентов с длительно существующими функциональными кистами яичников и в случае опухолевого процесса.

Ключевые слова: функциональные кисты яичников, злокачественные опухоли сальника, послеоперационный период.

Актуальность

В последние годы врачи всех специальностей уделяют огромное внимание репродуктивному здоровью женщины, качеству ее жизни в различные возрастные периоды. К сожалению, ряд заболеваний репродуктивной сферы, особенно воспалительных, которые могут возникать в любом возрасте у женщин, не всегда вовремя диагностируются. Достаточно часто женщины занимаются самолечением, а даже если и обращаются за специализированной помощью, то могут не полностью провести курс лечения и не пройти реабилитацию после перенесенного заболевания.

Среди заболеваний, которые нарушают качество жизни женщины и могут приводить к самому трагическому исходу для репродуктивного здоровья – бесплодию, на первом месте стоят воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ). В России и Украине этот показатель достигает 60-70% в структуре гинекологической патологии.

Частота возникновения бесплодия у женщин, перенесших один эпизод воспалительных заболеваний органов малого таза, составляет около 18%, а после двух-трех эпизодов может достигать 50% (Breeding D., 1997 г.; Reyes I., 2006 г.). Основная причина бесплодия в таких случаях – спаечные и фиброзные изменения в яичниках, образующиеся даже после однократного эпизода воспалительного процесса. В связи с этим, в последнее время все большее внимание уделяется поиску оптимальных путей решения проблем, связанных с последствиями воспаления.

Значительное влияние на хронизацию воспалительных заболеваний у молодых женщин оказывают анатомо-физиологические особенности половых органов – неустойчивость микробиоценоза влагалища, факторов местной иммунной защиты (лизоцима, иммуноглобулинов и др.), наличие уретро-вагинального рефлюкса (эта особенность мочеполовой системы встречается в норме у девочек до 7-8 лет, что также важно учитывать, когда присутствует хроническая инфекция мочевыводящих путей).

После хирургических вмешательств на брюшной полости, органах мочевыводительной системы крайне малое количество девочек-подростков и молодых жен-

щин проходят курс реабилитационной терапии еще и у гинеколога. На сегодняшний день считается, что перенесенные в детстве перитониты различной этиологии, хирургические вмешательства на органах малого таза и брюшной полости, длительное и пассивное наблюдение функциональных кист яичников, хронические воспалительные заболевания мочевыводительной системы – это фактор развития в последующем склерополикистоза яичников, альгодисменореи, ювенильных маточных кровотечений, хронического эндометрита и трубного бесплодия.

Стертое течение заболевания, носительство патогенной флоры в половых путях без клинических проявлений, «неприцельная» антибактериальная терапия или, напротив, полипрагмазия, отсутствие должного контроля излеченности – все это может приводить к хронизации процесса и способствовать развитию деструктивных процессов в мио-етрии, эндометрии, придатках матки и приводить к развитию спаечного процесса в малом тазу.

Хроническая тазовая боль является своеобразным маркером наличия спаек. Считается, что данное состояние появляется вследствие смещения органов, нарушения их подвижности и воздействием на нервные рецепторы, сопровождающееся повышенной выработкой простагландинов и лейкотриенов, а также целого ряда других иммунологических и «стрессорных» факторов на тканевом и клеточном уровнях.

Для врача любой специальности профилактика и лечение спаечного процесса – задача очень сложная даже с учетом современного развития хирургии, так как это связано с отсутствием оптимальных методик по их предотвращению. Поэтому сегодня особенно актуальным является поиск возможных патогенетических механизмов воздействия на процесс спайкообразования, выработка критериев прогнозирования развития спаечной болезни, создание и использование новых препаратов и систем для ее профилактики.

Длительное изучение патогенеза спаечной болезни позволило сегодня предложить в клиническую практику использование фибринолитических лекарственных препаратов, которые можно использовать как с лечебной, так и с профилактической целью. Многочислен-

ные исследования, проведенные рядом авторов, с убедительностью говорят об эффективности включения подобных препаратов в комплексную терапию хронических воспалительных заболеваний органов малого таза для профилактики спаечного процесса (Сенчук А.Я., Потапов В.А., Бенюк В.А., Грищенко О.В., 2007-2009 гг.).

Цель исследования

Изучить возможность применения препарата «Дистрептаза» в детской и подростковой гинекологии, в послеоперационном периоде (хирургические вмешательства на органах малого таза и брюшной полости), при спаечном процессе, для разработки оптимального терапевтического комплекса для лечения пациенток с длительно существующими функциональными кистами яичников, а также на фоне неопластического процесса.

Фармакологические эффекты препарата

«Дистрептаза» вызывает быстрый лизис гнойных масс и лизис сгустков крови; улучшает микроциркуляцию; увеличивает концентрацию лекарственных средств в очаге воспаления; быстро ликвидирует инфильтрацию и отек тканей; предупреждает развитие спаечного процесса.

Препарат «Дистрептаза» содержит внеклеточные белки с ферментативной активностью. В состав препарата входят 15 000 МЕ стрептокиназы и 1250 МЕ стрептодорназы. Стрептокиназа вызывает лизис волокон фибрина в кровяных сгустках, деградацию фибриногена и других протеинов плазмы крови, в том числе 5 и 7 факторов свертывания крови. Стрептодорназа – фермент дезоксирибонуклеазы – вызывает деполимеризацию и разрушение ДНК, растворяет межмолекулярные связи нуклеопротеинов мертвых клеток, способствует разжижению гноя, активизирует фагоцитоз. Ценным качеством стрептодорназы является тот факт, что фермент разрушает клейкие массы мертвых клеток и гноя, не повреждая при этом живые, здоровые клетки.

Материалы и методы исследования

Нами наблюдались 17 пациенток в возрасте от 16 до 18 лет: 10 девочек с функциональными кистами яичников, 6 девочек в послеоперационном периоде по поводу образований различной гистоморфологической трактовки яичников и 1 по поводу злокачественной опухоли сальника.

Всем пациенткам проводилось общеклиническое и гинекологическое исследование, УЗ-исследование органов малого таза и брюшной полости (по показаниям) с применением доплерометрии, бактериоскопическое или ПЦР-исследование отделяемого влагалища.

Наиболее частыми жалобами были дисменорея (47,1%), полименорея (35,3%), периодические боли внизу живота (70,6%), диспареуния (11,8%), патологические бели (35,3%). Средняя продолжительность заболевания составила от 3 месяцев до полугода. При анализе гинекологической патологии подросткам был выставлен диагноз «Хронический послеоперацион-

ный воспалительный процесс органов малого таза. Спаечная болезнь органов малого таза»; помимо этого, у всех девочек была выявлена и соматическая патология.

По данным доплерометрии, у всех больных выявлено повышение индекса сосудистого сопротивления (резистентности), снижение систоло-диастолического показателя по Медведеву, увеличение диаметра маточной вены. Эти данные свидетельствуют о выраженном венозном застое в малом тазу.

Всем пациенткам в комплексную терапию включали препарат «Дистрептаза» в возрастных дозировках в зависимости от тяжести основного заболевания по схеме: 3 дня по 3 свечи в день, 2 дня по 2 свечи в день и 1 день по 1 свече в день до 14-21 дня включительно.

Эффективность проведенного лечения мы оценивали на основании изменения жалоб общего состояния, характера менструальной функции, данных бимануального исследования и данных УЗ-исследования с повторной доплерометрией, после окончания курса терапии и через 3 месяца. Положительным результатом лечения считался тогда, когда клинические признаки воспаления исчезали (улучшалось общее самочувствие, уменьшалась или исчезала боль внизу живота, нормализовывался характер влагалищных выделений, подтвержденный лабораторно) при контрольных осмотрах.

Во время проведения ректального бимануального или вагинального исследований болезненность в области матки и придатков отсутствовала или становилась значительно меньше у всех пациенток.

Результаты

После проведенного лечения мы получили следующие результаты:

- уменьшение болевого синдрома со стороны органов малого таза на 94% по данным ректального бимануального или вагинального исследований;
- по данным УЗ-исследования, у всех пациенток (17 девочек-подростков – 100%) отмечалось уменьшение признаков воспаления, что также свидетельствовало об эффективности проведенного лечения;
- изменение характера менструальной функции: нормализация менструальной функции (продолжительность менструального цикла от 28 до 30 дней), объем менструальных выделений не превышал средневозрастные нормы у всех 17 пациенток;
- у всех пациенток нормализовался характер влагалищных выделений: исчезли патологические бели.

Аналогичная картина наблюдалась при проведении контрольных обследований через 3 месяца.

Таким образом, в ходе проведенного исследования, мы получили убедительные данные о том, что включение в схему лекарственной терапии препарата «Дистрептаза» способствует уменьшению и исчезновению болевого синдрома у постоперационных больных, рассасыванию спаечных образований в малом тазу и брюшной полости, приводит к нормализации менструальной функции.

ТҮЙІНДЕМЕ

БАЛАЛАР ЖӘНЕ ЖАСӨСПІРІМДЕР ГИНЕКОЛОГИЯСЫНДА «ДИСТРЕПТАЗА» ПРЕПАРАТЫН ҚОЛДАНУ ТӘЖІРИБЕСІ

О. Л. Кудина

Белорусь медициналық дипломнан кейінгі білім беру академиясы,

Беларусь, Минск

Жұмыстың мақсаты балалар мен жасөспірімдер гинекологиясында «Дистрептаза» тығыздәрілерін отадан кейінгі кезеңде (жамбас қуысы мүшелеріне және құрсақ қуысына хирургиялық ота), жабысқан жерлер жағдайында пайдалану мүмкіндіктерін зерттеу болып табылады. Ісік үдерісі жағдайында және аналық безде функционалдық сарысулы әсігі бар емделушілерді емдеу үшін пайдаланудың терапевтік кешенін оңтайландыру.

Түйін сөздер: *аналық бездің функционалдық сарысулы ісігі, шарбы майдың зиянды ісігі, отадан кейінгі кезең.*

SUMMARY

EXPERIENCE OF USE OF THE PREPARATION DISTREPTAZA IN PEDIATRIC AND ADOLESCENT GYNECOLOGY

O. L. Kudina

Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education,

Belarus, Minsk

The purpose of the work was to investigate the possibility to use the suppositories Distreptazain pediatric and adolescent gynecology, in the postoperative period (surgical interventions for pelvic and abdominal cavity), in cases of the commissural process. Optimization of the therapeutic complex for the treatment of patients with long-existing functional ovarian cysts and in case of a neoplastic process.

Key words: *functional ovarian cysts, malignant tumor of the omentum, postoperative period.*

УДК 618.2

ДВА СЛУЧАЯ БЕРЕМЕННОСТИ У ПАЦИЕНТКИ С ПРЕЖДЕВРЕМЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ЯИЧНИКОВ

Ж. Б. Тайбагарова

*Институт Репродуктивной Медицины,
Казахстан, Алматы*

АННОТАЦИЯ

При преждевременной недостаточности яичников возможно восстановление овуляции и наступление беременности. Рекомендации для пациентов с ПНЯ в пользу донорства ооцитов не должны звучать в категоричной форме. На фоне заместительной гормонотерапии у пациенток улучшается качество жизни.

Ключевые слова: *Преждевременная недостаточность яичников (ПНЯ), синдром истощенных яичников*

Преждевременная недостаточность яичников (ПНЯ) — клинический синдром, типичным проявлением которого является эпизодическая или стабильная гипергонадотропная аменорея у женщин моложе 40 лет [1, 2]. Преждевременная недостаточность яичников — довольно распространенная проблема: 1% среди женщин 18-40 лет [3].

Длительные нарушения менструального цикла (эпизоды гипергонадотропной аменореи и дефицита эстрогенов) рано или поздно завершаются стабильным прекращением функции яичников в довольно молодом возрасте. Общепринятая терминология и стандартизированные диагностические критерии позволяют достичь взаимопонимания специалистов при диагностике и лечении заболевания. Термин, который максимально точно отражает суть проблемы — «преждевременная недостаточность яичников» (premature ovarian failure — POF), предложен французскими специалистами. Ранее обсуждались такие варианты, как «преждевременная менопауза», «гипергонадотропная аменорея», «гипергонадотропный гипогонадизм», «синдром истощения яичников».

При ПНЯ возможно не только спонтанное восстановление овуляции, но и наступление беременности у 5-10% женщин, иногда много лет спустя после манифестации заболевания. Точку отсчета (cut-off), когда длительная гипергонадотропная аменорея становится необратимой, определить невозможно.

Таким образом, ПНЯ — мультифакторная патология, связанная с генными нарушениями, гипоталамическими поражениями, родовыми инфекциями, интоксикациями, стрессами, голоданием, радиацией и другими факторами, результатом которых являются дегенеративные изменения в фолликулярном аппарате яичников. В большинстве случаев причина заболевания остается неизвестной [4].

Пациентка 32 лет обратилась в Институт Репродуктивной Медицины в 2011 году с жалобами на отсутствие беременности и нарушение менструального цикла в течение последнего года. Овариальная дисфункция, в виде задержек менструаций, сопровождалась приливами жара до 1-3 раз в сутки, потливостью и ухудшением самочувствия в виде слабости и апатии. Менархе в 14 лет, цикл сохранялся регулярным до 2010 года. Соматических заболеваний, оперативных вмешательств и гемотрансфузий не было.

По результатам клинико-лабораторного обследования УЗИ матка длиной 44 мм, шириной 32 мм, передне-задний

размер 30 мм, эндометрий толщиной 7 мм, трехслойный, правый яичник размерами 23*12 мм в структуре фолликул d 6 мм, левый яичник размерами 24*16 мм в структуре фолликул d 5 мм. Гормональный статус от 08.02.11: Пролактин 155 мМЕ/л (норма 250-500 мМЕ/л), ФСГ 6,5 МЕ/л (норма 3-12 МЕ/л), ЛГ 3,4МЕ/л (норма 1-10,54 МЕ/л), АМГ 0,01 нг/мл (норма 2,1-7,3 нг/мл), Тестостерон 1,8 нМ/л (норма 0,2-2,0 нМ/л), ТТГ 1,4 МЕ/л (норма 0,24-3,0 МЕ/л).

Диагноз: синдром истощенных яичников. Назначена заместительная гормонотерапия: этинидэстрадиол 2 мг сутки и дидрогестерон 20 мг с 16 по 25 дмц. Рекомендовано ЭКО с донорством ооцитов.

На фоне заместительной гормонотерапии наступила самостоятельная беременность, завершившаяся 18.11.2011 самостоятельными срочными родами живым доношенным плодом мужского пола, весом 3100 г, рос-том 52 см.

После родов грудное вскармливание до года, месячные не восстановились, через год возобновились приливы жара. Гормональный статус от 31.03.14: Пролактин 385,7 мМЕ/л (норма 60-600 мМЕ/л), ФСГ 81,7 МЕ/л (норма 1,8-11,3 МЕ/л), ЛГ 48,1 МЕ/л (норма 1,1-14,4 МЕ/л), АМГ 0,01 нг/мл (норма 2,1-7,3 нг/мл), Тестостерон 2,2 нмоль/л (норма до 4,6 нмоль/л), ТТГ 3,4 мМЕ/л (норма 0,46-4,6 мМЕ/л), эстрадиол 0,12 (норма 0,14-0,7)

Назначена заместительная гормонотерапия: этинидэстрадиол 2 мг в сутки и дидрогестерон 20 мг в сутки, фолиевая кислота. С пятого дня индуцированного цикла начат ультразвуковой мониторинг.

27.05.14 тест на беременность положительный, от обследования уровня ХГЧ отказалась. Рекомендовано УЗИ через 10 дней, этинидэстрадиол 2 мг в сутки 4 дня и отменить, дидрогестерон 20 мг в сутки и фолиевую кислоту продолжать.

На УЗИ от 06.06.14 в полости матки плодное яйцо СВД 10 мм, желточный мешочек 3 мм.

На УЗИ от 19.06.14 в полости матки плодное яйцо СВД 27 мм, КТР 8,7 мм, СБ +, желточный мешочек 3,8 мм. Заключение: Беременность 5-6 недель. Рекомендовано УЗИ в 10-12 недель, дидрогестерон 10 мг в сутки до 8 ми недель беременности, фолиевая кислота.

В настоящее время беременность прогрессирует, наблюдается в женской консультации.

Таблица 1 –

Дата	День цикла	Эндометрий	Правый яичник	Левый яичник	Назначения
10.05.14	5	3.5 мм	1 фолликул d 6 мм	1 фолликул d 11,6 мм	этинидэстрадиол 2 мг сутки
13.05.14	8	7 мм	1 фолликул d 6 мм	1 фолликул d 19,8 мм	ХГЧ в дозе 5 тыс ЕД в/м, этинидэстрадиол 4 мг в сутки
16.05.14	11	7 мм	1 фолликул d 6 мм	овуляция	этинидэстрадиол 4 мг в сутки и дидрогестерон 20 мг в сутки 27.05.14 тест на беременность



Рисунок 1 –



Рисунок 2 –

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Преждевременная недостаточность яичников: Мнение экспертов к.м.н. Т.В. Чеботникова Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий
2. L.M. Nelson, S.N. Covington, R.W. Rebar. *Fertil Steril* 2005; 83: 1327—1332
3. Мишиева Н.Г. Бесплодие у женщин позднего репродуктивного возраста: принципы диагностики и лечения в зависимости овариального резерва: автореф. дис. д. мед. н. – М., 2008.2005.
4. Сметник В.П., Тумилович Л.Г. *Неоперативная гинекология* -М., 1995

REFERENCES

1. *Prezhdevremennaya nedostatochnost yaichnikov: Mnenie ekspertov k.m.n. T.V. Chebotnikova Endokrinologicheskii nauchnyiy tsentr Rosmedtehnologiy*
2. L.M. Nelson, S.N. Covington, R.W. Rebar. *Fertil Steril* 2005; 83: 1327—1332
3. *Mishieva N.G. Besplodie u zhenshin pozdnego reproduktivnogo vozrasta: printsipy diagnostiki i lecheniya v zavisimosti ovarialnogo rezerva: avtoref. dis. d. med. n. – M., 2008.2005.*
4. *Smetnik V.P., Tumilovich L.G. Neoperativnaya ginekologiya -M., 1995*

ТҮЙІНДЕМЕ

МЕРЗІМІНЕН БҰРЫН ЖЕТКІЛІКСІЗДІГІ БАР ЕМДЕЛУШІЛЕРДІҢ ЖҮКТІЛІГІНІҢ ЕКІ ЖАҒДАЙЫ

Ж. Б. Тайбагарова

Репродуктивті медицина орталығы,
Қазақстан, Алматы

Аналық безларының мерзімінен бұрын жеткіліксіздігі жағдайында овуляцияны және жүктіліктің орын алуын қалпына келтіруге болады. ЖМЖ бар емделушілерге арналған ооциттер донорлығына қатысты нұсқаулар санатты түрде болмауы керек. Орын алмастыратын гормондық емдеу жағдайында емделушілердің өмір сүру жағдайы жақсарады.

Түйін сөздер: Аналық безларының мерзімінен бұрын жеткіліксіздігі (ЖМЖ), аналық бездерінің әлсіреуі синдромы

SUMMARY

TWO CASES OF PREGNANCY IN A PATIENT WITH PREMATURE OVARIAN FAILURE

J. B. Taybagarova

*Institute of Reproductive Medicine,
Kazakhstan, Almaty*

In premature ovarian failure can restore ovulation and pregnancy. Recommendations for patients with POF in favor of oocyte donation should not sound categorically. Against the background of hormone replacement therapy in patients improves quality of life.

Keywords: *Premature ovarian failure (POF), depleted ovarian syndrome*

МЕЖДУНАРОДНЫЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ДИАГНОСТИКЕ И МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ ТЕРАПИИ МАТОЧНЫХ КРОВОТЕЧЕНИЙ

Г. Д. Кошкимбаева

Центр перинатологии и детской кардиохирургии,
Казахстан, Алматы

АННОТАЦИЯ

Обзор содержит информацию о современной классификации, клинической картине, диагностике и медикаментозном лечении аномальных маточных кровотечений. Этот обзор демонстрирует современные представления об аномальных маточных кровотечениях в мире и современные подходы в их диагностике и терапии, которые могут быть применены в казахстанской практике.

Ключевые слова: аномальные маточные кровотечения, классификационная система FIGO(PALM-COEIN), ЛНГ-ВМС, КОК

Аномальное маточное кровотечение (АМК) наблюдается примерно у 30% женщин репродуктивного возраста, и является достаточно частой причиной посещения гинеколога. АМК значительно влияет на качество жизни и может являться поводом для хирургических вмешательств, в том числе гистерэктомии [1].

Под аномальными маточными кровотечениями понимаются любые отклонения от нормального менструального цикла, включая изменение регулярности и частоты менструальных кровотечений, их продолжительности (более 8 дней) и объема кровопотери (более 80 мл или значимо нарушающие физическое, эмоциональное, социальное или материальное качество жизни женщины) [1, 2, 3]. 10–30% АМК встречается в репродуктивном возрасте, в мире распространенность АМК по данным разных исследований достигает 52% [4, 5]. АМК являются основной причиной железодефицитных анемий и приводят к снижению работоспособности и качеству жизни женщин [1-5]. Под острыми АМК понимают остро возникшее маточное кровотечение, которое по мнению врача, требует немедленного вмешательства для остановки кровопотери. Острое АМК может возникать спонтанно, либо в рамках хронического АМК (т.е. когда АМК наблюдаются в течение 6 предшествующих месяцев) [1-3].

Международная экспертная группа под эгидой FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) в 2011 г. создала новую систему номенклатуры маточных кровотечений – PALM-COEIN[6]. Термин «дисфункциональное маточное кровотечение» (ДМК), ранее используемый как синоним АМК, а также в случаях отсутствия органической патологии, не включен в данную классификационную систему и не рекомендован к использованию в практике [2,6].

Классификационная система PALM-COEIN [5] выделяет 9 категорий АМК: 1 – polyp (полип); 2 – adenomyosis (аденомиоз); 3 – leiomyoma (лейомиома); 4 – malignancy (маллигнизация) и hyperplasia (гиперплазия); 5 – coagulopathy (коагулопатия); 6 – ovulatory dysfunction (овуляторная дисфункция); 7 – endometrial (эндометриальное); 8 – iatrogenic (ятрогенное); 9 – not yet classified (еще не классифицировано) (Рис. 1).

Используя данную классификационную систему, можно отразить как одну из причин АМК, так и их совокупность. Наличие любой категории обозначается цифрой 1, отсутствие – 0.

Первые 4 категории отражают наличие структурных изменений и объединены в группу PALM. Категория лейомиома (L) подразделена на две: субмукозная миома (LSM) и другие формы миомы, не деформирующие полость матки (LO). Группа COEIN состоит из 4 категорий неорганических причин АМК, и 1 категории, куда отнесены еще не классифицированные нарушения. Согласно классификации PALM-COEIN, диагноз АМК устанавливается в случае непредсказуемых, чрезмерно продолжительных патологических по объему и/или частоте менструаций [2,6].

Система PALM-COEIN предлагает подробный алгоритм диагностического поиска. Эта классификация получила мировое признание [1,3]. Разработчики сообщили, что будут вносить изменения каждые 3 года в соответствии с резолюцией очередного Всемирного конгресса FIGO.

Обильные менструальные кровотечения (ОМК), т.е. менструальные кровотечения с объемом теряемой крови более 80 мл за цикл, либо клинически определяемые как нарушающие физическое, эмоциональное, социальное или материальное качество жизни женщины, относятся к патологии эндометрия (АМК-Е), и являются наиболее часто встречающейся формой АМК [2,6]. В случае обильных менструальных кровотечений (ОМК) их причиной может быть непосредственное базовое расстройство регуляции механизмов гемостаза в эндометрии на локальном уровне. В исследованиях с высоким качеством доказательности продемонстрировано чрезмерное усиление локального образования вазоконстрикторов, таких как эндотелин – 1 и простагландин F2 α , и/или ускоренный распад образующихся во время менструации сгустков крови в эндометрии из-за избыточной продукции активатора плазминогена, в дополнение к увеличению локального образования сосудод-

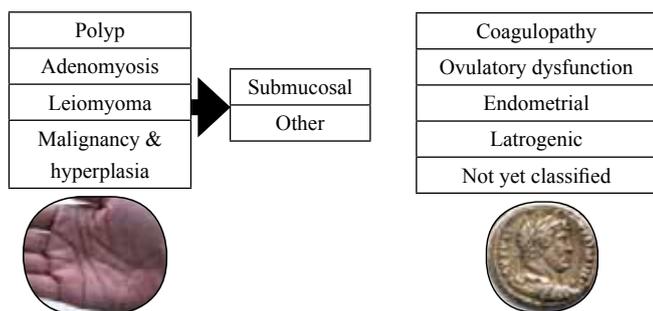


Рисунок 1 – Классификация АМК (FIGO, 2011)

расширяющих веществ, таких как простагландин E2 и простагландин I2. Несмотря на полученные доказательства, некоторые из которых доступны на протяжении более 20 лет, в настоящий момент не существует общепринятых тестов для оценки этих нарушений в клинической практике [6].

Что касается межменструальных маточных кровотечений (ММК), то они могут быть проявлением нарушения молекулярных механизмов восстановления эндометрия или быть вторичными (воспаление эндометрия или инфекция; нарушение механизмов локальной воспалительной реакции; aberrации процессов ангиогенеза в эндометрии). Однако роль инфекции и других локальных провоспалительных расстройств в генезе АМК пока четко не определены и могут быть искажены вследствие наличия клеток «воспаления» в нормальном эндометрии. Ретроспективная оценка женщин с хроническим эндометритом не продемонстрировала четкую взаимосвязь между гистопатологическим диагнозом и наличием АМК, но есть данные, указывающие на корреляцию АМК с субклиническим течением инфекции Ch. Trachomatis [6].

При использовании данной классификационной системы, категорию АМК-Е можно предполагать после исключения других объективно идентифицируемых нарушений у женщин репродуктивного возраста, не имеющих нарушения овуляторной функции [6].

Чтобы выбрать рациональную тактику ведения необходимо установить причину АМК и отнести его к одной из указанных выше категорий. Для оценки величины кровопотери пользуются клиническими индикаторами или бальной шкалой (пиктограмма менструальной кровопотери), а при проведении научных исследований используют объективный алкалин-гемаиновый тест [1].

По международным рекомендациям [1,3], при АМК лабораторная диагностика включает: определение уровня β -ХГ в сыворотке крови (при подозрении на беременность); обследование на наличие анемии (клинический анализ крови, включая тромбоциты); коагулограмму, при подозрении на патологию гемостаза – консультацию гематолога и специальное обследование (при болезни Виллебранда – определение фактора VIII, ко-фактора ристоцетина, антигена фактора Виллебранда). Гормональное обследование проводится при нерегулярном ритме менструаций и риске гипотиреоза (определение уровня ТТГ, прогестерона); исследование на хламидийную инфекцию при высоком инфекционном риске; для исключения патологии шейки матки проводится ПАП-тест.

Алгоритм обследования пациенток с АМК по рекомендациям Американской коллегии и Канадского общества акушеров-гинекологов (2013) [1,3]

Сбор анамнеза и физикальное обследование позволяет предположить причину АМК, определить необходимые дополнительные методы обследования и тактику лечения.

Трансвагинальное ультразвуковое исследование (УЗИ) органов малого таза – это диагностическая процедура 1-й линии для оценки состояния эндометрия (более высокая информативность в постменопаузе). Допплерометрия предоставляет лишь дополнительную информацию о характере патологии эндометрия и миометрия. Соногистерография – проводится при недостаточной информативности трансвагинального УЗИ для уточнения очаговой

внутриматочной патологии. МРТ рекомендуется при множественной миоме матки для уточнения топографии узлов перед миомэктомией, эмболизацией маточных артерий, ФУЗ-абляцией, а также при подозрении на аденомиоз или в случаях плохой визуализации полости матки для оценки состояния эндометрия. Гистероскопия и биопсия эндометрия – рекомендованы в диагностике внутриматочной патологии в первую очередь для исключения предраковых поражений и рака эндометрия. Биопсия рекомендуется при подозрении на патологию эндометрия, наличии факторов риска рака эндометрия (возраст, ожирение, синдром поликистозных яичников, сахарный диабет, семейный анамнез по раку толстого кишечника), у пациенток с АМК после 40 лет, а также при отсутствии ответа на проводимое лечение. Предпочтение отдают офисной гистероскопии и аспирационной биопсии, так как они являются менее травматичными и более экономичными процедурами.

Лечение АМК необходимо проводить дифференцированно, в соответствии с выявленной патологией.

При АМК, не связанных с органической патологией (АМК-О, С, Е, N), назначают медикаментозную терапию: негормональные лекарственные средства (нестероидные противовоспалительные препараты (НПВС), ингибиторы фибринолиза – препараты, уменьшающие ломкость сосудов и увеличивающие образование фибриновых тромбов), и гормональные (прогестагены, КОК, ЛНГ-ВМС, антигонадотропины, аГнРГ) [1].

В качестве негормональных препаратов применяют ингибиторы фибринолиза, в частности транексамовая кислота (ингибитор активации плазминогена). Согласно рекомендациям FDA, оптимальная суточная доза составляет 4,0 г, длительность приема – до 5 дней. Снижение кровопотери составляет 40–60% [9, 10].

При АМК используют КОК, благодаря их опосредованному подавлению секреции гонадотропинов, функции яичников ингибированием роста железистого эпителия эндометрия. Монофазные КОК (суточная доза этинилэстрадиола (ЭЭ) 100 мкг) применяются для проведения гормонального гемостаза в случаях острых АМК, а также для последующей противорецидивной терапии по контрацептивной схеме. Эффективность КОК при острых АМК варьирует от 30 до 50% [7]. Результаты исследований показали схожую эффективность в виде 50% снижения объема менструальной кровопотери транексамовой кислоты и КОК, в состав которого входит 30 мкг ЭЭ/150 мкг левоноргестрела (ЛНГ) [11].

Результаты 2 многоцентровых плацебо-контролируемых исследований, одно из которых проведено в Северной Америке, другое – в Европе и Австралии, показали преимущества КОК (Клайра®), в состав которого входит эстроген, который идентичен натуральному – эстрадиола валерат (ЭВ) и прогестаген – диеногест (ДНГ). Прием препарата в течение трех месяцев способствовал снижению объема менструальной кровопотери на 71–79%, а шестимесячный прием – суммарно на 88%. У 64% пациенток наблюдалась нормализация параметров менструального цикла [12, 13]. Высокая эффективность данной терапии связана с ранней пролиферацией эндометрия под воздействием эстрадиола валерата, увеличением экспрессии прогестероновых рецепторов, антипролиферативным влиянием высоких доз диеногеста.

В 2010 г. КОК (ЭВ /ДНГ) получил одобрение FDA, в 2013 г. зарегистрирован в Казахстане для лечения тяжелых и/или длительных менструальных кровотечений у женщин без наличия органической патологии, нуждающихся в использовании оральной контрацепции.

Наряду с КОК для лечения АМК применяют прогестагены в циклическом и непрерывном режимах. Согласно рекомендациям Национального института здоровья (2007) и Канадской ассоциации акушеров-гинекологов (2013), прогестагены в лютеиновую фазу цикла не должны применяться как метод терапии ОМК [1,7]. Применение прогестагенов в непрерывном режиме системно или в виде внутриматочной системы, выделяющей левоноргестрел (ЛНГ-ВМС) наиболее эффективно при АМК. По данным результатов мета-анализа, снижение менструальной кровопотери, оцененное алкаино-гематиновым методом, на фоне трех месяцев воздействия ЛНГ-ВМС составило 77–89%, а на фоне шести месяцев – 97% [14].

Идиопатическая меноррагия включена в показания для использования ЛНГ-ВМС (Мирена®). В 2009 г. данный вид терапии был одобрен FDA для лечения маточных кровотечений. Внутриматочное воздействие ЛНГ рассматривается как терапия 1-й линии для лечения АМК у женщин, не заинтересованных в беременности. Целым рядом научных исследований и мета-анализов

доказана схожая эффективность ЛНГ-ВМС и абляции эндометрия при лечении маточных кровотечений. Хотя на фоне ЛНГ-ВМС эффект нарастает с течением времени, достоверных различий в уменьшении объема кровопотери и частоте аменореи через 1 год и 3 года не выявлено [15].

Использование агонистов гонадотропин-рилизинг-гормона (аГнРГ) эффективно при ОМК, атрофия эндометрия и аменорея обычно достигаются в течение 3–4 нед. терапии [16]. Эффект аГнРГ в снижении менструальной кровопотери у женщин перименопаузального возраста достигает 100% [16]. Однако длительность применения аГнРГ ограничена, в связи с выраженными гипозрогенными эффектами, такими, как приливы жара, вагинальная атрофия и снижение минеральной плотности костной ткани. При данной терапии рекомендуется так называемая add-back терапия [17, 18].

Таким образом, в основу клинических рекомендаций Американской Коллегии и Канадского общества акушеров-гинекологов (2013) легли результаты систематических обзоров и мета-анализов [1,7] по медикаментозной и немедикаментозной терапии маточных кровотечений. В качестве препаратов 1-й линии рекомендованы ЛНГ-ВМС, прогестагены длительного действия, транексамовая кислота, НПВС, КОК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Singh S., Best C., Dunn S., Leyland N., Wolfman W.L.; Clinical Practice – Gynaecology Committee, Leyland N., Wolfman W., Allaire C., Awadalla A., Best C., Dunn S., Heywood M., Lemyre M., Marcoux V., Menard C., Potestio F., Rittenberg D., Singh S.; Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. Abnormal uterine bleeding in pre-menopausal women. *J Obstet Gynaecol Can.* 2013 May;35(5):473-9.
2. Fraser IS, Critchley H.O., Broder M., Munro M.G. The FIGO recommendations on terminologies and definitions for normal and abnormal uterine bleeding. *Semin Reprod Med.* 2011 Sep;29(5):383-90. doi: 10.1055/s-0031-1287662. Epub 2011 Nov 7.
3. ACOG committee opinion no. 557: Management of acute abnormal uterine bleeding in nonpregnant reproductive-aged women. *American College of Obstetricians and Gynecologists //Obstet. Gynecol.* – 2013. – Vol. 121 (N 4). – P. 891–896.
4. Fraser I.S., Langham S., Uhl-Hochgraeber K. Health-related quality of life and economic burden of abnormal uterine bleeding // *Expert Rev. Obstet. Gynecol.* – 2009. – Vol. 4(N 2). – P.179–189.
5. Liu Z., Doan Q.V., Blumenthal P. et al. A systematic review evaluating health-related quality of life, work impairment, and healthcare costs and utilization in abnormal uterine bleeding // *Value Health.* – 2007. – Vol.10. – P.183–194.
6. Munro M.G., Critchley H.O., Broder M.S. FIGO classification system (PALM-COEIN) for causes of abnormal uterine bleeding in nongravid women of reproductive age. FIGO Working Group on Menstrual Disorders // *Int J Gynaecol Obstet.* – 2011. – Vol. 113. – P. 3–13. Heavy menstrual bleeding. *Clinical guideline 44.* London National Institute for Health and Clinical Excellence. – January 2007.
7. Marret H. et al. Clinical practice guidelines on menorrhagia: management of abnormal uterine bleeding before menopause // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* – 2010. – Vol.152. – P. 133–137.
8. Wellington K., Wagstaff A.J. Tranexamic acid: a review of its use in the management of menorrhagia // *Drugs.* – 2003. – Vol. 63. (N 13). – P.1417–1433.
9. Lukes A.S., Moore K.A., Muse K.N. et al. Tranexamic acid treatment for heavy menstrual bleeding: a randomized controlled trial // *Obstet. Gynecol.* – 2010. – Vol. 116. – P. 865–875.
10. Archer D.F., Jensen J.T. Evaluation of a continuous regimen of levonorgestrel/ethinyl estradiol: phase 3 study results // *Contraception.* – 2006. – Vol. 74 (N 6). – P. 439–445.
11. Fraser I.S., Jensen J.T. Effective treatment of heavy and/or prolonged menstrual bleeding with an oral contraceptive containing estradiol valerate and dienogest: a randomized, double-blind Phase III trial // *Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 26.(N10). – P. 2698–2708.
12. Jensen J.T., Parke S., Mellinger U. Effective treatment of heavy menstrual bleeding with estradiol valerate and dienogest: a randomized controlled trial // *Obstet. Gynecol.* – 2011.
13. Kaunitz, Inki. The levonorgestrel-releasing intrauterine system in heavy menstrual bleeding: a benefit-risk review // *Drugs.* – 2012. – Vol. 72 (2)
14. Bhattacharya S., Middleton L.J., Tsourapas A. Hysterectomy, endometrial ablation and Mirena® for heavy menstrual bleeding: a systematic review of clinical effectiveness and cost-effectiveness analysis // *Health Technol. Assess.* – 2011. – Vol. 15 (N 19). – P.1–252.
15. Colacurci N., De Placido G., Mollo A. Short term use of Goserelin depot in the treatment of dysfunctional uterine bleeding // *Clin Exp. Obstet. Gynecol.* – 1995. – Vol. 22. – P. 212–219.
16. Takeuchi H., Kobori H., Kikuchi I. et al. A prospective randomized study comparing endocrinological and clinical effects of two types of GnRH agonists in cases of uterine leiomyomas or endometriosis // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research.* – 2000. – Vol. 26 (N 5). – P.325–331.
17. Thomas E.J. Add-back therapy for long term use in dysfunctional uterine bleeding and uterine fibroids // *BJOG.* – 1996. – Vol. 103 (Suppl 14). – P. 18–21.

ТҮЙІНДЕМЕ

ЖАТЫРДАН ҚАН КЕТУДІҢ ДИАГНОСТИКАСЫ МЕН ДӘРІ-ДӘРМЕКТІК ЕМДЕУ БОЙЫНША ХАЛЫҚАРАЛЫҚ НҮСҚАУЛАР

Г. Д. Кошкимбаева

*Перинатология және балалар кардиохирургиясы орталығы,
Қазақстан, Алматы*

Шолу аномальді жатырдан қан кетуді заманауи жіктеу, емханалық сипаты, диагностикасы мен дәрі-дәрмекпен емдеу туралы ақпаратты қамтиды. Бұл шолу Қазақстандағы тәжірибеде қолдануға болатын аномальді жатырдан қан кету туралы заманауи түсініктерді және оларды диагностикасы мен терапиясын қолдануға мүмкіндік береді.

Түйін сөздер: аномальді жатырдан қан кету, FIGO(PALM-COEIN) жіктеу жүйесі, ЛНГ-ВМС, КОК

SUMMARY

INTERNATIONAL TREATMENT GUIDELINES FOR DIAGNOSTICS AND PHARMACOTHERAPY OF ABNORMAL UTERINE BLEEDING

G. D. Koshkimbayeva

*Center for perinatology and pediatric cardiac surgery,
Kazakhstan, Almaty*

This review contains information about modern classification, clinical picture, diagnostics and pharmacotherapy of abnormal uterine bleeding. This review demonstrates the modern conception of abnormal uterine bleeding in the world and modern approaches to their diagnosis and treatment, which can be used in the Kazakh practice.

Key words: abnormal uterine bleeding, FIGO classification system (PALM-COEIN), LNG- IUD, COC

Правила оформления статей

1. Журнал «Репродуктивная медицина» публикует статьи, освещающие фундаментальные и частные вопросы репродуктивной медицины.

2. Статья должна быть напечатана и представлена в редакцию и (обязательно) набрана на компьютере в любом текстовом редакторе в операционной системе Windows (перенос слов не делать).

3. Материалы должны быть напечатаны на одной стороне листа формата А4, размер шрифта – 12. Рекомендуемый объем статьи – не более 8 страниц.

Статьи в формате PDF не высылать.

4. Титульное оформление статьи:

- название статьи на русском и английском языке;
- инициалы и фамилии авторов статьи на русском и английском языке;
- наименование учреждения, в котором выполнялась работа на русском и английском языке;
- статью предваряет аннотация (резюме) объемом не более 100 слов. Здесь должны быть изложены цели исследования, приведены основные результаты на русском и английском языке.
- к каждой статье должен быть приложен список ключевых слов на русском и английском языке.

5. Текст статьи, содержащий результаты собственных наблюдений, исследований и экспериментов, обычно делится на разделы: введение, материалы, методы, результаты, обсуждения, выводы.

6. В целях эффективного взаимодействия с редакцией журнала, необходимо сообщить информацию об авторе (фамилия, имя и отчество, адрес, телефон, e-mail). Статья должна быть тщательно выверена автором.

7. Математические и химические формулы должны быть написаны очень четко. С указанием на полях букв алфавита (русский, латинский, греческий), а также прописных и строчных букв, показателей степени, индексов, букв или цифр, когда это неясно из текста.

8. Таблицы должны быть компактными, иметь название, текст статей должен содержать ссылку на таблицу. Цифры в ней не должны расходиться с цифрами в тексте. Обязательна статистическая обработка со ссылкой на рассчитываемые коэффициенты.

9. К статье может быть приложено минимальное количество рисунков, необходимых для понимания текста. Рисунки должны быть представлены на электронном носителе (CD, USB-накопитель) в любом графическом редакторе (PSD, Tiff, JPEG) и в распечатанном виде. Рисунки должны быть четкими, легко воспроизводимыми и не содержать текстовых надписей и обозначений, которые можно поместить в текст или подрисуночные подписи. В тексте статьи должна быть ссылка на каждый рисунок. Микрофотографии, фотографии и рентгенограммы должны быть размером 6х9 см и хорошего качества (не менее 250 dpi).

10. К статье необходимо приложить список всей цитируемой литературы. Библиографические ссылки в тексте статьи должны даваться в квадратных скобках цифрами в соответствии с пристатейным списком литературы. Список литературы должен быть составлен следующим образом: фамилия и инициалы автора, название журнала, год, том, вып., стр. (название статей не дается). Пример: Серов В.В. Клин. Геронол. 1995; 1:3-5; Ringold A., Davanger M. Brit.J. Ophtal.1981; 65:138-141

11. Для книг и сборников необходимо указать точные заглавия по титульному листу, место и год издания. В список литературы не включаются неопубликованные работы (за исключением препринтов) и ссылки на учебники.

12. Материалы, содержащие специальную информацию о лекарственных препаратах, публикуются на правах рекламы, согласованно с фирмой-производителем.

13. Направление в редакцию работ, которые уже были посланы в другие редакции или изданы в них, не допускается.

14. Редакция оставляет за собой право вносить стилистические изменения, включая названия статей, термины и определения.

