

ПРОБЛЕМЫ РЕПРОДУКЦИИ

ISSN 1025-7217

Российская Ассоциация Репродукции Человека
Ассоциация гинекологов-эндокринологов России
Российское общество по контрацепции
Ассоциация по менопаузе
Российская ассоциация эндометриоза

Russian Association of Human Reproduction
Russian Association of Gynecologists-Endocrinologists
Russian Society of Contraception
Association of Menopause
Russian Association of Endometriosis

Главный редактор

М.Б.Аншина, Москва, Россия

Editor-in-Chief **M.Anshina**, M.D., Ph.D.,
Moscow, Russia

Зам. главного редактора

Л.Г.Тумилович, Москва, Россия

Associate Editors **L.Tumilovich**, M.D., Ph.D., Moscow, Russia

Ассистент редактора

А.А.Смирнова, Москва, Россия

Senior assistant editor **A.Smirnova**, M.D., Ph.D. Moscow, Russia

Редакционная коллегия

Л.В.Адамян, Москва, Россия
Э.К.Айламазян, Ст-Петербург, Россия
Ю.Верлинский, Чикаго, США
Д.Голдстейн, Нью-Йорк, США
Ф.В.Дахно, Киев, Украина
В.М.Здановский, Москва, Россия
Е.А.Калинина, Москва, Россия
В.И.Карнаух, Самара, Россия
А.С.Кауфман, Москва, Россия
Л.П.Коврижина, Москва, Россия
В.С.Корсак, Ст-Петербург, Россия
В.И.Кулаков, Москва, Россия
Л.Ф.Курило, Москва, Россия
В.А.Лукин, Москва, Россия
И.Б.Мгалоблишвили, Тбилиси, Грузия
Т.А.Назаренко, Москва, Россия
А.И.Никитин, Ст-Петербург, Россия
Т.В.Овсянникова, Москва, Россия
А.А.Пищулин, Москва, Россия
В.Н.Прилепская, Москва, Россия
А.С.Сегал, Москва, Россия
А.В.Семенов, Краснодар, Россия
В.П.Сметник, Москва, Россия
Т.А.Старостина, Москва, Россия
Т.Томазевич, Любляна, Словения
Н.Д.Фанченко, Москва, Россия
Г.Цех, Брегенц, Австрия
Г.Л.Цукерман, Минск, Белоруссия

Editorial Board

L. Adamyan, M.D., Ph.D., Moscow, Russia
E.Ailamazyan, M.D., Ph.D., St.-Petersburg, Russia
F.Dakhno, M.D., Ph.D., Kiev, Ukraine
N.Fanchenko, Ph.D., Moscow, Russia
D.Goldstein, M.D., New York, USA
E.Kalinina, M.D., Ph.D., Moscow, Russia
V.Karnauh, M.D., Ph.D., Samara, Russia
A.Kaufman, Moscow, Russia
L. Kovrizhina, M.D., Ph.D., Moscow, Russia
V.Korsak, M.D., Ph.D., St.-Petersburg, Russia
V.Kulakov, M.D., Ph.D., Moscow, Russia
L.Kurilo, V.D., Ph.D., Moscow, Russia
V.Lukin, M.D., Ph.D., Moscow, Russia
I.Mgaloblishvili, M.D., Ph.D., Tbilisi, Georgia
T.Nazarenko, M.D., Ph.D., Moscow, Russia
A.Nikitin, M.D., Ph.D., St.-Petersburg, Russia
T.Ovsyannikova, M.D., Ph.D., Moscow, Russia
A.Pischulin, M.D., Ph.D., Moscow, Russia
V.Prilepskaya, M.D., Ph.D., Moscow, Russia
A.Segal, M.D., Ph.D., Moscow, Russia
A.Semenov, M.D., Krasnodar, Russia
V.Smetnik, M.D., Ph.D., Moscow, Russia
T.Starostina, M.D., Ph.D., Moscow, Russia
T.Tomazevic, M.D., Ph.D., Lublyana, Slovenia
G.Tsukerman, M.D., Ph.D., Minsk, Belaruss
Y.Verlinsky, Ph.D., Chicago, USA
V.Zdanovsky, M.D., Ph.D., Moscow, Russia
H.Zech, M.D., Ph.D., Bregenz, Austria

Журнал "Проблемы Репродукции" выходит 6 раз в год.
Адрес редакции: 127238 Москва, а/я 54;
тел: (095) 482-4503, e-mail: ansh@corbina.ru

Russian journal of human reproduction is published bimonthly.
Editorial Office: Russia, 127238 Moscow, POB 54;
tel: (095) 482-4503, e-mail: ansh@corbina.ru

© Проблемы репродукции



МедиаСфера

Индексы 72078 - для индивидуальных подписчиков
72079 - для предприятий и организаций

Abstracts	Abstracts	3
Информация для авторов	Information for authors	5
Список сокращений	List of abbreviations	5
ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ РЕПРОДУКЦИИ. ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ. ОБЗОРЫ	THEORETICAL AND EXPERIMENTAL ASPECTS OF REPRODUCTION. DEBATES. REVIEWS	
<i>L. Brinton, E. Emmet, K. Moghissi, B. Scoccia, M. Althuis, J. Mabie, C. Westhoff</i> Риск развития рака яичников после использования препаратов для стимуляции овуляции (Перевод с англ. А.А. Смирновой)	<i>L. Brinton, E. Emmet, K. Moghissi, B. Scoccia, M. Althuis, J. Mabie, C. Westhoff</i> Ovarian cancer risk after the use of ovulation-stimulating drugs (Translated by A. Smirnova)	6
ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ РЕПРОДУКТИВНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ	ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES	
<i>К.Ю. Боярский</i> Молекулярные основы формирования фетального яичника и получение гамет из стволовых клеток (обзор литературы)	<i>K. Yu. Boyarsky</i> Molecular basis for fetal ovary formation and gamete development from the stem cells (a review)	15
<i>Л.Л. Бостанджян</i> Влияние контролируемой стимуляции суперовуляции у пациенток программы ЭКО на функциональное состояние тиреоидной системы	<i>L.L. Bostandjan</i> The influence of controlled superovulation induction upon thyroid function	22
<i>К.В. Краснополяская, А.С. Калугина</i> Диагностика и терапия гиперандрогенных состояний в программах ЭКО (обзор литературы)	<i>K.V. Krasnopolskaya, A.S. Kalugina</i> Diagnosis and therapy of hyperandrogenism in IVF programs (a review)	25
<i>М.В. Яманова, А.Б. Салмина, А.В. Светлаков, Е.А. Пожиленкова, С.В. Михуткина</i> Апоптоз клеток гранулезы и показатели фертилизации ооцитов у женщин с эндокринным бесплодием и эндометриозом в программе ЭКО	<i>M.V. Yamanova, A.B. Salmina, A.V. Svetlakov, E.A. Pozhilenkova, S.V. Mikhutkina</i> Granulosa cells apoptosis and oocytes fertilization criteria in IVF-treated women suffering from endocrine infertility and endometriosis	31
АНДРОЛОГИЯ	ANDROLOGY	
<i>Е.А. Калашникова, С.Н. Кокаровцева, М.И. Маршицкая, И.И. Степанова, М.Н. Болтовская, Л.Ф. Курило, Е.М. Гришина, Т.М. Сорокина</i> α_2 -Микроглобулин фертильности (гликоделин-S) как возможный иммунодепрессивный фактор антиспермального иммунитета	<i>E.A. Kalashnikova, S.N. Kokarovtzeva, M.I. Marshitskaya, I.I. Stepanova, M.N. Boltovskaya, L.F. Kurilo, E.M. Grishina, T.M. Sorokina</i> α_2 -Microglobulin of fertility (glycodelin-S) as possible immunosuppressive factor	37
БЕРЕМЕННОСТЬ И НОВОРОЖДЕННЫЕ	PREGNANCY AND NEWBORNS	
<i>Н.Е. Кан</i> Современная диагностика внутриутробной инфекции (обзор литературы)	<i>N.E. Kan</i> Intrauterine infection diagnosis today (a review)	42
<i>М.И. Кесова</i> Пиелонефрит: акушерские и перинатальные аспекты (обзор литературы)	<i>M.I. Kesova</i> Pyelonephritis: obstetrical and perinatal aspects (a review)	47
<i>Р.А. Саидова, Ю.И. Семенова, Е.В. Тропынина</i> Клинические возможности применения дюфастона при лечении эндокринного генеза невынашивания беременности	<i>R.A. Saidova, Yu.I. Semenova, E.V. Troпыnina</i> Clinical potential of Duphaston in patients with pregnancy loss caused by endocrine disorders	53
<i>В.А. Бурлев, И.Н. Пасхина, Л.П. Пономарева, Н.В. Орджоникидзе, И.И. Лапшина</i> Биохимический мониторинг продуктов деструкции тканей в пуповинной крови новорожденных при инфекционно-воспалительных заболеваниях у матерей	<i>V.A. Burlev, I.N. Pashkina, L.P. Ponomareva, N.V. Ordjonikidze, I.I. Lapshina</i> Biochemical monitoring of tissue destruction products in cord blood of newborns from mothers with infectious and inflammatory diseases	59
ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ В РЕПРОДУКЦИИ	INSTRUMENTAL REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES	
<i>И.А. Озерская, М.А. Белоусов, И.Г. Быстрова</i> Возможности эхогистеросальпингоскопии в диагностике маточного и трубно-перитонеального факторов бесплодия. Часть I. Описание метода	<i>I.A. Ozerskaya, M.A. Belousov, I.G. Bystrova</i> The capabilities of echohysterosalpingoscopy in the diagnosis of fallopian tubes potency. Part I: description method	66

НЕКРОЛОГ

Памяти Марии Львовны Крымской

ПЕРЕВОДЫ

Reproductive BioMedicine On-line 2004;6
(Перевод с англ. Н. Баркалиной)

Reproductive BioMedicine On-line 2004;7
(Перевод с англ. Н. Баркалиной)

Reproductive BioMedicine On-line 2004;8—10
(Перевод с англ. Н. Баркалиной)

Тезисы 20-й ежегодной встречи ESHRE
(Перевод с англ. Н. Баркалиной)

Адреса репродуктологов

OBITUARY

Maria Lvovna Krymskaya

74

TRANSLATIONS

Reproductive BioMedicine On-line 2004;6 (Translated by
N. Barkalina)

75

Reproductive BioMedicine On-line 2004;7 (Translated by
N. Barkalina)

77

Reproductive BioMedicine On-line 2004;8 (Translated by
N. Barkalina)

79

Theses of the 20th annual ESHRE meeting (Translated by
N. Barkalina)

82

List of e-mail addresses of reproductologists

21

* * *

ABSTRACTS (Russian Journal of Human Reproduction, 5, 2004)

OVARIAN CANCER RISK AFTER THE USE OF OVULATION-STIMULATING DRUGS

L. Brinton, E. Emmet, K. Moghissi, B. Scoccia, M. Althuis,
J. Mabie, C. Westhoff

A retrospective cohort study of 12 193 subjects who were evaluated for infertility during 1965—1988 at 5 clinical sites was undertaken to assess long-term effects of ovulation-stimulating drugs on risk of ovarian cancer. The infertile patients had a significantly elevated ovarian cancer risk compared with the general population (1,98; 95% CI 1,4—2,6). Among the infertile women the rate ratios associated with ever usage were 0,82 (95% CI 0,4—1,5) for clomiphene and 1,09 (95% CI 0,4—2,8) for gonadotropins. Although drug effects did not vary by causes of infertility, there was a slightly higher risk associated with clomiphene use among women who remained nulligravid (1,75; 95% CI 0,5—5,7).

Key words: infertility, ovulation stimulation, ovarian cancer (page 6—14)

MOLECULAR BASIS FOR FETAL OVARY FORMATION AND GAMETE DEVELOPMENT FROM THE STEM CELLS (A REVIEW)

K.Yu. Boyarsky

Molecular mechanisms of fetal ovary development are discussed with focus on appearance, migration and colonization of the urogenital ridges by primary germ cells. The methods of oocytes and spermatozoa receiving from the lines of stem cells are described. Ethical aspects of these new methods are discussed.

Key words: ovary, germ cells, oocyte, spermatozoa (page 15—21)

THE INFLUENCE OF CONTROLLED SUPEROVULATION INDUCTION UPON THYROID FUNCTION

L.L. Bostandjan

Superovulation induction influence upon thyroid function during IVF procedure is investigated. Rise of TSH, T3, T4 and free-T3 serum levels at the day of ET and day + 14 is shown.

Key words: induction of superovulation, IVF, thyroid function (page 22—24)

GRANULOSA CELLS APOPTOSIS AND OOCYTES FERTILIZATION CRITERIA IN IVF-TREATED WOMEN SUFFERING FROM ENDOCRINE INFERTILITY AND ENDOMETRIOSIS

M.V. Yamanova, A.B. Salmina, A.V. Svetlakov, E.A. Pozhilenkova,
S.V. Mikhutkina

The comparative analysis of granulosa cells apoptosis and oocytes fertilization criteria was performed. Granulosa cells and oocytes were collected from IVF-treated patients suffering from endocrine infertility and genital endometriosis. Possible mechanisms of functional incompetence of female gametes are discussed.

Key words: endocrine infertility, endometriosis, granulosa cells apoptosis, secondary necrosis, oocyte quality (page 31—36)

α_2 -MICROGLOBULIN OF FERTILITY (GLYCODELIN-S) AS POSSIBLE IMMUNOSUPPRESSIVE FACTOR

E.A. Kalashnikova, S.N. Kokarovtzeva, M.I. Marshitskaya,
I.I. Stepanova, M.N. Boltovskaya, L.F. Kurilo, E.M. Grishina,
T.M. Sorokina

Several sperm antigens to antibodies associated with infertility and their encoding genes are described. It is proposed that immunologic infertility is the consequence of the combined actions of multiple antisperm antibodies (ASAs) in agglutinating and/or immobilizing spermatozoa, blocking sperm-egg interaction, preventing implantation, and/or arresting embryo development. The biochemical identification of these proteins will be helpful for understanding the mechanisms of ASA impairing both sperm function and fertilization. These proteins may also be used for the creation of reliable methods for ASA detection.

Key words: sperm antigens, antisperm antibodies, immunologic infertility (page 37—41)

CLINICAL POTENTIAL OF DUPHASTON IN PATIENTS WITH PREGNANCY LOSS CAUSED BY ENDOCRINE DISORDERS

R.A. Saidova, Yu.I. Semenova, E.V. Tropynina

Sex steroids level measuring, as well as determination of Prog/E2 and Test/E2 ratio at 5—6 week of pregnancy helps to understand the cause of gestational disorders and choose adequate hormonal therapy. Prog < 70 nmol/l, E2 < 2 nmol/l, Test > 1,5 nmol/l are critical for favorite

pregnancy development, particularly at the 7–8 gestational weeks. Individual hormonal therapy helps to prolong and successfully terminate pregnancy in 97% of women.

Key words: pregnancy loss, progesterone, estradiol, testosterone, hydrogesterone (page 53–58)

BIOCHEMICAL MONITORING OF TISSUE DESTRUCTION PRODUCTS IN CORD BLOOD OF NEWBORNS FROM MOTHERS WITH INFECTIOUS AND INFLAMMATORY DISEASES

V.A. Burlev, I.N. Paskhina, L.P. Ponomareva, N.V. Ordjonikidze, I.I. Lapshina

The results of biochemical monitoring of arterial and venous cord blood of newborns from mothers with infectious diseases during pregnancy are represented.

Key words: tissue destruction products, middle mass peptides, TBA active products, endotoxic index, LDG, HBDG, newborn, intrauterine infection (page 59–65)

THE CAPABILITIES OF ECHOHYSTEROSALPINGOSCOPY IN THE DIAGNOSIS OF FALLOPIAN TUBES POTENCY. PART I: EXAMINATION METHODS

I.A. Ozerskaya, M.A. Belousov, I.G. Bystrova

The article presents comparative data of echohysterosalpingography use in the diagnosis of the infertile patients potency, as well as in assessment of intrauterine pathology and fusion of the minor pelvis. All steps of examination, the types of the catheters used, the indications and contraindications, the limitations of the method are described in detail. The characteristics of the solutions infused, the advantages of anechogenic and hyperechogenic contrast solutions, depending on the “zone of interest”, are stated, forming the basis for application of the dual contrast method.

Key words: echohysterosalpingoscopy (EchoGSS), echogysteroscopy (EchoGS), contrast, infertility, fallopian tubes, uterus cavity (page 66–73)

*Российская ассоциация репродукции человека
Президент В.С. Корсак
Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3
Институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта
Центр "ЭКО"
тел.: (812) 328-2251*

Экстренные ситуации в акушерстве и неонатологии

С 4 по 14 ноября 2004 г. в Санкт-Петербурге проводится сертификационный курс «Экстренные ситуации в акушерстве и неонатологии». Курс организован Санкт-Петербургской Международной школой перинатальной медицины и репродуктивного здоровья совместно с Комитетом здравоохранения Правительства Санкт-Петербурга, Санкт-Петербургским государственным университетом, Восточно-Европейским комитетом по здравоохранению Швеции, Детской городской больницей №1 Санкт-Петербурга. Преподаватели — ведущие специалисты из Санкт-Петербурга и зарубежных стран.

За подробной информацией обращайтесь в Оргкомитет:
www.perinatalmed.ru; тел.: (812) 262 4213; e-mail: info@perinatalmed.ru

Глубокоуважаемые авторы!

Просим Вас обратить внимание на следующий порядок и форму представления рукописей в журнал “Проблемы репродукции”.

Рукописи можно представить непосредственно в редакцию по адресу: 127238 Москва, а/я 54 или по e-mail: ansh@corbina.ru Рукопись должна сопровождаться ясной информацией об отправителе: фамилия, имя, отчество; почтовый адрес (с индексом), тел., факс.

Рукописи подаются в двух экземплярах, на диске или пересылаются по электронной почте: ansh@corbina.ru. Максимальный объем рукописи — 10 машинописных страниц (по 1800 знаков).

Просьба к авторам по возможности соблюдать следующий порядок расположения текста статьи: название на русском и (желательно) на английском языках; фамилии авторов; учреждение(я), в котором(ых) работают авторы; краткое резюме статьи; введение с обоснованием постановки задачи исследования; материал и методы; результаты; обследование; заключение (выводы), краткое резюме и ключевые слова на английском языке; список использованной литературы.

Фотографии к рукописи подписываются с оборотной стороны следующим образом: название статьи, номер рисунка (фото), подпись к фотографии, указание стрелками вверх (↑) и вниз (↓) фотографии.

Рисунки должны иметь номер и подпись под ним.

В библиографии указываются фамилии и инициалы авторов, название цитируемого источника, название и номер периодического издания или монографии, из которого он взят, место и год издания, номера страниц.

Образец: *Folkner D. Movement Characteristics of Sperm. Fertil Steril 1990; 13: 456 — 461.*

Порядковый номер ссылки должен соответствовать порядку его цитирования в тексте. В тексте указывается только порядковый номер цитируемого источника.

В библиографии не должно быть ссылок на собственные или чужие неопубликованные работы, частные письма и мнения.

Редакция просит авторов прилагать к тексту статьи терминологический словарь в том случае, если она содержит редко употребляемые или узкоспециальные термины.

Редакция и издательство не несут ответственности за публикацию материалов из других печатных изданий — это целиком ответственность авторов. Редакция и издательство не несут ответственности за мнения и результаты, изложенные в публикациях, а также за содержание рекламы. Статьи, опубликованные в журнале, не могут быть опубликованы в других печатных изданиях без разрешения издателя.

Просьба указывать ФИО ответственного автора, почтовый адрес и/или e-mail, по которому следует направлять корреспонденцию.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

а-ГнРГ — агонист гонадотропин-рилизинг-гормона
АКТГ — аденокортикотропный гормон
ВРТ — вспомогательные репродуктивные технологии
ГИФТ (GIFT) — перенос гамет в маточные трубы
ГнРГ — гонадотропин-рилизинг-гормон
ДМК — дисфункциональные маточные кровотечения
ЗИФТ (ZIFT) — перенос зигот в маточные трубы
E₂ — эстрадиол
ИКСИ (ICSI) — интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида
ИСМ/ИСД — внутриматочная инсеминация спермой мужа/донора
Корт — кортизол
ЛГ — лютеинизирующий гормон
МЕЗА (MESA) — аспирация сперматозоидов из придатка яичка
ОК — оральные контрацептивы
ПЗД (PZD) — рассечение зоны пеллюцида
ПЕЗА (PESA) — перкутанная аспирация сперматозоидов

СПКЯ — синдром поликистозных яичников
ПРЛ — пролактин
Прог — прогестерон
РИА — радиоиммунологический анализ
СГЯ — синдром гиперстимуляции яичников
СУЗИ (SUZI) — введение сперматозоидов под зону пеллюцида
T₃ — трийодтиронин
T₄ — тироксин
ТЕЗА (TESA) — аспирация сперматозоидов из яичка
Тест — тестостерон
ТТГ — тиреотропный гормон
УЗИ — ультразвуковое исследование
ФСГ — фолликулостимулирующий гормон
ХГ — хорионический гонадотропин
чМГ — человеческий менопаузальный гонадотропин
ЭКО (IVF) — экстракорпоральное оплодотворение
ЭКО и ПЭ (IVF&ET) — экстракорпоральное оплодотворение и перенос эмбриона

Риск развития рака яичников после использования препаратов для стимуляции овуляции*

L. BRINTON, E. EMMET, K. MOGHISSI, B. SCOCCIA, M. ALTHUIS, J. MABIE, C. WESTHOFF

Отделение эпидемиологии и генетики рака Национального института рака; Университет Стэнфорда, США

В ретроспективном когортном исследовании 12 193 женщин, обратившихся по поводу бесплодия в период с 1965 по 1988 г. в 5 клиник США, установлено, что риск развития рака яичников у бесплодных женщин значительно выше, чем в общей популяции (1,98; 95% CI 1,4—2,6). Среди бесплодных женщин риск развития рака у принимавших кломифен составил 0,82 (95% CI 0,4—1,5), у принимавших гонадотропины — 1,09 (95% CI 0,4—2,8). Влияние препаратов не зависело от причины бесплодия, однако риск оказался несколько повышен у незабеременевших женщин (1,75; 95% CI 0,5—5,7).

Ключевые слова: бесплодие, стимуляция овуляции, рак яичников.

Хорошо известно, что у нерожавших женщин повышен риск развития рака яичников [1]. Предполагается, что этот риск частично повышен и у бесплодных женщин, получающих препараты для стимуляции овуляции. Данная связь имеет биологические предпосылки, поскольку «постоянная овуляция» и избыточный уровень гонадотропинов в репродуктивном периоде служат объяснением для ряда известных факторов риска рака яичников, таких, как отсутствие родов и прием пероральных контрацептивов [2—4]. В ряде исследований был выявлен повышенный риск развития рака яичников, связанный с использованием препаратов для стимуляции овуляции [5, 6], однако подобная взаимосвязь была установлена не во всех работах [7—19], что привело к тщательному анализу методологии предыдущих исследований. Ретроспективный характер данных, полученных при анкетировании в исследованиях по типу «случай—контроль», вызвал вопросы относительно значимости выявленного воздействия препаратов. Имеющиеся проспективные исследования сфокусированы на небольшом числе случаев, коротком и неполном наблюдении и отсутствии информации о других прогностических факторах риска развития рака яичников. Кроме того, в большинстве исследований не принимали во внимание показания к назначению препаратов, в особенности ановуляцию, и влияние других причин бесплодия на риск развития рака яичников [5, 20—24].

С целью оценить воздействие применяемых препаратов и причин бесплодия на риск развития рака мы выполнили большое ретроспектив-

ное когортное исследование женщин, лечившихся от бесплодия в 5 специализированных клиниках. Наше исследование имело ряд преимуществ перед предыдущими: детальный анализ медицинских записей (возможность точно классифицировать причину бесплодия и воздействие препарата), длительное наблюдение (в среднем около 20 лет), последующее анкетирование пациенток, позволившее получить информацию о других факторах риска развития рака, выявление и медицинская верификация исходов рака из нескольких источников.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены женщины, обратившиеся по поводу бесплодия в одну из 5 крупных клиник репродуктивной эндокринологии, расположенных в Бостоне (Массачусетс), Нью-Йорке (Нью-Йорк), Чикаго (Иллинойс), Детройте (Мичиган) и Сан-Франциско (Калифорния). Данные клиники были выбраны из-за тщательного ведения и хранения всей документации и большого числа бесплодных пациенток, многие из которых получали большие дозы препаратов для стимуляции овуляции. Изучали истории пациенток, обследованных с 1965 по 1988 г. Исследование было одобрено надзорными комитетами клиник и Национальным институтом рака.

Исследовали медицинскую документацию 12 193 женщин с первичным или вторичным бесплодием, исключая пациенток, обратившихся для восстановления проходимости маточных труб. Используя стандартное программное обеспечение, в компьютер вводили сведения о менструальной и репродуктивной функции, принимае-

*Перевод А.С. Смирновой

мых препаратов (кломифена цитрат, гонадотропины — пергонал или метродин), причине бесплодия (эндометриоз, ановуляция, трубно-перитонеальное, мужской, шеечный или маточный фактор). Каждый случай оценивали как «наблюдалось», «не наблюдалось», «недостаточно информации».

Данные о состоянии здоровья и развитии рака на момент проведения исследования получали путем анкетирования, из канцер-регистров и Национального индекса смертности. Всего 9751 (80%) пациентка была прослежена на протяжении 1 года и более после первого обращения. Отказались участвовать в исследовании и не позволили использовать свою документацию 1319 (10,8%) женщин — о них были включены только описательные сведения (календарный год, возраст при обращении и раса).

Всего выявлено 272 случая заболевания. Информация о развитии рака у живых пациенток была получена из опроса, клинической документации и канцер-регистров. Анкеты рассылали начиная с 1998 г., полностью заполнили анкеты 5597 пациенток. Для большинства из 2347 женщин, не ответивших на запрос, мы провели анализ данных канцер-регистров в областях их возможного проживания.

Медицинская верификация данных анкет проводилась путем запросов о протоколах операции и данных патоморфологического исследования в учреждениях, где обнаружили и/или лечили заболевание. Шесть случаев рака, указанных пациентками, оказались доброкачественными и были исключены. Дополнительная информация была получена из канцер-регистров, Национального института смертности и свидетельств о смерти. Подсчет человеко-лет начинали с момента обращения в клинику и продолжали до постановки диагноза рака, смерти или последней даты, когда было известно, что пациентка жива и не больна раком. Конечной датой исследования считали 31 декабря 1999 г.

Для изучения связи между препаратами, стимулирующими яичники, и риском развития рака яичников мы применили два аналитических подхода с двумя преимущественно перекрывающимися подмножествами подходящей для исследования популяции. Сначала мы определили риск развития рака яичников при приеме различных препаратов, сравнивая частоту развития рака яичников у бесплодных женщин и в популяции США (155 624 человеко-лет). В этот анализ включили пациенток, у которых дата последнего контакта приходилась на период менее 1 года после первого посещения, женщин, которые запретили исследовать свою документацию, и 3 женщин, у которых обнаружили рак яичников в течение

1 года наблюдения, — всего 8429 субъектов. Второй аналитический подход оценивал риск развития рака яичников в зависимости от использованных препаратов в пределах когорты, что позволило провести мультивариантную коррекцию возможных ошибок. В процессе каждого анализа число человеко-лет дополнительно уменьшали в случае удаления обоих яичников. Всего было включено 60 женщин, которым удалили яичники в течение 1 года после первого визита, — осталось 8369 женщин (148 318 человеко-лет). В оба анализа были включены 45 женщин, у которых развился рак яичников, 21 случай был подтвержден данными канцер-регистров или клиник, 10 — свидетельствами о смерти и о 14 случаях было заявлено в анкетах.

Риск развития рака в когорте бесплодных женщин и в популяции женщин США сравнивали с помощью стандартизированных коэффициентов встречаемости и 95% доверительных интервалов (CI). Стандартизированные коэффициенты встречаемости рассчитывали как число наблюдаемых случаев рака, деленное на число ожидаемых случаев, исходя из частот встречаемости на основании возраста, расы и календарного года, доступных благодаря Программе наблюдения, эпидемиологии и конечных исходов. Стандартизированные коэффициенты смертности (СКС) рассчитывали аналогично, используя частоты смертности в США в качестве ожидаемых результатов. В данном анализе пациентки, сведения о которых были получены не из анкет, считались живыми.

Риск развития рака яичников при использовании разных препаратов и 95% CI определяли с помощью регрессионной модели Poisson, используя стандартные методы для коэффициента риска [25]. Коэффициенты встречаемости корректировали в соответствии с возрастом (<40, 40—49, ≥50 лет) и календарным годом наблюдения (до 1980, 1980—1989, 1990 г. и позже). В регрессионную модель также включали такие факторы, как место обследования и причина бесплодия. Кроме того, использовали данные анкетирования для оценки влияния других предрасполагающих факторов (беременность, прием пероральных контрацептивов, образование).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 1 показано распределение всей когорты и пациенток, исключенных из анализа в соответствии с критериями отбора. Медианы для возраста и года первого обследования составили 30 лет и 1978 г. соответственно. Около 80% пациенток были европейской расы. Не обнаружено достоверных различий в возрасте и дате обраще-

Таблица 1. Выборочные демографические показатели женщин, обследованных по поводу бесплодия

Характеристика	Наблюдавшиеся пациентки (n=8429)		Пациентки, исключенные из анализа (n=3764)	
	абс.	%	абс.	%
Календарный год первичного клинического обследования				
до 1970 г.	260	3,1	153	4,1
1970—1974 гг.	1898	22,5	848	22,5
1975—1979 гг.	2908	34,5	1378	36,6
1980—1984 гг.	2516	29,8	1048	27,8
1985—1988 гг.	847	10,1	337	9,0
Возраст при первичном клиническом обследовании:				
до 25 лет	688	8,2	415	11,0
25—29 лет	3314	39,3	1371	36,4
30—34 года	3071	36,4	1301	34,7
35—39 лет	1124	13,3	557	14,8
≥40 лет	232	2,8	117	3,1
неизвестен	0		3	
Раса:				
белая	6658	79,0	2280	60,6
афро-американская	392	4,6	164	4,3
другая	471	5,6	191	5,1
неизвестна	908	10,8	1129	30,0

Таблица 2. Стандартизированные коэффициенты встречаемости, сравнивающие распространенность рака яичников среди бесплодных пациенток и в общей популяции*, суммарные и отдельные для кломифена и гонадотропинов

	Человеко-годы наблюдения	Число выявленных случаев	Число ожидаемых случаев	Стандартизированный коэффициент встречаемости**	95% CI
Все пациентки	155 624	45	22,7	1,98	1,4—2,6
Кломифен когда-либо:					
нет	96 976	30	14,3	2,09	1,4—3,0
да	58 648	15	8,4	1,79	1,0—3,0
Гонадотропины когда-либо:					
нет	140 605	40	20,5	1,95	1,4—2,7
да	15 019	5	2,2	2,26	0,7—5,3

Примечание. * — частота встречаемости рака, основанная на данных Программы наблюдения, эпидемиологии и конечных исходов; ** — число выявленных случаев рака, деленное на число ожидаемых на основании возраста, расы и календарного года по данным Программы наблюдения, эпидемиологии и конечных исходов.

ния между женщинами, включенными и исключенными из исследования, однако у большей части пациенток, исключенных из анализа, отсутствовали сведения о расе. Средняя длительность наблюдения пациенток составила 18,8 года (1—34 года), более 80% женщин наблюдались 15 лет и более.

Установлено, что риск развития рака яичников у бесплодных женщин существенно превышает таковой в общей популяции (стандартизированный коэффициент встречаемости 1,98; 95% CI 1,4—2,6; табл. 2). В целом 3277 (38,4%) обследованных женщин получали кломифен, в то время как только 866 (10,3%) — гонадотропины. Риск

развития рака яичников оказался одинаков для женщин, получавших и не получавших препараты. Стандартизированный коэффициент встречаемости для женщин, не принимавших кломифен, составил 2,09 (95% CI 1,4–3,0), а для принимавших — 1,79 (1,0–3,0). Стандартизированные коэффициенты встречаемости для гонадотропинов оказались сравнимы — 1,95 (1,4–2,7) и 2,26 (0,7–5,3) соответственно.

Всего в исследованной когорте зафиксировано 11 случаев смерти от рака яичников, СКС составил 1,94 (95% CI 0,9–3,5). Не выявлено существенного увеличения смертности среди пациен-

ток, получавших препараты для лечения бесплодия (СКС = 1,42; CI 0,3–4,2 против СКС = 2,25; CI 0,9–4,4 для не принимавших препараты).

С целью оценки влияния препаратов после учета других факторов, которые могли бы влиять на риск развития рака яичников, мы провели последовательный анализ внутренних сравнений для получения скорректированных коэффициентов риска. Распределение факторов риска рака яичников показано в табл. 3. У пациенток, у которых развился рак яичников, беременности в анамнезе на момент первого визита наблюдались реже, чем у остальных женщин. Хотя женщины с

Таблица 3. Распределение демографических и других показателей риска развития рака яичников

Характеристика	Случаи отсутствия рака (n=8324)		Случаи рака (n=45)		p
	абс.	%	абс.	%	
Возраст при первом визите:					0,82
<25 лет	684	8,2	2	4,5	
25–29 лет	3269	39,3	21	46,7	
30–34 года	3037	36,5	15	33,3	
35–39 лет	1106	13,3	6	13,3	
≥40 лет	228	2,7	1	2,2	
Раса:					0,62
белая	6567	88,5	40	93,0	
афро-американская	385	5,2	1	2,3	
другая	466	6,3	2	4,7	
Беременности >0 при первом визите	4803	57,5	19	42,2	0,04*
Причина бесплодия:					
ановуляция ¹	2292	27,6	12	26,7	0,88
эндометриоз	1880	35,8	13	40,6	0,57
трубно-перитонеальное	2938	42,8	16	38,1	0,54
маточный фактор	935	18,6	6	18,8	0,98
шеечный фактор	573	11,4	2	8,7	0,68
мужской фактор	1932	31,8	10	31,3	0,95
Кормление грудью когда-либо ²	2450	73,4	8	80,0	0,64
Прием пероральных контрацептивов ³	5394	85,2	33	91,7	0,27
Семейный анамнез рака яичников ³	96	1,9	0	—	0,49
Гистерэктомия ³	287	3,5	2	4,4	0,11
Перевязка маточных труб ³	644	13,8	3	12,0	0,79
Длительность обучения ³ :					0,31
до старшей школы	517	11,0	5	20,8	—
несколько лет колледжа	1374	29,4	7	29,2	—
выпускник колледжа	1381	29,5	8	33,3	—
дипломный проект	1409	30,1	4	16,7	—

Примечание. Значения p определяли методом χ^2 Пирсона для каждой переменной после исключения пропущенных данных. * — $p < 0,05$; ¹ — причины бесплодия не были взаимоисключающими. Процентные отношения каждой причины бесплодия ограничивались наличием достаточных сведений, на основании которых в каждом случае устанавливали диагноз; ² — среди рожавших женщин; ³ — информация из анкет, полученных у 5597 пациенток.

Таблица 4. Коэффициент риска рака яичников у бесплодных женщин, получавших кломифен или гонадотропины

Характеристика	Человеко-годы наблюдения	Число случаев рака яичников	Коэффициент риска*	95% CI
Кломифен				
Никогда	92 236	30	1,00	
Когда-либо	56 082	15	0,82	0,4–1,5
Доза, мг				
1–900	19 501	6	0,94	0,4–2,3
901–2250	17 532	4	0,71	0,2–2,0
≥2251	19 049	5	0,80	0,3–2,1
Циклы:				
<6	36 298	10	0,85	0,4–1,7
6–11	13 621	2	0,44	0,1–1,9
≥12	6163	3	1,54	0,5–5,1
Время с момента первого приема:				
<15 лет	38 752	9	0,47	0,2–1,2
≥15 лет	13 139	5	1,48	0,7–3,2
Неизвестно		1		
Гонадотропины				
Никогда	133 680	40	1,00	
Когда-либо	14 638	5	1,09	0,4–2,8
Доза, ампулы ¹				
1–24	4861	2	1,36	0,3–5,7
≥25	9777	3	0,96	0,3–3,1
Циклы:				
1–2	6892	2	0,95	0,2–3,9
≥3	7746	3	1,21	0,4–3,9
Время с момента первого приема:				
<15 лет	11 015	2	0,67	0,2–2,8
≥15 лет	2746	3	2,46	0,7–8,3
Сочетание кломифена с гонадотропинами				
Никогда	89 677	29	1,00	
Только кломифен	44 003	11	0,78	0,4–1,6
Только гонадотропины	2559	1	1,16	0,1–8,2
Оба препарата	12 079	4	1,02	0,3–2,8

Примечание. * — с поправкой на возраст во время наблюдения, календарное время, место исследования и беременности в анамнезе при первом визите; ¹ — каждая ампула пергонала или хумегона содержит 75 МЕ ФСГ и 75 МЕ ЛГ, каждая ампула метродина содержит 75 МЕ ФСГ.

выявленным раком яичников чаще принимали пероральные контрацептивы, имели эндометриоз и были менее образованны, эти различия оказались статистически незначимы. Распределение других известных факторов риска, включая грудное вскармливание, перевязку маточных труб и гистерэктомию, существенно не различалось между двумя группами.

Несмотря на вышеперечисленные различия, беременность в целом оказалась единственным фактором, влияющим в какой-либо степени на риск, связанный с применением препаратов. После корректировки с учетом этого фактора, а также возраста во время наблюдения, календарной даты и места исследования коэффициент риска, связанный с приемом кломифена, соста-

вил 0,82 (95% CI 0,4—1,5; табл. 4). Дозы препаратов не влияли на риск, однако отмечено незначительное повышение риска у женщин, получивших 12 циклов и более (коэффициент риска 1,54, 95% CI 0,5—1,5), а также наблюдавшихся 15 лет и более (коэффициент риска 1,48, 95% CI 0,7—3,2). Оба этих фактора риска, однако, базировались на нескольких случаях рака (3 и 5 соответственно). Коэффициент риска при приеме гонадотропинов составил 1,09 (95% CI 0,4—2,8). Несмотря на то, что мы не обнаружили тенденции к изменению риска в зависимости от дозы или числа циклов, данный анализ был ограничен тем фактом, что только у 5 женщин, получавших гонадотропины, развился рак яичников. Повышение риска у женщин, получавших гонадотропины 15 лет назад и более, базировалось на 3 случаях рака (коэффициент риска 2,46, 95% CI 0,7—8,3). Риск развития рака у пациенток, получавших и кломифен, и гонадотропины, не отличался от такового у женщин, не получавших ни один из препаратов (коэффициент риска 1,02).

Дальнейший анализ был сфокусирован на изучении связи риска при приеме кломифена с другими факторами риска рака яичников (табл. 5). Риск развития рака после приема кломифена был

повышен у пациенток, которые никогда не беременели (коэффициент риска 1,75, 95% CI 0,5—5,7 на основании 6 случаев рака), по сравнению с женщинами, у которых были беременности (коэффициент риска 0,77), однако эти различия недостоверны. Несмотря на некоторые различия в риске приема кломифена при разных факторах бесплодия, сам по себе риск оказался незначителен. Не выявлено случаев рака у получавших кломифен женщин с семейным анамнезом рака яичников. Также не обнаружено связи между риском, связанным с приемом гонадотропинов, и другими факторами риска.

Учитывая, что сведения о раке яичников поступали из разных источников, был проведен дополнительный анализ влияния источника информации на полученные коэффициенты риска, который не выявил существенных различий. При дополнительном анализе 6 случаев пограничных опухолей яичников у пациенток, принимавших кломифен, коэффициент риска оказался таким же (0,73, 95% CI 0,4—1,4). Гистологическое исследование 20 случаев выявило преобладание эпителиального рака и только 1 случай гранулезоклеточного рака.

Таблица 5. Коэффициенты риска рака яичников у бесплодных женщин, когда-либо принимавших или не принимавших кломифен, и их связь с другими факторами риска

Характеристика	Человеко-годы наблюдения*	Число случаев рака	Коэффициент риска ¹	95% CI
Возраст в конце наблюдения:				
<40 лет	41 441	2	0,40	0,1—1,9
40—49 лет	24 663	10	0,97	0,4—2,1
≥50 лет	5318	3	1,06	0,3—4,3
Беременности во время наблюдения²:				
нет	7327	6	1,75	0,5—5,7
да	41 122	8	0,77	0,3—1,8
Причина бесплодия³:				
эндометриоз	14 536	4	0,54	0,2—1,8
ановуляция	22 310	6	1,02	0,3—2,9
трубно-перитонеальный фактор	17 939	4	0,60	0,2—1,9
маточный фактор	5742	1	0,31	0,0—2,7
шеечный фактор	5376	2	Нет случаев рака в группе сравнения	
мужской фактор	13 029	3	0,72	0,2—2,8
Использование пероральных контрацептивов когда-либо²:				
нет	6702	0	—	
да	38 079	13	1,00	0,5—2,0

Примечание. * — среди принимавших кломифен; ¹ — с поправкой на возраст и календарное время; ² — информация из анкет, полученных от 5597 пациенток; ³ — причины бесплодия не были взаимоисключающими.

Ретроспективный характер исследования не позволил получить полную информацию обо всех пациентках, однако анализ ограниченной когорты пациенток с полностью заполненными анкетами и медицинской верификацией диагноза не выявил существенных различий: например, коэффициент риска для кломифена составил 0,78 (95% CI 0,4—1,5).

ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на то, что по сравнению с другими исследованиями, в которых была выявлена тесная связь между приемом препаратов для лечения бесплодия и раком яичников, результаты нашего исследования оказались в целом обнадеживающими, некоторые из них диктуют необходимость проведения дальнейшего мониторинга, поскольку большинство обследованных пациенток только достигли возраста, когда обычно развивается рак яичников. Обращает на себя внимание незначительное повышение риска развития рака яичников у женщин, получавших кломифен или гонадотропины 15 лет назад и более, которое, однако, базировалось на небольшом числе наблюдений.

Хотя в большинстве предыдущих исследований не смогли подтвердить связь между приемом препаратов для стимуляции овуляции и риском развития рака яичников [7—19], многие из них имели ряд методологических недостатков. Проспективные исследования [5, 7, 10, 11, 15, 16, 18, 19] были ограничены небольшим числом случаев рака яичников (минимум 2, максимум 15) и не содержали сведения о причине бесплодия и других независимых факторах риска. Кроме того, в большинстве исследований отсутствовала группа сравнения, и не исключали пациенток, перенесших двустороннюю оофорэктомию. Исследования случай—контроль [6, 9, 12—14, 17], имеющие преимущество в виде большого числа наблюдений, основывались на субъективных сведениях об использовании препаратов и могли быть подвержены систематическим ошибкам [26, 27].

Заслуживают внимания 2 исследования влияния препаратов для стимуляции овуляции на риск развития рака яичников: ретроспективное когортное исследование, выполненное М. Rossing и соавт. [5], и мета-анализ 12 исследований случай—контроль, проведенный А. Whittemore и соавт. [6].

М. Rossing и соавт. обследовали 3837 женщин, получавших кломифен в период с 1974 по 1985 г., и на основании 9 случаев рака обнаружили повышение риска развития рака яичников в 2,3 раза (95% CI 0,5—11,4). Прием препарата менее 1 года не приводил к повышению риска, однако 5 из 9

женщин получали кломифен более 12 циклов, при этом относительный риск составил 11,1 (95% CI 1,5—82,3). Большая часть опухолей были пограничными, также было установлено, что риск приема кломифена выше у женщин без явных проблем с овуляцией.

Интерпретация результатов 12 исследований случай—контроль, проведенная А. Whittemore и соавт., осложнилась отсутствием сведений о виде препаратов и длительности их использования. Риск оказался небольшим у беременевших женщин (коэффициент риска 1,4; 95% CI 0,5—3,6) и был существенно повышен у небеременевших (коэффициент риска 27; 95% CI 2,3—315,6). Результаты были подвергнуты тщательной перепроверке в отношении точности информации о воздействии препаратов (J. Caro, C. Johanees, S. Hartz, R. Marrs, O.R. Miettinen: “Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 U.S. case-control studies. II. Invasive epithelial ovarian cancers in white women” [letter]. *Am J Epidemiol* 1993; 137: 928—929; S. Shapiro. “Risk of ovarian cancer after treatment for infertility” [letter]. *N Engl J Med* 1995; 332: 1301).

В противоположность результатам исследований М. Rossing и А. Whittemore, наши данные обнадеживают. Так, мы обнаружили, что прием кломифена или гонадотропинов никак не связан с повышением риска. Учитывая данные предыдущих исследований о повышении риска при длительном использовании препарата и у небеременевших женщин, мы провели соответствующий анализ и обнаружили повышение риска при приеме кломифена более 12 циклов (или наблюдении 15 лет и более) и у женщин, у которых беременность так и не наступила (коэффициент риска 1,5—1,7). Однако эти наблюдения основывались на нескольких случаях рака и были статистически незначимы. Несмотря на невозможность полностью исключить влияние препаратов на риск развития рака яичников в выборочных подгруппах пациенток, полученные нами результаты не подтверждают данные других исследователей о существенном (в 11—27 раз) повышении этого риска. Тем не менее требуется проведение дальнейших исследований.

Как было отмечено, в исследовании М. Rossing и соавт. обнаружено повышение риска развития пограничных опухолей яичников при использовании препаратов для стимуляции овуляции. Этот факт был установлен также в ряде других исследований [17, 28] и мета-анализов [13, 29], проведенных по типу случай—контроль. В одной из работ это наблюдение относилось только к небеременевшим женщинам [13], в другой — к приему гонадотропинов [17]. Эти сведения, а также описание случая о развитии рака яичников у

женщины при приеме стимуляторов роста фолликулов (J. Dietl. "Ovulation and ovarian cancer" [letter]. *Lancet* 1991; 338: 445) [30—37] привели к предположению, что стимуляция яичников может вызвать развитие высококодифференцированных бессимптомных опухолей. С другой стороны, полученные данные могут свидетельствовать о более пристальном наблюдении за женщинами с бесплодием. Несмотря на то, что наши возможности в оценке влияния препаратов на риск развития пограничных опухолей ограничены их редкой встречаемостью (мы наблюдали только 6 случаев), мы не выявили ничего необычного в распределении этих опухолей среди большого числа обследованных женщин.

Несмотря на множество достоинств, наше исследование было не лишено некоторых заметных недостатков. Общее число случаев рака яичников (45) было больше, чем в других исследованиях, но все-таки невелико. Из-за ретроспективного характера исследования мы не смогли выяснить местонахождение 20% женщин, а из тех, кого мы нашли, 41% не заполнили анкеты. Таким образом, на наши результаты могли повлиять систематические ошибки, связанные с отбором пациенток. Тем не менее при проведении анализа мы их не обнаружили. У женщин, полностью заполнивших анкеты, поправка на причину бесплодия не повлияла на риск, связанный с приемом препарата. Информация об использованных препаратах по сравнению с дру-

гими исследованиями была более полной, но не оптимальной. Мы не знали о дальнейшем приеме препаратов женщинами, не заполнившими анкеты. Наконец, схемы введения и дозы препаратов во многих случаях существенно различались от используемых в настоящее время (включая ЭКО). В то же время сведения о женщинах, принимавших препараты в 1965—1988 гг., включали информацию о пациентках, впоследствии воспользовавшихся ВРТ. До сих пор не обнаружено повышение риска развития рака яичников у женщин, которые в более раннее время длительно получали очень высокие дозы кломифена.

Наши результаты не подтвердили тесную связь между приемом препаратов для лечения бесплодия и риском развития рака яичников. Несмотря на то, что исходя из стандартизированных коэффициентов риска, полученных в нашем исследовании, ясно, что риск развития рака яичников у бесплодных женщин выше, чем в общей популяции, мы хотим подчеркнуть важность других характеристик бесплодных пациенток в оценке влияния препаратов. Таким образом, прием кломифена и/или гонадотропинов не оказывает отрицательного влияния на риск развития рака яичников у бесплодных пациенток. Однако наше исследование не позволяет исключить вероятность незначительного повышения риска в определенных подгруппах женщин, что требует проведения дополнительных исследований для изучения отдаленных результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Risch H.A., Marrett L.D., Howe G.R. Parity, contraception, infertility, and the risk of epithelial ovarian cancer. *Am J Epidemiol* 1994; 140: 585—597.
2. Cramer D.W., Welch W.R. Determinants of ovarian cancer risk. II. Inferences regarding pathogenesis. *J Natl Cancer Inst* 1983; 71: 717—721.
3. Fathalla M.F. Incessant ovulation: a factor in ovarian neoplasia? *Lancet* 1971; 2: 163.
4. Whittemore A.S., Harris R., Itnyre J. Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 U.S. case-control studies. IV. The pathogenesis of epithelial ovarian cancer. Collaborative Ovarian Cancer Group. *Am J Epidemiol* 1992; 136: 1212—1220.
5. Rossing M.A., Daling J.R., Weiss N.S., Moore D.E., Self S.G. Ovarian tumors in a cohort of infertile women. *N Engl J Med* 1994; 331: 771—776.
6. Whittemore A.S., Harris R., Itnyre J. for the Collaborative Ovarian Cancer Group. Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 U.S. case-control studies. II. Invasive epithelial ovarian cancers in white women. *Am J Epidemiol* 1992; 136: 1184—1203.
7. Dor J., Lerner-Geva L., Rabinovici J., Chetrit A., Levran D., Lunenfeld B. et al. Cancer incidence in a cohort of infertile women who underwent in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2002; 77: 324—327.
8. Doyle P., Maconochie N., Beral V., Swerdlow A.J., Tan S.L. Cancer incidence following treatment for infertility at a clinic in the UK. *Hum Reprod* 2002; 17: 2209—2213.
9. Franceschi S., La Vecchia C., Negri E., Guarneri S., Montella M., Conti E. et al. Fertility drugs and risk of epithelial ovarian cancer in Italy. *Hum Reprod* 1994; 9: 1673—1675.
10. Klip H., Burger C.W., van Leeuwen F.E. for the OMEGA Project Group. Risk of hormone-related cancers after ovarian stimulation for in-vitro fertilisation in a cohort of 25,152 women. Enschede, the Netherlands: PrintPartners Ipskamp BV; 2002; 55—82.
11. Modan B., Ron E., Lerner-Geva L., Blumstein T., Mencerz J., Rabinovici J. et al. Cancer incidence in a cohort of infertile women. *Am J Epidemiol* 1998; 147: 1038—1042.
12. Mosgaard B.J., Lidegaard O., Kjaer S.K., Schou G., Anderson A.N. Infertility, fertility drugs, and invasive ovarian cancer: a case-control study. *Fertil Steril* 1997; 67: 1005—1012.
13. Ness R.B., Cramer D.W., Goodman M.T., Kjaer S.K., Mallin K., Mosgaard B.J. et al. Infertility, fertility drugs, and ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. *Am J Epidemiol* 2002; 155: 217—224.
14. Parazzini F., Negri E., La Vecchia C., Moroni S., Franceschi S., Crosignani P.G. Treatment for infertility and risk of invasive epithelial ovarian cancer. *Hum Reprod* 1997; 12: 2159—2161.
15. Potashnik G., Lerner-Geva L., Genkin L., Chetrit A., Lunenfeld B., Porath A. Fertility drugs and the risk of breast and ovarian

- cancers: results of a long-term follow-up study. *Fertil Steril* 1999; 71: 853—859.
16. Ron E., Lunenfeld B., Menczer J., Blumstein T., Katz L., Oelsner G. et al. Cancer incidence in a cohort of infertile women. *Am J Epidemiol* 1987; 125: 780—790.
 17. Shushan A., Paltiel O., Iscovich J., Elchalal U., Peretz T., Schenker J.G. Human menopausal gonadotropin and the risk of epithelial ovarian cancer. *Fertil Steril* 1996; 65: 13—18.
 18. Venn A., Watson L., Lumley J., Giles G., King C., Healy D. Breast and ovarian cancer incidence after infertility and in vitro fertilisation. *Lancet* 1995; 346: 995—1000.
 19. Venn A., Watson L., Bruinsma F., Giles G., Healy D. Risk of cancer after use of fertility drugs with in vitro fertilisation. *Lancet* 1999; 354: 1586—1590.
 20. Brinton L.A., Gridley G., Persson I., Baron J., Bergqvist A. Cancer risk after a hospital discharge diagnosis of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176: 572—579.
 21. Ness R.B., Grisso J.A., Cotreau C., Klapper J., Vergona R., Wheeler J.E. et al. Factors related to inflammation of the ovarian epithelium and risk of ovarian cancer. *Epidemiology* 2000; 11: 111—117.
 22. Ness R.B. Endometriosis and ovarian cancer: thoughts on shared pathophysiology. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189: 289—294.
 23. Risch H.A., Howe G.R. Pelvic inflammatory disease and the risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; 4: 447—451.
 24. Schildkraut J.M., Schwingl P.J., Bastos E., Evanoff A., Hughes C. Epithelial ovarian cancer risk among women with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 554—559.
 25. Breslow N.E., Day N.E. The design and analysis of cohort studies. *Statistical methods in cancer research*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer 1987; 2.
 26. Glud E., Kjaer S.K., Troisi R., Brinton L.A. Fertility drugs and ovarian cancer. *Epidemiol Rev* 1998; 20: 237—257.
 27. Klip H., Burger C.W., Kenemans P., van Leeuwen F.E. Cancer risk associated with subfertility and ovulation induction: a review. *Cancer Causes Control* 2000; 11: 319—344.
 28. Parazzini F., Negri E., La Vecchia C., Moroni S., Polatti A., Chiffarino F. et al. Treatment for fertility and risk of ovarian tumors of borderline malignancy. *Gynecol Oncol* 1998; 68: 226—228.
 29. Harris R., Whittemore A.S., Ityrye J. Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 U.S. studies. III. Epithelial tumors of low malignant potential in white women. Collaborative Ovarian Cancer Group. *Am J Epidemiol* 1992; 136: 1204—1211.
 30. Atlas M., Menczer J. Massive hyperstimulation and borderline carcinoma of the ovary. A possible association. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1982; 61: 261—263.
 31. Balasch J., Pahisa J., Marquez M., Ordi J., Fabregues F., Puerto B. et al. Metastatic ovarian strumosis in an in vitro fertilization patient. *Hum Reprod* 1993; 8: 2075—2077.
 32. Bamford P.N., Steele S.J. Uterine and ovarian carcinoma in a patient receiving gonadotrophin therapy. *Br J Obstet Gynaecol* 1982; 89: 962—964.
 33. Ben-Hur H., Dgani R., Lancet M., Katz Z., Nissim F., Rosenman D. Ovarian cancer masquerading as ovarian hyperstimulation syndrome. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1986; 65: 813—814.
 34. Carter M.E., Joyce D.N. Ovarian carcinoma in a patient hyperstimulated by gonadotropin therapy for in vitro fertilization: a case report. *J In Vitro Fertil Embryo Transf* 1987; 4: 126—128.
 35. Fishel S., Jackson P. Follicular stimulation for high tech pregnancies: are we playing it safe? *BMJ* 1989; 299: 309—311.
 36. Goldberg G.L., Runowicz C.D. Ovarian carcinoma of low malignant potential, infertility, and induction of ovulation: is there a link? *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 853—854.
 37. Willemsen W., Kruitwagen R., Bastiaans B., Hanselaar T., Roland R. Ovarian stimulation and granulosa-cell tumor. *Lancet* 1993; 341: 986—988.

VI Международный симпозиум по преимплантационной генетике

состоится 19—22 мая 2005 г. в Лондоне, конференц-центре королевы Елизаветы II. Событие приурочено к празднику, который посвящен миллионам детей, родившимся после ЭКО, и тысячам детей, родившимся после ПГД.

На праздник, который будет проходить под патронажем королевы Елизаветы II, приглашаются дети, родившиеся после ЭКО, и их родители.

Контактный тел.: +1 (773) 472 4900, +1 (773) 871 5221, e-mail: rgi@flash.net

Заказ на книгу Э.М. Китаева «Из истории развития программы ЭКО в России» можно сделать по адресу: 197706 Санкт-Петербург, Сестрорецк, ул. М. Горького, 2 или по e-mail: kitaev@bihr.ru

Молекулярные основы формирования фетального яичника и получение гамет из стволовых клеток (обзор литературы)

К.Ю. БОЯРСКИЙ

Центр планирования семьи Пушкинского района Санкт-Петербурга

Освещены молекулярно-биологические механизмы формирования фетального яичника. Особое внимание уделено этапам возникновения, миграции и колонизации уrogenитальных гребешков первичными половыми клетками. Описаны методики получения ооцитов и сперматозоидов из линий стволовых клеток. Обсуждены морально-этические проблемы применения данных методик.

Ключевые слова: формирование фетального яичника, молекулярные механизмы, стволовые клетки, искусственные гаметы.

Формирование фетальных гонад (яичников и яичек) у человека и других млекопитающих включает возникновение, миграцию и колонизацию гонад первичными половыми клетками (ППК) [1]. В последние годы механизмы данного процесса были значительно дополнены молекулярно-биологическими исследованиями. В настоящем обзоре основное внимание уделяется особенностям формирования фетального яичника, формирование фетальных яичек будет рассмотрено лишь в сравнительном аспекте.

Из классических эмбриологических представлений известно, что ППК возникают далеко от места закладки первичных гонад и попадают в них после длительной миграции. В первичных гонадах половые клетки активно размножаются путем митоза и формируют фолликулы или сперматогонии после сложного взаимодействия самих половых клеток и соматических элементов уrogenитальных гребешков (мезадермальных клеток и покрывающего их целомического эпителия).

Исследования на мышах, проведенные в середине 90-х годов XX века, показали, что источником ППК у млекопитающих являются клетки эпибласта, и первичная специализация ППК происходит во время гастрюляции [30].

У человека наиболее рано ППК были обнаружены на стадии 16—32 сомитов среди клеток внезародышевой эндодермы желточного мешка. Морфологически присутствие ППК определялось по высокой активности в них фермента щелочной фосфатазы [1].

Современные молекулярно-биологические исследования показали, что характерной чертой ППК высших млекопитающих и человека является также экспрессия гена *OCT-4*, отвечающего за тотипотентность (свойство клетки дифференцироваться в любые ткани в организме). *OCT-4*

экспрессируется в зрелых ооцитах, делящихся эмбрионах до стадии морулы, однако первая же специализация клеток в бластоцисте — формирование трофобласта, вызывает исчезновение экспрессии *OCT-4* в клетках последнего, тогда как в клетках внутренней клеточной массы экспрессия данного гена сохраняется [2].

Ко времени возникновения ППК в эндодерме желточного мешка (7—8-я неделя беременности) экспрессия *OCT-4* определяется фактически только в этих клетках и является их маркером. Следует отметить, что в яичниках ген *OCT-4* определяется в половых клетках до начала вхождения их в митоз, т.е. все время присутствия оогоний, тогда как в яичках экспрессия данного гена в сперматогониях сохраняется фактически до взрослого состояния [3].

Пусковым моментом в специализации ППК является выделение клетками внезародышевой эндодермы и эктодермы специфических факторов *Bmp2*, *Bmp4* и *Bmp8b*, членов суперсемейства трансформирующего фактора роста- β . Воздействие этих трех факторов на клетки-предшественники ППК приводит к активации факторов *Smad-1* и *Smad-5*, которые стимулируют экспрессию генов, отвечающих за специализацию в половые клетки [4, 5] (рис. 1).

Другим маркером ранних половых клеток является *c-kit*, тирозинкиназовый рецептор, играющий важную роль в образовании, миграции и колонизации гонад ППК. Комплекс *c-kit* рецептор—лиганд определяется в клетках Сертоли, а также в клетках гранулезы на всех этапах развития фолликула, что может свидетельствовать о значимости этого фактора во взаимодействии ооцит—гранулеза. Несомненна роль данного фактора в выживании ППК во время их миграции по дорсальной брыжейке задней кишки эмбрио-

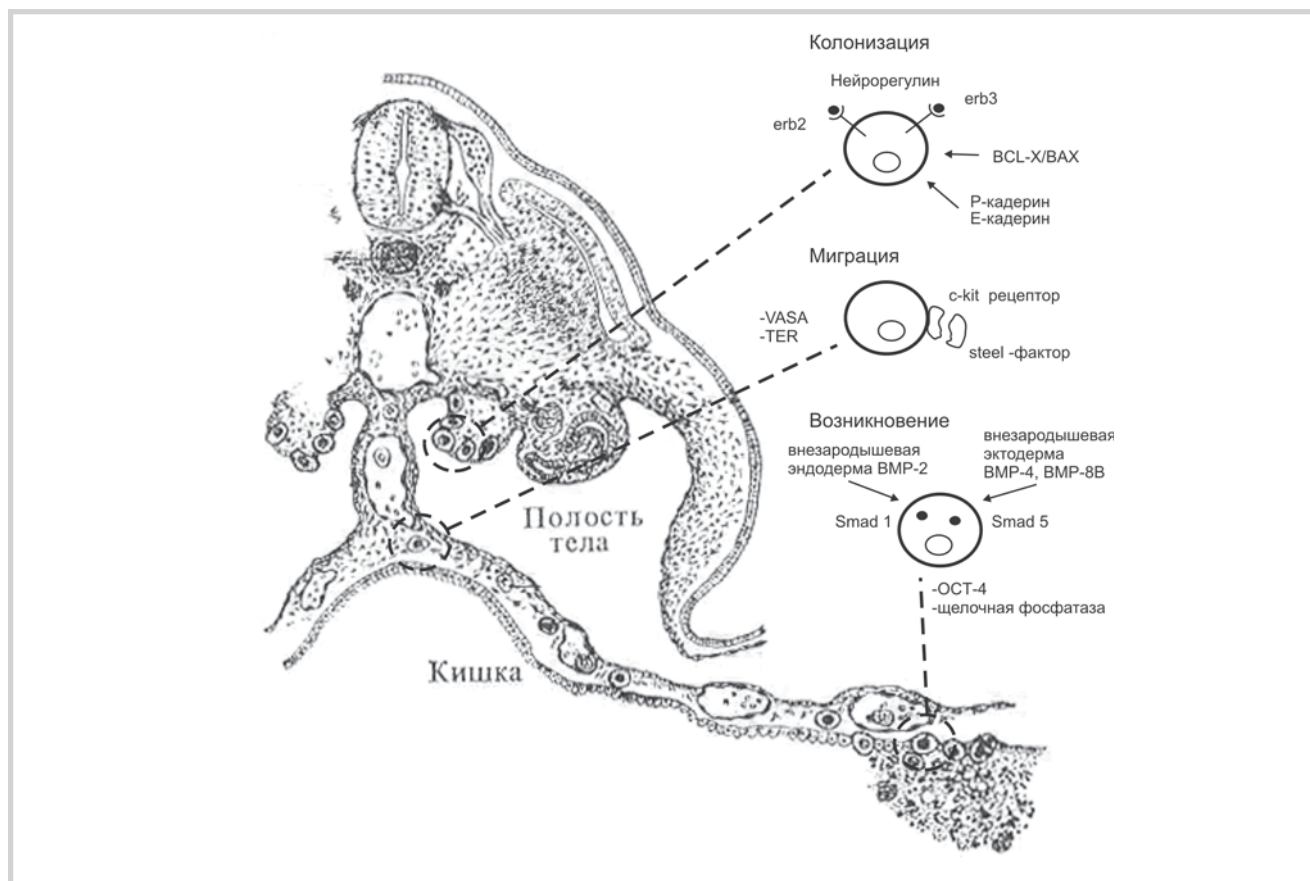


Рис. 1. Молекулярно-биологические факторы, влияющие на возникновение ППК, их миграцию и колонизацию уrogenитальных гребешков.

Гистологический рисунок воспроизведен из книги: Б. Карлсон Основы эмбриологии по Пэттену [1].

на. Также следует отметить, что во время миграции происходит значительное увеличение числа ППК, делящихся путем митоза, и этот процесс также находится под контролем экспрессии *c-kit* рецептора и взаимодействия его с лигандом, так называемым *steel* фактором [6, 7] (см. рис. 1).

ППК, не попавшие в формирующиеся гонады, обычно гибнут, однако высказывалось предположение, что из них могут образовываться тератомы и дермоидные кисты, которые часто содержат участки высокодифференцированных тканей, в том числе зубы и волосы. Был обнаружен ген *TER*, мутация в котором вызывает у мышей уменьшение числа ППК и увеличение числа тестикулярных тератом [8].

Колонизация ППК уrogenитальных гребешков с образованием первичных гонад является важнейшим этапом в становлении репродуктивной функции. ППК впервые появляются в гонадах человека на 5–6-й неделе после оплодотворения, мейотический процесс и формирование первых фолликулов начинается в яичниках на 8-й неделе. В последнее время процесс колонизации был подробно изучен на мышинной модели. Вы-

яснилось, что в ППК, колонизирующих уrogenитальные гребешки мыши, идет активная экспрессия генов *ErbB2* и *ErbB3*, являющихся тирозинкиназными рецепторами. В то же время в соматических клетках формирующихся гонад идет активная экспрессия белка нейрорегулина-бета, лиганда к рецепторам *ErbB2* и *ErbB3*. Показано, что нейрорегулин-бета является важным фактором деления ППК в культуре [9]. Другим важным регулятором ППК во время миграции и колонизации гонад является ген *vasa*, экспрессия которого отмечается в ППК человека во время миграции и колонизации гонад [10] (см. рис. 1).

Появившись в формирующихся яичниках примерно на 5–6-й неделе после оплодотворения (7–8-я неделя беременности), ППК быстро увеличиваются в числе, достигая максимума к 20-й неделе после оплодотворения. При этом происходит образование ППК синцития — плотного конгломерата клеток, у которых отмечается неполное завершение процесса деления и резко уменьшена функция плазматической мембраны. По сути, синцитий представляет собой одну многоядерную клетку с объединенными органелла-

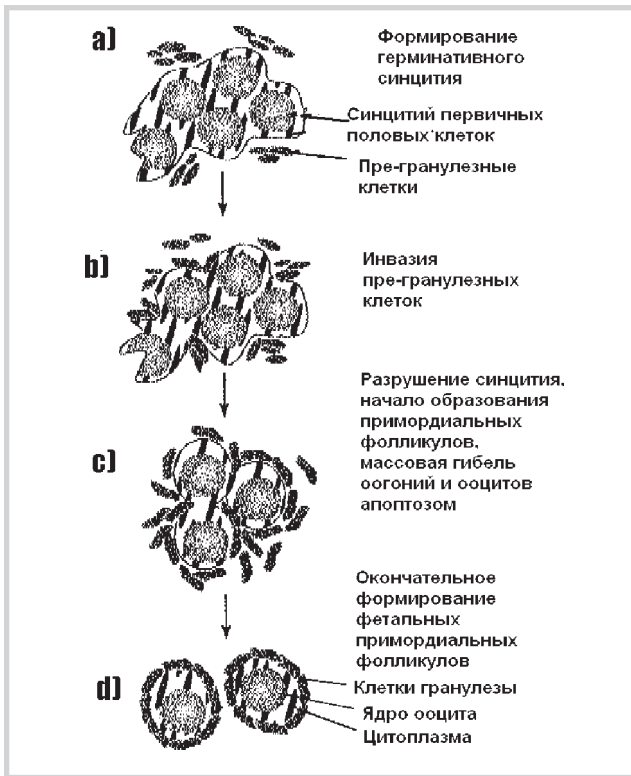


Рис. 2. Формирование фолликулов в фетальных яичниках.

Рисунок воспроизведен с изменениями из О. Epifano, J. Dean [3].

ми. В последнее время появились данные, что образование синцития играет важную роль в будущей судьбе формирующихся ооцитов [3] (рис. 2).

Важнейшей функцией ранних половых клеток, в первую очередь оогониев, является функция увеличения числа митохондрий, репликация в них митохондриальной ДНК и происходящая в них рекомбинация.

Дело в том, что митохондрии у человека и других млекопитающих происходят из ооцитов, в то время как митохондрии сперматозоида не наследуются. Кольцевая ДНК митохондрий кодирует небольшое число генов, экспрессия которых обеспечивает жизненно важные функции в метаболизме клетки и в первую очередь в так называемой дыхательной цепи. Геном митохондрий крайне консервативен филогенетически, и учитывая сложность репарационных процессов в митохондриальной ДНК, можно с уверенностью сказать, что рекомбинантные процессы, происходящие в оогониях и ооцитах, играют принципиальную роль в дальнейшем функционировании митохондрий не только в половых клетках, но и в образующемся после оплодотворения ооцита эмбрионе и во всем взрослом организме. Интересно отметить, что число митохондрий на половую клетку резко возрастает по мере формиро-

вания яичника. Если в ППК, определяемых среди клеток желточного мешка, в среднем приходится менее десятка митохондрий на клетку, в оогониях — порядка 500 митохондрий на клетку, то в сформировавшемся фетальном ооците, находящемся на стадии диплотены, — до 5000 митохондрий на клетку [11].

Сформулирована теория, что именно число и качество митохондрий в ооците определяют селекцию доминантного фолликула. На микроинъекции цитоплазмы из донорского ооцита в ооциты пациенток основана терапия с целью попытки преодолеть плохое качество ооцитов женщин, у которых в анамнезе было несколько неудачных попыток ЭКО или возраст которых старше 40 лет [12].

Как говорилось выше, синцитий образуется примерно на 6-й неделе после оплодотворения. Примерно к 9—10-й неделе начинается процесс взаимодействия соматических клеток формирующихся яичников и синцития оогониев. Согласно эмбриологическим данным, предшественником клеток Сертоли и гранулезы являются клетки целомического эпителия, покрывающего формирующиеся гонады [13], в то время как предшественником клеток теки и клеток Лейдига служат клетки, имеющие мезодермальное происхождение [3]. Взаимодействие синцития и соматических клеток приводит к деградации синцития, массовой гибели оогониев и началу формирования фолликулярных структур (см. рис. 2). Примерно к 20-й неделе развития относится максимальное увеличение числа половых клеток — до 7 млн, после чего оно последовательно уменьшается вплоть до менопаузы.

Процесс уменьшения числа оогониев сопровождается процессом апоптоза (программируемой клеточной гибелью). Апоптоз в ППК регулируется сложным взаимодействием факторов, составляющих так называемое *Bcl-2* семейство. Один из членов этого семейства — *Bcl-x*, фактор выживания клетки, имеет противоапоптотическое действие, тогда как *Bax* является фактором, запускающим процесс апоптоза (см. рис. 1) [14]. Тонкое взаимодействие этих двух факторов позволяет регулировать митотические деления оогониев и число фолликулов в яичниках [15]. Исследования показали, что апоптоз в фетальных яичниках в основном локализован в формирующихся ооцитах, и этот процесс наиболее выражен с 14-й по 28-ю неделю после оплодотворения. Экспрессия гена *Bcl* обнаружена в яичниках только с 13-й по 14-ю неделю развития, тогда как экспрессия гена *Bax* наблюдается во все время фетального развития яичника [16]. Мыши, дефектные по гену *Bax*, имеют большее число фолликулов при рождении и в течение жизни, чем дикий штамм [17].

Также следует отметить принципиальное различие апоптотических процессов у человека в фетальных яичниках и после рождения. Выяснилось, что в фетальных яичниках апоптотический процесс затрагивает в основном оогонии и ооциты, в то же время после рождения и во взрослом организме апоптотический процесс в яичниках протекает в основном в клетках гранулезы [16].

Другим важнейшим процессом является дифференцировка гонад в яичники или яички. В образовании уrogenитальных гребешков (предшественников гонад) важнейшую роль играет экспрессия генов *Wt1* (ген опухоли Вильямса 1) и *Sf1* (ген фактора стероидогенеза 1) (рис. 3). При отсутствии экспрессии этих генов формирования гонад не происходит на стадии уrogenитальных гребешков [3]. Формирование гонад по мужскому типу начинается с экспрессии гена *Sry* в фетальных клетках Сертоли примерно с 9-й недели развития. При отсутствии экспрессии гена *Sry* развитие гонады идет по женскому типу [18]. Кроме гена, отвечающего за развитие по мужскому типу, найдены гены, отвечающие за развитие по женскому типу. Повышенная экспрессия гена *Dax1* вызывает развитие мышины эмбрионов с кариотипом XY по женскому типу, в то время как блокирование экспрессии гена *Wnt4* ведет к маскулинизации эмбрионов с генотипом XX [19, 20]. Также недавно было выяснено, что *Wnt4* необходим для поддержания деления линии жен-

ских ППК и для супрессии дифференцировки предшественников клеток Лейдига (см. рис. 3).

Не менее важна роль ооцита в формировании фолликула. При отсутствии ооцитов соматические клетки гонады приобретают морфологические признаки клеток Сертоли [3]. Недавно был обнаружен фактор, запускающий процесс формирования блестящей оболочки (*zona pellucida*) в примордиальных фетальных фолликулах (**FIG** — factor in germline, фактор линии половых клеток). У мышей, мутантных по данному гену, отсутствуют фолликулы в яичниках, тогда как мужские особи фертильны [21] (см. рис. 3). Экспрессия ооцитом факторов роста и дифференцировки — *CDF9* и *BMP15*, необходима для начала пролиферации клеток гранулезы, в то же время продукция клетками гранулезы антимюллерова гормона необходима для первых стадий роста фолликула [3] (см. рис. 3).

Несомненна роль факторов клеточной адгезии и других факторов, отвечающих за межклеточные взаимодействия. В миграции ППК участвуют интегрины $\alpha 3, 6, V, \beta-1$ [3]. В агрегации клеток при колонизации уrogenитальных гребешков играют важную роль *E*-кадгерин и *P*-кадгерин, которые экспрессируются в предшественниках клеток Сертоли (см. рис. 1) [22, 23].

В образовании фолликулов и установлении взаимодействия ооцита и окружающих соматических клеток несомненна роль факторов клеточной адгезии коннексинов. Так, у мышей, дефицитных по коннексину *Cx43*, имеются серьезные нарушения в образовании примордиальных фолликулов [24].

Также важными представляются молекулярные механизмы, приводящие к началу мейотического процесса. Исследования в данной области только начинаются, однако известно, что у человека в фетальных яичниках экспрессируется так называемый синаптонемальный комплекс 3 (*SCP3*), являющийся маркером начала первого деления мейоза [25].

Новые данные о природе формирования ППК на ранних этапах фолликулогенеза представлены в статье К. Hubner и соавт. [26], опубликованной 23 мая 2003 г в журнале «Science». В этой работе впервые сообщено о формировании ооцитов из эмбриональных стволовых клеток мыши. До настоящего времени половых клеток из стволовых клеток получено не было, однако предполагалось, что процесс дифференцировки эмбриональных стволовых клеток может регулироваться консервативными районами генов энхансеров, непосредственно расположенных перед геном *OCT-4*, отвечающим за тотипотентность. При направленной делеции двух генов — энхансеров было найдено, что эта

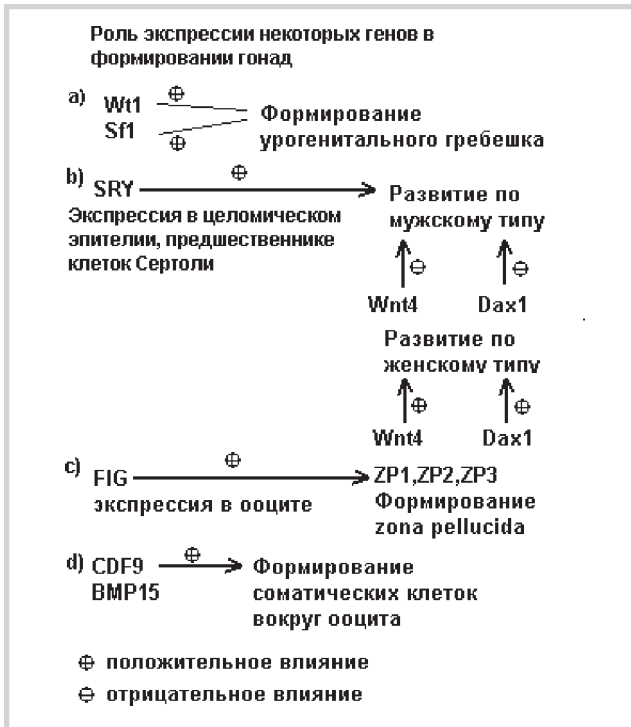


Рис. 3. Роль экспрессии некоторых генов в формировании фетальных гонад.

мутация запускает каскад экспрессии генов, специфичных для половых клеток. При культивировании клеток с измененным профилем регуляции *OCT-4* в течение первых 2 нед наблюдалась последовательная экспрессия таких генов, как сам *OCT-4* и *c-kit* (гены, специфичные для ранних половых клеток), *Vasa* (маркер половых клеток после миграции в первичные гонады), и двух маркеров мейоза белка синаптомембранного комплекса 3 — *SCP3* и мышинового гомолога дрожжевого мейозспецифичного гомологичной рекомбинации гена 1 — *DMC1*. После 2 нед культивирования среди агрегатов клеток были обнаружены структуры, напоминающие комплексы ооцитов и соматических клеток (гранулезу). Эти структуры продуцировали в значительных количествах эстрадиол, а также весь комплекс генов, специфичных для синтеза половых стероидов, — ароматазу, *Cyp17*, *StAR*. Пик синтеза эстрадиола и основных генов стероидогенеза приходился на 20-й день культивирования. Эти данные показывают, что синтез эстрадиола возможен во время фетального периода даже при отсутствии гипофизарных гонадотропинов. Сами ооциты характеризовались размерами от 40 до 70 нм, что соответствует размерам фетальных ооцитов мыши, а также экспрессией ооцитспецифичного гена *CDF-9*. После 26 дней культивирования часть ооцитов освобождалась от клеток гранулезы и начинала свободно плавать в культуре, при этом была показана экспрессия гена, определяющего формирование блестящей оболочки ооцита *FIG-α*, а также белки блестящей оболочки *ZP2* и *ZP3*. Добавление в культуру гонадотропинов (гонадотропина сыворотки жеребой кобылы и хорионического гонадотропина человека) у некоторых ооцитов вызывало выброс полярного тела, что является маркером завершения первого деления мейоза. После 43-го дня культивирования были обнаружены структуры, напоминающие по морфологии предимплантационные эмбрионы, которые в дальнейшем образовали структуры, напоминающие морулы и бластоцисты. Авторы объясняют образование данных структур процессами партеногенеза с выбросом второго полярного тела или без такового.

Настоящая работа представляет интерес во многих отношениях. Во-первых, это крупное научное достижение, показывающее, что с помощью стволовых клеток можно добиться формирования половых клеток, что позволяет получить неограниченный ресурс последних. Данное достижение может быть широко использовано в геной инженерии и эмбриологии. Также данная работа интересна с точки зрения физиологии формирования ооцита. Несомненный интерес представляет автономность запуска каскада ге-

нов, определяющих формирование ППК и ооцита: вначале генов, маркеров образования ППК — *OCT-4* и *c-kit*, затем гена *Vasa*, маркера ППК после завершения миграции в урогенитальные гребешки, затем маркеров процесса начала мейоза *SCP3* и *DMC1*, после этого идет собственно процесс образования ооцита с окружающими соматическими клетками и экспрессия ооцитспецифичного гена *CDF-9*. Последнее наблюдение является важнейшей вехой в фетальном эмбриогенезе, так как показывает ведущую роль ооцита в формировании клеток фолликулярной гранулезы. Несомненным открытием является автономность синтеза эстрадиола от гипофизарных ооцитов в период фетального эмбриогенеза. Также представляет интерес наблюдение, что добавление гонадотропинов в культуру искусственных ооцитов вызывает освобождение ооцитов от клеток гранулезы, завершение процесса мейоза с выбросом первого полярного тела. Несомненный интерес представляют собой и синтез вокруг ооцитов блестящей оболочки и экспрессия специфичных генов *FIG-α*, *ZP2*, *ZP3*. Развитие из некоторых искусственных ооцитов структур, схожих с предимплантационными эмбрионами, морулами и бластоцистами, говорит о возможности прохождения в искусственных ооцитах процессов, схожих с партеногенезом. Столь много новых находок в одной статье требует проверки этих наблюдений *in vivo*.

Группе японских исследователей удалось получить клетки сперматогенеза из эмбриональных стволовых клеток мыши. Для «запуска» развития по пути возникновения мужских половых клеток в стволовых клетках мыши была произведена направленная мутация, активизирующая ген *Vasa*. Наблюдалось развитие стволовых клеток по пути сперматогенеза, причем усиление данного процесса происходило под воздействием клеток, продуцирующих фактор *BMP-4*. После пересадки клеток-предшественников сперматогенеза в яички взрослой мыши авторам удалось получить зрелые сперматозоиды [29]. Как продолжение данной работы можно рассматривать исследование американских ученых, которые получили гаплоидные круглые сперматиды *in vitro*. В статье, опубликованной в журнале «Nature» 8 января 2004 г. [31], сообщается о получении линии стволовых клеток мыши из района проксимального эпибласта. Данный район является источником не только ППК, но и клеток крови. Для дифференцировки стволовых клеток крови от ППК была использована ретиноевая кислота. В присутствии этого индуктора дифференцировки ППК продолжали делиться митозом, в то время как клетки-предшественники клеток крови останавливали дальнейшее деление и дифференцировались. В

течение первых 9 дней культивирования в половых клетках, полученных из стволовых клеток проксимального эпибласта, экспрессировались гены, характерные для эмбриональных половых клеток: *OCT-4*, гены-маркеры ранних половых клеток *stella* и *fragilis (Fgls)*, гены, специфичные для развития ранних половых клеток по мужскому пути и не экспрессирующиеся в соматических клетках: *Dazl*, *Piwil2*, *Rnf17*, *Rnh2*, *Tdrd1*, *Tex14*. Несмотря на то, что функция данных генов плохо изучена у человека, аналог мышинового гена *Dazl* — *Daz* играет важную роль в современной диагностике мужского бесплодия. Мутации в этом гене приводят к выраженной олигоастенозооспермии и азооспермии, причем при применении методики ИКСИ данная мутация может передаваться по наследству. Исследователям удалось показать, что при культивировании стволовых клеток, происходящих из проксимального эпибласта, также наблюдается импринтинг генов, сходный с тем, что происходит при сперматогенезе. Этот процесс состоял в стирании метилирования в генах *Igf2* и *H19*, что характерно для линии эмбриональных половых клеток. В течение 21 дня культивирования была представлена последовательная экспрессия генов, характерная для сперматогенеза. К числу таких генов можно отнести *SRY*, который отвечает за формирование мужских гонад, *acrosin*, отвечающий за образование акросомы, *haprin*, чей продукт играет важную роль в сперматогенезе. Также наблюдалась экспрессия гена, кодирующего рецептор к ЛГ, что характерно для клеток Лейдига, и экспрессия гена антимюллерова гормона, что характерно для клеток Сертоли. Также была определена экспрессия генов *AZLi* и *Rfp*, характерная для развития половых клеток по мужскому пути. В то же время экспрессии генов, характерных для женских половых клеток — *ZP1* и

ZP2, не наблюдалось. К 21-му дню культивирования были получены гаплоидные клетки, по морфологии схожие с круглыми сперматидами. При микроинъекции их в ооциты мыши было получено оплодотворение, и в 20% случаев наблюдалось развитие до стадии бластоцисты. При исследовании числа хромосом с помощью FISH не было выявлено анеуплоидии и других хромосомных аномалий. Однако при попытке переноса данных бластоцист в полость матки здоровых мышей беременность не наступила [31]. Эти исследования помогают тщательно изучить процесс сперматогенеза и формирования зрелых ооцитов и теоретически могут позволить получить человеческие гаметы из культуры стволовых клеток.

Однако следует отметить и опасность данных работ с точки зрения морально-этических последствий. Все дело в том, что полный отрыв формирования половых клеток от человеческой особи несет в себе большую опасность. При полном формировании ооцитов и сперматозоидов из стволовых человеческих клеток произойдет отрыв процесса размножения от человеческих существ. Иными словами, подлинными отцом и матерью человека может стать некая абстрактная биомасса. Следует отметить, что некоторые британские газеты после сообщения на ежегодном конгрессе ESHRE в 2003 г. о возможности получения ооцитов из фетальных яичников абортусов [27] вышли с заголовками «Ваша настоящая мать — абортированный материал». В Британии по поводу возможности получать ооциты из абортусов разразился общественный скандал, приведший к запрещению использования данной методики на практике. Использование культуры стволовых клеток в репродуктивной сфере вызовет еще более резкий протест со стороны общественности [28].

ЛИТЕРАТУРА

1. Карлсон Б. Основы эмбриологии по Пэттену. В 2 т. М: Мир 1983.
2. Pesce M., Scholer H. Oct-4: Gatekeeper in the beginnings of mammalian development. *Stem Cells* 2001; 19: 271–278.
3. Epifano O., Dean J. Genetic control of early folliculogenesis in mice. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2002; 13: 169–173.
4. Ying Y., Zhao G.-Q. Cooperation of endoderm-derived BMP2 and extraembryonic ectoderm-derived BMP4 in primordial germ cell generation in mouse. *Dev Biol* 2001; 232: 484–492.
5. Kierszenbaum A., Tres L. Primordial germ cell-somatic cell partnership: a balancing cell signaling act. *Mol Repr Dev* 2001; 60: 277–280.
6. Besmer P. The kit ligand encoded at the murine Steel locus: a pleiotropic growth and differentiation factor. *Curr Opin Cell Biol* 1993; 3: 939–946.
7. Wylie C. Germ cells. *Cell* 1999; 96: 165–174.
8. Noguchi T., Noguchi M. A recessive mutation (ter) causing germ cell deficiency and a high incidence of congenital testicular teratomas in 129/Sv-ter mice. *J Natl Cancer Inst* 1985; 75: 385–392.
9. Toyda-Ohno H., Binata M., Matsui Y. Members of the ErbB receptor tyrosine kinases are involved in germ cell development in fetal mouse gonads. *Dev Biol* 1999; 215: 399–406.
10. Castrillon D., Quade B., Wang T., Quigley C., Crum C. The human VASA gene is specifically expressed in the germ cell lineage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 9585–9590.
11. Jansen R. Germline passage of mitochondria: quantitative considerations and possible embryological sequelae. *Human Reprod* 2000; 15: Suppl 2: 112–128.
12. Van Blerkom J., Sinclair J., Davis P. Mitochondrial transfer between oocytes: potential applications of mitochondrial donation and the issue of heteroplasmy. *Human Reprod* 1998; 13: 2857–2868.

13. *Albrecht K., Eicher E.* Evidence that Sry is expressed in pre-Sertoli cells and Sertoli and granulosa cells have a common precursor. *Dev Biol* 2001; 240: 92–107.
14. *Vasikivuo T., Tapanainen J.* Apoptosis in the human ovary. *Repr BioMedicine Online* 2002; 6: 24–35.
15. *Pru J., Tilly J.* Programmed cell death in the ovary: insights and future prospects using genetic technologies. *Mol Endocrinol* 2001; 15: 845–853.
16. *Vasikivuo T., Anttonen M., Herva R. et al.* Survival of human ovarian follicles from fetal to adult life: apoptosis, apoptosis-related proteins, and transcriptional factor GATA-4. *J Clin Endocr Metab* 2001; 86: 3421–3429.
17. *Perez G., Robles R., Knudson C. et al.* Prolongation of ovarian lifespan into advanced chronological age by Bax deficiency. *Nat Genet* 1999; 21: 1228–1232.
18. *Koopman P.* Sry, Sox9 and mammalian sex determination. *EXS* 2001; 91: 25–56.
19. *Swain A. et al.* Dax1 antagonizes Sry action in mammalian sex determination. *Nature* 1998; 391: 761–767.
20. *Vainio S. et al.* Female development in mammals is regulated by Wnt-4 signaling. *Nature* 1999; 397: 405–409.
21. *Soyal S. et al.* FIG, a germ cell-specific transcriptional factor required for ovarian follicle formation. *Development* 2000; 127: 4645–4654.
22. *Di Carlo A., De Felici M.* A role of E-cadherin in mouse primordial germ cell development. *Dev Biol* 2000; 226: 209–219.
23. *Lin L., DePhilip R.* Sex-dependent expression of placental (P) cadherin during mouse gonadogenesis. *Anat Rec* 1996; 246: 535–544.
24. *Simon A. et al.* Female infertility in mice lacking connexin 37. *Nature* 1997; 385: 525–529.
25. *Yuan L., Liu J., Zhao J. et al.* The murine SCP3 gene is required for synaptonemal complex assembly, chromosomal synapsis-anal male fertility. *Mol Cell* 2000; 5: 73–83.
26. *Hubner K., Fuhrmann G., Christenson L. et al.* Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells. *Science* 2003; 300: 1251–1256.
27. *Biron-Shental T., Abir R., Van den Hurk R. et al.* Preliminary results of cultured human ovaries from second and third trimester fetuses. *Human Reprod* 2003; 18: (Suppl 1, Abs): O–010.
28. *Dennis C.* Synthetic sex cells. *Nature* 2003; 424: 364–366.
29. *Toyooka Y., Tsunekawa N., Noce T.* Embryonic stem cells can form germ cells in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 11457–11462.
30. *Tam P., Zhou T.* The allocation of epiblast cells to ectodermal and germ-line lineages is influenced by the position of the cells in the gastrulating mouse embryo. *Dev Biol* 1996; 17: 8124–8132.
31. *Geijsen N., Horoschak M., Kim K., Gribnau J., Eggan K., Daley G.Q.* Derivation of embryonic germ cells and male gametes from embryonic stem cells. *Nature* 2004; 427: 148–154.

Репродуктологи всех стран — объединяйтесь!

Дорогие коллеги, если вы обнаружили какие-либо ошибки или у вас изменился адрес, сообщите нам, пожалуйста.

Абляева Эльмира Шавкатовна — врач акушер-гинеколог, Центр планирования семьи №2, Москва
dilia@cityline.ru

Айзикович Ирина Валентиновна — гинеколог-эндокринолог, Медицинский центр «Авиценна», Новосибирск
avicennaltd@hotmail.com

Аншина Маргарита Бениаминовна — главный редактор журнала «Проблемы репродукции», Москва
ansh@corbina.ru

Баранов Николай Алексеевич — заведующий Межобластным центром микрохирургии, Саратов
bna@utg.gazprom.ru

Батюхов Александр Михайлович — директор компании «БиоХимМак», Москва
info@biochemmak.ru

Бахарев Владимир Анатольевич — руководитель отделения генетики НЦАГиП РАМН, Москва
bakharev@pregnancy.ru

Бибнева Тамара Николаевна — консультант кабинета «Экстренной контрацепции» НЦАГиП РАМН, компания «Гедеон Рихтер», Москва
tamnb@yahoo.com

Бронештер Давид Семенович — главный врач Американского медицинского центра, Сочи
intermed@sochi.ru

Бутенко Владимир Людвигович — врач акушер-гинеколог, Институт репродуктивной генетики, Киев, Украина
irg@irg.kiev.ua

Верлинский Юрий Семенович — генетик, директор Института репродуктивной генетики, Чикаго, США
rgi@flash.net

Продолжение на с. 36

Влияние контролируемой стимуляции суперовуляции у пациенток программы ЭКО на функциональное состояние тиреоидной системы

А.А. БОСТАНДЖЯН

Лаборатория клинической эмбриологии Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН, Москва

Изучали влияние стимуляции суперовуляции на функциональное состояние тиреоидной системы в программе ЭКО. Показано, что стимуляция сопровождается повышением уровня ТТГ, T_3 , T_4 , свободного T_3 и понижением уровня свободного T_4 в сыворотке крови пациенток ко дню переноса эмбрионов и через 14 дней после него.

Ключевые слова: стимуляция суперовуляции, ЭКО, тиреоидная система.

Экстракорпоральное оплодотворение и перенос эмбрионов (ЭКО и ПЭ) — один из ведущих методов вспомогательных репродуктивных технологий, который используется для решения проблемы бесплодия в настоящее время.

Особенностью программы ЭКО и ПЭ является использование гормональных препаратов для стимуляции суперовуляции, что делает необходимым изучение механизмов их влияния не только на репродуктивную систему, но и на эндокринную систему, в частности на щитовидную железу (ЩЖ).

Функция ЩЖ находится в тесном взаимодействии с системой гипоталамус—гипофиз—яичники прежде всего благодаря наличию общих центральных механизмов регуляции. Во взаимодействии гонад и ЩЖ важная роль отводится гипофизу и гипоталамусу [1]. Выключение гонад вызывает изменение содержания тиролиберина (ТРГ) в гипоталамусе и тиреотропной функции гипофиза, в результате чего нарушается функциональная активность ЩЖ. Установлено, что недостаток гормонов ЩЖ снижает чувствительность яичников к гонадотропным гормонам гипофиза [2]. Кроме того, дефицит тиреоидных гормонов влияет на метаболизм эстрогенов, нарушая процесс перехода эстрадиола (E_2) в эстрон [3]. Как известно, нарушение периферического метаболизма эстрогенов приводит к изменению секреции гонадотропинов. Эстрогены усиливают стимуляцию ТРГ рецепторов гипофиза; следовательно, ответ тиреотропного гормона (ТТГ) на ТРГ у женщин сильнее, чем у мужчин, и еще сильнее у женщин, принимающих комбинированные оральные контрацептивы [4]. На основании этого можно предполагать более выражен-

ный ответ тиреоидной системы при проведении стимуляции суперовуляции в программе ЭКО и ПЭ.

В литературе имеется крайне мало публикаций о влиянии стимуляции суперовуляции на эндокринную систему, в частности на тиреоидную систему.

По данным А. Muller и соавт. стимуляция суперовуляции приводит к понижению уровня свободного T_4 и сопутствующему повышению содержания ТТГ во время пункции фолликулов [5]. Авторы предположили, что снижение биодоступности T_4 может отразиться на последующем нейрораспичическом развитии ребенка [6, 7]. V. Pop и соавт. [7] обнаружили, что снижение уровня свободного T_4 ниже 10-й перцентили в 12 нед гестации у здоровых женщин приводит к ослаблению психомоторного развития у 10-месячных младенцев.

Однако вышеуказанные авторы изучали изменения тиреоидного статуса лишь на момент пункции фолликулов, без дальнейшего контроля.

Целью настоящего исследования явилось динамическое изучение влияния стимуляции суперовуляции на функциональное состояние тиреоидной системы у пациенток программы ЭКО и ПЭ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследована 41 пациентка с различными формами бесплодия в возрасте $33,2 \pm 2,1$ года.

В 1-й группе проанализировано 20 циклов стимуляции суперовуляции у 17 пациенток с исходно нормальным тиреоидным статусом. 2-ю группу составили 24 пациентки (28 циклов стимуляции суперовуляции), которые в анамнезе имели

те или иные отклонения функционального состояния ЩЖ и были включены в программу ЭКО после коррекции их тиреоидного статуса.

Десенсибилизация гипофиза достигалась ежедневным подкожным введением 0,1 мг агониста ГнРГ (декапептил 0,1 мг, фирма «Ферринг», Германия) с 21–23-го дня менструального цикла (в зависимости от длительности менструального цикла) до дня введения овуляторной дозы хорионического гонадотропина (ХГ).

Стимуляцию суперовуляции проводили со 2–3-го дня менструального цикла препаратами человеческого менопаузального гонадотропина (чМГ; меногон, фирма «Ферринг», Германия) по 2–4 ампулы, что составляет 150–300 МЕ ФСГ + 150–300 МЕ ЛГ. Дозу чМГ определяли индивидуально в зависимости от данных ультразвукового и гормонального мониторинга.

Стимуляцию суперовуляции проводили до достижения лидирующими фолликулами диаметра 18–21 мм, толщины эндометрия 10–12 мм и при уровне E_2 более 1000 пмоль/л на каждый лидирующий фолликул диаметром более 15 мм. Достижение этих показателей служило основанием для введения овуляторной дозы препаратов чХГ (хорагон, 5000–10 000 МЕ) в зависимости от числа и размеров фолликулов, а также уровня E_2 в сыворотке крови.

Пункцию фолликулов проводили через 35–36 ч после введения препаратов чХГ. Перенос эмбрионов (ПЭ) в полость матки осуществляли на 3-и или 5-е сутки после пункции.

Функциональное состояние тиреоидной системы оценивали по уровню ТТГ, T_3 , T_4 , свободного T_3 и свободного T_4 в сыворотке крови при проведении первичного гормонального обследования, в первую фазу менструального цикла (2–7-й день цикла); а затем после окончания стимуляции суперовуляции в день ПЭ, а также через 14–16 дней — в день определения наступления беременности.

Концентрацию гормонов определяли иммуноферментным методом с использованием тест-систем фирмы «Hoffmann La Roche» (Швейцария) на автоматическом анализаторе Cobas Core этой же фирмы, а также хемилюминесцентным методом с использованием тест-систем фирмы DPC на автоматическом анализаторе Immulite (USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования представлены в таблице.

Как показало исследование, уровень ТТГ достоверно повышается в обеих группах к дню ПЭ ($p_1=0,01$; $p_2=0,02$) и продолжает повышаться к 14–16-му дню после ПЭ ($p_1=0,0001$; $p_2=0,007$). Уровень T_3 достоверно повышается в 1-й группе к дню ПЭ ($p=0,005$) и далее к 14-му дню после ПЭ ($p=0,001$). Во 2-й группе уровень T_3 достоверно не меняется. Уровень свободного T_3 в обеих группах достоверно повышается к 14-му дню после ПЭ ($p_1=0,009$; $p_2=0,01$). Уровень T_4 достоверно повышается к 14-му дню после ПЭ в обеих группах ($p_1=0,0003$; $p_2=0,0001$), в то время как уровень свободного T_4 достоверно снижается в обеих группах к дню ПЭ ($p_1=0,0003$; $p_2=0,008$). Уровень E_2 достоверно повышается в обеих группах ($p_1=0,0005$; $p_2=0,0002$).

Полученные данные не позволяют однозначно ответить на вопрос о механизмах, вызывающих повышение уровня ТТГ в сыворотке крови пациенток. Скорее всего, это повышение может быть результатом прямого воздействия препаратов, используемых в программе ЭКО, на центральные механизмы регуляции ТТГ. Одновременное повышение уровня общего T_4 может быть связано как с повышением секреции ТТГ, так и с усилением синтеза в печени тироксинсвязывающего гормона (ТСГ).

Известно, что эстрогены стимулируют синтез ТСГ в печени [8].

Содержание E_2 , ТТГ и тиреоидных гормонов в сыворотке крови пациенток при стимуляции суперовуляции

Показатель	Исходный		День ПЭ		Через 14–16 дней после ПЭ	
	1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа
E_2 , пмоль/л	260±145	164±85	11 674±5100	6166±3721	11 369±6464	7837±4091
ТТГ, мМЕ/л	1,6±0,2	2,0±0,4	2,6±0,8	2,8±0,6	2,7±0,4	3,1±0,7
T_3 , нмоль/л	1,5±0,1	1,6±0,1	1,8±0,2	1,8±0,1	1,9±0,2	1,8±0,2
Свободный T_3 , пмоль/л	5,5±0,3	5,3±0,4	5,8±0,3	5,5±0,2	6,2±0,4	6,0±0,4
Свободный T_3/T_3 , %	0,36	0,33	0,32	0,3	0,32	0,33
T_4 , нмоль/л	110±6,5	122±9,8	129±10	132±8,6	143±16	158±15,2
Свободный T_4 , пмоль/л	13,6±0,7	14,1±0,8	11,8±0,7	12,9±0,6	13,2±0,8	13,5±0,8
Свободный T_4/T_4 , %	0,012	0,011	0,009	0,009	0,009	0,008

Действительно, как показано в таблице, уровень E_2 при стимуляции суперовуляции повышается на два порядка, что, скорее всего, и приводит к резкому повышению уровня общего T_4 и в связи с этим к снижению содержания свободного T_4 .

Для выяснения роли связывания тиреоидных гормонов с ТСГ был рассчитан процент свободных форм гормонов от их суммарного содержания.

Как показано в таблице, отношение свободных (активных) форм тиреоидных гормонов к их суммарному содержанию достоверно уменьшается.

Эти изменения более выражены у пациенток 2-й группы, имевших в анамнезе отклонения тиреоидной функции, и могут стать неблагоприятным фоном для процессов раннего эмбриогенеза.

ОБСУЖДЕНИЕ

Адекватный уровень тиреоидных гормонов матери является важным условием нормального эмбриогенеза. Установлено, что даже субклинические формы гипотиреоза способны неблагоприятно отразиться на состоянии плода, особенно на ранних этапах беременности, поскольку плацентарный барьер относительно непроницаем для тиреоидных гормонов, а до 12 нед беременности плод получает их от матери [10].

ЛИТЕРАТУРА

1. Samuels M.H., Veldhuis J.D., Henry P., Ridway E.C. Pathophysiology of pulsatile and copulsatile release of thyroid-stimulating hormone, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and alpha-subunit. *J Clin Endocrinol Metab* 1990 Aug; 71: 2: 425—432.
2. Ткаченко Н.Н., Потин В.В., Бескровный С.В. и др. Патогенез гормональной недостаточности яичников у женщин с первичным гипотиреозом. *Вестн Росс ассоц акуш-гин* 1997; 3: 37—39.
3. Тотоян Э.С. Репродуктивная функция женщин при патологии щитовидной железы. *Акуш и гин* 1994; 1: 8—10.
4. Speroff L., Glass R.H., Kase N.G. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*. Sixth edition 1999; 1200: 809—830.
5. Muller A.F., Verhoeff A., Mantel M.J. et al. Decrease of free thyroxine levels after controlled ovarian hyperstimulation. *J Clin Endocr Metab* 2000; 85: 2: 545—548.
6. Haddow J.E., Palomaki G.E., Allan W.C. et al. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N Engl J Med* 1999; 341: 549—555.

Известно, что во время беременности повышение концентрации E_2 сопровождается ростом уровня ТСГ, что приводит к снижению уровня свободного T_4 ; кроме того, ХГ обладает тиреостимулирующей активностью, что связано с его молекулярной схожестью с ТТГ [8, 9, 11]. Это объясняет снижение уровня ТТГ пропорционально повышению концентрации чХГ [12]. Поэтому при стимуляции суперовуляции, с одной стороны, тиреотропный эффект чХГ может приводить к повышению уровня свободного T_4 , а с другой стороны — индуцированное повышение уровня E_2 может приводить к снижению уровня свободного T_4 . Эта ситуация может привести к осложнениям у пациенток, изначально имевших отклонения тиреоидной функции, особенно если речь идет о йоддефицитных зонах проживания с характерной для них гипотироксинемией у женщин во время беременности [8, 9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящая работа показывает необходимость проведения обязательного исследования функционального состояния тиреоидной системы у всех пациенток программы ЭКО, а при необходимости проведения коррекции.

В ряде случаев необходим динамический контроль, а также коррекция тиреоидного статуса после стимуляции суперовуляции, особенно в случае наступления беременности.

7. Pop V.J., Kuijpers J.L., van Baar A.L. et al. Low maternal fT4 concentrations during early pregnancy are associated with impaired psychomotor development in infancy. *Clin Endocrinol* 1999; 50: 149—155.
8. Glinoe D. The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. *Endocr Rev* 1997; 18: 404—433.
9. Berghout A., Wiersinga W.M. Thyroid size and thyroidal function during pregnancy: an analysis. *Eur J Endocrinol* 1998; 138: 536—542.
10. Мурашко Л.Е., Мельниченко Г.А., Клименченко Н.И. и др. Гипофункция щитовидной железы и беременность. *Пробл беременности* 2000; 2: 3—11.
11. Berghout A., Endert E., Ross A. et al. Thyroid function and thyroid size in normal pregnant women living in an iodine replete area. *Clin Endocrinol* 1994; 41: 375—379.
12. Yoshimura M., Hershman J.M. Thyrotropic action of human chorionic gonadotropin. *Thyroid* 1995; 5: 425—434.



У научных сотрудников родились близнецы. Одного они крестили, а другого оставили в качестве контроля.

Диагностика и терапия гиперандрогенных состояний в программах ЭКО (обзор литературы)

К.В. КРАСНОПОЛЬСКАЯ, А.С. КАЛУГИНА

Кафедра акушерства и гинекологии РГМУ и ЦПСИР, Москва

В обзоре систематизированы данные литературы по проблеме диагностики причинных факторов гиперандрогенных состояний, а также рассматриваются особенности использования процедуры ЭКО у больных с эндокринным бесплодием, ассоциируемым с гиперандрогенией.

Ключевые слова: гиперандрогения, эндокринное бесплодие, ЭКО.

1. Эндокринное бесплодие, ассоциированное с гиперандрогенией, в структуре женской infertility; причинные факторы гиперандрогенных состояний

Результаты обследования больных с эндокринным бесплодием показывают, что почти у 20—35% из них выявляются нарушения овуляции, ассоциируемые с гиперандрогенией (ГА) [8, 19]. В той или иной степени выраженные клинические признаки гиперандрогенного состояния обнаруживаются достаточно часто и у женщин, включаемых в программу ЭКО [20]. Так, согласно нашим собственным наблюдениям, среди пациенток программы ЭКО частота эндокринного бесплодия, ассоциированного с ГА, составляет 25,6% [12].

По современным представлениям, в зависимости от времени возникновения, причин и степени выраженности ГА обусловливаемое ею бесплодие предопределяется нарушением функции яичников. При этом в них могут отмечаться следующие отклонения [25]:

- подавляется рост и созревание фолликулов на ранних стадиях фолликулогенеза, возникает аменорея;
- тормозятся поздние стадии фолликулогенеза и (или) нарушается овуляция, что проявляется хронической ановуляцией и олигоменореей;
- овуляция хотя и происходит, но развивающееся желтое тело оказывается неполноценным, т.е. имеет место недостаточность лютеиновой фазы цикла как на фоне олигоменореи, так и при регулярных менструациях.

Причинные факторы ГА характеризуются достаточно широким спектром и подробно описаны во многих руководствах по клинической эндокринологии [3, 4, 8, 21]. Их авторами предлагаются разные классификации гиперандрогенных состояний. Наиболее полной из них нам представляется классификация, представленная в монографии И.И. Дедова и соавт. [7].

Классификация гиперандрогенных состояний

I. Неопухолевые (функциональные) формы «истинной» гиперандрогении:

- синдром поликистозных яичников;
- стромальный текоматоз яичников, гипертекоз (HAIR-AN) синдром;
- врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН) — классическая и неклассическая формы;
- гиперпролактинемия;
- гиперкортицизм (болезнь и синдром Иценко—Кушинга);
- акромегалия.

II. Опухолевые формы «истинной» гиперандрогении:

- андрогенпродуцирующие опухоли яичников (андробластомы, текомы, липидоклеточные опухоли и др);
- андрогенпродуцирующие опухоли надпочечников (андростеромы, кортикоандростеромы).

III. Транспортные формы гиперандрогении — снижение продукции в печени глобулина, связывающего половые стероиды (ГСПС):

- гепатиты, цирроз;
- гипотиреоз;
- гипозэстрогения;
- прием экзогенных андрогенов, анаболических стероидов, глюкокортикоидов.

IV. Рецепторная форма гиперандрогении — повышение активности 5 α -редуктазы в клетках-мишенях:

- наследственно-конституциональная (генетическая) форма;
- изменение активности 5 α -редуктазной системы под влиянием внешних факторов.

2. Диагностика различных форм ГА и их причинных факторов

При проведении предварительного стандартного терапевтического и гинекологического об-

следования эндокринное бесплодие, ассоциируемое с ГА, можно заподозрить у инфертильных пациенток с расстройствами менструального цикла (олиго-, опсо-, аменорея), обменными нарушениями (ожирением), клиническими признаками ГА (дефеминизация, гирсутизм, акне), а также у женщин с той же симптоматикой на фоне эндокринных заболеваний, относящихся к компетенции общих эндокринологов (болезнь и синдром Иценко—Кушинга, гипо- и гипертиреоз, акромегалия и др.). Пациентки с вторичным бесплодием на фоне гиперандрогенных состояний часто указывают на привычное невынашивание и осложненное течение беременности [23].

При уточнении источника ГА до настоящего времени многие авторы рекомендуют начинать гормональные исследования с определения 17-кетостероидов (17-КС) в моче, а на втором этапе (после констатации повышенного уровня 17-КС) исследовать одновременно уровень 17 α -гидроксипрогестерона (17-ОН-ПГ) и дегидроэпиандростерона сульфата (ДЭА-С) [21, 25] или только 17-ОН-ПГ [1]. При нормальном уровне 17-КС определение фракций андрогенов в крови, по мнению некоторых специалистов [1], является необязательным.

Последнее утверждение, однако, представляется весьма спорным, принимая во внимание, что уровень 17-КС мочи отражает экскрецию в основном надпочечниковых андрогенов и их метаболитов [3, 29]. Лишь очень малые количества тестостерона (менее 6 мкг/сут) попадают в мочу [16]. Из этого следует, что нормальный уровень 17-КС, свидетельствующий об отсутствии усиления андрогенсекретирующей функции надпочечников, отнюдь не исключает наличие яичниковой ГА, для которой характерно возрастание именно уровня тестостерона в крови. Поэтому при уточнении источника ГА для подтверждения/исключения ее яичникового компонента, по нашим наблюдениям [12], а также по мнению других исследователей [3, 25, 29], представляется обязательным определение количества тестостерона в крови.

Для аналогичного подтверждения или исключения наличия надпочечникового компонента ГА у больных с клиническими признаками гиперандрогенного состояния мы полагаем более обоснованной позицию авторов, ограничивающих гормональные исследования при оценке андрогенпродуцирующей функции надпочечников определениями только уровня ДЭА-С, т.е. без параллельного определения еще и уровня 17-ОН-ПГ [3, 41]. Это объясняется тем, что 17-ОН-ПГ, являясь прогестином [16], при повышенном значении в крови у больных с признаками гиперандрогенного состояния является **косвенным** маркером

надпочечниковой ГА, ассоциируемой в основном лишь с ВДКН [15]. В отличие от этого ДЭА-С, относящийся по структуре и биологической функции к андрогенам, при увеличении уровня его в крови **прямо** подтверждает факт усиления андрогенпродуцирующей функции надпочечников, причем при любых причинах (т.е. не только при ВДКН), обуславливающих надпочечниковую ГА, например, при гиперпролактинемии [4]. К тому же следует дополнить, что 17-ОН-ПГ в отличие от ДЭА-С не вырабатывается исключительно надпочечниками [16]. Перечисленное позволяет заключить, что ДЭА-С как маркер надпочечниковой ГА обладает большей специфичностью в сравнении с 17-ОН-ПГ. Указанные факты являются обоснованием позиции авторов, полагающих «золотым стандартом» при оценке андрогенсекретирующей функции надпочечников определение именно уровня ДЭА-С [4, 8, 22, 29]. Можно также отметить, что, согласно их мнению, при уточнении источника ГА проводить определение уровня 17-КС в моче представляется вообще необязательным. Для экономии времени обследования ими рекомендуется одновременное тестирование уровня тестостерона и ДЭА-С в крови. Как уже указывалось, для яичниковой ГА патогномичным является повышение уровня только тестостерона, для надпочечниковой — только ДЭА-С, для смешанной — одновременно тестостерона и ДЭА-С.

Назначать дексаметазоновую пробу, по мнению ряда авторов [8, 29], имеет смысл лишь пациентам с повышенным уровнем ДЭА-С, т.е. женщинам с предполагаемой «чистой» надпочечниковой или смешанной ГА, но не больным с повышенным уровнем тестостерона, не сочетающимся с повышенной концентрацией ДЭА-С. У пациенток с высокими концентрациями ДЭА-С положительная дексаметазоновая проба (подавление продукции надпочечниковых андрогенов более чем на 50% от исходного повышенного уровня) свидетельствует о функциональном характере гиперпродукции надпочечниковых андрогенов, тогда как отрицательный результат типичен для вирилизующей опухоли надпочечников [8, 25]. В литературе описываются и другие функциональные пробы для выявления источника ГА (яичники или надпочечники) и ее характера (опухольная или неопухольная). Так, разные авторы полагают целесообразным применять для этой цели пробу с дексаметазоном и АКТГ, при которой подавление функции надпочечников сочетается с их последующей стимуляцией [4, 5]. Известны также дексаметазоновые пробы с последующей стимуляцией функции яичников препаратами чХГ или кломифеном, а также с подавлением функции яичников оральными кон-

трацептивами [21]. Длительность перечисленных проб и необходимость в многократных гормональных исследованиях в процессе их проведения ограничивают распространение таких методик.

Надежды, возлагавшиеся на метод прямой катеризации вен надпочечников и яичников, также не оправдались ввиду пульсирующего характера секреции гормонов не только надпочечниками, но и яичниками, а также сложностью методики [8, 29].

На практике предварительное предположение о наличии андрогенсекретирующей опухоли яичников или надпочечников основывается на своеобразии клинической картины (неожиданное начало и быстрое прогрессирование симптомов ГА) и выявлении резкого повышения концентрации соответственно тестостерона (>200 нг%) или ДЭА-С (более 800 мкг%) [4, 21, 22]. После выполненных гормональных исследований для окончательного подтверждения или исключения ГА опухолевого происхождения проводят УЗИ яичников и/или надпочечников, а при необходимости — биопсию их тканей (в условиях лапароскопии) с последующим гистологическим исследованием полученных образцов [4, 13, 25]. УЗИ яичников используется также для диагностики СПКЯ, обуславливающего функциональную гиперпродукцию яичниковых андрогенов [17, 25]. В связи с этим данное исследование целесообразно назначать всем пациенткам с повышенным уровнем тестостерона.

Гормональные исследования у больных с ГА некоторые специалисты [4, 8] предлагают дополнять определением уровня пролактина, в особенности при повышении плазменного содержания ДЭА-С в сочетании с нормальной или пониженной концентрацией тестостерона. При выявлении гиперпролактинемии дальнейшие исследования проводят по плану, используемому для установления ее причин [28]. С этой целью для уточнения состояния гипофизарной области выполняют рентгенограмму черепа и турецкого седла. Пациенткам с повышенным уровнем пролактина и отсутствием изменений на краниограмме дополнительно назначается компьютерная томография или ядерно-магнитный резонанс для диагностики микроаденом. Гипотиреоз как возможная причина гиперпролактинемии исключается на основании исследований гормонов щитовидной железы (T_3 , T_4 , ТТГ).

При повышенной концентрации тестостерона представляется целесообразным определение базального уровня ФСГ, ЛГ и отношения ЛГ/ФСГ. Повышение уровня ЛГ или отношения ЛГ/ФСГ >2,5 служит весьма характерным проявлением гипоталамо-гипофизарной дисфункции, индуцирующей поликистозные изменения яич-

ников и, как следствие, функциональную яичниковую гиперандрогению [3, 4, 24].

При наличии эндокринного бесплодия и клинических признаков ГА, не сопровождаемых повышением общего уровня тестостерона и ДЭА-С, по мнению ряда исследователей [4, 8, 22, 46], целесообразно также определять концентрацию ГСПС и соотношение свободного и связанного тестостерона. Данные исследования способны подтвердить факт усиления эффекта андрогенов из-за дефицита ГСПС, т.е. транспортную форму ГА. При выявлении пониженного уровня ГСПС необходимо исключить патологию печени. Другие заболевания, способные обуславливать ингибирование образования ГСПС (гиперпродукция кортизола при болезни или синдроме Иценко—Кушинга, а также гипотиреоз), исключаются на более ранних этапах диагностики причинных факторов ГА.

У больных ожирением рекомендуется дополнительно использовать стандартный глюкозотолерантный тест для выявления пациенток с нарушенной толерантностью к глюкозе [5, 17]. Связь инсулинорезистентности с СПКЯ и, как следствие, с яичниковой ГА в последние годы показана во многих работах [39, 43, 47]. Это собственно и обосновывает целесообразность уточнения наличия/отсутствия нарушения толерантности к глюкозе при идентификации возможных факторов, ассоциируемых с СПКЯ и надпочечниковой ГА. Результаты таких исследований используются для решения вопроса о целесообразности дополнительного назначения больным с СПКЯ средств, корригирующих нарушения толерантности к глюкозе и за счет этого эффекта ослабляющих клиническую и гормональную выраженность яичниковой ГА.

3. Использование ЭКО в лечении эндокринного бесплодия, ассоциированного с гиперандрогенным состоянием

Согласно современным взглядам, установленная как факт неэффективность консервативных и оперативных методов, применявшихся в течение 1 года для преодоления эндокринного бесплодия, обуславливаемого ГА, предопределяет в последующем целесообразность применения ЭКО [20, 30].

Назначение ЭКО без предшествующего использования терапии, направленной на достижение спонтанной беременности, практикуется лишь у больных с ГА, у которых эндокринное бесплодие сочетается с другими причинными факторами инфертильности (мужским, трубноперитональным), обуславливающими затруднения или очевидную невозможность достижения беременности естественным путем, т.е. при на-

личии у них факторов, которые сами по себе являются прямым показанием к ЭКО. Эта же тактика оправдана и у больных с ГА старше 35 лет, поскольку возможная потеря времени при безрезультатном лечении, направленном на восстановление естественной фертильности, оказывает в дальнейшем негативное влияние и на результаты ЭКО по причине усугубления неблагоприятного влияния возрастного фактора на репродуктивную систему. Снижение эффективности ЭКО у пациенток старше 35 лет проявляется, как следует из некоторых сообщений [14, 49], при лечении любых, в том числе и эндокринных, вариантов женского бесплодия.

У больных с ГА, включаемых в программу ЭКО, использование этой процедуры предваряется индивидуально подбираемым дополнительным подготовительным лечением, ставящим целью устранение причинных факторов гиперандрогенных состояний.

Так, при подготовке к ЭКО пациенток с ГА и выраженным ожирением рекомендуется обеспечить у них снижение индекса массы тела (ИМТ) до значений менее 30, поскольку ожирение и ассоциируемое с ним возрастание уровня тестостерона являются фактором, негативно отражающимся на результатах ЭКО [6, 17, 49, 50]. Здесь следует отметить, что среди всех больных с ГА (в особенности с СПКЯ), включаемых в программы ЭКО, традиционно наблюдается достаточно высокий процент пациенток с ИМТ > 30 [10, 20]. Например, по нашим данным, он достигает 30% [12].

В результате специально проведенных исследований нам удалось установить, что достаточно быстро коррекция избыточной массы у женщин с ГА достигается при дополнении гипокалорийной диеты ксеникалом, назначаемым по 1 капсуле после каждого приема пищи [12]. У пациенток с нарушенной толерантностью к глюкозе такое лечение следует дополнять метформином (по 500 мг 3 раза в сутки), а у больных с гипотиреозом — индивидуальной поддерживающей дозой L-тироксина (25—100 мкг/сут) [12]. Показания к применению метформина у женщин с повышенной массой тела и нарушением толерантности к глюкозе обосновываются многочисленными исследованиями разных авторов, подтвердивших целесообразность применения данного препарата в указанных клинических ситуациях [2, 18, 38, 44].

В последнее время некоторыми специалистами рекомендуется для быстрой коррекции избыточной массы использовать сибутрамин (меридиа) по 10—15 мг/сут [26].

По нашим наблюдениям [12], а также по сообщениям некоторых авторов [5, 30, 36], у инфертильных пациенток с ожирением и ГА применение корректирующей массу тела терапии как

обязательного подготовительного этапа к ЭКО может у некоторых больных с интактными трубами сопровождаться возникновением спонтанной беременности, что в свою очередь освобождает от необходимости применения дорогостоящих методов вспомогательной репродукции. Это является еще одним аргументом в пользу обязательной предварительной коррекции избыточной массы до значений ИМТ не более 30 перед предполагаемым использованием ЭКО.

При функциональной надпочечниковой ГА, связанной с ВДКН, следует начать использование дексаметазона (0,25 мг/сут на ночь) не менее чем за месяц до начала лечебного цикла ЭКО. В среднем именно столько времени обычно необходимо для реализации эффекта экзогенно вводимых глюкокортикоидов, обуславливающих нормализацию уровня надпочечниковых андрогенов за счет восстановления адекватной гипофизарной регуляции стероидобразующей функции надпочечников [15]. В последующем дексаметазон назначается в самом лечебном цикле ЭКО до момента подтверждения/исключения беременности. Некоторые специалисты рекомендуют после подтверждения беременности продолжать назначение дексаметазона в течение I триместра гестационного периода или даже на протяжении всей беременности. При этом одни из них рекомендуют дексаметазон по 0,5 мг применять ежедневно, определяя через каждые 2—3 нед уровень 17-КС в моче с целью своевременной корректировки поддерживающей дозы этого препарата [30]. Другие авторы предпочитают использование очень низких доз дексаметазона — по 0,125 мг 3 раза в неделю на ночь [4].

При функциональной надпочечниковой ГА, обусловленной гиперпролактинемией, проводится ее лечение с использованием индивидуально подбираемых доз парлодела. При ассоциируемой с надпочечниковой ГА гиперпролактинемией на фоне гипотиреоза применяются препараты тиреоидных гормонов. Нормализация в процессе терапии уровня пролактина сопровождается параллельным снижением до физиологических значений концентрации надпочечниковых андрогенов, определяемых по концентрации ДЭА-С [4, 28]. Лечебный цикл ЭКО следует начинать лишь после достижения нормальных значений пролактина и ДЭА-С.

Целесообразность использования у больных с купированной гиперпролактинемией поддерживающей терапии парлоделом с целью предупреждения активации образования пролактина и, как следствие, надпочечниковых андрогенов в самих лечебных циклах ЭКО и в гестационном периоде до настоящего времени является предметом дискуссии. Некоторые специалисты считают оправ-

данным такое лечение, указывая, что длительный прием парлодела при беременности безопасен для матери и ребенка [28].

Пациенткам с яичниковой ГА на фоне гипоталамо-гипофизарной дисфункции (повышенного уровня ЛГ и/или отношения ЛГ/ФСГ >2,5), согласно многим сообщениям [10, 20, 27, 32], перед проведением стимуляции с гонадотропинами следует осуществить 2–3-месячную десенситизацию гипофиза с использованием агонистов ГнРГ.

У женщин с ультразвуковыми признаками СПКЯ, ассоциируемыми с яичниковой или смешанной ГА, при проведении лечебных циклов ЭКО с целью предупреждения развития синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) некоторые специалисты рекомендуют использование протоколов индуцируемого фолликулогенеза с уменьшенными дозами гонадотропинов, применяемыми самостоятельно или в комбинации с кломифеном [19, 27]. Существует также взгляд, что у описываемых больных при стимуляции фолликулогенеза предпочтительно использовать препараты чистого ФСГ [10, 11, 42, 48].

В последние годы у пациенток с СПКЯ с целью уменьшения риска СГЯ и для более надежного предупреждения «паразитарного» пика ЛГ многими авторами [9, 27, 34, 37, 40] рекомендуется применение схем овариальной стимуляции с гонадотропинами (препаратами чМГ или чистого ФСГ) и антагонистами — ант-ГнРГ (цетротидом, ганиреликсом). Несмотря на то, что само по себе обоснование целесообразности применения ант-ГнРГ не вызывает возражений, тем не

менее пока не достигнут консенсус в отношении оптимальной схемы их назначения. Сегодня предлагаются следующие режимы ежедневного введения ант-ГнРГ [31, 33, 35, 45]: 1) «фиксированный» режим — назначение ант-ГнРГ с 5–7-го дня цикла; 2) индивидуальные «гибкие» (flexible) режимы — назначение ант-ГнРГ после достижения лидирующим фолликулом определенных размеров 14, 15 или 16 мм (какое из этих значений величины лидирующего фолликула является оптимальным для начала применения ант-ГнРГ, до настоящего времени фактически не установлено). Независимо от особенностей применения ант-ГнРГ, использование собственно самих индукторов овуляции (любых препаратов гонадотропинов) в таких протоколах соответствует общепринятым принципам, регламентирующим подбор их дозы в зависимости от результатов ультразвукового и гормонального мониторинга индуцируемого фолликулогенеза.

Таким образом, представленные в обзоре данные свидетельствуют о необходимости реализации дифференцированного подхода к выбору тактики лечения женщин с эндокринным бесплодием, ассоциируемым с ГА. Подбор адекватных методов коррекции ГА, основанный на точной диагностике ее причин, не только обеспечивает возможность наступления спонтанных беременностей у части пациенток на этапе подготовительной комплексной терапии, но и способствует повышению эффективности ЭКО до уровня, сопоставимого с результатами лечения с применением данной процедуры у больных с трубным бесплодием.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Анишина М.Б.* Принципы гормональной диагностики в лечении бесплодия: показания, интерпретация результатов, ошибки (клиническая лекция). Пробл репрод 2004; 10: 2: 6–12.
2. *Анциферов М.Б., Григорян О.Р., Чернова Т.О.* Возможности применения препарата Сиофор (метформина гидрохлорида) у женщин с синдромом поликистозных яичников и избыточной массой тела. Пробл репрод 2001; 7: 2: 49–55.
3. *Вихляева Е.М.* Руководство по эндокринной гинекологии. М: Медицинское информационное агентство 2002; 360–395.
4. *Гивенс Д.* Нарушения половой функции у женщин. В кн.: Эндокринология. Под ред. Н. Лавина (пер. с англ.). М: Практика 1999; 323–340.
5. *Глазкова О.И.* Оптимизация диагностики и лечения бесплодия у женщин с хронической ановуляцией и гиперандрогенией: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М 1999; 23.
6. *Гласс Р.Г.* Бесплодие. В кн.: Репродуктивная эндокринология. В 2-х томах под ред. С.С.К. Йена и Р.Б. Джаффе (пер. с англ.). М: Медицина 1998; 2: 115–180.
7. *Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Фадеев В.В.* Эндокринология М: Медицина 2000; 631.
8. *Йен С.С.К.* Хроническая ановуляция, обусловленная периферическими эндокринными нарушениями. В кн.: Репродуктивная эндокринология. Т. 1. Под ред. С.С.К. Йена и Р.Б. Джаффе (пер. с англ.). М: Медицина 1998; 612–702.
9. *Кабанова Д.И., Краснополяская К.В., Калугина А.С., Белобородов С.М.* Сравнение протоколов стимуляции супероувуляции рекомбинантным ФСГ с агонистами и антагонистами ГнРГ у пациенток с СПКЯ в зависимости от исходного состояния яичников. Пробл репрод 2004; 10: 3: 34–41.
10. *Калинина Е.К., Торганова Г.И., Лукин В.А.* Поликистозные яичники и программа экстракорпорального оплодотворения. Акуш и гин 1998; 1: 14–16.
11. *Козлова А.Ю.* Особенности фолликулогенеза при различных схемах стимуляции супероувуляции с помощью обычного чМГ и рекомбинантного ФСГ у пациенток программы ЭКО и ПЭ: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М 2000; 24.
12. *Краснополяская К.В.* Экстракорпоральное оплодотворение в комплексном лечении женского бесплодия: Дис. ... д-ра мед. наук. М 2003; 304.
13. *Кузьмина С.А.* Значение клинико-гормональных параллелей у больных с нарушением репродуктивной функции на фоне гиперандрогении: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Волгоград 2001; 24.
14. *Кустаров В.Н., Боярский К.Ю.* Влияние возраста на частоту наступления беременности в программе ЭКО. Пробл репрод 1999; 5: 1: 46–49.

15. Левин Л.Э. Врожденная гипертрофия коры надпочечников. В кн.: Эндокринология. Под ред. Н. Лавина (пер. с англ.). М: Практика 1999; 222—242.
16. Липсетт М.Б. Стероидные гормоны. В кн.: Репродуктивная эндокринология. Т.1. Под ред. С.С.К. Йена и Р.Б. Джаффе (пер. с англ.). М: Медицина 1998; 193—211.
17. Манухин И.Б., Геворкян М.А. Синдром поликистозных яичников (клиническая лекция). Пробл репрод 1999; 5: 6: 13—18.
18. Мишиева Н.Г., Назаренко Т.А., Фанченко Н.Д. и др. Влияние метформина на эндокринную и репродуктивную функцию у женщин с синдромом поликистозных яичников. Пробл репрод 2001; 7: 3: 9—11.
19. Назаренко Т.А. Женское бесплодие, обусловленное нарушениями процесса овуляции: клиника, диагностика и лечение: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М 1998; 42.
20. Назаренко Т.А., Гаспаров А.С., Кузьмичев Л.Н. и др. Особенности лечения бесплодия у пациенток с синдромом поликистозных яичников, в том числе с помощью ЭКО. В кн.: Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского бесплодия. Под ред. В.И. Кулакова, Б.В. Леонова. М: МИА 2000; 470—496.
21. Пищулин А.А. Гиперандрогенные состояния (вирильный синдром). В кн.: Болезни органов эндокринной системы: Руководство для врачей. Под ред. И.И. Дедова. М: Медицина 2000; 450—463.
22. Рибар Р.У. Практическая оценка состояния репродуктивной системы. В кн.: Репродуктивная эндокринология. Т. 2. Под ред. С.С.К. Йена и Р.Б. Джаффе (пер. с англ.). М: Медицина 1998; 286—363.
23. Руководство ВОЗ по стандартизованному обследованию и диагностике бесплодных супружеских пар. М: Мед Пресс 1997; 91.
24. Савельева Г.М., Краснополянская К.В., Клименко П.А. и др. Система обследования и принципы терапии женщин, страдающих бесплодием. Использование методов восстановления естественной фертильности и вспомогательных репродуктивных технологий: Пособие для врачей. М: Минздрав РФ 2000; 46.
25. Сметник В.П., Тумилович Л.Г. Неоперативная гинекология. М: МИА 2003; 245.
26. Сметник В.П., Чернуха Г.Е., Валуева Л.Г. Применение субкутранина (меридиа) у больных с ожирением и нарушением функции яичников. Пробл репрод 2002; 8: 1: 18—23.
27. Смольникова В.Ю., Финогенова Е.Я. Схемы стимуляции суперовуляции в программе ЭКО и ПЭ. В кн.: Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского бесплодия. Под ред. В.И. Кулакова, Б.В. Леонова. М: МИА 2000; 91—135.
28. Спарк Р. Нарушение секреции пролактина. В кн.: Эндокринология. Под ред. Н. Лавина (пер. с англ.). М: Практика 1999; 160—168.
29. Старкова Н.Т. Клиническая эндокринология: Руководство. Ст-Петербург: Питер 2002; 423—448.
30. Яворовская К.А. Принципы клинико-лабораторного отбора супружеских пар в программу ЭКО и ПЭ (эндокринные аспекты и коррекция отклонений). В кн.: Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского бесплодия. Под ред. В.И. Кулакова, Б.В. Леонова. М: МИА 2000; 291—318.
31. Abae M., Firisin W., Lopez K. et al. Prospective randomized trial of two mild ovarian stimulation protocols with recombinant FSH in combination with ganirelix acetate preliminary results. Hum Reprod 2002; 17: (Abstr, Book 1): P-338, 117.
32. Abu-Heija A.T., Fleming R., Yates R.V.S. Pregnancy outcome following exposure to gonadotropin-releasing hormone analogue during early pregnancy: comparison in patient with normal or elevated luteinizing hormone. Hum Reprod 1995; 10: 12: 3317—3319.
33. Al-Habib A., Zosmer A., Tozetr A. et al. GnRH antagonist on alternate days in an IVF/ICSI programme can suppress premature ovulation. Hum Reprod 2002; 17: (Abstr, Book 1): O-101: 35.
34. Behre H.M., Nordhoff V., Nieschlag E. GnRH antagonists: an overview. In: Ovulation induction, eds. M.Filicori, C.Flamigni. Proceedings of the 2nd World Conference on Ovulation Induction 1998; 107—113.
35. Crespo J., Escudero E., Bosh E. et al. When to start the GnRH antagonist in IVF? Preliminary results. Hum Reprod 2002; 17: (Abstr, Book 1): O-099: 34.
36. Crosignani P.G., Piloni S., Gessati A. et al. Pregnancies induced by weight reduction in anovulatory obese polycystic ovary syndrome patients. Hum Reprod 1999; 14: (Abstr, Book 1): 247.
37. De Jong D., Macklon N., Mannaerts B. et al. High dose gonadotropin-releasing hormone antagonist (ganirelix) may prevent ovarian hyperstimulation syndrome caused by ovarian stimulation for in vitro fertilization. Hum Reprod 1998; 13: 3: 573—575.
38. De Leo V., La Marca A., Ditto A. et al. Effect of metformin on gonadotropin-induced ovulation in women with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 1999; 72: 2: 282—285.
39. Ehrman D.A. Insulin-lowering therapeutic modalities for polycystic ovary Syndrome. Endocrinol Metab Clin North Am 1999; 2: 423—438.
40. Felberbaum R., Diedrich K. Use of GnRH antagonists in ovulation induction. In: Filicori M., Flamigni C. (eds): Treatment of infertility: the new frontiers. Communication Media for Education. Princeton Junction. New Jersey 1998; 139—152.
41. Gonzales F. Adrenal involvement in polycystic ovary syndrome. Semin Reprod Endocrinol 1997; 15: 137—157.
42. Homburg R. Low dose therapy with FSH: endocrine aspects and clinical results. In: Filicori M., Flamigni C (eds): Ovulation induction update'98. Carnforth, UK, Lancs: Parthenon 1998; 61—66.
43. Kim L.N., Taylor A.E., Taylor R.L. Insulin sensitizers and polycystic ovary syndrome: can a diabetes medication treat infertility? Fertil Steril 2000; 73: 6: 1097—1098.
44. Lorusso F., Vimercati A., Mei L. et al. Effects of metformin on menses, sex-hormone-binding globulin, BMI and insulin in women with polycystic ovary syndrome. Hum Reprod 2001; (Abstr, Book 1): 265.
45. Mochtar M., Van Kreveld H., Hamilton C. et al. Fixed or flexible? The effect of an individualized GnRH antagonist protocol on folliculogenesis in IVF/ICSI. Hum Reprod 2003; 18: Suppl 1: 320: 110.
46. Nestler J.E. Sex hormone-binding globulin: a marker for hyperinsulinaemia and/or insulin resistance? J Clin Endocrinol Metab 1993; 76: 273—274.
47. Nestler J.E., Jakubowicz D.J., de Vargas A.F. et al. Insulin stimulates testosterone biosynthesis by human thecal cells from woman with polycystic ovary syndrome by activating its own receptor and using inositolglycan mediators as a signal transduction system. J Clin Endocrinol Metab 1998; 83: 2001—2005.
48. Out H.J., Driessen S.G.A.J., Mannaerts B.M.J.L. et al. Recombinant follicle-stimulating hormone (follitropin beta Puregon) yields higher pregnancy rates in in vitro fertilization than urinary gonadotropins. Fertil Steril 1997; 68: 1: 138—142.
49. Perotti L., Bianchi M.M., Colombo M. et al. In vitro fertilization: poor ovarian response to human gonadotropins in overweight patients and women over 35 years of age. Hum Reprod 1999; 14: (Abstr, Book 1): O-172: 56.
50. Wang X., Davies M., Norman R.J. Obesity contributes to a higher miscarriage rate following assisted reproductive technology. Hum Reprod 2001; 16: (Abstr, Book 1): O-061.

Апоптоз клеток гранулезы и показатели фертилизации ооцитов у женщин с эндокринным бесплодием и эндометриозом в программе ЭКО

М.В. ЯМАНОВА, А.Б. САЛМИНА, А.В. СВЕТЛАКОВ, Е.А. ПОЖИЛЕНКОВА, С.В. МИХУТКИНА

Красноярская государственная медицинская академия

Проведена оценка апоптоза гранулезных клеток фолликулов в сравнении с критериями фертилизации ооцитов, полученных у женщин с эндокринным бесплодием и наружным генитальным эндометриозом. Обсуждаются патофизиологические механизмы, приводящие к функциональной неполноценности гамет при женском бесплодии.

Ключевые слова: бесплодие, апоптоз гранулезных клеток фолликулов, вторичный некроз, фертилизация ооцитов.

Высокие дозы гонадотропинов, применяемые при овариальной стимуляции, и в большей степени ФСГ являются антиапоптотическими факторами [1], вызывающими изменение гормональной микросреды фолликула. Это позволяет сохранять жизнеспособность фолликулов с уже начавшейся атрезией [2], и, в том числе, за счет данного феномена целенаправленно получать синхронизированный пул фолликулов в программе ЭКО.

Развитие апоптоза гранулезных клеток отражает вхождение фолликула в состояние атрезии, а это в свою очередь может свидетельствовать о неполноценности содержащегося в нем ооцита [3, 4].

В настоящее время известен ряд работ, в которых показано наличие взаимосвязи инициации апоптоза в гранулезных клетках фолликулов и исходов ЭКО [5, 6]. Более того, данный критерий предложен к использованию в качестве прогностического для оценки результативности лечения методом ЭКО у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием [7]. Вместе с тем в литературе отсутствует однозначная информация об адекватности этого параметра для прогностической оценки у женщин с эндокринным бесплодием и эндометриозом (Э).

Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение инициации и прогрессии апоптоза гранулезных клеток фолликулов и показателей фертилизации ооцитов, полученных при стимуляции овуляции у пациенток в программе ЭКО.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проанализированы образцы гранулезных клеток 95 доминантных фолликулов и показатели

фертилизации 841 ооцита, полученного у пациенток с эндокринным бесплодием и наружным генитальным Э, проходивших лечение в Красноярском центре репродуктивной медицины в 2001—2002 гг.

Для выявления причины бесплодия проводилось стандартное клиничко-лабораторное обследование, включавшее общеклиническое и гинекологическое исследования, УЗИ органов малого таза, гормональные методы функциональной диагностики и эндоскопические методы (лапароскопия и гистероскопия) при наличии показаний.

Содержание гормонов в периферической крови определяли радиоиммунологическим и иммуноферментным методами с помощью стандартных наборов реактивов, согласно приложенным к ним инструкциям. Для определения содержания ЛГ, ФСГ, пролактина (ПРЛ), тестостерона (Т) и прогестерона (П) использовали наборы фирмы «Immunotech» (Чехия); для определения концентрации эстрадиола (E_2) наборы производства «CIS International» (Франция), для определения содержания половых стероиды связывающего глобулина (ПССГ) — наборы фирмы «VCM Diagnostics» (США).

Индекс свободных андрогенов (САИ) рассчитывали как отношение уровня Т к уровню ПССГ, выраженное в %.

Данные гормонального обследования пациенток с эндокринным бесплодием и Э приведены в таблице.

Образцы гранулезных клеток получали во время пункции фолликулов от пациенток репродуктивного возраста с нарушениями менструальной и репродуктивной функций на фоне хронической ановуляции и гиперандрогении (ГА; $n=23$) или функциональной гиперпролактинемии (ГП;

$n=23$), пациенток с наружным генитальным Э, в основном I—II степени распространенности (Э; $n=23$). Женщины с регулярным двухфазным менструальным циклом и трубно-перитонеальным фактором бесплодия составили контрольную группу (ТПФ; $n=26$). Образцы анализировали по принципу: «одна пациентка — один доминантный фолликул».

Возраст женщин варьировал от 20 до 44 лет и в среднем составил $32,7 \pm 1,5$ года. Длительность предшествующего бесплодия у обследованных супружеских пар составила 3—18 лет, в среднем — $7,6 \pm 1,5$ года.

Стимуляцию овуляции во всех лечебных циклах осуществляли с использованием препаратов а-ГнРГ (декапептил-дейли) в сочетании с чМГ (хумегон). В качестве индуктора овуляции применяли прегнил (10 000 МЕ).

Детекцию апоптоза гранулезных клеток фолликулов осуществляли с помощью наборов Annexin V Apoptosis Detection Kit («Caltag Laboratories», США), согласно протоколу фирмы-производителя.

Для проведения реакции суспензию свежывыделенных гранулезных клеток аспирированных фолликулов дважды отмывали фосфатно-солевым буфером и разводили раствором Хенкса, после чего инкубировали с 20 мкл связывающего буфера, 1,5 мкл FITC-меченного аннексина V и 3 мкл пропидия йодида. Пробы инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре в темноте. Затем готовили нативные препараты клеток и оценивали их методом люминесцентной микроскопии на микроскопе Люмам-Р8 при увеличении 900, регистрируя относительное количество четырех видов клеток: клеток в состоянии апоптоза, некроза, вторичного некроза и жизнеспособных клеток.

Культивирование полученных ооцитов проводили по стандартной методике с использованием сред и реактивов производства фирмы «Medi-Cult» (Дания). Характер оплодотворения (отсутствие, нормальное или полиспермное) и морфологию полученных зигот с определением количества пронуклеусов оценивали методом световой микроскопии, выполняемой через 16 ч от момента инсеминации.

В работе исключалось воздействие отцовского генотипа на отсутствие оплодотворения ооцита или его полиплоидное оплодотворение, поскольку для анализа были отобраны супружеские пары, у которых при двукратном исследовании эякулята полового партнера была подтверждена нормоспермия.

При оценке результатов культивирования ооцитов *in vitro* учитывались параметры: частота нормального оплодотворения или аномального

оплодотворения, отсутствие оплодотворения, число полученных эмбрионов и отношение числа полученных эмбрионов к числу полученных ооцитов (ЧПЭ/ЧПО), которое характеризует количество ооцитов, элиминированных на этапе фертилизации [8].

Для определения достоверности различий сопоставляемых величин использовали *t*-критерий Стьюдента и критерий Стьюдента с поправкой Бонферони для множественных сравнений. Корреляционный анализ выполняли с вычислением коэффициента корреляции (*r*) Пирсона и установлением значимости различий по *t*-критерию. Статистический анализ полученных результатов, выраженных в виде $M \pm m$, проводили используя прикладную компьютерную программу Biostat.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Количество фолликулов и ооцитов, полученных в разных группах женщин с бесплодием, приведено на рис. 1. Количество пунктированных фолликулов и полученных ооцитов достоверно превышало контрольный уровень в группе женщин с ГА ($p < 0,05$).

Известно, что гормональная стимуляция овуляции в программе ЭКО может приводить к сохранению жизнеспособности фолликулов с уже начавшейся атрезией [9]. На конечных этапах атрезии фолликула в гранулезных клетках, погибших путем апоптоза, развиваются явления вторичного некроза. Полученные нами данные, характеризующие степень выраженности апоптоза и некроза в гранулезных клетках аспирированных фолликулов, представлены на рис. 2 и 3.

Как видно на рис. 2, число клеток, экспрессирующих фосфатидилсерин на внешней стороне

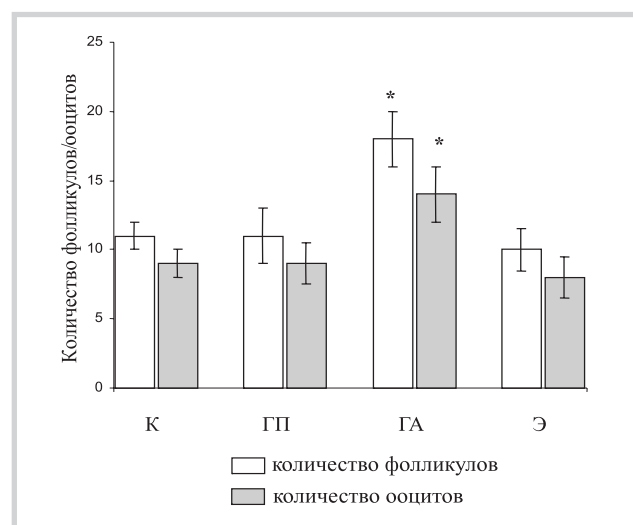


Рис. 1. Выраженность овариального ответа на стимуляцию овуляции у женщин с ГП, ГА, Э и контрольной группы (К).

Содержание гипофизарных, стероидных гормонов и белков в периферической крови женщин с эндокринным бесплодием и эндометриозом ($M \pm m$)

Показатель	Группа			
	контроль ($n=26$)	ГА ($n=23$)	ГП ($n=23$)	Э ($n=23$)
ЛГ, мМЕ/мл	3,2±0,7	11,5±1,7*	3,8±1,1	2,5±0,6
ФСГ, мМЕ/мл	4,6±1,2	5,4±2,1	6,4±1,6	5,6±1,7
ЛГ/ФСГ	0,7±0,06	2,1±0,1*	0,51±0,09	0,45±0,04
ПРЛ, мМЕ/мл	305,1±18,9	332,8±33,8	747,3±61,1*	272,9±25,3
E_2 , пмоль/л	163±17,9	91,7±18,5*	145,1±24,5	86,7±25,5*
П, нмоль/л	65,0±6,4	6,4±3,5*	14,3±4,2*	29,6±8,6*
Т, нмоль/л	1,3±0,1	2,3±0,3*	1,4±0,2	1,7±0,4
САИ, %	1,3±0,2	5,3±0,5*	1,2±0,3	1,8±0,3

Примечание. Представлены данные гормонального исследования, проведенного на 20–22-й день спонтанного или индуцированного менструального цикла; * — достоверные различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$).

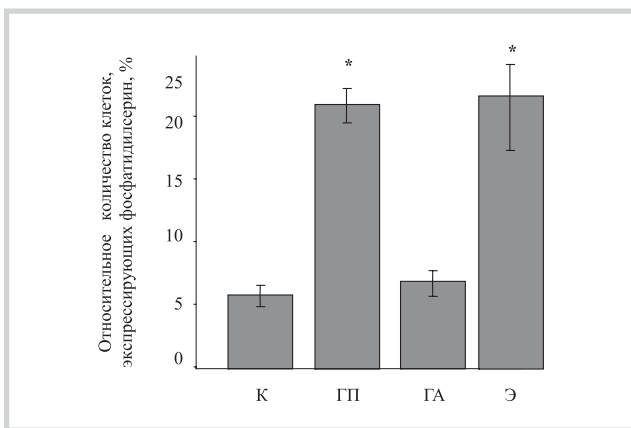


Рис. 2. Выраженность начальных явлений апоптоза в гранулезных клетках фолликулов при ГП, ГА, Э и в контрольной группе (К).

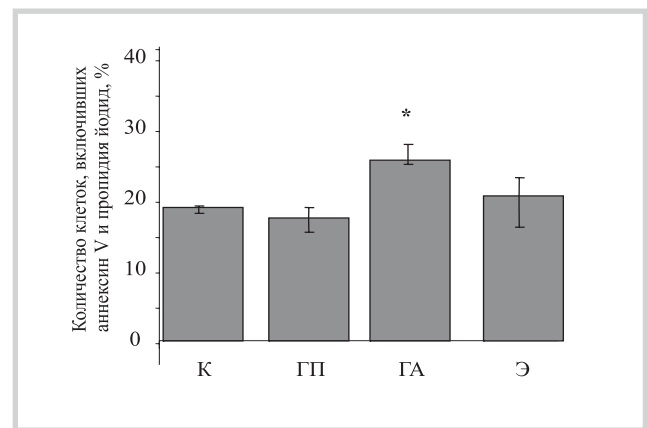


Рис. 3. Выраженность вторичного некроза в гранулезных клетках фолликулов при ГП, ГА, Э и в контрольной группе (К).

не плазматической мембраны, было повышено при ГП и Э ($p < 0,01$ по сравнению с контролем для обоих случаев).

Интересной особенностью развития апоптоза, обнаруженной нами в гранулезных клетках, полученных от женщин с ГА, было появление значительного числа клеток с признаками вторичного некроза, экспрессирующих на своей поверхности фосфатидилсерин на фоне повышения проницаемости цитоплазматической мембраны ($p < 0,05$; см. рис. 3). Известно, что развитие вторичного некроза отражает неспособность клетки корректным образом завершить уже запущенную программу апоптоза, что позволяет нам предположить наличие существенных метаболических нарушений в гранулезных клетках при ГА.

Следует отметить, что достаточно высокий уровень апоптоза и некроза был обнаружен и в клетках, полученных из фолликулов женщин

контрольной группы, что соответствует данным авторов, работающих с аналогичными режимами стимуляции овуляции [10].

Суммарное число клеток, находящихся в состоянии клеточной гибели, достоверно отличалось от контроля при всех вариантах женского бесплодия (рис. 4). На рис. 5 представлены данные, характеризующие отношение числа клеток, находящихся в состоянии апоптоза, к числу клеток с некротическими изменениями, свидетельствующие о преобладании процессов апоптоза при ГП и Э и необратимого, неконтролируемого варианта клеточной гибели (некроза) в гранулезных клетках фолликулов при ГА.

Поскольку развитие апоптоза, как правило, более предпочтительно для предотвращения негативных последствий в реализации межклеточной коммуникации, превалирование некроза при

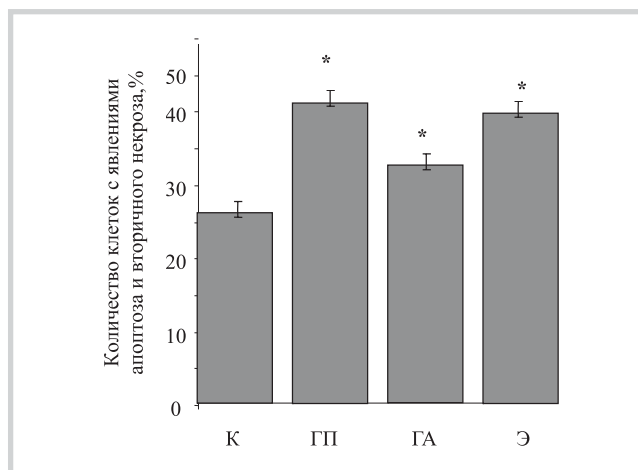


Рис. 4. Суммарное число гранулезных клеток, находящихся в состоянии апоптоза и вторичного некроза, в стимулированных циклах при ГП, ГА, Э и в контрольной группе (К).

ГА может характеризовать более тяжелую степень нарушения фолликулогенеза и оогенеза.

Использование метода корреляционного анализа позволило обнаружить наличие сильной связи между выраженностью явлений апоптоза в фолликулах (по суммарному числу гранулезных клеток, находящихся на начальной стадии апоптоза или в состоянии вторичного некроза, см. рис. 4) и числом пунктированных фолликулов ($r=0,99$; $p=0,03$). Аналогичная зависимость отмечена между выраженностью явлений апоптоза и числом полученных ооцитов ($r=0,98$; $p=0,02$).

Таким образом, целенаправленное увеличение пула созревающих фолликулов, достигаемое в циклах ЭКО применением гипотазарных гонадотропинов, приводит к увеличению числа фолликулов и ооцитов, находящихся в начальной стадии апоптоза и вторичного некроза. Уровень апоптоза в гранулезных клетках фолликулов стимулированных яичников пациенток был напрямую связан с суммарной дозой гонадотропинов, применявшихся для стимуляции овуляции (корреляция: выраженность апоптоза — суммарная доза хумегона: $r=0,92$; $p=0,05$).

Анализ факторов, влияющих на выраженность апоптоза в гранулезных клетках фолликулов, иными словами, на возможность клеток завершить программу апоптоза, привел нас к следующему заключению. Из всех исследованных нами гормональных параметров значимая отрицательная корреляция выявлена только между уровнем клеточного некроза и содержанием E_2 ($r=-0,96$; $p=0,04$), что соответствует «защитной» роли E_2 как антиапоптотического фактора для органов женской репродуктивной системы.

Вероятно, результатом экзогенного вмешательства в процессы селекции, роста и атрезии

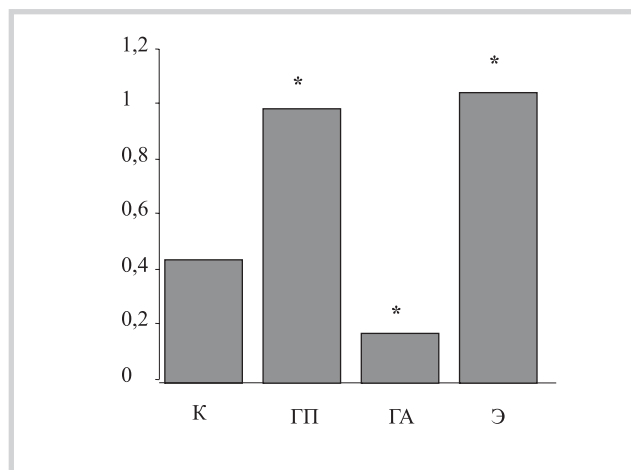


Рис. 5. Отношение апоптоз/вторичный некроз в гранулезных клетках фолликулов женщин с ГП, ГА, Э и контрольной группы (К).

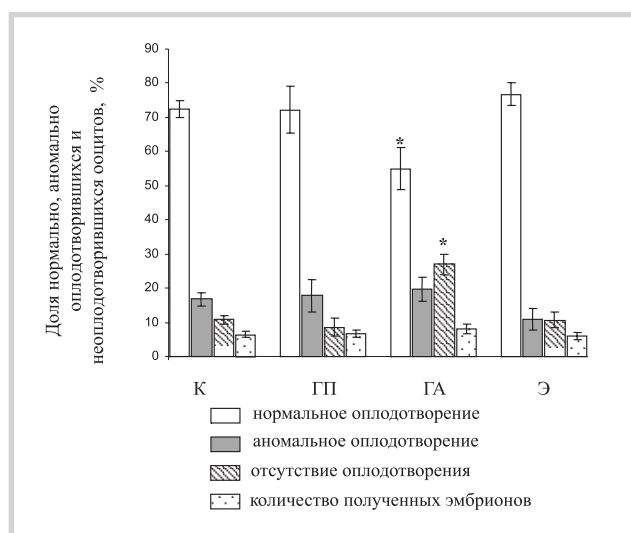


Рис. 6. Особенности оплодотворения ооцитов у женщин с ГП, ГА, Э и контрольной группы (К).

фолликулов и созревания ооцитов, происходящего в ходе циклов овариальной стимуляции, становится увеличение числа патологически измененных яйцеклеток.

В нашем исследовании была проведена оценка качества оплодотворения ооцитов, полученных из фолликулов, находящихся, как было продемонстрировано ранее, в состоянии атрезии. В группе пациенток с ГА частота нормального оплодотворения была достоверно ниже ($p<0,05$, рис. 6). Частота отсутствия оплодотворения была достоверно выше в группе пациенток с ГА ($p<0,05$). Частота аномального оплодотворения была одинакова во всех исследованных нами группах женщин.

Низкое качество полученных у пациенток с ГА ооцитов несколько уравновешивалось их большим, чем в контрольной группе, числом, что в

результате позволило получить в группе пациенток с ГА число эмбрионов, сравнимое с контролем ($p > 0,05$; см. рис. 6). Вместе с тем отношение ЧПЭ/ЧПО демонстрирует, что уже в ходе фертилизации элиминируется около 40% ооцитов, полученных у женщин с овариальной ГА, что подтверждает сделанный нами на основании анализа выраженности апоптоза и некроза клеток гранулезы вывод о более тяжелом нарушении фолликуло- и оогенеза у женщин с этой эндокринной патологией.

Проведенный корреляционный анализ выявил значимую взаимосвязь частоты отсутствия оплодотворения ооцитов и отношения ЛГ/ФСГ ($r = 0,999$; $p = 0,01$); уровня САИ ($r = 0,98$; $p = 0,04$) и выраженности явлений апоптоза (начальные и терминальные стадии суммарно) в гранулезных клетках фолликулов ($r = 0,999$; $p = 0,01$). Данный факт свидетельствует о ведущей роли инициации программированной клеточной гибели под действием патологически высокого ЛГ/ФСГ и САИ в дегенерации и перезревании ооцитов, приводящих к нарушению их фертилизационной способности. Иными словами, чем больше в лечебном цикле получено фолликулов и ооцитов, тем ниже частота их нормального оплодотворения ($r = -0,99$; $p = 0,07$) в результате повышения частоты отсутствия оплодотворения ($r = 0,99$; $p = 0,03$).

Интересно отметить, что анализ корреляций между экстернализацией фосфатидилсерина, некрозом гранулезных клеток и отсутствием оплодотворения ооцитов, проведенный для каждой из изученных стадий апоптоза изолированно, не выявил достоверных взаимосвязей этих показателей. Данный факт, вероятно, может свидетельствовать об отсутствии четких критериев влияния фазы и особенностей реализации программы апоптоза на степень дегенерации ооцита, при которой его оплодотворение уже невозможно. Ранее было продемонстрировано, что чем больше ооцитов получено в цикле стимуляции овуляции, тем хуже их способность к фертилизации, поскольку возникающий в ответ на введение препаратов ФСГ (на фоне агонистов люлиберина) активный рост фолликулов приводит к получению пула клеток, разнородных по степени зрелости [11].

Вероятно, механизмы естественного отбора, действуя уже на этой стадии развития эмбриона, способствуют элиминации яйцеклеток с измененной структурой хромосомного аппарата и/или так называемых «перезревших», имеющих нарушения цитоплазматического и ядерного материала дегенеративного характера. Элиминация таких ооцитов реализуется посредством их аномального (полиплоидного) оплодотворения или путем отсутствия оплодотворения [12]. Очевидно, процесс

селекции неполноценных гамет, в целом дающий защитный эффект в отношении выживания человеческой популяции, вносит определенный вклад в патогенез некоторых вариантов бесплодия [13].

На сегодняшний день нет единого мнения о том, можно ли использовать показатели, характеризующие выраженность апоптоза в кумулюсе ооцитов, в качестве прогностического критерия для оценки качества ооцитов и исходов лечебных циклов вспомогательных репродуктивных технологий в целом [5, 7, 14, 15].

В отличие от данных [5, 7] в нашей работе не выявлено значимых корреляций между уровнем апоптоза в гранулезных клетках фолликулов и показателями, изученными нами ранее, — частотой наступления беременности и критерием “take-home-baby” [16]. Вместе с тем, согласно нашим данным, родами в срок закончилось 53% беременностей у женщин с наружным генитальным Э и только 33% беременностей у женщин с овариальной ГА, что достоверно отличалось от результатов контрольной группы ($p < 0,05$) и аналогичного показателя у женщин с ГП [16].

Следует отметить, что все зарубежные работы по изучаемой нами теме выполнены на образцах гранулезных клеток, полученных от женщин с ТПФ. В то же время хорошо известно, что ГА, ГП и Э — тяжелые патологические процессы репродуктивной системы, характеризующиеся нарушенной системой регуляции, что изменяет все параметры гомеостаза организма.

Как нам представляется, логическим продолжением исследований на эту тему было бы проследивание судьбы каждого ооцита вплоть до имплантации эмбриона и логического завершения беременности с привлечением данных, характеризующих состояние гранулезных клеток и микроокружение ооцита. Проведение исследований с применением технологий, позволяющих идентифицировать конкретный имплантировавшийся эмбрион, позволило бы поставить точку в данном вопросе. Мы думаем, что подобная работа дождется своего исследователя.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пунктируемые фолликулы при ГА находятся в состоянии терминальной стадии атрезии, о чем свидетельствует обнаружение гранулезных клеток в состоянии вторичного некроза. В ооцитах, полученных из таких фолликулов, снижена частота нормального оплодотворения за счет отсутствия оплодотворения.

ГП и Э характеризуются повышенным числом гранулезных клеток в состоянии апоптоза, что соответствует начальной стадии атрезии фолликула. Показатели фертилизации ооцитов при

этих видах патологии женской репродуктивной сферы практически не отличаются от контроля. Однако критерии, характеризующие исходы ЭКО в этих группах женщин, резко различаются между собой [16].

Таким образом, при рассматриваемых вариантах женского бесплодия уровень апоптоза и некроза гранулезных клеток стимулированных

фолликулов не может служить адекватным прогностическим критерием в лечебных циклах ЭКО.

Авторы приносят глубокую благодарность сотрудникам Красноярского центра репродуктивной медицины за содействие в отборе пациентов и предоставление материала для исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лушников Е.Ф., Абросимов А.Ю. Гибель клетки (апоптоз). М: Медицина 2001; 95.
2. Никитин А.И. Фолликуло- и оогенез при стимуляции овуляции. Акуш и гин 1998; 1: 41—45.
3. Kim J.-M., Yoon Y.-D., Tsang B.K. Involvement of the Fas/Fas ligand system in p53-mediated granulosa cell apoptosis during follicular development and atresia. Endocrinology 2000; 140 (5): 2307—2317.
4. Monniaux D., Huet C., Pisselet C. Mechanism, regulation, and manipulations of follicular atresia. Contracept Fertil Sex 1998; 26 (7—8): 528—535.
5. Benifla J.L., Sifer C., Bringer A.F., Blanc-Layrac G. et al. Induced apoptosis and expression of related proteins in granulosa cells from women undergoing IVF: a preliminary study. Hum Reprod 2002; 17(4): 916—920.
6. Oosterhuis G.J., Michgelsen H.W., Lambalk C.B. Apoptotic cell death in human granulosa-lutein cells: a possible indicator of in vitro fertilization outcome. Fertil Steril 1998; 70 (4): 747—749.
7. Lee K.S., Joo B.S., Na Y.J. Cumulus cells apoptosis as an indicator to predict the quality of oocytes and the outcome of IVF-ET. J Assist Reprod Genet 2001; 18 (9): 490—498.
8. Plachot M. Chromosomal abnormalities in oocytes. Mol Cell Endocrinol 2001; 183 (1): 59—63.
9. Никитин А.И. Факторы неудач в программах вспомогательной репродукции. Пробл репрод 1995; 2: 36—42.
10. Homburg R., Levy T., Berkowitz D. et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist reduces the miscarriage rate for pregnancies achieved in women with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 1993; 59 (3): 527—558.
11. Teissier M.P., Chable H., Paulhac S., Aubard Y. Comparison of follicle steroidogenesis from normal and polycystic ovaries in women undergoing IVF: relationship between steroid concentrations, follicle size, oocyte quality and fecundability. Hum Reprod 2000; 15 (12): 2471—2477.
12. Кумаев Э.М. Элиминация половых клеток в процессе гаметогенеза и ее значение в репродукции. Акуш и гин 1977; 8: 31—36.
13. Plachot M., Crozet N. Fertilization abnormalities in human in vitro fertilization. Hum Reprod 1992; 7 (1): 89—94.
14. Salmina A.B., Svetlakov A.V., Pozhilenkova E.A., Yamanova M.V. et al. Lack of correlation between granulosa cell apoptosis and oocyte quality. Abstr. 19th ESHRE AM: Madrid (Spain) 2003; 22.
15. Oosterhuis G.J., Ran-Bijen D.B., Vermes I., Havenith M.G. et al. Apoptosis in human granulosa cells after ovarian stimulation. Abstr. 13th ESHRE AM: Edinburgh (Great Britain) 1997; 231.
16. Светлаков А.В., Яманова М.В., Салмина А.Б., Серебренникова О.А. Вероятность наступления имплантации у женщины с разными формами бесплодия при лечении методом ЭКО. Пробл репрод 2002; 3: 61—67.

Репродуктологи всех стран — объединяйтесь!

(Продолжение; начало на с. 21)

Галимов Шамиль Нариманович — Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Башкортостан
centreles@bsmu.anrb.ru
Sgalim@hotmail.ru

Гоголевский Петр Анатольевич — генетик-эмбриолог ЦПСИР, Москва
ppc108739@dialup.podolsk.ru

Дахно Федор Власович — директор Института репродуктивной медицины, Киев, Украина
dakhno@irm.kiev.ua

Дендеберов Евгений Станиславович — врач-уролог, Москва
dend.urol@mtu-net.ru

Дошечкин Владимир Владимирович — директор Центра ЭКО, Одесса, Украина
remedi@tm.odessa.ua

Ефименко Анатолий Федорович — заведующий отделением оперативной гинекологии клиники «Медиком», Киев, Украина
medikom@gu.kiev.ua

Продолжение на с. 41

α_2 -Микроглобулин фертильности (гликоделин-S) как возможный иммунодепрессивный фактор антиспермального иммунитета

Е.А. КАЛАШНИКОВА¹, С.Н. КОКАРОВЦЕВА¹, М.И. МАРШИЦКАЯ², И.И. СТЕПАНОВА²,
М.Н. БОЛТОВСКАЯ², Л.Ф. КУРИЛО¹, Е.М. ГРИШИНА¹, Т.М. СОРОКИНА¹

¹ Медико-генетический научный центр РАМН, ² НИИ морфологии человека РАМН, Москва

Показана достоверная взаимосвязь повышения количества антиспермальных антител в сыворотке крови женщин и снижения уровня α_2 -микроглобулина фертильности (АМГФ) в спермальной плазме их супругов. Таким образом, возможно, спермальный АМГФ функционирует в качестве иммунодепрессивного белка в процессе формирования антиспермального иммунитета у женщин. Развитие антиспермального аутоиммунитета у мужчин определяется и регулируется факторами, отличными от АМГФ.

Ключевые слова: антиспермальные антитела, α_2 -микроглобулин фертильности, гликоделин, иммунодепрессия, нарушения репродукции.

Антиспермальные антитела (АСАТ) являются одним из факторов нарушений репродуктивной функции. АСАТ встречаются как у женщин, так и у мужчин (аутоАСАТ) в сыворотке крови, в цервикальной слизи, секретах матки и труб, перитонеальной жидкости, спермальной плазме и на мембране сперматозоидов. Значение АСАТ в нарушении репродукции продолжает интенсивно изучаться. Исследования проводятся в направлении изучения как специфичности АСАТ (изучение спермальных антигенов-мишеней), так и класса иммуноглобулинов (*G*, *A*, *M*) и их титров. Считается, что антитела к сперматозоидам влияют на процессы продвижения сперматозоидов в женском генитальном тракте, процессы капацитации и акросомальной реакции сперматозоидов, прикрепление и проникновение их в *zona pellucida*, слияние гамет и даже на имплантацию и ранние этапы развития эмбриона [5, 14, 18, 28, 29].

α_2 -Микроглобулин фертильности (АМГФ) — димерный гликопротеин, молекулярная масса которого варьирует, по данным разных авторов, от 42 до 56 кДа в зависимости от источника и способа выделения, углеводы составляют около 20% молекулярной массы белка. В отечественной литературе АМГФ известен под разными названиями. Впервые выделенный и идентифицированный Д.Д. Петруниным и соавт. [4] как новый антиген плаценты, белок был назван хорионическим α_2 -микроглобулином. Затем, по мере накопления данных о локализации и свойствах белка, его наименование изменялось на плацентарный α_2 -микроглобулин, α_2 -микроглобулин фер-

тильности, специфический α_2 -микроглобулин. В 80-х годах XX века за рубежом белок был выделен и охарактеризован несколькими независимыми группами исследователей как плацентарный протеин 14 (*PP14*) [7], ассоциированный с беременностью эндометриальный α_2 -глобулин (α_2 -*PEG*) [6], прогестагензависимый эндометриальный белок [12], α -маточный белок [27].

Чтобы избежать терминологической путаницы, A. Dell и соавт. предложили новое обозначение белка «гликоделин», отражающее его уникальную особенность — зависимое от пола гликозилирование [10]. Из-за различий в гликозилировании изоформа гликоделина из амниотической жидкости была названа «гликоделин-A», а соответствующая изоформа гликоделина из семенной плазмы — «гликоделин-S». Сравнительные иммунохимические исследования, анализ *N*-концевых последовательностей и секвенирование кДНК показали, что оба гликоделина идентичны по первичной и третичной структуре белковой молекулы, по иммуногенности и некоторым физико-химическим свойствам [26]. Отличаются они только гликозилированием. Масс-спектрометрический анализ *N*-гликанов гликоделина-A и гликоделина-S показал значительные различия между ними. Главные из них состоят в том, что гликоделин-S в отличие от гликоделина-A необычайно богат фукозой, не содержит сиалированных форм гликанов, и, кроме того, его главные углеводные структуры сложного типа представляют собой двухантенные структуры групп крови Lewis^x и Lewis^y [19].

Несмотря на идентичность полипептидной структуры и иммуногенных свойств, зависящие от пола различия в гликозилировании определяют различную биологическую активность этих двух гликоформ АМГФ. Это касается ингибирования взаимодействия сперматозоида с яйцеклеткой и иммуномодулирующих функций.

Гликоделин-А — первый эндогенный гликопротеин со свойствами подавления проникновения сперматозоида в *zona pellucida* [20]. Ингибирование очищенным гликоделином-А — дозозависимое и фактически полное при концентрациях, выявляемых в маточных тканях и маточной жидкости во время средней лютеиновой фазы цикла. Последние исследования показывают, что гликоделин-А реализует эту биологическую активность с помощью уникальных олигосахаридных последовательностей на своей молекуле, которые не представлены на гликоделине-S из семенной плазмы [19]. Отсутствие гликоделина-А в эндометрии в фазу овуляции менструального цикла можно сравнить с перивуляторным окном, открытым оплодотворению, так как контрацептивный гликоделин-А появляется вновь позже, в лютеиновую фазу [26].

Гликоделин-А снижает фитогемагглютинин-индуцированную пролиферацию лимфоцитов [8], синтез ИЛ-1 и ИЛ-2 [22, 23], ингибирует активность естественных киллеров (NK-клеток) [21] и T-клеток [24]. Гликоделин дозозависимо повышает продукцию ИЛ-6 эпителиальными клетками, выделенными из секреторного эндометрия [15]. Эти данные наряду с высокой концентрацией гликоделина-А в фетоматеринском пространстве указывают на его значительную роль в подавлении иммунного ответа матери на развивающийся эмбрион [9].

Иммунопреципитация гликоделина-S специфическими антителами частично устраняет иммунодепрессивное действие семенной плазмы в реакции смешанной культуры лимфоцитов [8]. Н. Morris и соавт. предполагают участие в иммуномодулирующих реакциях богатых фукозой эпитопов гликоделина-S [19]. Олигосахариды Lewis^x являются ингибиторами адгезии E-селектинов [11]. Полагают, что иммунодепрессивное действие АМГФ происходит путем блокирования подобных селектиновых рецепторов на различных клетках-мишенях [10].

Таким образом, обе гликоформы АМГФ обладают выраженной иммуносупрессорной активностью.

Целью настоящего исследования являлось изучение уровня АМГФ в сперме и количества АСАТ в сыворотке крови у супружеских пар с нарушением репродуктивной функции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находились пациенты с различными нарушениями репродуктивной функции, которые были предварительно обследованы для выявления факторов мужского бесплодия (спермограмма, гормональный фон), урогенитальных инфекций, хромосомных аномалий (кариотип). Всем женщинам было проведено гинекологическое и эндокринологическое обследование.

Полное обследование прошли 34 супружеские пары. Бесплодие в браке наблюдали у 5 пар, первичное бесплодие — у 16, первичное бесплодие с неудачными попытками ЭКО — у 4, привычное невынашивание беременности — у 6, первичное бесплодие с последующим привычным невынашиванием беременности — у 1, неудачные попытки ЭКО — у 2.

Содержание АМГФ в сперме определяли иммуноферментным методом с использованием диагностических наборов АМГФ — Фертитест-М, разработанных в НИИ морфологии человека РАМН. АСАТ определяли в сыворотке крови мужчин и женщин с помощью коммерческого иммуноферментного набора фирмы IBL (Германия), позволяющего выявлять суммарные количества антител классов *IgG*, *IgA* и *IgM*.

Проверка гипотезы о нормальности распределения концентраций АМГФ и АСАТ в группах осуществлялась с помощью критерия Колмогорова—Смирнова. Показано, что значения АСАТ во второй группе и АМГФ — в первой не подчиняются нормальному распределению, следовательно, статистическую обработку данных проводили с помощью непараметрических методов. Связь признаков вычисляли с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена, сравнение средних величин в группах — с помощью критерия Манна—Уитни [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Принимая во внимание уровень АСАТ в крови у женщин, были выделены две группы супружеских пар. 1-я — с высоким титром АСАТ (>75 ед/мл; 88—420 ед/мл) — у 8 женщин, 2-я — с низкими значениями АСАТ (0—55 ед/мл) — у 26 женщин. В 1-й группе средние значения АСАТ ($M \pm m$) составили $214,5 \pm 42,2$ ед/мл, во 2-й группе — $15,7 \pm 3,2$ ед/мл ($p < 0,0001$; рис. 1).

У супругов женщин в 1-й группе уровень АМГФ в сперме составлял $48,9 \pm 13,1$ мкг/мл, во 2-й группе — $131,0 \pm 17,8$ мкг/мл. Пользуясь критерием Манна—Уитни, выявили достоверную взаимосвязь высоких концентраций АСАТ у жен-

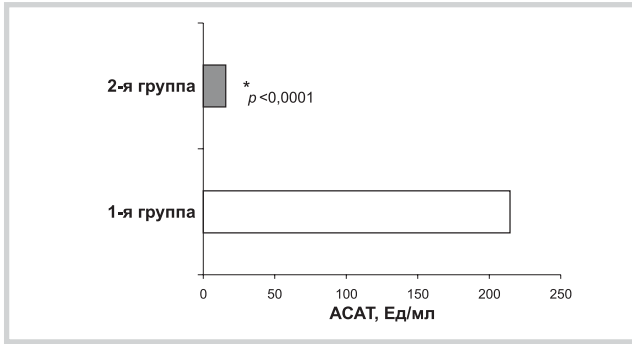


Рис. 1. Гистограмма средних значений АСАТ в крови у женщин в двух группах.

1-я группа — женщины с высоким титром АСАТ >75 Ед/мл ($n=8$); 2-я группа — женщины с низкими значениями АСАТ <75 Ед/мл ($n=26$).

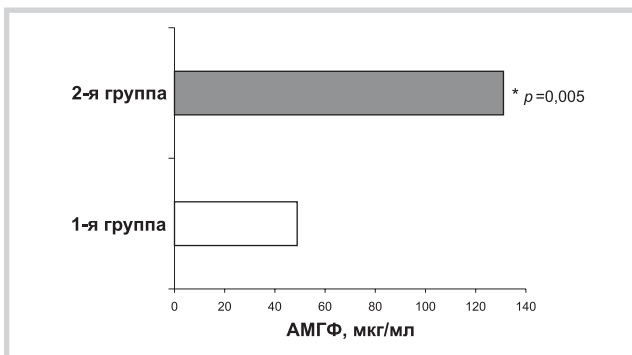


Рис. 2. Гистограмма средних значений АМГФ в сперме у мужчин в двух группах.

1-я группа — уровень АМГФ в сперме супругов женщин 1-й группы; 2-я группа — уровень АМГФ в сперме супругов женщин 2-й группы.

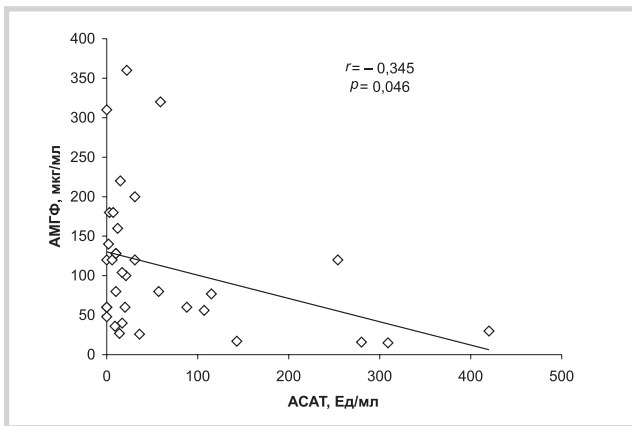


Рис. 3. Корреляция между уровнями АМГФ в сперме и концентрациями АСАТ в сыворотке крови женщин.

r — коэффициент корреляции, p — достоверность коэффициента корреляции.

и сниженных уровней АМГФ у их супругов ($p=0,005$; рис. 2).

Установлена обратно пропорциональная достоверная зависимость количества АСАТ в сыворотке крови женщин от уровня АМГФ в сперме

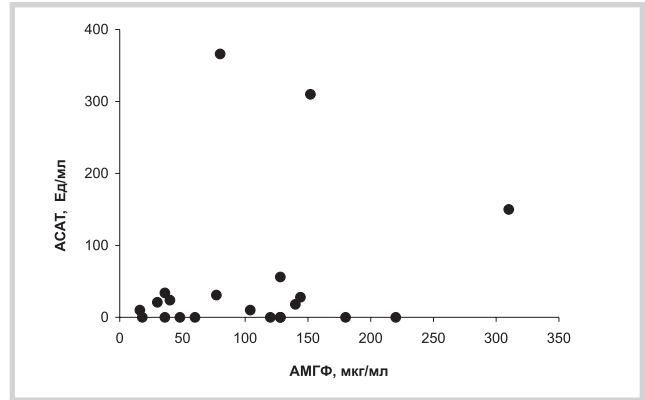


Рис. 4. Соотношение между уровнем антиспермальных антител в сыворотке крови у мужчин и α_2 -микроглобулином фертильности в их сперме.

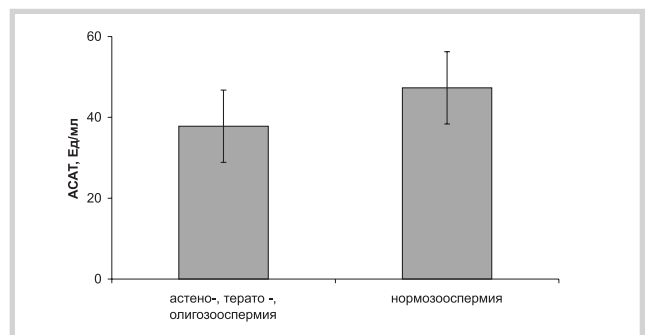


Рис. 5. Связь между показателями спермограммы и значениями АСАТ в сыворотке крови у мужчин.

их супругов (коэффициент ранговой корреляции Спирмена $r=-0,345$; $p=0,046$; рис. 3).

Однако АСАТ, выявленные у мужчин, не коррелировали с уровнем соответствующих им значений АМГФ в семенной жидкости (коэффициент ранговой корреляции Спирмена $r=0,169$; $p=0,459$; рис. 4).

Отмечено отсутствие связи между наличием АСАТ в сыворотке крови у мужчин и характеристиками спермограммы, т.е. количеством, морфологией или двигательной активностью сперматозоидов ($p>0,06$; рис. 5). Хотя в некоторых работах описана корреляция между наличием АСАТ и нарушением подвижности сперматозоидов или их агглютинацией [13], наши данные подтверждают многочисленные работы, описывающие отсутствие такой связи [16, 17].

Не выявлена также связь между уровнем АМГФ в сперме и характеристиками спермограммы ($p=0,307$; рис. 6). Это наблюдение подтверждает ранее полученные данные о том, что при одинаковых показателях спермограммы у разных мужчин имеются существенные различия в оплодотворяющей способности сперматозоидов, особенно хорошо прослеживающиеся при оплодотворении ооцитов вне организма женщины. Одной

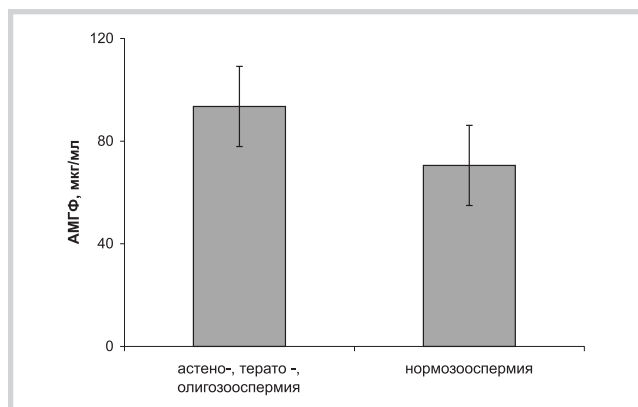


Рис. 6. Связь между уровнем АМГФ в сперме и характеристиками спермограммы.

из причин этого явления можно считать установленное влияние концентрации АМГФ в нативной сперме на частоту оплодотворения *in vitro* и наступление беременности [2, 3]. При этом можно считать, что концентрация АМГФ в нативной сперме 20—200 мкг/мл является оптимальной для оплодотворения.

Таким образом, низкие значения АМГФ в семенной плазме имеют достоверную взаимосвязь с нежелательной выработкой повышенного уровня АСАТ в крови у женщин. В литературе описано, что иммунодепрессивная активность семенной плазмы человека в смешанной культуре лимфоцитов в значительной степени может быть уменьшена добавлением антител к гликоделину-S, т.е. его

полной или частичной инактивацией [8]. Авторы считают, что подавление иммунного ответа гликоделином-S происходит с помощью обильно присутствующих в его составе молекул Lewis^{x/y}. К тому же структуры Lewis^y вовлечены в процессы программируемой клеточной гибели (апоптоза), регулирующей в том числе и иммунные реакции [25]. Возможно, именно эти эпитопы АМГФ определяют низкую иммуногенность спермы, несмотря на частую экспозицию антигенов сперматозоидов, и семенной плазмы для женской иммунной системы [19].

ВЫВОДЫ

1. Показана достоверная связь между повышением концентрации АСАТ у женщин и снижением концентрации АМГФ в сперме их мужей у пар с нарушением репродукции.

2. Показано отсутствие связи между концентрацией АМГФ в сперме и концентрацией АСАТ в сыворотке крови у мужчин. Таким образом, развитие антиспермального аутоиммунитета у мужчин определяется и регулируется факторами, отличными от АМГФ.

3. Подтверждены данные об отсутствии связи между концентрацией АМГФ в сперме и характеристиками спермограммы.

4. Подтверждены данные об отсутствии связи между показателями спермограммы и концентрацией АСАТ у мужчин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М: Практика 1999; 398.
2. Здановский В.М., Шевченко В.В., Макаров О.В. и др. Прогностическое значение количественного определения АМГФ в сперме и сыворотке крови пациентов, включенных в программу ЭКО. Пробл репрод 1996; 3: 18—22.
3. Калугина А.С., Скорова Н.Е., Калинина И.И. и др. Иммуноморфологическое и иммунохимическое исследование влияния спермального альфа-2-микроглобулина фертильности (АМГФ) на процессы оплодотворения и дробления ооцитов *in vitro*. Вестн акуш-гин 1997; 1: 28—29.
4. Петрунин Д.Д., Грязнова И.М., Петрунина Ю.П., Татаринов Ю.С. Иммунохимическая идентификация органоспецифического α_2 -глобулина плаценты человека и его содержание в амниотической жидкости. БЭБиМ 1976; 7: 803—804.
5. Barratt C.L.R., Dumphy B.C., McLeod I., Cooke L.D. The poor prognostic value of low to moderate levels of sperm surface-bound antibodies. Hum Reprod 1992; 7: 95—98.
6. Bell S.C., Hales M.W., Patel S., Kiwan P.H. Protein synthesis and secretion by the human endometrium and decidua during early pregnancy. Br J Obstet Gynaecol 1985; 92: 793—803.
7. Bohn H., Kraus W. Isolierung und Charakterisierung eines neuen placentaspezifischen Proteins. Arch Gynaecol 1980; 229: 279.
8. Bolton A.E., Clough K.J., Stoker R.J., Pockley A.G. Identification of placental protein 14 as an immunosuppressive factor in human reproduction. Lancet 1987; 1: 593—595.
9. Clark G.F., Oehninger S., Patankar M. et al. A role for glycoconjugates in human development: the human feto-embryonic defence system hypothesis. Hum Reprod 1996; 11(3): 467—473.
10. Dell A., Morris H.R., Easton R.L. Structural analysis of the oligosaccharides derived from glycoprotein with potent immunosuppressive and contraceptive activities. J Biol Chem 1995; 270: 41: 24116—24125.
11. Grinnell B.W., Hermann R.B., Yan S.B. Human protein C inhibits selectin-mediated cell adhesion: role of unique fucosylated oligosaccharide. Glycobiology 1994; 4(2): 221—225.
12. Joshi S.G., Ebert K.M., Swartz D.R. Detection and synthesis of a progesterone-dependent protein in human endometrium. J Reprod Fert 1980; 59: 273.
13. Kohl B., Kohl H., Krause W., Deichert U. The clinical significance of antisperm antibodies in infertile couples. Hum Reprod 1992; 1: 1384—1387.
14. Koide S.S., Wang L., Kamada M. Antisperm antibodies associated with infertility: properties and encoding genes of target antigens. Soc Exper Biol Med 2000; 224: 123—132.
15. Laird S.M., Tuckerman E.M., Cork B.A., Li T.C. Expression of nuclear factor kappa B in human endometrium; role in the control of interleukin 6 and leukemia inhibitory factor production. Mol Hum Reprod 2000; 6(1): 34—40.
16. Lombardo F., Grandini L., Anticoli L. et al. Can computer analysed sperm motility be normal in seminal samples with high

- percentage of antisperm antibody bound to sperm surface? J Immunol Immunopharmacol 1992; 2: 115.
17. Lombardo F., Grandini L., Dondero F., Lenzi A. Immunology and immunopathology of the male genital tract. Antisperm immunity in natural and assisted reproduction. Hum Reprod Update 2001; 7: 450—457.
 18. Matur S., Williamson H.O., Backer M.E. et al. Sperm motility on postcoital testing correlates with male autoimmunity to sperm. Fertil Steril 1984; 41: 81—87.
 19. Morris H.R., Dell A., Easton R.L. et al. Gender-Specific glycosylation of human glycodelin affects its contraceptive activity. J Biol Chem 1996; 271: 32159—32167.
 20. Oehninger S., Coddington C.C., Hodgen G.D., Seppala M. Factors affecting fertilization: endometrial placental protein 14 reduces the capacity of human spermatozoa to bind to the human zona pellucida. Fertil Steril 1995; 63: 377—363.
 21. Okamoto N., Uchida A., Takakura K. et al. Suppression by human placental protein 14 of natural killer cell activity. Am J Reprod Immunol 1991; 26(4): 137—142.
 22. Pockley A.G., Bolton A.E. Placental protein 14 (PP14) inhibits the synthesis of interleukin-2 and release of soluble interleukin-2 receptors from phytohaemagglutinin — stimulated lymphocytes. Clin Exp Immunol 1989; 77: 252—256.
 23. Pockley A.G., Bolton A.E. The effect of human placental protein (PP14) on the production of interleukin-1 from mitogenically stimulated mononuclear cell cultures. Immunology 1990; 69: 277—281.
 24. Rachmilewitz J., Riely G.J., Tykocinski M.L. Placental protein 14 functions as a direct T-cell inhibitor. Cell Immunol 1999; 191(1): 26—33.
 25. Saitoh F., Hiraishi K., Adachi M., Hozumi M. Induction by 5-aza-2'-deoxycytidine, an inhibitor of DNA methylation, of Le(y) antigen, apoptosis and differentiation in human lung cancer cells. Anticancer Res 1995; 15(5B): 2137—2143.
 26. Seppala M., Koistinen H., Koistinen R. Glycodelins. Trends in Endocrinol and Metab 2001; 12: 111—118.
 27. Sutcliff R.G., Joshi S.C., Patterson W.F. Serological identity between human alpha-uterine protein and human progesterone-dependent endometrial protein. J Reprod Fertil 1982; 65: 207.
 28. Vazquez-Levin M.H., Notrica J.A., Polac de Fried E. Male immunologic infertility: Sperm performance on in vitro fertilization. Fertil Steril 1997; 68: 675—681.
 29. Wang C., Barker H.W.G., Jennings G. et al. Interaction between human cervical and sperm surface antibodies. Fertil Steril 1985; 44: 484—488.

Репродуктологи всех стран — объединяйтесь!

(Продолжение; начало на с. 21, 36)

Здановский Валерий Мстиславович — директор Центра по лечению бесплодия ЭКО, Москва
rosnil@dol.ru

Зорина Ирина Вадимовна — врач акушер-гинеколог, клиника «Altravita», Москва
irinazorina@yandex.ru

Зыряева Наталья Александровна — врач акушер-гинеколог, НЦАГиП РАМН, Москва
natalia_zyriaeva@mail.ru

Иванушко Павел Николаевич — врач акушер-гинеколог, генеральный директор страховой медицинской компании «Отечество», Москва
assist@matrix.ru
www.otechestvo.ru

Иргашев Дильмурад Сагатович — директор клиники «Доктор Д», Центр репродуктивной медицины, г. Ташкент, Узбекистан
doctord@sarkor.uz

Исакова Эльвира Валентиновна — врач акушер-гинеколог, Международный центр репродуктивной медицины, Санкт-Петербург
isakova@bk3298.spb.edu

Карнаух Владимир Игоревич — врач акушер-гинеколог, директор Медицинской компании ИДК, Самара
repromed@mail.radiant.ru

Кауфман Александр Семенович — сервис-инженер Института медицинского приборостроения, Москва
alexkauf@mtu-net.ru

Кипрский Центр ЭКО и Репродуктивной Генетики
ivfpgd@zenon.logos.cy.net

Кирсанов Андрей Адольфович — врач акушер-гинеколог, Международный центр репродуктивной медицины, Санкт-Петербург
akirs@mail.ru

Клебанов Дмитрий Михайлович — генеральный менеджер, сервис-офис «Корнинг-Костар», Москва
cosmos@orc.ru

Корнилов Николай Валерьевич — врач акушер-гинеколог, АВА-ПЕТЕР, Санкт-Петербург
kornilov@neva.spb.ru

Продолжение на с. 46

Современная диагностика внутриутробной инфекции (обзор литературы)

Н.Е. КАН

Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии (дир. — акад. РАМН В.И. Кулаков) РАМН, Москва

Приведены данные о современных методах лабораторной диагностики внутриутробной инфекции и перспективах использования передовых технологий в прогнозировании ее развития.

Ключевые слова: внутриутробная инфекция, диагностика.

Превалирование внутриутробной инфекции (ВУИ) среди причин неблагоприятных перинатальных исходов, а также высокий уровень инфицированности и распространенности инфекционно-воспалительных заболеваний у беременных и рожениц обуславливают актуальность поиска достоверных методов ее диагностики. Однако до настоящего времени предположить наличие ВУИ и установить инфицированность плода и плодного яйца можно лишь по косвенным признакам [12].

Трудности диагностики обусловлены неспецифичностью клинических проявлений ВУИ, что диктует необходимость сочетания клинических и лабораторно-инструментальных методов исследования [11]. В последнее десятилетие основными методами диагностики ВУИ являются бактериологические и иммунологические. К ним относятся идентификация этиологически значимых микроорганизмов и/или определенных фрагментов ДНК или РНК клеток возбудителя. При этом бактериологические исследования должны сочетаться с идентификацией антигена в крови серологическими методами определения *IgG* и *IgM*, специфичных для данного возбудителя [12].

Для получения материала в первой половине беременности по показаниям прибегают к инвазивным методам (аспирация хориона в ранние сроки гестации, исследования амниотической жидкости (АЖ) и пуповинной крови, полученных путем амнио- и кордоцентеза).

Интерес представляют исследования околоплодных вод, которые меняют свой качественный и количественный состав в течение беременности.

Показано, что во время физиологически протекающей беременности в АЖ превалируют клетки плодового происхождения (плоский эпителий, клетки сальных желез, дыхательных и мочевых путей, пищеварительного тракта, пушковые во-

лосы, роговые чешуйки). Клетки материнского происхождения (гистиоциты, макрофаги, лейкоциты) и амниоциты выявляются гораздо реже, а увеличение в АЖ количества гистиоцитов и лейкоцитов свидетельствует об инфицированности и высоком риске развития ВУИ [11, 24, 28].

С целью доклинической диагностики ВУИ изучали микробный спектр АЖ с определением степени ее колонизации [9] и антимикробной активности, основанной на миграции в ней лейкоцитов при скоплении в околоплодной оболочке бактерий в количестве более 10^3 КОЕ/мл. Однако, как утверждает R. Gibbs [25], методы подсчета лейкоцитов, бактерий и метод жидкостной хроматографии являются малоинформативными. Так, по сведениям И.В. Берлева [1], совпадение результатов экспресс-выявления микроорганизмов по нативному мазку АЖ с данными бактериологического исследования отмечается лишь в 14,6% случаев. Наиболее информативными являются гистологическое исследование плодных оболочек и посевы из них, однако биопсия оболочек у пациенток до родов небезопасна.

Для поиска критериев доклинической диагностики инфекционных поражений плода была предложена сравнительная оценка цитограммы АЖ, полученной путем амниоцентеза у рожениц с ВУИ и высоким риском по ее реализации. При этом доказана диагностическая ценность увеличения цитоза и содержания палочкоядерных лейкоцитов в АЖ при ВУИ [10].

Множество работ посвящено изучению активности ряда ферментов (щелочная фосфатаза, окситоциназа, различные дегидрогеназы, гистадаза, аминоксидаза, креатининфосфатаза) в АЖ, поскольку изменения их активности отмечаются при патологических состояниях плода. Так, доказано, что уровень лактатдегидрогеназы увеличивается пропорционально росту количества микробных тел. Однако эти тесты несовершенны

при диагностике ВУИ, так как антимикробная активность АЖ определяется совокупностью факторов, а не одним отдельным компонентом [25].

В последние годы были подробно изучены особенности кислотнo-щелочного, углеводного, белкового и минерального составов АЖ при ВУИ. Однако до настоящего времени нет единого мнения о значимости содержания глюкозы в АЖ для диагностики ВУИ. Так, показано, что уровень глюкозы ниже 5 мг/100 мл свидетельствует о ВУИ, а выше 15 мг/100 мл исключает ее развитие [29]. Также нет единого мнения о характере влияния соотношения фосфат/цинк на антимикробные свойства АЖ. Не до конца изучен вопрос о значимости в диагностике ВУИ группы белков, специфичных для беременности и продуцируемых синцитиотрофобластом и тканями плода. К этим белкам относятся протеин А, трофобластический β -глобулин, плацентоспецифический α -микроглобулин, трофобластический β -гликопротеин, α -фетопротеин, макрофаг воспалительный 1α [3, 6, 33, 35].

Важное значение имеют ультразвуковые методы исследования, с помощью которых можно определить как косвенные признаки ВУИ плода (многоводие, увеличение толщины плаценты, мелкодисперсная взвесь в околоплодных водах), так и обусловленные инфекцией структурные изменения в различных его органах (воспалительные кисты головного мозга, двусторонние перивентрикулярные обызвествления и др.).

Перспективным при ВУИ представляется изучение изменений в системе цитокинов, которая обеспечивает процессы межклеточной кооперации, роста и дифференцировки лимфоидных клеток, гемопоэза, ангиогенеза, нейроиммуноэндокринных взаимодействий [9, 13, 18, 20, 21]. Данная система играет важную роль в антибактериальных, противовирусных, противоопухолевых, трансплантационных процессах и развитии иммунного ответа по клеточному или гуморальному типу.

Показано, что цитокины выступают посредниками в развитии воспалительных и иммунных реакций в системе мать—плацента—плод с нарушением морфологических и функциональных свойств клеточных мембран, расстройством энергетического обмена, истощением защитного резерва клеток. Цитокины представляют собой пептиды или гликопротеины, которые в зависимости от направленности действия разделяются на 6 групп. Первую группу составляют цитокины, опосредующие естественный иммунитет. К ним относятся интерфероны, защищающие организм от вирусной инфекции, и интерлейкины (ИЛ), инициирующие неспецифический воспалительный ответ. Вторая группа включает цитокины,

регулирующие рост, активацию и дифференцировку лимфоцитов. К третьей группе относят цитокины, которые активируют клетки воспалительного инфильтрата. В четвертую группу входят цитокины, стимулирующие гемопоэз. Пятая группа представляет собой комбинацию многочисленных факторов, регулирующих рост резидентных клеток. В шестую группу собраны цитокины, связанные с внеклеточным матриксом и мембраноассоциированные.

Определение в периферической крови высокого уровня цитокинов всегда свидетельствует о нарушении принципа локальности функционирования цитокиновой системы, что может наблюдаться при интенсивных и длительно текущих воспалительных, аутоиммунных процессах, сепсисе, онкологических заболеваниях, сопровождающихся генерализованной активацией клеток иммунной системы [7, 9, 20].

В литературе последних лет появились данные о взаимосвязи бактериальной инвазии и синтеза цитокинов клетками амниона, хориона, децидуальной и плодовыми тканями. Показано, что размножение микроорганизмов в АЖ приводит к повышению уровня липополисахаридов, которые активируют синтез цитокинов (ИЛ-1, 6, 8, 10, фактора некроза опухоли — ФНО) клетками фетального трофобласта [33]. Во II триместре беременности аккумуляция провоспалительных цитокинов в АЖ при инфекции приводит к нарастанию синтеза простагландинов амниотическими оболочками, что способствует преждевременному развитию родовой деятельности [23, 31, 32].

Основными маркерами воспалительного процесса считают ИЛ-1, 6, 8, ФНО. Установлено, что ФНО продуцируется клетками амниона, ИЛ-6 и ИЛ-8 — амнионом и хорионом. В исследованиях *in vitro* показано, что при внутриматочной инфекции возрастает синтез ИЛ-2 мононуклеарами децидуальной оболочки, а при ВУИ увеличивается содержание ИЛ-10 в АЖ [26, 30].

Еще в прошлом столетии было доказано, что в ответной воспалительной реакции на инфекцию важную роль играет сосудистый фактор. Ангиогенез представляет собой образование новых капилляров из уже существующих сосудов и нехарактерен для неповрежденных тканей, активизируется при остром и хроническом воспалительных процессах, опухолевом росте тканей. В последние годы появились интересные данные о значимости активности факторов роста (ФР) в регуляции ангиогенеза [2]. ФР — биологически активные соединения, являющиеся основными переносчиками митогенного сигнала клеток, которые стимулируют или ингибируют их деление или дифференцировку.

Система ФР включает полипептидные ростовые факторы, специфические клеточные рецепторы и связывающие белки. ФР вырабатываются различными типами клеток, находящимися во многих тканях. Они оказывают влияние на функции репродуктивной системы женщины, играют важную роль в эмбрио- и органогенезе [16].

Наиболее изученными ФР являются инсулиноподобные (ИПФР), эпидермальный, сосудисто-эндотелиальный (СЭФР), ФР тромбоцитов, трансформирующие ФР, колониестимулирующий, ФР фибробластов, ФНО и др.

ИПФР 1-го и 2-го типов представляют собой полипептиды, обладающие митогенной и ростовой активностью, играющие важную роль в постнатальном развитии организма. В работах [17, 27] показано повышение уровня этого ФР в сыворотке крови женщин во время беременности и положительная корреляция данного показателя с размерами плода при его рождении.

Наиболее изученным в настоящее время является СЭФР, известный также как фактор сосудистой проницаемости, или васкулопатин и представляющий собой димерный полипептид. Во время беременности экспрессия СЭФР осуществляется следующими компонентами фетоплацентарного комплекса: железистым эпителием, фетальными и материнскими макрофагами, цитотрофобластом [34]. При этом его концентрация увеличивается со сроком гестации, положительно коррелируя с уровнем хорионического гонадотропина и эстриола. СЭФР может осуществлять регуляцию объема АЖ, влияя на процессы сосудистой проницаемости. В экспериментальных работах показано, что СЭФР стимулирует развитие плацентарной ткани, увеличивает область трофобласта и кровеносных сосудов более чем в 2 раза.

Особое внимание в литературе уделяется (ФРП). Это связано с тем, что в момент формирования плаценты, в период имплантации и раннего эмбриогенеза имеет место высокий уровень пролиферации и дифференцировки клеток. Различные ФР и их рецепторы включены в этот процесс и контролируют его на различных уровнях развития плаценты. Данный ФР представляет собой гомодимерный гликопротеин, существующий в двух изоформах — ФРП-1 и ФРП-2 [22]. Установлено, что уровень ФРП в материнской крови возрастает в динамике нормальной беременности, его высокий уровень определяется в человеческой плаценте, особенно в ворсинах трофобласта и эндотелиальных клетках вен пуповины. В настоящее время доказаны ангиостимулирующий, пролиферативный и миграционно-стимулирующий эффекты ФРП. При изучении других ФР во время беременности была выявлена корреляция уровня ангиогенина в АЖ с высоким

уровнем хорионического гонадотропина человека во II триместре, а также его снижение у пациенток с нарушением параметров кровотока в плацентарном бассейне [2].

Срыв адаптационно-компенсаторных механизмов при реализации инфекции сопровождается развитием деструктивных процессов и, как следствие, накоплением продуктов нарушенного метаболизма и жизнедеятельности микробов и токсинов. Воспалительный фактор повреждает клетки и ткани, приводит к нарушению их жизнедеятельности, что сопровождается активацией и высвобождением протеиназ, увеличением концентрации продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и свободных жирных кислот, гипоксией. Для оценки активности данных процессов и степени интоксикации предлагались различные методики: определение токсичности плазмы крови по парамециевому тесту, анализ лейкоцитарного индекса интоксикации и др. [5]. Однако все они отличаются технической сложностью и низкой воспроизводимостью.

Для характеристики эндогенной интоксикации предложено [15] исследовать уровень промежуточных и конечных продуктов нормального и извращенного обмена, содержание иммунологически чужеродных продуктов расщепления пластического материала организма и др.

В целом пул веществ, указанных выше, в крови распределяется между плазмой и эритроцитами и характеризует понятие интоксикации с позиций биохимии, включая, помимо высокомолекулярных соединений, молекулы средней и низкой массы, с которыми в основном и связывают понятие токсемии. Именно средние молекулы — СМ (среднемолекулярные пептиды, молекулы средней массы) являются субстратом, ответственным за возникновение многих патологических эффектов эндогенной интоксикации [8].

СМ представляют собой большую группу веществ, которая включает пептиды, гликопептиды, аминоксахара, полиамины, многоатомные спирты, фрагменты β -цепи фибриногена и β -макроглобулина и др. [4, 19]. Существенной особенностью СМ является их высокая биологическая активность. Они обладают нейротоксической активностью, угнетают синтез белка, способствуют гемолизу эритроцитов, ингибируют эритропоэз и активность ряда ферментов, вызывают состояние вторичной иммуносупрессии [4, 19]. Токсический эффект СМ чаще определяется их суммарной активностью, отражающей действие всех входящих в них соединений [8]. Степень активности инфекционного поражения коррелирует с интенсивностью процессов ПОЛ. Интенсивность последних пропорциональна росту уровня активных продуктов, взаимодействующих с теобарбитуровой ки-

слотой, что обуславливает перспективность их исследования для оценки степени тяжести воспалительных изменений в тканях плаценты и плода.

При прогрессировании патологического процесса происходят последовательные стадии гибели клетки, отражающие динамику активации гидролаз — рибонуклеазы и дезоксирибонуклеазы, что ведет к высвобождению нуклеиновых кислот, которые подвергаются деполимеризации. В норме кровь содержит определенный уровень кислотоэкстрагируемых (кислоторастворимых) компонентов нуклеиновых кислот. При патологических состояниях нуклеотидный состав крови меняется, значительно возрастает содержание «обломков» нуклеиновых кислот. Учитывая, что кислотоэкстрагируемые компоненты нуклеиновых кислот способны поглощать свет в ультрафиолетовой области спектра, для определения степени тяжести патологического процесса применяется метод спектрофотометрического определения их суммарной фракции, так называемый «метод выявления некроза тканей».

К скрининговым тестам у новорожденных группы высокого риска развития ВУИ можно

отнести микроскопическое исследование мазков околоплодных вод, плаценты, бактериологические исследования пуповинной крови и содержания желудка новорожденного. В отдельных случаях рекомендуется исследование культуры крови новорожденного, причем наиболее целесообразно капиллярной, а не пуповинной крови. Также проводят клинический и биохимический анализы крови. Особое внимание обращают на число тромбоцитов (признаком инфицирования считают тромбоцитопению ниже $150 \times 10^9/\text{л}$), соотношение юных форм лейкоцитов и нейтрофилов, определение активности щелочной фосфатазы [12].

В современной литературе описано множество методов диагностики ВУИ, однако до настоящего времени нет достоверных и четких критериев ее выявления. Неуклонный рост частоты ВУИ в последние годы определяет актуальность поиска новых высокоинформативных методов диагностики данной патологии, что позволит своевременно проводить профилактику и лечение инфекционных осложнений у плода и новорожденного.

ЛИТЕРАТУРА

1. Берлев И.В. Клинико-лабораторная диагностика бактериального амнионита: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ст-Петербург 1995; 16.
2. Бурлев В.А., Павлович С.В. Ангиогенез и ангиогенные факторы роста в регуляции репродуктивной системы у женщин. Пробл репрод 1995; 5: 6—13.
3. Гусак Ю.К., Морозов В.Н., Рачков А.К., Чикин В.Г. Эндокринная функция плаценты — основа адаптивных перестроек при беременности. В кн.: Проблемы эндокринологии в акушерстве и гинекологии. Материалы 2 Съезда Росс. ассоциации врачей акушеров-гинекологов. Под ред. член-корр. РАМН В.Н. Серова. М: Academia 1997; 144—146.
4. Кишкун А.А., Кудинова А.С., Офитова А.Д., Мишурина Р.Б. Значение средних молекул в оценке уровня эндогенной интоксикации. Военно-мед журн 1990; 2: 41—44.
5. Коноводова Е.Н. Продукты деструкции тканей при послеродовом эндометрите: Дис. ... канд. мед. наук. М 1996; 32—36.
6. Ломакин М.С., Арцимович Н.Г. Биологически активные вещества, ассоциированные с плацентой. Акуш и гин 1991; 9: 6—10.
7. Макаров А.И., Порядин Г.В., Салмаси Ж.М. Механизмы регуляции экспрессии поверхностных структур дифференцированного лимфоцита. Иммунология 1997; 3: 4—8.
8. Меликян А.Г. Клиническое значение продуктов деструкции тканей в оценке травматического воздействия различных видов оперативного лечения. М 2002; 138.
9. Пальцев М.А. Цитокины и их роль в межклеточных взаимодействиях. Арх патол 1996; 58: 6: 3—7.
10. Пустотина О.А. Клинические, морфологические и цитологические критерии диагностики внутриутробной инфекции и прогнозирования инфекционных осложнений у матери и новорожденного: Дис. ... канд. мед. наук. М 1999.
11. Радзинский В.Е., Кондратьева Е.Н., Милованов А.П. Патология околоплодной среды. Киев: Здоров'я 1993; 128.
12. Сидорова И.С., Макаров И.О., Матвиенко И.А. и др. Состояние фетоплацентарной системы при высоком риске внутриутробного инфицирования плода. Рос вестн перинатол и педиат 2000; 45: 2: 5—8.
13. Тетрашвили Н.К. Диагностическая и прогностическая значимость определения цитокинов у больных с привычным невынашиванием беременности: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. НЦАГиП РАМН. М 2000; 22.
14. Федорова М.В., Серов В.Н., Стрижаков А.Н. Внутриутробные инфекции. Вестн Рос асс акуш-гин 1997; 2: 89—99.
15. Чаленко В.В., Кутушев Ф.Х. Эндогенная интоксикация в хирургии. Вестн хир 1990; 4: 3—7.
16. Чернуха Г.Е., Сметник В.П. Роль факторов роста в функции репродуктивной системы. Пробл репрод 1996; 2: 8—12.
17. Ширяева Т.И. Гормональные факторы и задержка внутриутробного развития. Врач 1998; 5: 22—24.
18. Шичкин В.П. Патогенетическое значение цитокинов и перспективы цитокиновой/антицитокиновой терапии. Иммунология 1998; 2: 9—13.
19. Эндер Л.А., Лобаков А.И., Лехтман А.М. Экстракорпоральная детоксикация в абдоминальной хирургии. М 1993; 114.
20. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и патологии. Иммунология 1997; 5: 7—14.
21. Andrews W.W., Hauth J.C., Goldenberg R.L. et al. Amniotic fluid interleukin-6: correlation with upper genital tract microbial colonization and gestational age in women delivered after spontaneous labor versus indicated delivery. Am J Obstet Gynecol 1995; 173: 2: 606—612.

22. Athanassiades A., Lala P.K. Role of placenta growth factor in human extravillous trophoblast proliferation, migration and invasiveness. *Placenta* 1998; 19: 7: 465—473.
23. Beckmann I., Meisel-Mikolajczyk F., Wallenburg H., Lotgering F.K. Tumor necrosis factor in response to endotoxin administration in the pregnant guinea pig. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 218—221.
24. Carrol S., Philpott-Hovard J., Nicolaidis K.H. Amniotic fluid gram stain and leukocyte count in the prediction of uterine infection in Preterm prelabour amniorrhexis. *Fetal Diagn Ther* 1996; 11: 1: 1—5.
25. Gibbs R.S. Chorioamnionitis and bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 2: 460—462.
26. Greig P.C., Herberi W.N., Robinette B.L., Teot L.A. Amniotic fluid interleukin-10 concentration increase through pregnancy and are elevated in patients with Preterm labor associated with intrauterine infection. *Am J Obstet Gynaec* 1995; 173: 4: 1223—1227.
27. Hill D.J., Petrik J., Arany E. Growth factors and the regulation of fetal growth. *Obstet Gynaec* 1998; 92: 2: 179—183.
28. Keski-Nisula L., Suonio S., Makkonen M. et al. Infection markers during labor and term. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1995; 74: 1: 33—39.
29. Kiltz R.J., Burke M.S., Porreco R.P. *Obstet and Gynec* 1991; 78: 4: 619—622.
30. Kurahayashi Y., Uehara S., Okamura K. et al. Immunological characterization of human decidual mononuclear cells: natural killer activity, response to interleukin-2 and distribution of interleukin-2 receptor subunits. *Asia Oceania J Obstet Gynaec* 1994; 20: 1: 101—109.
31. Reisenberger K., Egarter C., Knofler M. et al. Cytokine and prostaglandin production by amnion cells in response to the addition of different bacteria. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 78: 1: 50—53.
32. Romero R., Ceska M., Avila C. et al. Neutrophil attractant/activating peptide — 1 interleukin — 8 in term and preterm human pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 813—820.
33. Romero R., Gomez R., Galasso M. et al. Macrophage inflammatory protein-1 alpha in term and Preterm parturition: effect of microbial invasion of the amniotic cavity. *Am J Reprod Immunol* 1994; 32: 2: 108—113.
34. Shore V.H., Wong T.H., Wong C.L. et al. Vascular endothelial growth factor, placenta growth factor and their receptors in isolated human trophoblast. *Placenta* 1997; 18: 657—665.
35. Wenstrom K.D., Owen J., Davis R.D., Brumfield C.G. Prognostic significance of unexplained amniotic fluid alpha-fetoprotein. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 2: 213—216.

Репродуктологи всех стран — объединяйтесь!

(Продолжение; начало на с. 21, 36, 41)

Корсак Владислав Станиславович — руководитель Международного центра репродуктивной медицины, Санкт-Петербург
korsak@bk3298.spb.edu

Литвинов Владимир Валентинович — врач акушер-гинеколог, Центр планирования семьи, Симферополь, Украина
lvv@comd.crimea.ua

Мгалоблишвили Иван Бензинович — врач акушер-гинеколог, Тбилиси, Грузия
vanomg@hotmail.com

Мельниченко Галина Афанасьевна — директор института клинической эндокринологии ЭНЦ РАМН
melnich@endocrincentr.ru
teofrast2000@mail.ru

Никитин Анатолий Илларионович — директор Балтийского института репродуктивной медицины, Санкт-Петербург
bir@mail.wplus.net

Попов Григорий Дмитриевич — врач акушер-гинеколог, Евроклиник, Москва
ivanchick@hotmail.com

Полумисков Вадим Евгеньевич — врач акушер-гинеколог, заведующий центром ЭКО, Алматы, Казахстан
polumiskov_v@mail.ru

Светлаков Анатолий Васильевич — директор центра ЭКО, Красноярск
ivf@scn.ru

Семенов Андрей Владимирович — врач акушер-гинеколог, Сочи
semenov@globis.ru

Смирнова Анна Анатольевна — врач акушер-гинеколог, НЦАГиП РАМН, Москва
a-smirnova@mtu-net.ru

Тишкевич Олег Леонидович — врач акушер-гинеколог, Центр ЭКО, Минск, Беларусь
tishol@tut.by

Тодоров Пламен — эмбриолог, Центр вспомогательной репродукции, София, Болгария
plamen_todorov_bg@yahoo.com

Продолжение на с. 52

Пиелонефрит, акушерские и перинатальные аспекты (обзор литературы)

М.И. КЕСОВА

Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии (дир. — акад. РАМН В.И. Кулаков) РАМН, Москва

Пиелонефрит (ПН) определяется сегодня как неспецифический инфекционно-воспалительный процесс, при котором поражаются преимущественно интерстициальная ткань почек и ее чашечно-лоханочная система.

В современной литературе прослеживается неуклонный рост числа инфекционно-воспалительных заболеваний мочевыводящих путей, в том числе и ПН, который встречается у 15–20% лиц молодого возраста. Он занимает первое место в структуре заболеваний почек во всех возрастных группах — от новорожденных до долгожителей. Так, у детей ПН занимает 2–3-е место после заболеваний органов дыхания и у 4–5% является причиной госпитализации, у взрослых пиелонефрит встречается с частотой 100:100 000.

За рубежом, в частности в США, инфекционные заболевания мочеполового тракта регистрируются на амбулаторном приеме у 10–15% женщин. Их частота у беременных составляет 8% [32].

Увеличение числа больных ПН сопровождается и ростом экономических затрат при их лечении. Так, только в США за 1997 г. было зарегистрировано 7 млн амбулаторных посещений, 1 млн экстренных вызовов, что привело к срочной госпитализации 100 000 больных с данной патологией. При этом у каждой из 3 женщин в возрасте до 24 лет, обратившихся за помощью, была проведена антибактериальная терапия. Расходы на лечение в США стали достигать астрономических цифр [30]. По данным [16, 27], частота ПН у женщин молодого возраста составляет 15%, что в 5–7 раз выше, чем у мужчин. Последнее объясняется не только морфологическими особенностями мочеиспускательного канала: он короче (4–5 см) и шире (1 см) мужского и имеет почти прямое направление, но и воздействием гормональных и механических факторов (в период беременности и родов).

Проблема ПН ввиду его частой (6–10%) манифестации во время беременности приобретает особую актуальность в акушерской практике и перинатологии [18]. Гестационный пиелонефрит осложняет течение беременности у 4–17% женщин [2].

Рост частоты ПН в современных условиях, в том числе и при беременности, объясняют неблагоприятным влиянием экологических и социальных факторов, возросшей вирулентностью патогенных микроорганизмов в результате широкого и часто необоснованного применения антибактериальных препаратов, увеличением частоты иммунодефицитных состояний [1, 19, 27].

Важнейшим фактором этиологии и патогенеза ПН является бактериурия. Она встречается у 20–30% больных острым ПН [28]. По данным R. Raz [36], в молодом возрасте бактериурия встречается реже (6–10%), в последующие годы жизни ее частота увеличивается в 2–3 раза. Наиболее частыми возбудителями воспалительного процесса в почках являются анаэробные микроорганизмы, нормально существующие в желудочно-кишечном тракте [13, 23]. Установлено, что вирусы, генитальные микоплазмы, хламидии и грибы также могут инициировать развитие пиелонефрита [11].

Самым частым (65–80%) возбудителем воспалительных заболеваний почек у беременных является *E. coli*. В 20% случаев наблюдаются микробные ассоциации (кишечная палочка и энтерококки). Очевидно, этим можно объяснить наличие у больных ПН частых воспалительных процессов других органов — эндометрита, аппендицита, абсцессов и карбункулов, тромбозов, лихорадочных состояний [22]. В. Christensen [28] отмечает, что в основе этих гнойно-воспалительных осложнений лежат два основных фактора: неспособность антибиотиков, даже последних поколений, справиться с инфекцией и подавление основных параметров иммунитета.

Этиология и патогенез ПН беременных продолжают оставаться предметом изучения. Все еще ждут окончательного решения вопросы значимости факторов, способствующих развитию пиелонефрита при восходящем инфицировании.

Основой механизма его развития являются анатомо-функциональные особенности женских мочеполовых путей; нарушение уродинамики верхних мочевых путей; присутствие бессимптомной бактериурии у беременной и бессимптомной

бактериоспермии у мужа; наличие инфекционных заболеваний при беременности и в анамнезе.

В патогенезе заболевания важное значение имеют нарушения гормонального баланса в организме женщины, наступающие в разные сроки беременности, хотя последние и являются физиологическими. Известно, что уже первые месяцы беременности сопровождаются относительной атонией мочевых путей, что предрасполагает к воспалению в почках. Увеличение содержания в крови эстрогена и эстрадиола, а также прогестерона (соответственно на 7—13-й и 11—13-й неделях беременности) с их воздействием на рецепторы почечных лоханок, мочеточников и мочевого пузыря приводит к кратковременной гипер- и дискинезии мочевых путей. Значительный рост концентрации в крови глюкокортикоидов (при сроке 22—28 нед гестации) может способствовать активации уже начавшегося латентного воспалительного процесса в почках [5].

J. Delzell и соавт. [29] подчеркивают, что начиная с 6 нед и достигая пика к 22—24 нед беременности у 90% женщин выявляются расширения просвета мочеточников, которые в форме гидронефроза беременных сохраняются вплоть до родоразрешения. В связи с увеличением матки в 50—60 раз при доношенной беременности могут появляться дополнительные условия, способствующие возникновению или обострению уже имеющегося хронического ПН. К ним относятся нарушение тонуса и гипотония мочеточников, дискинезия верхних мочевых путей, сдавление их беременной маткой. Повышенный объем мочевого пузыря и снижение тонуса его стенок вместе со снижением тонуса мочеточников способствуют застою мочи, возникновению мочеточниково-пузырного рефлюкса и гидронефроза [21, 33]. Кроме этого, физиологическое увеличение объема плазмы крови в период беременности сопровождается снижением концентрации мочи. При этом у 70% женщин развивается глюкозурия, которая способствует росту бактериальной флоры в моче. А увеличение содержания в моче прогестина и эстрогенов приводит к снижению устойчивости эпителия нижних мочевыводящих путей к инвазии микроорганизмов. Компенсаторное повышение содержания плацентарных и плодовых гормонов в крови, происходящее как следствие угрозы прерывания беременности еще в I триместре (липополисахариды грамотрицательных бактерий вызывают периодическое сокращение матки), способствует изменениям тонуса мочеточников, почечных лоханок и вызывает нарушение уродинамики задолго до появления механических факторов.

Т.А. Заманская и соавт. [5] отмечают, что та или иная степень дилатации чашечно-лоханочной системы выявляется у 47% беременных. Из них у 34% была диагностирована дилатация чашечно-лоханочной системы правой почки. У 11% данные изменения были двусторонними.

Инфекция в почечных лоханках способствует образованию камней, травмирующих эпителий мочевыводящих путей. Образуется порочный круг — на фоне беременности снижается скорость эвакуации мочи, способствуя развитию инфекции, а инфекция мочевых путей усугубляет стаз и тяжесть патологического процесса [34].

Патогенез воспалительных заболеваний почек у беременных в большинстве случаев связан с собственной флорой, проникающей гематогенным или восходящим путем. В силу анатомо-функциональных особенностей женского организма чаще всего отмечается восходящий путь распространения инфекции [10, 16, 27]. По мнению Х. Кремлинг и соавт. [8], поскольку инфекция мочевых путей в анамнезе встречается у 39,6—92,5% женщин с гестационным пиелонефритом, вероятны оба пути развития инфекционного процесса. В патогенезе заболевания важную роль играет наличие пороков развития почек и мочевыводящих путей, а также генетическая предрасположенность.

У беременных с хроническим ПН на фоне персистенции инфекции выявляются изменения и других (кровенворной, сердечно-сосудистой, иммунной) систем организма [3, 14, 20, 31]. Степень их выраженности определяется давностью заболевания, наличием гипертензивного синдрома, сопутствующей урологической патологией, обуславливающей изменение уродинамики [14, 16, 37].

Представляют интерес данные о патоиммуногенезе ПН беременных [7, 20]. Известно, что во время беременности формируется единая функциональная система мать—плацента—плод, основной задачей которой является обеспечение нормального развития плода. Плодное яйцо наряду с материнскими содержит отцовские, чужеродные матери антигены, в результате чего с иммунологической точки зрения является аллотрансплантатом. Физиологическое течение беременности сопровождается клеточной сенсibilизацией, возникающей вследствие распознавания организмом матери антигенов плода. При этом происходит одновременное формирование активной иммуносупрессии, что обеспечивает защиту плода от иммунной атаки [12].

У пациенток с хроническим ПН выявляются косвенные признаки иммунодефицита: длительное латентное течение воспалительного процесса, кратковременный эффект от проводимой ан-

тибактериальной терапии, множественные очаги хронической инфекционной патологии, подверженность острым респираторно-вирусным инфекциям. Причиной иммунных нарушений могут служить первичные изменения иммунного ответа, обусловленные генетическими факторами. Однако, согласно современным представлениям, именно бактериальные и вирусные инфекции являются одной из частых причин развития вторичной иммунной недостаточности.

Исследование параметров клеточного и гуморального иммунитета беременных с ПН показало, что иммунологическая реактивность организма этих пациенток зависит от стадии заболевания. При остром процессе наблюдается повышение иммунологической реактивности организма (рост количества *T*- и *B*-лимфоцитов, их функциональной активности, количества иммуноглобулинов классов *M*, *G*, *A*), при латентном течении — незначительное ее снижение, при хроническом — выраженное угнетение активности факторов иммунитета. Имеются также данные, что концентрация *IgG* у беременных с пиелонефритом зависит как от степени активности инфекционного процесса в почках, так и от состояния плода. У беременных с обострением ПН, но с нормальным развитием плода титр *IgG* повышается. В то же время при синдроме задержки внутриутробного развития плода наблюдается значительное снижение концентрации *IgG*, которая не изменяется даже при обострении ПН.

По данным Л.Б. Брагиной [3], отличительной чертой у женщин с хроническим пиелонефритом было выраженное снижение содержания *CD16* естественных киллеров по сравнению с их содержанием у здоровых беременных. Воздействие бактериальных антигенов ведет к синтезу провоспалительных цитокинов (ИЛ-8, ИЛ-6), которые активируют единый комплекс [24].

Установлено, что у беременных с обострением хронического ПН выявляется не только системный, но и локальный иммунодефицит [3, 20]. При этом основные изменения затрагивают гуморальное звено иммунитета и показатели функциональной активности нейтрофилов. Отличительной чертой иммунного статуса беременных женщин, страдающих хроническим ПН, на ранних сроках беременности является выраженное снижение содержания естественных киллеров в периферической крови. По-видимому, выявленные изменения со стороны иммунной системы лежат в основе возникающего в течение беременности обострения хронического ПН [3].

Важное значение в развитии ПН имеют и нарушения антиоксидантной системы, выраженность которых параллельна степени воспалительного процесса в почках.

Предложено множество классификаций ПН, построенных на клинических формах, особенностях течения, стадиях и морфологических признаках заболевания. Для практики весьма удобной является классификация ПН, предложенная Н.А. Лопаткиным [9]. Согласно этой классификации, пиелонефрит делится на первичный и вторичный, развивающийся на фоне уже имеющей место патологии почек и мочевыводящих путей, таких как врожденные аномалии развития (удвоение почки, лоханочно-мочеточниковое удвоение, наличие добавочной доли), гипоплазия почки, поликистоз почек, мочекаменная болезнь, опухоли почек.

Указанные формы ПН не меняются в течение жизни пациенток в отличие от особенностей его клинического течения и стадий, которые являются лабильными. Гестационный ПН, по мнению Н.А. Лопаткина [9], также является вторичным, так как возникает вследствие изменений уродинамики в результате сдавления мочевыводящих путей беременной маткой. Выделение этой группы беременных для акушеров-гинекологов оправдано, так как заболевание проявляется впервые в период гестации, без исходных нарушений уродинамики, изменений функциональных систем и снижения иммунной резистентности организма. В этой связи И.Г. Никольская [14, 15] рекомендует включать пациенток с гестационным ПН в отдельную группу, с последующим прогнозированием исходов беременности для матери и плода. Автор подчеркивает, что термин «гестационный пиелонефрит» не включает в себя хронический воспалительный процесс в почках, впервые диагностированный во время беременности, который до ее наступления протекал малосимптомно.

По клиническому течению заболевания традиционно выделяют острый и хронический ПН. Острый в свою очередь может быть неосложненным (интерстициальный, серозный, диффузно-гноенный) и осложненным (очагово-гноенный или деструктивный, апостематозный нефрит, карбункул и абсцесс почки). Проявление признаков ПН происходит чаще в 22—28 нед беременности, когда резко возрастает уровень половых и кортикостероидных гормонов. Этот период является критическим для беременных, больных пиелонефритом [18]. Острый ПН у большинства беременных является неосложненным. Серозный ПН может протекать без клинических проявлений при субфебрильной или даже нормальной температуре тела и распознается по лабораторным признакам [17]. По данным И.Г. Никольской [15], выраженная клиническая картина острой стадии заболевания (болевого синдром, повышение температуры тела, дизурия) наблюдается у 70% па-

циенток с гестационным ПН, у 30% пациенток с хроническим и лишь у 15% с вторичным хроническим ПН. Стертая клиническая картина воспалительного процесса почек без повышения температуры тела и признаков интоксикации характерна для 33—47% пациенток с хроническим и вторичным хроническим ПН. При этом результаты лабораторных исследований (пиурия и бактериурия) позволили выявить обострение более чем у $\frac{1}{3}$ пациенток с вторичным хроническим пиелонефритом. Следует подчеркнуть, что именно эти симптомы отличались устойчивостью, несмотря на использование различных видов антибактериальной терапии.

При хроническом гнойном процессе клиническая картина складывается из признаков интоксикации и урологических симптомов, к которым могут присоединяться проявления тех или иных осложнений беременности, вызванных ПН (боль внизу живота при угрозе преждевременного прерывания, отеки, нарушения зрения, головная боль при гестозе). При крайне тяжелом состоянии, выраженной интоксикации могут возникать нарушения гемодинамики в виде тенденции к снижению артериального давления, появлению гепаторенального синдрома.

При гнойном ПН интоксикация сопровождается тахикардией (до 120—140 в минуту), головной болью, слабостью, адинамией, иктеричностью склер, тошнотой, рвотой. В 25% наблюдений присоединяются симптомы бактериалнотоксического шока со снижением артериального давления, резкой бледностью, акроцианозом, спутанностью сознания. При тяжелом течении ПН появляются признаки почечно-печеночной недостаточности с азотемией, выраженной желтухой. При распространении процесса на паранефральную клетчатку появляются симптомы напряжения мышц передней брюшной стенки и поясничной области, болезненность в подреберье. При этом дифференциальный диагноз проводится с гриппом, аппендицитом, холециститом [18].

Хронический ПН начинается, как правило, в детстве. Его обострения часто связаны с гормональными сдвигами (пубертатный период, замужество, беременность, роды). Вне стадии обострения больные чувствуют себя хорошо, иногда появляются жалобы на недомогание, головную боль, тупую боль в пояснице. У 5—10% беременных встречается бессимптомная бактериурия без каких-либо признаков воспаления мочевыводящих путей ни в настоящее время, ни до беременности. У 40% женщин бактериурия переходит в клинически выраженный ПН, в связи с чем ее рассматривают как предстадию ПН. Примерно $\frac{2}{3}$ случаев острого ПН во время беременности наблюдаются на фоне предшествующей бессим-

птомной бактериурии, которая в любой момент может перейти в клинически выраженную инфекцию мочевых путей. При этом у 39% беременных развиваются симптомы ПН и цистита, в то время как у пациенток без бактериурии клинические признаки инфицирования мочевых путей выявляются только в 6% случаев [32].

Воспалительные заболевания почек занимают первое место среди экстрагенитальных заболеваний, осложняющих течение беременности, родов, состояние плода и новорожденного. Наличие у беременных ПН всегда связывается с высоким риском возникновения акушерской и перинатальной патологии [4, 6, 25]. Степень риска зависит от давности заболевания, выраженности поражения почек, наличия гипертензивного синдрома.

К наиболее частым осложнениям беременности при ПН относятся невынашивание, анемия, плацентарная недостаточность, хроническая гипоксия плода и/или задержка его внутриутробного развития, внутриутробная инфекция, гестоз. Степень риска возникновения большинства этих осложнений зависит прежде всего от формы ПН у матери. Так, по данным И.Г. Никольской и соавт. [15], угроза преждевременных родов встречалась у 20% беременных с гестационным, у 34% — с хроническим и у каждой второй пациентки — с вторичным хроническим ПН. Хроническая внутриутробная гипоксия плода выявлялась в 16, 31 и 59% случаев соответственно, синдром задержки внутриутробного развития плода — в 14, 27 и 46%. Снижение гормональной функции фетоплацентарного комплекса также зависело от формы ПН: подобные изменения были выявлены у 18% беременных с гестационным, у 29% — с хроническим и у 42% — с вторичным хроническим пиелонефритом.

Характерными признаками плацентарной недостаточности у беременных с ПН при гистологическом исследовании плаценты являются нарушения ее созревания и воспалительные изменения [18, 25, 26].

Наличие ПН осложняет течение родов и послеродового периода. К наиболее частым осложнениям в родах относят преждевременное или раннее излитие околоплодных вод, острую гипоксию плода, нарушения сократительной активности матки, процессов отделения и выделения последа. После родов в 2—3 раза возрастает риск возникновения гнойно-воспалительных осложнений мочеполювых органов.

ПН неблагоприятно влияет и на состояние внутриутробного плода. У новорожденных находят признаки внутриутробной инфекции, они более подвержены гнойно-септическим заболеваниям. Возможно рождение детей с врожденным

везикулезом, не выявлено признаков врожденного ПН. Перинатальная смертность при этом составляет 25—60%. При почечной гипертензии риск возникновения осложнений со стороны матери и плода, а также показатели перинатальной заболеваемости и смертности резко возрастают [18].

В работах Г.В. Чижовой [26] представлен анализ перинатальных исходов в зависимости от особенностей течения ПН во время беременности. Основным фактором риска развития плацентарной недостаточности у беременных с ПН является обострение хронического или впервые возникший во время беременности острый воспалительный процесс в почках. При гестационном ПН, развивающемся без выраженных изменений метаболизма и гемодинамики у пациенток, отмечается умеренный риск развития перинатальных осложнений. При этом заболеваемость новорожденных составляет 320%. При хроническом ПН, манифестирующем при беременности на фоне исходных нарушений метаболизма и умеренных изменений гемодинамики, риск развития перинатальных осложнений достаточно высок (заболеваемость новорожденных — 520%). Вторичный хронический ПН, манифестирующий на фоне исходно выраженных метаболических, гемодинамических и уродинамических изменений в организме, приводит к максимальному риску (730%) развития перинатальных осложнений. Заболеваемость новорожденных составляет при этом 730%. Это подтверждают результаты исследования и других авторов [25].

Перинатальные осложнения при инфекции мочевыводящих путей порой настолько серьезны, что явились основанием для создания в ряде зарубежных стран специальных программ по выявлению и лечению этой патологии у беременных.

Следует отметить, что не только ПН осложняет течение беременности, но и последняя негативно влияет на течение воспалительного процесса в почках. Так, примерно у $1/3$ пациенток наблюдается его обострение. Сочетание ПН и беременности повышает риск и послеродовых воспалительных осложнений, которые возникают у 22—33% родильниц [13].

Таким образом, ПН — одно из наиболее распространенных воспалительных заболеваний почек, причиной которого являются бактериальные или бактериально-вирусные инфекции. В патогенезе заболевания, помимо воздействия инфекционного фактора, важное значение имеют нарушения мочевого выделения, обусловленные изменениями топографоанатомических взаимоотношений по мере роста матки, перестройкой гормонального и иммунного статуса и др. Развитие ПН осложняет течение беременности, родов и послеродового периода, сопровождается ростом перинатальной заболеваемости и смертности. Вопросы ранней диагностики и прогнозирования заболевания с применением современных технологий, а также комплексной профилактики и терапии беременных с данной патологией почек требуют дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аутеншлюс А.И., Иванова О.В., Коновалова Т.Н. Состояние клеточного иммунитета у беременных с воспалительными заболеваниями почек. Иммунология 1998; 4: 52—55.
2. Безнощенко Г.Б. Беременность и пиелонефрит. Омск 1992.
3. Брагина Л.Б. Особенности иммунного статуса у женщин с хроническим пиелонефритом на ранних сроках беременности. Иммунология 2000; 6: 37—38.
4. Елисеев О.М., Шехман М.М. Беременность. Диагностика и лечение болезней сердца, сосудов и почек. Ростов-на-Дону: Феникс 1997; 190.
5. Заманская Т.А., Боташева Т.Л., Орлов А.В. К вопросу о патогенезе гестационного пиелонефрита. Вестн РАМН 1999; 2: 97—98.
6. Ишкабулова Г.Дж. Особенности функционального состояния почек у новорожденных от матерей, больных хроническим пиелонефритом. Педиатрия 2001; 3: 42—45.
7. Иллеклалу В.Ш. и др. Иммунные нарушения при врожденном гидронефрозе, осложненном обструктивным пиелонефритом. Урология 2001; 2: 42—45.
8. Кремлинг Х., Лутцаер В., Хайнц Р. Гинекологическая урология и нефрология: Пер. с нем. М: 1985; 390.
9. Лопаткин Н.А. Урологические заболевания почек у женщин. М: Медицина 1985; 12—19, 240.
10. Лоран О.Б., Гвоздев М.Г., Дубов С.А. Острый пиелонефрит. Врач 1998; 1: 46.
11. Мальцева Л.И., Железова М.Е., Музеева Л.Ф. Особенности течения пиелонефрита у беременных женщин при урогенитальной микоплазменной и хламидийной инфекции. Сб. матер. II Съезда нефрологов России. М 1999; 18—22.
12. Матуа Г.Б., Марашова А.Р., Рыбалка А.Н. и др. Реабилитация иммунной системы. М 1990; 64—65.
13. Митюшкина Т.А. Проблемы инфекций мочевыводящих путей у женщин. Гинекология 2002; 4: 196—198.
14. Никольская И.Г., Тареева Т.Г., Микаелян А.В. Вес Рос асс акуш и гин 1998; 4: 60—64.
15. Никольская И.Г. и др. Пиелонефрит и беременность. Рос вестн акуш-гин 2003; 3: 2: 34—36.
16. Никифоровский Н.К. Неосложненный пиелонефрит у беременных: Обзор. Рос. вестн. акуш-гин М 2002; 1: 19—24.
17. Перерва Б.Т., Очархаджиев С.Б. Лечение острого пиелонефрита беременных по материалам урологического отделения КМЛДО. Здравсохранение Башкортостана. Уфа 2001; 5: 41—42.
18. Сафронова Л.А. Пиелонефрит и беременность. Рус мед журн 2000; 18: 78—81.
19. Сотникова Н.Ю., Шмакова И.Е., Крошкина Н.В. Особенности иммунного статуса у беременных женщин с хроническим пиелонефритом. Урология 2001; 2: 42—45.

- ческим пиелонефритом. Вестн Иван мед акад. 1996; 34: 38—40.
20. *Талаев А.М.* Прогнозирование развития гестоза у беременных с хроническим пиелонефритом с помощью компьютерной ренографии. Вестн Иван мед акад 2001; 34: 96.
 21. *Тиктинский О.Л., Калинина С.Н.* Пиелонефриты. Ст-Петербург: Медицина Пресс 1996; 320.
 22. *Тютюник В.Л.* Течение беременности и перинатальные исходы при хронической плацентарной недостаточности и инфекции. Пробл беременности 2000; 2: 46—50.
 23. *Уварова Е.В., Султанова Ф.Ш.* Влагалище как микроэко-система в норме и при воспалительных процессах гени-тальной различной этиологии. Гинекология 2002; 4: 189—195.
 24. *Фрейдлин И.С.* Иммунология 1995; 3: 44—47.
 25. *Хамула Н.М.* Прогнозирование, диагностика внутриутроб-ного инфицирования плода у беременных с хроническим пиелонефритом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск 1999; 21.
 26. *Чижова Г.В., Петричко М.И., Канаева Н.В.* Особенности изменений в фетоплацентарном комплексе у женщин с острым пиелонефритом. Вестн перинатол акуш и гин Красноярск 2000; 7: 176—178.
 27. *Шехтман М.М.* Лечение пиелонефрита у беременных. Тер арх М 1996; 68: 10: 55—59.
 28. *Christensen B.* Which antibiotics are appropriate for treating bacteriuria in pregnancy? J Antimicrob Chemother 2000; 46: Suppl 1: 29—34.
 29. *Delzell J.E., Lefevre M.L.* Urinary tract infections during preg-nancy. Am Fam Physician 2000; 1: 61 (3): 713—721.
 30. *Foxman B.* Epidemiology of urinary tract infections: incidence morbidity and economic costs. Am J Med 2002; 113: Suppl 1A: 58—113.
 31. *Hart A., Nowycki B., Reisner B.* Ampicillin-resistant E. coli in gestational pyelonephritis. J Infect Dis 2001; 18: 3: 1526—1529.
 32. *Hirsch H.A.* Pyelonephritis. Stuttgart: S. Karger 1997; 429. Millar L.K., DeBuque L., Wing D.A. Uterine contraction frequency during treatment of pyelonephritis pregnancy and subsequent in risk of preterm birth. J Perinatol Medic 2003; 31: 1: 41—46.
 33. *Micelyte S., Glinskis G., Cekauskas Z.* Hydronephrosis in preg-nancy: importance of urologic action and their volume. Kau-nas: Medicina 2002; 38: Suppl 1: 22—29.
 34. *Nowicki B.* Urinary tract infection in pregnant women. Curr Infect Dis Rap 2002; 4: 6: 529—535.
 35. *Patterson T.F., Andriole V.T.* Bacteriuria in pregnancy. Infect Dis Clin North Am 1987; 1: 807—822.
 36. *Raz R.* Intern J Antimicrob Agents 2001; 17: 259—268.
 37. *Sobczak M., Pertynska M., Wilczynski J.* Arterial hypertension during pregnancy complicated by type diabetes-clinical as-pects. Ginekol Pol 2001; 72: 12: 1247—1254.
 38. *Stamey T.A., Sexton C.C.J.* Urology 1975; 113: 214—217.

Репродуктологи всех стран — объединяйтесь!

(Продолжение; начало на с. 21, 36, 41, 46)

Фишман Яков Григорьевич — врач акушер-гинеколог

yakov@rusmedserv.com

www.rusmedserv.com

Хархаров Арсен Гаджиевич — главный врач Республиканского ЦПСИР, Махачкала

repro@datacom.ru

Хилькевич Людмила Викторовна — врач-эмбриолог, клиника «Москворечье», Москва

hilkevich@usa.net

Циновой Вадим Шаевич — врач Центра репродуктивной медицины, Вологда

tsinovoy@vologda.ru

www.vologda.ru/-tsinovoy

Чечурова Татьяна Николаевна — врач акушер-гинеколог, НЦАГиП РАМН, Москва

t_chechurova@mail.ru

Юзько Александр Михайлович — руководитель Центра репродуктивной медицины Буковинской государственной медицинской академии, Черновцы, Украина

lrm@cv.ukrtel.net



В семье собачников родилась тройня. Друг семьи, тоже собачник, придя в гости, придирчиво осматривает потомство: — Пожалуй, я бы оставил среднего...

Клинические возможности применения дюфастона при лечении эндокринных форм невынашивания беременности

Р.А. САИДОВА, Ю.И. СЕМЕНОВА, Е.В. ТРОПЫНИНА

Кафедра акушерства и гинекологии медико-профилактического факультета Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова

Несмотря на большое число исследований, проблема невынашивания беременности остается актуальной до настоящего времени. Приблизительно 10—15% всех первых беременностей терпит неудачу, при этом большинство прерываний происходит в I триместре по типу неразвивающейся беременности. Известно, что 2—5% репродуктивных пар имеют повторяющиеся потери беременности, обычно 3 или большее количество выкидышей до 20 нед [9].

Согласно данным литературы [2, 7], количество потерь в ранней беременности уменьшается последовательно с гестационным возрастом и значительно снижается к концу эмбрионального периода (70 дней после начала последней менструации). Последующие потери происходят между 14-й и 20-й недель. Это образец ранней смерти беременности предполагает период эмбриональной потери, отличной от фетальной потери. В первые недели беременности самопроизвольному прерыванию беременности, как правило, предшествует гибель эмбриона или плода [7, 8]. По мнению В.М. Сидельниковой [5], причины гибели эмбриона/плода идентичны при спорадических и при привычных выкидышах, но в отличие от случайного прерывания беременности в основе привычного невынашивания лежит нарушение функции репродуктивной системы.

Эндокринные нарушения занимают второе место среди причин ранних сроков невынашивания после генетических аномалий. Чаще всего это гормональные нарушения при выраженной гипофункции яичников и явлениях гиперандрогении надпочечникового генеза. Гипо- и гиперфункция щитовидной железы, гиперпролактинемия также способствуют недостаточной подготовке эндометрия к беременности и неполноценной имплантации плодного яйца [4], а также могут оказывать свое патологическое действие на выработку гонадотропных гормонов (синдром поликистозных яичников, гиперсекреция ЛГ), состояние эндометрия, функцию желтого тела.

Во время беременности синтез прогестерона (Прог) и эстрадиола (E_2) осуществляется желтым телом, активность которого определяется хорионическим гонадотропином (ХГ). Чем актив-

нее эмбрион синтезирует ХГ, тем больше у него шансов на выживание. Важнейшая роль ХГ заключается в поддержании функциональной активности желтого тела спустя 14 дней после оплодотворения, что обеспечивает прогрессирование беременности. Известно, что хирургическое удаление желтого тела без адекватной гормональной заместительной терапии препаратами Прог или назначение антагонистов Прог (мифепристора) до 9—10 нед беременности приводит к прерыванию беременности.

Целью настоящего исследования явилось определение гормональных параметров для назначения гормональной терапии и возможности применения аналога натурального Прог дюфастона (дидрогестерона) для сохранения беременности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 72 пациентки в возрасте от 21 года до 37 лет (средний возраст $29 \pm 3,3$ года), поступившие в ранние сроки беременности в гинекологическое отделение клинической больницы №67 Москвы. Все женщины имели отягощенный акушерско-гинекологический анамнез: привычное невынашивание беременности, бесплодие, нарушения менструального цикла, а также клинические признаки угрозы прерывания беременности: боли в нижних отделах живота, кровяные выделения из половых путей.

Всем пациенткам при поступлении проводили ультразвуковое исследование (УЗИ) и определяли концентрацию E_2 , Прог, тестостерона (Т) и β -ХГ в периферической крови до начала и в процессе лечения. Кровь для анализов брали из локтевой вены натощак в 8—10 ч.

В зависимости от полученных показателей гормонов крови все пациентки были разделены на 4 клинические группы: 1-я группа — пациентки с пониженным уровнем Прог ($n=22$); 2-я — пациентки с пониженным уровнем E_2 ($n=15$); 3-я — пациентки с повышенным уровнем E_2 ($n=10$); 4-я — пациентки с повышенным уровнем Т ($n=25$).

Группу контроля составили 20 беременных без нарушений менструальной и репродуктивной функции с благоприятным течением и исходом

данной беременности. Все пациентки были очень заинтересованы в сохранении беременности и желали иметь ребенка.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В 1-ю группу были включены 22 пациентки в возрасте 20—30 лет (средний возраст $25,58 \pm 3,64$ года). В анамнезе у 63% из них было нарушение менструального цикла по типу олигоменореи; у 18% — метаболический синдром (ИМТ от 38,6 до 44,3); у 54,4% — первичное бесплодие; у 27,3% — гиперпролактинемия, беременность наступила на фоне приема парлодела. У остальных пациенток беременность наступила спонтанно. По данным УЗИ, размеры плодного яйца и эмбриона соответствовали сроку беременности у 20 пациенток. Размеры желтого тела были от 0 до 13—16 мм.

По данным гормонального исследования, в 1-й группе у пациенток имело место абсолютное снижение концентрации Прог по сравнению с группой контроля (табл. 1). Снижение отношения Прог/ E_2 свидетельствовало об относительной гиперэстрогении у данной группы пациенток. Всем беременным данной группы назначался дюфастон в дозе 20—30 мг/сут с равными интервалами.

Во 2-ю группу вошли женщины в основном позднего репродуктивного возраста (от 28 до 37 лет, в среднем $32,7 \pm 2,94$ года). Обращает на себя внимание осложненный репродуктивный анамнез у всех пациенток данной группы: у 33% — первичное бесплодие, у 11% — вторичное бесплодие. У 45% пациенток в анамнезе привычное невынашивание: у 32% (от общего числа) — самопроизвольные аборт до 7 нед, у 22% — осложнения во II и III триместрах: самопроизвольные аборт в сроки 23—24 нед и мертворождения в сроки 28—38 нед. У 22% пациенток данная беременность наступила на фоне лечения, в том числе приема дюфастона, парлодела, L-тироксина.

При поступлении, по данным УЗИ, у 21% пациенток размеры плодного яйца соответство-

вали сроку беременности. Желтое тело было диаметром от 1,2 до 2,0 см. По данным гормонального исследования определялась абсолютная и относительная гипоестрогения, о чем свидетельствовали снижение уровня E_2 и увеличение отношения E_2 /Прог. Уровень Прог не различался с показателями при нормальной беременности. Пациенткам данной группы назначался дюфастон по 20 мг/сут и 17 β -эстрадиол по 2—4 мг/сут в зависимости от показателей эндогенного E_2 (см. табл. 1).

В 3-ю группу вошли пациентки в возрасте от 22 до 29 лет (средний возраст $29,5 \pm 5,3$ года). В анамнезе у 75% пациенток отмечалось нарушение менструальной функции по типу олигоменореи. У 25% — самопроизвольные аборт до 12 нед. Беременность у всех пациенток наступила спонтанно. Признаки угрозы прерывания беременности (боли внизу живота) наблюдались с 4—5-й недели беременности.

По данным УЗИ, в 5—6 нед беременности размеры плодного яйца соответствовали гестационному сроку, размеры желтого тела были от 16 до 30 мм. Определялся гипертоonus миометрия. По данным гормонального исследования определялась абсолютная гиперэстрогения, уровень Прог был также значимо повышен. В среднем отношение Прог/ E_2 было меньше, чем в группе контроля, но незначительно. Однако у 45% пациенток отмечалось снижение отношения Прог/ E_2 в связи с высоким уровнем E_2 (3600—3642 пмоль/л), что составило 22,9—25,8 в сроки 6—7 нед. Этим пациенткам потребовалось дополнительное назначение дюфастона (до 30—40 мг/сут) для коррекции отношения Прог/ E_2 .

В 4-ю группу вошли пациентки в возрасте от 19 до 35 лет (в среднем $25,86 \pm 4,09$ года). Обращает на себя внимание отягощенный репродуктивный анамнез у 21 (84%) пациентки: у 40% — нарушение менструального цикла по типу олигоменореи, у 40% — бесплодие первичное, у 13% — бесплодие вторичное. У 34% пациенток в анам-

Таблица 1. Показатели гормонов крови в сроки беременности 5—6 нед до начала лечения

Показатель	Группа				
	контроль (n=20)	1-я (n=22)	2-я (n=15)	3-я (n=10)	4-я (n=25)
Прог, нмоль/л	79,31 \pm 2,82	46,73 \pm 9,28*	89,49 \pm 15,21	135,38 \pm 22,43*	78,22 \pm 22,02
E_2 , пмоль/л	2313,39 \pm 128,48	2228,38 \pm 504,20	1319 \pm 327,97*	3644 \pm 56,54*	3829 \pm 1218,71*
T, нмоль/л	1,51 \pm 0,20	1,33 \pm 0,61	1,26 \pm 0,98	1,25 \pm 0,16	4,675 \pm 1,34*
Прог/ E_2	40,4 \pm 3,58	28,60 \pm 6,52*	66,98 \pm 20,76*	36,58 \pm 10,07	24,49 \pm 10,15*
T/ E_2	0,99 \pm 0,21	0,58 \pm 0,19	0,92 \pm 0,40	0,34 \pm 0,04	1,29 \pm 0,36*
β -чХГ, мЕД/мл	56 900 \pm 15 000	48 559 \pm 15 183	30 868 \pm 11 600*	76 432 \pm 16 313	72 409 \pm 19 500

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: * — достоверные различия ($p < 0,05$) с группой сравнения.

незе лечебно-диагностическая лапароскопия по поводу бесплодия; у 20% пациенток данная беременность наступила после стимуляции овуляции кломифеном или меногоном. Эти пациентки получали дюфастон и дексаметазон на протяжении второй фазы стимулированного цикла и продолжали прием во время беременности.

При поступлении, по данным УЗИ, у всех пациенток беременность соответствовала сроку гестации, размеры желтого тела составляли 1,1—3,0 см. У всех пациенток данной группы с 5—6 нед наблюдались симптомы угрозы прерывания беременности, у 46,7% — были мажущие кровяные выделения. По данным гормонального исследования выявлялась абсолютная гиперандрогения. Отношение T/E_2 было также значительно повышено. Обращали на себя внимание высокий уровень E_2 и относительная гиперэстрогения по отношению $Прог/E_2$. Всем пациенткам назначался дюфастон в дозе 20 мг/сут в сочетании с дексаметазоном в дозе 0,125—0,5 мг/сут.

Беременность была пролонгирована у всех пациенток. По данным гормонального исследования, проведенного в 7—8 нед беременности, была произведена коррекция терапии во всех группах.

В 1-й группе к 7—8-й неделе у всех пациенток симптомы угрозы прерывания беременности уменьшились, у 36,4% боли внизу живота прекратились. Однако у 63,6% беременных в сроки 7—8 нед боли внизу живота продолжали беспокоить, по данным УЗИ, у них определялся повышенный тонус миометрия. По данным гормонального исследования в сроки 7—8 нед у данной группы пациенток оставались низкие значения $Прог$ по сравнению с гестационной нормой. Обращал на себя внимание сниженный по сравнению с гестационной нормой уровень E_2 , который лишь незначительно увеличился по сравнению с данными в 6—7 нед беременности.

Во 2-й группе на 7—8-й неделе беременности уровень E_2 оставался значимо низким по сравнению с контрольной группой. Уровень $Прог$ в среднем был достаточным, но имел значительные

колебания (от 66 до 105 нмоль/л). В среднем отношение $Прог/E_2$ было достоверно повышено. У тех пациенток, у которых был одновременно снижен уровень E_2 и $Прог$, отношение $Прог/E_2$ соответствовало норме. Обращает на себя внимание низкий уровень ХГ у данной группы пациенток.

В 3-й группе к 7—8-й неделе беременности оставался повышенный уровень E_2 , однако различия не были достоверными. Отношение $Прог/E_2$ в среднем соответствовало гестационной норме.

В 4-й группе к 7—8-й неделе беременности, по данным УЗИ, у 27% пациенток наблюдалась патология прикрепления плаценты от предлежания хориона до низкой плацентации. По данным гормонального исследования, уровень T достоверно снизился по сравнению с таковым в срок беременности 6—7 нед, но продолжал оставаться высоким по сравнению с контрольной группой. Отношение $Прог/E_2$ соответствовало гестационной норме. Отношение T/E_2 также было нормальным, за счет высокого, но недостоверного повышения уровня эстрогенов (см. табл. 2).

В 1-й и 3-й группах к 9—10-й неделе беременности произошла нормализация всех показателей (табл. 3). Отмечалось «гладкое» течение беременности во II и III триместрах у данной группы пациенток.

Во 2-й группе пациенток к 9—10-й неделе беременности сохранялись сниженный уровень E_2 , повышенное отношение $Прог/E_2$. Увеличение отношения T/E_2 свидетельствует о наличии относительной гиперандрогении за счет снижения концентрации эндогенного E_2 . Обращает на себя внимание также низкий уровень ХГ у данной группы пациенток. В этой группе встречались самые тяжелые осложнения беременности. У 4 (26%) пациенток симптомы угрозы прерывания беременности сохранялись или усилились в 18 и 28 нед беременности. Только в данной группе пациенток встречалась тяжелая нефропатия.

В 4-й группе к 9—10-й неделе беременности уровень T достоверно снизился по сравнению с уровнем в 7—8 нед беременности, но сохрани-

Таблица 2. Показатели гормонов крови в сроки беременности 7—8 нед на фоне лечения дюфастоном

Показатель	Группа				
	контроль (n=20)	1-я (n=22)	2-я (n=15)	3-я (n=10)	4-я (n=25)
Прог, нмоль/л	78,34±11,09	50,61±13,62*	85,33±19,90	101,22±23,97*	84,36±27,96
E_2 , пмоль/л	3517,78±896,20	2464±711,15*	1809,10±708,59*	4813,13±886,73	4413,23±1231,56
T, нмоль/л	1,49±0,19	1,26±0,38	1,43±0,64	1,12±0,27	2,31±1,22*
$Прог/E_2$	23,61±2,25	26,27±9,20	52,05±18,57*	23,50±2,34	20,62±5,58
T/E_2	0,45±0,13	0,47±0,45	0,81±0,56*	0,24±0,05	0,44±0,21
β -чХГ, мЕД/мл	87 000±25 130	87 420±29 400	42 286±14 059*	120 136±10 081	119 111±38 600

Таблица 3. Показатели гормонов крови в сроки беременности 9—10 нед на фоне лечения дюфастоном

Показатель	Группа				
	контроль (n=20)	1-я (n=22)	2-я (n=15)	3-я (n=10)	4-я (n=25)
Прог, нмоль/л	89,28±12,03	85,01±6,99	86,43±7,59	84,07±5,89	81,37±7,97
E ₂ , пмоль/л	7640,12±820,85	6613,23±1177,74	4091,87±232,46*	6994,38±570,41	7760,11±544,89
T, нмоль/л	1,49±0,19	0,73±0,34	1,85±0,29*	0,61±0,17	1,87±0,37*
Прог/E ₂	13,60±0,91	12,98±2,82	20,78±2,71*	13,44±0,84	10,60±1,59*
T/E ₂	0,17±0,06	0,1±0,05	0,34±0,09*	0,1±0,03	0,39±0,18*
β-чХГ, мЕД/мл	130 150 ±41 300	136 393±13 393	108 113±17 277*	132 741±21 587	206 356±34 183*

лось значимое повышение его по сравнению с гестационной нормой. Однако появилось значимое повышение отношения T/E₂. Это связано с тем, что при нормальном физиологическом течении беременности происходит значительное повышение уровня E₂ с 8—10-й недели, и в данной группе больных даже высокий уровень эстрогенов не может компенсировать повышенного количества андрогенов. Отмечалось большое количество осложнений беременности: водянка беременных, истмико-цервикальная недостаточность, фетоплацентарная недостаточность. У 20% беременных произошли срочные роды, у 8% роды закончились оперативным родоразрешением в связи с патологией родовой деятельности.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Уже с момента оплодотворения начинает реализоваться жестко детерминированная генетическая программа развития эмбриона. Прерывание беременности в ранних сроках (до 2—3 нед гестации) направлено на «отбраковку» оплодотворенных яйцеклеток с генетическими аномалиями. Запрограммированные генетически на строгую последовательность формообразования яйцеклетка, морула и бластоциста не обладают защитными реакциями [4]. И невынашивание беременности в ранних сроках будет обусловлено либо нарушением генетической программы развития эмбриона, либо нарушениями в репродуктивной системе женщины. Последние приводят к снижению функции желтого тела и нарушению созревания эндометрия, следствием чего является неполноценная имплантация. Последствием неполноценной имплантации не всегда является выкидыш на ранних сроках беременности. Неполноценная перестройка спиральных артерий эндovasкулярным трофобластом приводит к развитию плацентарной недостаточности, внутриутробной задержке развития плода, гестозам. Только с 8-й недели гестационного развития, вероятно, начинают реализовываться аутоиммунные нарушения [3].

В специальном исследовании таких выкидышей с параллельной пункцией желтого тела оказалось, что при полноценной функции гранулезных лютеоцитов в эндометрии преобладают крупные децидуальные клетки и уровень Прог при 7—12 нед беременности составляет 67,3±12,6 нмоль/л. В группе женщин с гипофункцией желтого тела объем гранулезных лютеоцитов был значительно меньше, уровень Прог составлял 48,9±6,8 нмоль/л, что сопровождалось выраженным отставанием децидуализации в соскобах эндометрия после раннего выкидыша [13]. Это подтверждало наличие достоверных корреляционных связей между объемом гранулезных лютеоцитов, количеством высокодифференцированных децидуальных клеток и уровнем Прог в плазме крови [4]. При изучении плаценты таких женщин обнаружено неравномерное распределение либо полное отсутствие синцитиотрофобласта в мелких гипоплазированных ворсинах. Если количество измененных ворсин менее 5—15%, то беременность может развиваться без выраженных отклонений, если 16—18% — угроза прерывания беременности, но можно рассчитывать на положительный эффект терапии. 30% патологических ворсин — беременность не сохраняется медикаментозными средствами [4].

Установлено, что ранние, критические стадии процесса имплантации протекают успешнее в условиях защиты от чрезмерного воздействия эстрогенов, поскольку инвазия рецептивного эндометрия трофобластами и последующее взаимодействие эмбриона с материнским организмом затрудняются в условиях интенсивного роста эндометрия как неизбежного следствия повышенной эстрогенной активности. Таким образом, механизмы инактивации эстрогенов играют ключевую роль в обеспечении действия Прог на процессы имплантации [4].

Прог вызывает децидуальные превращения эндометрия и готовит его к имплантации, способствует росту и развитию миометрия, его васкуляризации, поддерживает миометрий в состоя-

нии покоя путем нейтрализации действия окситоцина, снижения синтеза простагландинов. Прог ингибирует опосредованную через T -лимфоциты реакцию отторжения эмбриона. Рецепторы к Прог имеются на всех клетках стромы эндометрия: фибробластах, лимфоцитах. Таким образом, Прог непосредственно влияет на дифференциацию эндометрия в децидуальную ткань. Кроме того, Прог стимулирует выработку факторов роста, цитокинов и т.д. Считается, что в отличие от Прог эстрогены влияют на имплантацию опосредованно. E_2 выступает в качестве перmissive-агента, тогда как прямое действие оказывают регулируемые им факторы — цитокины, молекулы адгезии, факторы роста. Именно E_2 играет важнейшую роль в процессе инвазии трофобласта.

Недостаток выработки стероидов (особенно эстрогенов) приводит к нарушению развития хориона и снижению синтеза им белковых регулирующих гормонов (ХГ и пролактина), что в свою очередь обуславливает прогрессирование дефекта хориальной ткани. Это приобретает особенное значение в 9—10 нед беременности, когда происходит физиологическое снижение инвазивной активности трофобласта.

Андрогены являются предшественниками эстрогенов в цепи гормонального биосинтеза. Предполагается, что андрогены могут конкурировать с эстрогенами на уровне рецепторного аппарата матки, что может также приводить к нарушению развития хориона и снижению глубины инвазии. Сочетание гиперандрогении и сниженной функции желтого тела приводит к остановке развития беременности.

Наиболее часто у пациенток, поступающих в связи с угрозой прерывания беременности, отмечается гиперандрогения. Встречается более тяжелая соматическая патология, преимущественно болезни сердечно-сосудистой и эндокринной систем. Обращает на себя внимание отягощенная наследственность по репродуктивной функции. Симптомы угрозы прерывания беременности имеют свою особенность — может не быть болей внизу живота, только мажущие кровяные выделения.

Изначально, по данным акушерско-гинекологического анамнеза, самый неблагоприятный прогноз в отношении течения и исходов беременности имеют группы с пониженным уровнем E_2 и повышенным уровнем T (2-я и 4-я). В этих группах отмечается наибольшая частота бесплодия, невынашивания беременности и гинекологических операций, осуществляемых по поводу бесплодия. Пациенткам этих групп гормональная терапия проводилась достаточно длительно. В 1-й группе наблюдается высокая частота первичного

бесплодия, но не встречается вторичное бесплодие и привычное невынашивание.

Особенно неблагоприятно, если повышенный уровень T сочетается с прогрессирующим снижением уровня E_2 и Прог в 7—8 нед беременности. Эти пациентки, по нашей классификации, входили в 1-ю группу с пониженным уровнем Прог и изначально получали 17β -эстрадиол, дюфастон и дексаметазон, что позволило им сохранить беременность, несмотря на критическое снижение уровня гормонов в 7—8 нед беременности.

Пациентки со сниженным уровнем Прог имеют ОАГА в виде первичного бесплодия, что также относит их к группе повышенного риска по невынашиванию и различным осложнениям беременности. По нашим данным, терапия Прог у этих пациенток позволяет пролонгировать беременность. В данной группе не встречалось тяжелых осложнений беременности. Терапия проводилась до 12 нед беременности, по показаниям.

Дюфастон (дидрогестерон) — является мощным, перорально активным прогестагеном, который по молекулярной структуре и фармакологическому действию аналогичен эндогенному Прог. В отличие от большинства синтетических прогестагенов, производных 19-норстероидов, дюфастон не обладает эстрогенной, андрогенной, анаболической и другой нежелательной активностью.

Молекулярная структура дидрогестерона почти идентична структуре природного Прог. Однако в молекуле дидрогестерона атом водорода, связанный с атомом углерода в положении 9, находится в β -позиции, а метильная группа, связанная с атомом углерода в положении 10, находится в α -положении, что противоположно структуре натурального прогестерона. Кроме того, в молекуле дидрогестерона имеется двойная связь между атомами углерода в положениях 6 и 7 (конфигурация 4,6-диен-3-она). Преимуществами структуры дюфастона является более высокая биодоступность препарата после перорального введения и отсутствие метаболитов с эстрогенной и андрогенной активностью.

Важно отметить, что механизмы отторжения эмбриона с нормальным и аномальным кариотипом различны. При аномальном кариотипе соприкосновение между сосудами матери и плода не так тесны, и это не приводит к активации иммунного отторжения. Иммунные механизмы действуют только при наличии нормального кариотипа. Доказано, что Прог (дюфастон) сохраняет только нормальные эмбрионы, так как действует через иммунную систему.

Применение гормональной терапии, по нашим данным, исключает необходимость приме-

нения дополнительных средств на ранних сроках беременности, в том числе спазмолитиков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изначально, по данным акушерско-гинекологического анамнеза, самый неблагоприятный прогноз в отношении течения и исходов беременности имеют группы пациенток с пониженным уровнем E_2 и повышенным уровнем Т (2-я и 4-я). Особенно неблагоприятно, если повышенный уровень Т сочетается с прогрессирующим снижением уровня E_2 и Прог в 7—8 нед беременности. В этих группах гормональная терапия проводится достаточно длительно (до 15—20 нед беременности).

Пациентки со сниженным уровнем Прог имеют ОАГА в виде первичного бесплодия, что также относит их к группе повышенного риска по

невынашиванию и различным осложнениям беременности. По нашим данным, терапия Прог у этих пациенток позволяет пролонгировать беременность. В данной группе не встречалось тяжелых осложнений беременности.

При исследовании гормонального профиля беременных с эндокринными формами невынашивания беременности следует учитывать как абсолютные значения стероидных гормонов, так и их отношения, в том числе Прог/ E_2 и Т/ E_2 . Гормональный мониторинг целесообразно проводить еженедельно с учетом показателей нормально развивающейся беременности до срока 10—12 нед.

Назначение дюфастона позволяет пролонгировать беременность при всех типах эндокринных форм невынашивания беременности (снижение уровня Прог, E_2 , повышение уровня Т) в сочетании с препаратами 17 β -эстрадиола и дексаметазона в зависимости от показателей гормонов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анишина М.Б., Исакова Э.В. Опыт применения дюфастона в программе ЭКО. Пробл репрод 2000; 2: 33—34.
2. Глуховец Б.И., Тарасов В.Н. и др. Патоморфологические и гормональные критерии в диагностике причин самопроизвольных выкидышей. Арх патол 2001; 63: 5.
3. Репина М.А., Лебедева Н.Е., Жданюк Л.П., Иванова А.В. Агонист прогестерона дидрогестерон (дюфастон) как препарат для лечения угрожающего выкидыша. Журн акуш и жен болезней 2000; XLIX: 1.
4. Сидельникова В.М. Неполноценная лютеиновая фаза — тактика ведения пациенток с привычной потерей беременности. Гинекология 2002; 4.
5. Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности. М: ТриадаХ 2002; 36—39.
6. Фанченко Н.Д., Леонов Б.В. и др. Об эффективности экстракорпорального оплодотворения. Пробл репрод 2000; 5.
7. Cunningham D.S., Bledsoe L.D., Tichenor J.R. Ultrasonographic characteristics of first-trimester gestations in recurrent spontaneous aborters. J Reprod Med 1995; 40: 8: 565—570.
8. Falco P., Milano V., Pilu G., David C. Sonography of pregnancies with first-trimester bleeding and a viable embryo: a study of prognostic indicators by logistic regression analysis. Ultrasound Obstet Gynecol 1996; 7: 3: 165—169.
9. Goldstein S.R. Embryonic death in early pregnancy: a new look at the first trimester. Obstet Gynecol 1994; 84: 2: 294—297.
10. Gleicher N., Brown T. Estradiol/progesterone substitution in the luteal phase rates in stimulated cycles — but only in younger women. Early Pregnancy 2000; 4: 1: 64—73.
11. Gustafson O. et al. Sex hormone-binding globulin, oestradiol-17 β , progesterone and testosterone at stimulation and after embryo transfer during in-vitro fertilization. Hum Reprod 1991; 6: 8: 1039—1042.
12. Hoesli I.M., Walter-Gobel I., Tercanli S., Holzgreve W. Spontaneous fetal loss rates in a non-selected population. Am J Med Genet 2001; 100: 2: 106—109.
13. Nylund L. et al. The early luteal phase in successful and unsuccessful implantation after IVF. Hum Reprod 1990; 5: 1: 40—42.
14. Thomas L., Alderson D.O. Luteal Phase Dysfunction. Med J 2001; 2: 10.
15. Valbuena D., Martin J., de-Pablo J.L., Remohi J. Increasing levels of estradiol are deleterious to embryonic implantation because they directly affect the embryo. Fertil Steril 2001; 76: 5: 962—968.

Художник:

— Интересовался ли кто-нибудь моими работами?

Директор галереи:

— О, да! Один господин спрашивал, поднимутся ли цены на картины после вашей смерти?

— И что вы сказали?

— Я сказал обязательно. Тогда он купил сразу десять ваших работ.

— Великолепно! И кто же этот покупатель?

— Ваш лечащий врач.



Биохимический мониторинг продуктов деструкции тканей в пуповинной крови новорожденных при инфекционно-воспалительных заболеваниях у матерей

В.А. БУРЛЕВ, И.Н. ПАСХИНА, Л.П. ПОНОМАРЕВА, Н.В. ОРДЖОНИКИДЗЕ, И.И. ЛАПШИНА

Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН, Москва

Приведены результаты биохимического мониторинга артериальной и венозной крови из пуповины новорожденных, рожденных от матерей с инфекционно-воспалительными заболеваниями во время беременности.

Ключевые слова: продукты деструкции тканей, КФНК, СМ254, СМ280, ТБК-ап, эндотоксический индекс, ЛДГ, ГБДГ, новорожденный, внутриутробная инфекция.

На состояние здоровья новорожденного огромное влияние оказывают особенности течения и осложнения беременности у матери [5, 16]. Проблема развития внутриутробной инфекции у детей, родившихся у матерей с инфекционно-воспалительными заболеваниями во время беременности, требует дальнейшего изучения. При этом особую значимость приобретают уточнение степени риска, частоты и тяжести развития инфекционного процесса у новорожденных, а также формирование в дальнейшем отсроченной патологии.

Инфекционная патология у будущей матери в большом числе случаев приводит к развитию внутриутробной инфекции [2, 5, 7, 9, 12]. Однако внутриутробное инфицирование плода различными видами возбудителей не означает неизбежное развитие специфической инфекции у ребенка [14].

Известно, что внутриутробная инфекция может привести к гибели плода, мертворождению или преждевременным родам, аномалиям развития, инфекционным и соматическим заболеваниям, а также к рождению и внешне здорового ребенка. Отметим, что отсроченная патология при внутриутробном инфицировании остается малоизученной и требует дальнейшего исследования.

Диагностика внутриутробной инфекции имеет определенные трудности. С одной стороны, это позднее распознавание и несвоевременное лечение, с другой — гипердиагностика и необоснованная антибактериальная терапия, небезразличная для плода и новорожденного. Только комплексная оценка данных анамнеза матери, состояния ребенка и результатов его обследования позволяет решить вопрос о наличии и степени его внутриутробного инфицирования, вероятно-

сти развития воспалительного процесса и необходимости лечебных мероприятий.

Известно, что любой инфекционный процесс связан с деструкцией тканей [3, 15]. При патологических состояниях нуклеотидный состав крови меняется, происходит разрушение высокомолекулярных нуклеиновых кислот (ДНК или РНК), вследствие чего в крови возрастает содержание кислоторастворимой фракции нуклеиновых кислот (КФНК). Последнее может указывать на наличие и степень выраженности воспалительно-некротического процесса в организме. Также при эндогенной интоксикации повышается уровень среднемолекулярных пептидов (СМ), изменяются параметры свободнорадикального окисления [1, 15]. При стрессорных и воспалительных реакциях происходит резкая активация перекисного окисления липидов (ПОЛ), повышение уровня его конечных продуктов — активных продуктов, взаимодействующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-ап). В организме происходит накопление избыточных конечных и промежуточных продуктов обмена веществ [1, 6, 10]. Это позволяет предположить, что определение продуктов деструкции тканей (ПДТ) в сыворотке крови может быть использовано для прогнозирования или раннего выявления инфекционного процесса.

Каждая болезнь вначале имеет бессимптомный, «доклинический» период. Определение ПДТ для прогнозирования послеродового эндометрита показало, что данный тест может служить ранним маркером инфекционного процесса, проявляющегося патологической деструкцией тканей [11].

Этот метод никогда не использовался у новорожденных, хотя именно они особенно нуждаются в наиболее раннем выявлении патологиче-

ского процесса. Определение маркера инфекции в «доклинический», бессимптомный период может прогнозировать изменение состояния новорожденного и проводить его своевременную коррекцию.

Цель исследования: определить диагностическое значение ПДТ (КФНК, СМ254, СМ280, ТБК-ап), показателей эндотоксического индекса — ЭИ (общий белок, аспартатаминотрансфераза — АСТ, мочевины, ЭИ254, ЭИ280) и ферментов гликолиза (лактатдегидрогеназа — ЛДГ, гидроксibuтиратдегидрогеназа — ГБДГ и их отношение) у новорожденных, родившихся у матерей с острой или рецидивом хронической инфекции в период беременности, для предупреждения или своевременного лечения инфекционно-воспалительных заболеваний у детей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находились 177 новорожденных, в том числе 37 новорожденных от матерей, не имевших во время беременности острых или обострения хронических инфекций (1-я, контрольная группа), и 140 новорожденных от матерей, перенесших во время беременности острые или рецидивы инфекционно-воспалительных заболеваний вирусно-бактериальной этиологии (2-я, основная группа).

Дети основной группы в зависимости от тяжести состояния были разделены на 3 подгруппы: в подгруппу 2а входили 50 (35,7%) детей в удовлетворительном состоянии в течение периода ранней неонатальной адаптации, у которых не отмечалось развития инфекционного процесса, — «условно здоровые дети»;

подгруппу 2б составили 68 (48,6%) детей в состоянии средней тяжести. Среди них были дети с малыми формами инфекции и дети без локальных форм инфекции, однако имевшие клиническую симптоматику, расцениваемую как инфекционный токсикоз. Состояние этих новорожденных нормализовалось к 7—10-м суткам жизни;

в подгруппу 2в включены 22 (15,7%) ребенка в тяжелом состоянии, вызванном инфекционным процессом.

Средний гестационный возраст новорожденных основной группы составил $38,3 \pm 0,1$ нед, группы контроля — $38,7 \pm 0,1$ нед ($p < 0,05$). При этом недоношенные дети были только в основной группе — 8 (5,7%).

Морфофункциональная незрелость выявлена у 29 (20,7%) детей основной группы, что почти в 10 раз чаще, чем в контроле (2,7%).

В обследованных группах отмечено большое число новорожденных с задержкой внутриутробного развития и недостаточностью питания. Де-

фицит массы тела имели 25 (17,9%) детей основной группы и 4 (10,8%) — группы контроля. При этом новорожденные группы контроля имели только внутриутробную недостаточность питания, тогда как в основной группе выявлены 3 (2,1%) новорожденных с гипотрофическим типом задержки внутриутробного развития, 3 (2,1%) — с диспластическим и 19 (13,6%) — с внутриутробной недостаточностью питания.

Всем новорожденным ежедневно проводилась клиническая оценка состояния, соматического, неврологического статуса, контроль за частотой сердечных сокращений, дыхания и температурой тела. В первые сутки жизни и в конце периода ранней неонатальной адаптации (5—7-е сутки жизни) проводился клинический анализ крови. Обследование новорожденных включало обязательное ультразвуковое исследование головного мозга и внутренних органов для выявления структурной патологии. Новорожденным с дыхательными нарушениями по показаниям проводилась рентгенография органов грудной клетки. По показаниям использовались микробиологические методы (бактериальные посевы из локусов инфекции).

Из специальных методов исследования использовались биохимические. Для выявления признаков воспаления отдельно в артериальной и венозной крови, полученной путем пункции вены и артерии пуповины плода сразу после его рождения, определяли уровень общего белка и мочевины, активность ферментов АСТ, ЛДГ, ГБДГ. Исследование проводилось по стандартным методикам на автоанализаторе.

Суммарную фракцию КФНК определяли также отдельно, в артериальной и венозной крови пуповины плода, методом спектрофотометрии. Разница между величинами поглощения суммарной смеси компонентов нуклеиновых кислот на длинах волн от 260 до 320 нм служила количественной характеристикой нуклеотидного материала (КФНК) в экстракте, что количественно выражалось в единицах оптической плотности (ОП 260—320) на 1 мл сыворотки крови.

Для определения уровня СМ в сыворотке артериальной и венозной крови пуповины плода применялся скрининговый метод для биологических жидкостей с измерением оптической плотности при длинах волн 254 и 280 нм на спектрофотометре. Ответ о величине уровня СМ получали в единицах, численно равных показаниям спектрофотометра.

Показатели ЭИ рассчитывали по формуле [12].

Исследовались ТБК-ап в сыворотке артериальной и венозной крови пуповины плода, которые позволяют судить об интенсивности свободнорадикальных реакций ПОЛ. Концентра-

цию ТБК-ап выражали в ммольях на 1 мл крови [15].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием стандартных статистических программ Microsoft Excel 2000 на персональном компьютере. Достоверность межгрупповых различий оценивалась с помощью двухвыборочного *t*-теста, критерия Стьюдента и коэффициента корреляции для качественных признаков.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для определения степени тяжести состояния детей при рождении проведен анализ оценки их состояния по шкале Апгар. Общее число новорожденных, родившихся в асфиксии различной степени, составило в основной группе 28 (20%), в группе контроля — 3 (8,1%). При этом в основной группе было 4 (2,9%) ребенка, родившихся в асфиксии тяжелой степени, и 1 (0,1%) — в среднетяжелой, а в группе контроля выявлялась асфиксия только легкой степени ($p < 0,05$).

Перинатальная смертность в нашем исследовании представлена 1 недоношенным новорожденным из основной группы с врожденной генерализованной вирусной инфекцией, умершим в 1-е сутки жизни.

Необходимо отметить высокую частоту встречаемости врожденных аномалий развития: в основной группе — 33 (23,6%) случая, в группе контроля — 4 (10,8%). При этом у 7 (5%) новорожденных основной группы отмечались множественные аномалии различных органов и систем ($p < 0,05$).

Наиболее частой патологией в периоде новорожденности была инфекционная, которая отмечалась у 72 (51,4%) детей основной группы и только у 5 (13,5%) детей группы контроля ($p < 0,001$). Обращают внимание различия по тяжести протекавших инфекционных процессов. Так, в отличие от контрольной группы в основной зарегистрировано 22 (15,7%) новорожденных с тяжелой формой инфекции, 21 (15%) — со среднетяжелой и 29 (20,7%) — с легкой.

При анализе инфекционной заболеваемости следует подчеркнуть высокую частоту встречаемости пневмонии в основной группе — 26 (18,6%) случаев при ее отсутствии в контрольной. Также только в основной группе выявлены случаи энцефалита (1 новорожденный), гнойного трахеобронхита (2), миокардита (1).

С учетом полученных результатов представлялось интересным сравнить биохимические показатели в подгруппах, наиболее различающихся по тяжести проявлений инфекционного процесса, а также сравнить показатели у «условно здо-

ровых» детей от матерей с инфекционными процессами во время беременности и детей от матерей без инфекций. Эти данные отражены в табл. 1—3. В таблицы не включена подгруппа (2б) детей в состоянии средней тяжести. Это связано с тем, что статистически обработанные результаты данной подгруппы носили промежуточный характер и достоверно не отличались от показателей подгрупп 2а и 2в.

Данные определения ПДТ у новорожденных представлены в табл. 1.

Анализируя среднее содержание КФНК, можно отметить отсутствие достоверных различий во всех трех подгруппах, однако отношение КФНК в венозной крови и артериальной крови (В/А) достоверно выше у новорожденных в тяжелом состоянии, родившихся у матерей с инфекцией ($1,25 \pm 0,14$), чем у детей, родившихся у женщин без инфекции ($0,91 \pm 0,06$).

В группе новорожденных от матерей с инфекциями среднее содержание СМ254 было достоверно выше в подгруппе 2в по сравнению с подгруппой 2а как в артериальной, так и в венозной крови. При этом у детей, родившихся у матерей без инфекции, в сравнении с «условно здоровыми» детьми, родившихся у матерей с инфекцией, достоверных различий показателей, как в венозной, так и в артериальной крови и в отношении В/А не отмечалось.

Сходная ситуация наблюдалась и при анализе среднего показателя СМ280. У детей в тяжелом состоянии по сравнению с «условно здоровыми» детьми он также был достоверно выше в артериальной крови, но в венозной крови существующие различия были недостоверными. Отношение В/А было достоверно ниже у детей в тяжелом состоянии в сравнении с «условно здоровыми» и детьми, родившимися у женщин без инфекций ($1,01 \pm 0,01$ и $1,04 \pm 0,03$).

Среднее содержание ТБК-ап также было достоверно выше у детей в тяжелом состоянии по сравнению с «условно здоровыми» и детьми у матерей без инфекции. Это прослеживается и в артериальной, и в венозной крови. Отношение В/А в подгруппах достоверно не различалось.

Показатели ЭИ представлены в табл. 2.

Показатели общего белка у детей в тяжелом состоянии по сравнению с «условно здоровыми» и детьми от матерей без инфекций были достоверно ниже как в артериальной, так и в венозной крови. Причем отношение В/А практически не менялось.

Обратно пропорциональная зависимость наблюдалась при анализе АСТ. У детей подгруппы 2в по сравнению с подгруппой 2а и 1-й группой этот показатель был выше как в артериальной, так и в венозной крови. Однако разли-

Таблица 1. Показатели ПАТ в зависимости от тяжести состояния детей ($M \pm m$)

Показатель	Контрольная, 1-я группа	Основная группа		$P_{1-2в}$	$P_{2а-2в}$
		подгруппа 2а	подгруппа 2в		
Артериальная кровь (из вены)					
КФНК, ед.опт.пл.	1,28±0,11	1,31±0,07	1,21±0,10	нд.	нд.
СМ254, ед.опт.пл.	0,261±0,01	0,257±0,001	0,306±0,01	<0,01	<0,01
СМ280, ед.опт.пл.	0,333±0,01	0,325±0,001	0,384±0,02	<0,05	<0,05
ТБК-ап, ммоль/мл	0,74±0,02	0,72±0,01	0,83±0,04	<0,05	<0,05
Венозная кровь (из артерии)					
КФНК, ед.опт.пл.	1,17±0,08	1,57±0,15	1,47±0,23	нд.	нд.
СМ254, ед.опт.пл.	0,258±0,01	0,250±0,001	0,301±0,01	<0,01	<0,001
СМ280, ед.опт.пл.	0,346±0,01	0,327±0,001	0,360±0,02	нд.	нд.
ТБК-ап, ммоль/мл	0,82±0,02	0,77±0,02	0,89±0,03	0,05	<0,001
Отношение в венозной и артериальной крови (В/А)					
КФНК В/А	0,91±0,06	1,13±0,14	1,25±0,14	<0,05	—
СМ254 В/А	0,99±0,02	0,99±0,02	0,99±0,02	нд.	нд.
СМ280 В/А	1,04±0,03	1,01±0,01	0,95±0,03	<0,05	<0,05
ТБК-ап В/А	1,11±0,02	1,06±0,03	1,06±0,03	нд.	нд.

Примечание. Здесь и в табл. 2: нд. — недостоверно.

Таблица 2. Показатели ЭИ в пуповинной крови в группах в зависимости от тяжести состояния детей ($M \pm m$)

Показатель	Контрольная, 1-я группа	Основная группа		$P_{1-2в}$	$P_{2а-2в}$
		подгруппа 2а	подгруппа 2в		
Артериальная кровь (из вены)					
Общий белок, г/л	54,2±1,2	53,8±0,7	48,2±1,9	<0,05	<0,05
АСТ, ед/л	23,5±1,6	25,7±1,5	44,9±14,5	нд.	нд.
Мочевина, ммоль/л	2,8±0,1	2,7±0,1	3,7±0,4	<0,05	<0,05
ЭИ254	3,98±0,44	3,84±0,27	1,89±0,43	<0,01	<0,001
ЭИ280	3,14±0,35	3,01±0,21	1,49±0,31	<0,001	<0,001
Венозная кровь (из артерии)					
Общий белок, г/л	55,0±1,1	54,8±0,8	50,9±1,9	нд.	нд.
АСТ, ед/л	32,5±2,1	33,9±1,7	49,9±12,7	нд.	нд.
Мочевина, ммоль/л	2,9±0,1	2,8±0,1	4,0±0,6	<0,05	<0,05
ЭИ254	2,70±0,29	2,86±0,21	1,47±0,28	<0,005	<0,001
ЭИ280	2,00±0,20	2,21±0,18	1,24±0,23	<0,05	<0,01
Отношение в венозной и артериальной крови (В/А)					
Общий белок В/А	1,01±0,01	1,02±0,01	1,04±0,02	нд.	нд.
АСТ В/А	1,46±0,09	1,44±0,10	1,23±0,06	<0,05	<0,05
Мочевина В/А	1,05±0,05	1,03±0,02	1,05±0,03	нд.	нд.
ЭИ254 В/А	0,76±0,07	0,79±0,04	0,85±0,04	нд.	нд.
ЭИ280 В/А	0,73±0,06	0,78±0,04	0,90±0,06	<0,05	—

чия между подгруппами недостоверны из-за большого разброса показателей у детей подгруп-

пы 2в. Но отношение В/А было достоверно ниже у детей в тяжелом состоянии по сравнению с

Таблица 3. Показатели соотношения аэробного и анаэробного гликолиза в пуповинной крови в зависимости от тяжести состояния детей ($M \pm m$)

Показатель	Контрольная, 1-я группа	Основная группа	
		подгруппа 2а	подгруппа 2в
Артериальная кровь (из вены)			
ЛДГ, ед/л	617,2±19,3	619,3±16,1	983,4±257,6
ГБДГ, ед/л	394,1±18,6	368,7±16,4	663,8±187,6
ГБДГ/ЛДГ	0,64±0,02	0,59±0,02	0,66±0,03
Венозная кровь (из артерии)			
ЛДГ, ед/л	821,6±32,7	791,5±19,4	1084,3±260,4
ГБДГ, ед/л	530,6±34,2	457,6±21,0	750,2±187,8
ГБДГ/ЛДГ	0,64±0,03	0,57±0,02	0,67±0,04
Отношение в венозной и артериальной крови (В/А)			
ЛДГ В/А	1,34±0,05	1,30±0,03	1,15±0,08*
ГБДГ В/А	1,34±0,06	1,29±0,05	1,16±0,08*
ГБДГ/ЛДГ В/А	1,00±0,01	0,99±0,03	1,02±0,02

Примечание. * — $p < 0,05$ — между контрольной группой и подгруппой 2в, в остальных случаях недостоверные различия.

«условно здоровыми» и детьми женщин без инфекций.

Средние значения мочевины у детей в тяжелом состоянии по сравнению с «условно здоровыми» были достоверно выше как в артериальной, так и в венозной крови. У детей от женщин без инфекций и у «условно здоровых» детей от женщин с инфекциями значения мочевины практически не различались как в артериальной, так и в венозной крови. Также не различалось и отношение В/А.

Значение ЭИ254 у детей в тяжелом состоянии по сравнению с «условно здоровыми» и детьми, родившимися у женщин без инфекций, было достоверно ниже как в артериальной, так и в венозной крови. Отношение В/А было выше в подгруппе 2в, чем в двух других, однако различия недостоверны.

Сходная ситуация наблюдалась и при анализе среднего показателя ЭИ280. У детей в тяжелом состоянии по сравнению с «условно здоровыми» и детьми от женщин без инфекций он также был достоверно ниже как в артериальной, так и в венозной крови. Отношение В/А было достоверно выше в подгруппе 2в, чем в 1-й группе.

Данные о показателях аэробного и анаэробного гликолиза представлены в табл. 3.

Среднее содержание ЛДГ и ГБДГ как в артериальной, так и в венозной крови было выше у детей в тяжелом состоянии, а у «условно здоровых» и детей, родившихся у женщин без инфекции, эти показатели значительно ниже. Различия между группами по содержанию ферментов не были достоверны из-за большого разброса пока-

зателей в подгруппе 2в. Отношение ГБДГ/ЛДГ и в артериальной, и в венозной крови было приблизительно равно во всех группах. Различия между группами также недостоверны. Отношение показателей ферментов в венозной и артериальной крови снижалось от группы детей, родившихся у женщин без инфекций, к подгруппе «условно здоровых» и затем детей в тяжелом состоянии, родившихся у женщин с инфекцией. Различия между показателями у детей от женщин без инфекций и детей в тяжелом состоянии, родившихся у женщин с инфекциями, были достоверны. Отношение ГБДГ/ЛДГ в венозной и артериальной крови было приблизительно равно во всех группах.

Очевидно, что соотношение аэробного и анаэробного гликолиза мало изменялось при нарушениях состояния ребенка, хотя у детей в тяжелом состоянии отмечалась достоверно меньшая разница в содержании ферментов в венозной и артериальной крови.

Таким образом, период ранней неонатальной адаптации у новорожденных, родившихся у матерей с острыми или обострениями хронических инфекционно-воспалительных заболеваний, имел ряд клинико-лабораторных особенностей. У них чаще, чем в группе контроля, встречались недоношенность, врожденный дефицит массы тела, асфиксия при рождении (в том числе более тяжелая), аномалии развития, инфекционные заболевания с большей частотой тяжелых форм.

При этом у детей с сформировавшимся в периоде ранней неонатальной адаптации тяжелым состоянием, уже при рождении в пуповинной

крови отмечались достоверно более высокие показатели ПДТ. У них был достоверно более высокий уровень СМ254 и СМ280, ТБК-ап, ЭИ254 и ЭИ280 (за счет снижения содержания общего белка при нарастании уровня АСТ, мочевины и СМ) при тенденции к увеличению показателей ферментов гликолиза (ЛДГ и ГБДГ).

Обращает внимание отсутствие достоверных различий и сходство клинической картины и лабораторных данных у детей, родившихся у женщин без инфекционно-воспалительных процессов во время беременности, и у «условно здоровых» новорожденных от женщин с острыми или обострениями хронических инфекционных заболеваний во время беременности.

ОБСУЖДЕНИЕ

Основным повреждающим фактором при инфекционном процессе различной этиологии выступают продукты жизнедеятельности микроорганизмов, которые накапливаются в клетках, вмешиваются в обмен веществ и разобщают процессы окисления и фосфорилирования, вызывая при этом необратимые процессы в клетках, органах и тканях [3, 15]. Процесс окислительного фосфорилирования — центральный процесс образования макроэргических молекул в митохондриях клеток. При его поражении происходят изменения метаболического гомеостаза в системе мать—плацента—плод. Возникающая эндогенная интоксикация является одним из ведущих звеньев патогенеза воспалительного процесса. В связи с этим для более полной оценки состояния ребенка при рождении и прогнозирования ухудшения его состояния при начальных проявлениях или латентном течении инфекционно-воспалительного процесса нами были изучены ПДТ.

Все новорожденные различались по течению заболевания, его тяжести и клиническим проявлениям. Следовательно, целесообразно было выделение групп по тяжести течения инфекционного процесса. Мы предполагали, что, сравнивая результаты биохимического мониторинга в резко различающихся группах, можно выявить достоверно значимые изменения показателей ПДТ. Тогда в дальнейшем при получении заведомо повышенного или пониженного показателя возможно прогнозирование ухудшения состояния новорожденного, что даст возможность своевременно начать адекватную терапию инфекционного процесса.

Наше исследование не продемонстрировало достоверных различий в содержании КФНК во всех трех подгруппах, однако отношение В/А было достоверно выше у детей в тяжелом состоянии от матерей с инфекцией ($1,25 \pm 0,14$), чем у

детей от женщин без инфекции ($0,91 \pm 0,06$). Это выявляет тенденцию к более выраженному разрушению высокомолекулярных нуклеиновых кислот (ДНК или РНК), вследствие чего в венозной крови новорожденного возрастает уровень КФНК. Это может указывать на наличие воспалительно-некротического процесса в организме плода. Несколько более низкое содержание КФНК в артериальной крови может свидетельствовать о детоксикации крови плода организмом матери.

При оценке уровня СМ ситуация иная. В венозной крови у детей в тяжелом состоянии происходило достоверное нарастание уровня СМ254 до $0,301 \pm 0,01$ ед. опт. пл., которые, возвращаясь в организм матери и проходя через плаценту, все равно сохраняли достоверно повышенные значения и в артериальной крови. Величина отношения В/А во всех подгруппах составляла $0,99 \pm 0,02$. При анализе других фракций — СМ280 у детей в тяжелом состоянии по сравнению с «условно здоровыми» также отмечалось достоверное повышение их уровня в артериальной крови до $0,384 \pm 0,02$ ед. опт. пл., но в венозной крови существующие различия не были достоверны, хотя тенденция к нарастанию сохранялась. Отношение В/А было достоверно ниже у детей в тяжелом состоянии ($0,95 \pm 0,03$), так как после прохождения через плаценту уровень СМ280 не снижался, а возрастал. Данные о росте показателей СМ интересны тем, что высокая биологическая активность их отдельных фракций ингибирует гликолиз, гликогенолиз, пентозный цикл, синтез гемоглобина, нарушает мембранный транспорт и тканевое дыхание [6, 10]. Эти изменения играют роль и в нарастании тяжести состояния ребенка.

Также о тяжести состояния новорожденного может свидетельствовать и повышение уровня ТБК-ап в венозной крови до $0,89 \pm 0,03$ ммоль/мл. Показатель отношения В/А не имел достоверных различий в группах. Так, в артериальной крови детей в тяжелом состоянии также сохранялись повышенные значения ТБК-ап (до $0,83 \pm 0,04$ ммоль/мл). После фильтрации крови у матери показатель снижался незначительно, может быть из-за того, что защитные резервы плаценты были недостаточны.

Оценивая показатели ЭИ, можно отметить, что у детей в тяжелом состоянии они достоверно снижались как в артериальной, так и в венозной крови за счет снижения уровня общего белка при одновременном повышении показателей АСТ, мочевины и СМ обеих фракций. При этом ЭИ венозной крови снижался больше, чем ЭИ артериальной крови, и величина отношения В/А у детей в тяжелом состоянии возрастала по сравнению с «условно здоровыми» детьми. Это также

может свидетельствовать о том, что плацента не справлялась с детоксикацией крови плода.

Несмотря на то, что СМ могут ингибировать процессы гликолиза [3, 6], мы не получили достоверных различий между группами новорожденных по содержанию ЛДГ, ГБДГ и отношению их как в артериальной, так и в венозной крови, хотя выявили отчетливую тенденцию к нарастанию уровня ферментов у детей в тяжелом состоянии. Заметно, что у «условно здоровых» новорожденных после прохождения крови через плаценту матери значительно снижались показатели обоих ферментов, а у детей в тяжелом состоянии — и ЛДГ, и ГБДГ сохраняли высокие значения и в артериальной крови, что подтверждается достоверными различиями в величине отношения этих показателей в венозной и артериальной крови.

Выявленные результаты исследований ПДТ позволяют сразу же после рождения ребенка по-

лучить дополнительную информацию о происходящих у него изменениях гомеостаза и степени выраженности эндогенной интоксикации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение биохимического мониторинга артериальной и венозной крови пуповины по определению ПДТ позволяет выделять группу прогностически неблагоприятных новорожденных для контроля и своевременного назначения патогенетически обоснованной комплексной терапии, включающей антибактериальную, дезинтоксикационную, метаболическую и иммунокорригирующую. Использование этих параметров в стандарте обследования новорожденных может повлиять на снижение риска неблагоприятного течения инфекционно-воспалительных заболеваний в периоде ранней неонатальной адаптации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакуридзе Э.М. Клинико-лабораторное обоснование применения метода фотомодификации крови у больных с хроническим сальпингоофоритом: Дис. ... канд. мед. наук. М 1997; 107.
2. Башмакова М.А., Кошелева Н.Г., Калашикова Е.П. Инфекция и бактериальная колонизация урогениталий у беременных, влияние на течение беременности, плод и новорожденного ребенка. Акуш и гин 1995; 1: 15—18.
3. Бурлев В.А. Свободнорадикальное окисление в системе мать—плацента—плод при акушерской патологии: Дис. ... д-ра мед. наук. М 1991.
4. Бурлев В.А., Гуртовой Б.Л., Коноводова Е.Н. Биохимические маркеры эндоинтоксикации у родильниц с эндометритом после кесарева сечения. Вестник Росс асс акуш-гин 1996; 4: 82—85.
5. Гуртовой Б.Л., Анкирская А.С., Ванько Л.В., Бубнова Н.И. Внутриутробные бактериальные и вирусные инфекции плода и новорожденного. Акуш и гин 1994; 4: 20—26.
6. Волчегорский В.А., Велминин Б.М., Скобелева Н.А. и др. Вопросы мед химии 1991; 37: 2: 28—32.
7. Дурова А.А., Симакова М.Г., Смирнова В.С. Этиология и патогенез внутриутробной инфекции. Акуш и гин 1995; 6: 9—12.
8. Дэвис П.А., Гомефорс П.Р. Бактериальные инфекции плода и новорожденного. М 1987; 493.
9. Кудашов Н.И., Помелова В.Г., Зубков В.В. и др. Клинико-иммунологические критерии диагностики герпесвирусной инфекции новорожденных. Росс вестн перинатол и педиат 1998; 5: 12—18.
10. Ковалевский А.Н., Нифантеев О.Е. Лаб дело 1989; 10: 35—39.
11. Коноводова Е.Н. Продукты деструкции тканей при послеродовом эндометрите: Дис. ... канд. мед. наук. М 1996; 180.
12. Кулаков В.И., Вихляева Е.М. Инфекционная патология репродуктивной системы женщины. Акуш и гин 1995; 4: 3—6.
13. Бурлев В.А., Гаспаров А.С., Меликян А.Г. и др. Шкала оценки травматичности хирургических вмешательств. Пробл репрод 2003; 2: 30—32.
14. Hoskins I.A., Schatz F., Zandieh P. et al. Amniotic fluid granulocyte colony stimulating factor levels in chorioamnionitis do not predict neonatal sepsis. Am J Reprod Immunol 1997; 38: 4: 307—308.
15. Chang P.L., Newton E.R. Free radical reactions in medicine. Obstet Gynecol 1992; 80: 1: 117—122.
16. Larsen B., Dovis B., Chorles D. Critical assessment of antibacterial properties of human amniotic fluid. Gynecol Obstet Invest 1984; 18: 2: 100—104.



— А теперь, больной, согните колено.
— А в какую сторону, доктор?

Возможности эхогистеросальпингоскопии в диагностике трубно-маточного и перитонеального факторов бесплодия.

Часть I. Описание метода

И.А. ОЗЕРСКАЯ, М.А. БЕЛОУСОВ, И.Г. БЫСТРОВА

Диагностический центр №4 Западного административного округа Москвы, E-mail: io@dc4.diatom.ru

В течение последних трех десятилетий проблема репродукции человека находится в центре внимания ученых и практических врачей всего мира. Бесплодие — тяжелая патология, отрицательно влияющая на многие социальные факторы, среди которых разводы, снижение производительности труда и в связи с этим значительные экономические потери, вызванные лечением бесплодных супружеских пар. К сожалению, это заболевание имеет явную тенденцию к возрастанию. Изучая причины женского бесплодия, специалисты пришли к выводу, что наибольший удельный вес занимает трубное бесплодие. Частота трубного бесплодия, в основе которого лежит механическая преграда на пути слияния сперматозоида с яйцеклеткой, составляет 42,5—80,5% у женщин с первичным и 48,2—73,1% у женщин со вторичным бесплодием [1].

По сводным данным ВОЗ, полная окклюзия маточных труб обнаружена у 14,2% обследованных, причем поствоспалительные изменения труб, не приводящие к полной окклюзии, диагностированы у 9,2% обследованных [2]. Эти цифры свидетельствуют о том, что более чем у 20% пациенток с бесплодием имеются выраженные анатомические изменения маточных труб.

Аборт является одной из частых причин последующих воспалительных заболеваний органов малого таза. Если после одного аборта эти осложнения возникают у 16% женщин, то после 3 абортов и более — у 100% [3]. У $\frac{1}{3}$ женщин, страдающих вторичным бесплодием, искусственным абортom была прервана первая беременность [4].

Последствием генитальных и экстрагенитальных воспалительных процессов в малом тазу является спаечный процесс, приводящий к нарушению сократительной способности маточных труб, что влияет на транспортную функцию, способствующую наступлению трубной беременности. Нарушение топографического соотношения ампулярного отдела трубы и яичника вследствие спаечного процесса также может быть причиной бесплодия.

В связи с этим вопрос диагностики трубно-перитонеального бесплодия является одним из важнейших среди проблем репродукции.

Оценка проходимости маточных труб очень важна, поскольку позволяет правильно строить тактику лечения. Методы диагностики в процессе развития технических средств постоянно совершенствуются. Из инвазивных методов наиболее широкое распространение получила лапароскопическая хромотубоскопия, а для определения патологии полости матки — гистероскопия. Среди неинвазивных методик — гистеросальпингография, применение которой, однако, нежелательно из-за лучевой нагрузки на органы репродуктивной системы и риска аллергических реакций на рентгеноконтраст.

Прошло более 20 лет с момента первых публикаций о возможности определения проходимости маточных труб под ультразвуковым контролем, а среди отечественных исследователей впервые этот метод применил А.М. Папиташвили в 1985 г. [5—7]. В нашей стране метод принято называть «ультразвуковая гистеросальпингоскопия» — эхогистеросальпингоскопия (ЭхоГСС). Термин «эхогистеросальпингоскопия» является более точным, чем «эхогистеросальпингография», так как отражает процесс динамического наблюдения.

За истекшее время проведены многочисленные исследования не только в оценке проходимости маточных труб, но и в диагностике внутриматочной патологии. С внедрением в практику ультразвуковых приборов высокой разрешающей способности, снабженных блоком цветового картирования и доплерографии, а также благодаря разработке эхографических контрастных средств точность диагностики значительно повысилась. Информативность ЭхоГСС представлена в табл. 1. Методом сравнения во всех проведенных работах была лапароскопия с хромотубоскопией, а в одном случае [14] — эмиссионная томография.

По сообщению А.С. Гаспарова и соавт., результаты определения состояния маточных труб

Таблица 1. Диагностическая значимость ЭхоГСС в оценке проходимости маточных труб

Авторы	Точность, %	Чувствительность, %	Специфичность, %
В.С. Артамонов и соавт. [8]	—	97	84
И.А. Озерская [9]	95	94	74
А.А. Рязанцев [10]	89	—	—
A. Darwish, A. Youssef [11]	86	—	—
A. Lev-Toaff и соавт. [12]	92	—	—
С. Купешич и соавт. [13]	91	—	—
F. Prefuma и соавт. [14]	96	—	—
S. Alborzi и соавт. [15]	—	78	93

Таблица 2. Диагностическая значимость ЭхоГС в оценке внутриматочной патологии

Авторы	Точность, %	Чувствительность, %	Специфичность, %
В.С. Артамонов и соавт. [8]	—	87	84
И.А. Озерская [9]	97	97	83
M. Malinova [18]	95	100	94
H. Kamel и соавт. [19]	—	93	94
S. Soares и соавт. [20]	100	100	—
A. Chittacharoen и соавт. [21]	96	98	83
J. Bernard и соавт. [22]	—	86	95
E. Becker и соавт. [23]	—	100	90
L. Mihm и соавт. [24]	—	97	70
S. Nanda и соавт. [25]	—	95	99
M. Kazandi и соавт. [26]	—	97	62
D. Timmerman и соавт. [27]	94	76	95
Т.В. Гришкова [28]	—	100	—

путем лапароскопии имели расхождение с данными метросальпингографии в 35,1% случаев, а с данными ЭхоГСС — в 12,1% [16].

Кроме диагностического результата, вероятно, ЭхоГСС дает и терапевтический эффект, так как процент наступления беременности в первые два цикла после проведения исследования без использования медикаментозных средств составляет около 10% [9, 13, 17]. Это можно объяснить стимуляцией сократительной активности реснитчатого эпителия, мышечного слоя, а также механическим удалением детрита из просвета маточных труб.

ЭхоГСС широко применяется для диагностики внутриматочной патологии у женщин репродуктивного возраста. Информативность эхогистероскопии (ЭхоГС) в диагностике заболеваний, связанных с полостью матки, представлена в табл. 2. Методом сравнения являлась гистероскопия и в большинстве исследований гистологическое исследование, что значительно повышает значимость метода.

Проведенные исследования дают основание считать ЭхоГСС перспективной в оценке проходимости маточных труб и определении внутриматочной патологии.

Преимущества и ограничения метода представлены ниже.

Преимущества:

- отсутствие ионизирующего излучения;
- отсутствие аллергических реакций;
- отсутствие анестезии;
- проведение в амбулаторных условиях;
- быстрота выполнения;
- хорошая переносимость пациенткой;
- демонстрация результата в режиме «реального времени».

Ограничения:

- требует высокой квалификации врача;
- требует наличия трансвагинального датчика;
- трубный спазм может дать ложный результат (имеется в других методиках).

Показания и противопоказания к применению метода

Показания

- бесплодие различного генеза;
- оценка состояния маточных труб после реконструктивных операций на них;
- подозрение на внутриматочную патологию: полип эндометрия, субмукозная миома матки, интерстициальная с центрипетальным ростом миома матки, синехии, синдром Ашермана;
- подозрение на аномалии развития матки: седловидная матка, двурогая матка, матка с рудиментарным рогом, внутриматочная перегородка;
- подозрение на спаечный процесс в малом тазу.

Противопоказания

- воспалительные заболевания органов малого таза;
- острые экстрагенитальные воспалительные заболевания;
- хронические заболевания в стадии обострения;
- показатели III—IV степени чистоты влагалища, кокковая и палочковая флора при отсутствии клинических проявлений воспалительного процесса;
- объемная патология придатков матки (сактосальпинкс, ретенционные кисты яичников больших размеров, опухоли яичников);
- маточное кровотечение и кровомазание;
- возможная беременность;
- галактоземия (при использовании в ходе исследования препарата эховист-200 или левовист).

Материально-техническое обеспечение

Для проведения ЭхоГСС необходимо иметь:

- 1) ультразвуковой прибор, работающий в режиме реального времени, оснащенный конвексным датчиком с частотой 3,5 МГц и трансвагинальным датчиком с частотой 5,0—7,5 МГц. Желательно наличие блока цветового картирования и доплерографии, термопринтера и видеоманитофона;
- 2) гинекологическое кресло с подпорками для ног, регулируемым подголовником и лотком;
- 3) стерильное гинекологическое зеркало, длинный пинцет, зажим и маточный зонд;
- 4) дезинфицирующее средство для обработки шейки матки;
- 5) стерильный катетер для введения контрастного раствора;
- 6) стерильный контрастный раствор температуры 37 °С;
- 7) стерильный шприц, 20—50 мл.

Катетеры

Чтобы обеспечить атравматичность и удобства манипуляций трансвагинальным ультразвуковым датчиком в малом тазу, катетеры должны быть гибкими и длиной не менее 25 см. С целью достижения адекватного растяжения полости матки необходим баллонный катетер, представляющий собой пластиковую трубку диаметром 2 мм с проводником, у которой на расстоянии 5—7 см от конца имеется 1,5—3-миллилитровый латексный баллон для создания obturации цервикального канала. Использование данного вида катетера обеспечивает оптимальную визуализацию полости матки для выявления внутриматочной патологии, а также процесс истечения жидкости из каждой маточной трубы (рис. 1). Отечественная промышленность наладила выпуск этого инструмента, не уступающего по качеству зарубежным аналогам.

Катетер типа *register* (Франция) состоит из колпачка, который надевается на шейку матки, и системы, позволяющей создать отрицательное давление между шейкой и колпачком для предотвращения истечения жидкости. В центре колпачка имеется выдвигающийся катетер, который вводится в полость матки (рис. 2). Недостатком этого типа катетера является затруднение его применения у женщин с деформацией шейки матки, а также при использовании трансвагинального датчика.

Контрастные растворы

Ультразвуковые контрастные вещества делятся на анэхогенные и гиперэхогенные.

К анэхогенным контрастным веществам относятся стерильный раствор фурациллина (1:5000), физиологический раствор, 0,25% раствор новокаина, дистиллированная вода. Акустические свойства всех перечисленных средств идентичные,

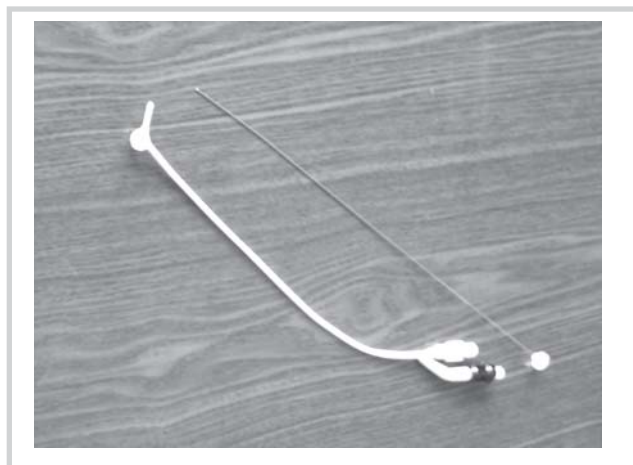


Рис. 1. Баллонный катетер отечественного производства.

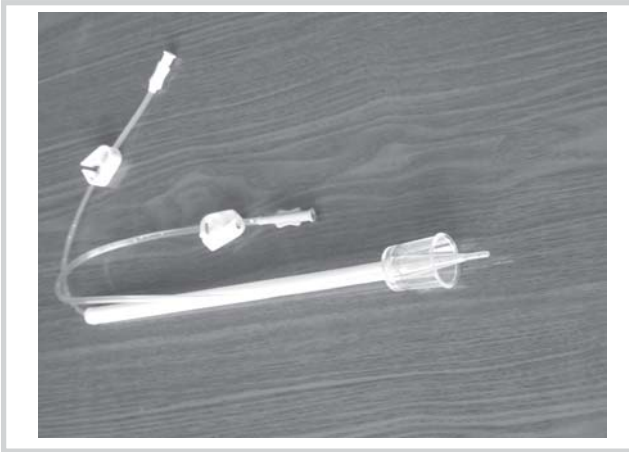


Рис. 2. Катетер типа registrar.

поэтому предпочтительнее использовать раствор фурациллина в связи с его антисептическим действием.

Гиперэхогенные контрастные диагностические средства эховист-200 и левовист разработаны фирмой «Шеринг АГ» для улучшения изображения при проведении ультразвуковых исследований.

Эховист-200 представляет собой суспензию микроионизированной *D*-галактозы в концентрации 20 мг/мл в 20% растворе *D*-галактозы. При суспендировании гранул эховиста (состоящих из микрочастиц *D*-галактозы) в 20% растворе *D*-галактозы воздух адсорбируется на поверхности микрочастиц и высвобождается в виде микропузырьков после введения суспензии в полость матки [29].

Механизм контрастирующего действия эховиста-200 основан на способности акустически активных микропузырьков газа усиливать амплитуду отраженного ультразвукового сигнала. Эти свойства эховиста-200 способствуют повышению контрастности изображения [29].

Будучи веществом природного происхождения, входящим в состав пищевых продуктов (например, молока), *D*-галактоза в используемой дозе не оказывает отрицательного влияния на организм. *D*-галактоза относится к нетоксичным веществам. Она не обладает тератогенным, эмбриотоксическим, мутагенным и канцерогенным свойствами. В организме *D*-галактоза быстро метаболизируется [29].

Гиперэхогенный ультразвуковой контраст левовист, основу которого вместо *D*-галактозы представляет *L*-галактоза с небольшим количеством пальмитиновой кислоты в оболочке гранул, имеет акустические свойства, идентичные таковым эховиста-200.

При галактоземии эти препараты противопоказаны.

Методика проведения исследования

Прежде чем приступить к проведению ЭхоГСС, необходимо стандартное лабораторное исследование мазков из цервикального канала, шейки матки и влагалища на флору и степень чистоты для подтверждения отсутствия воспалительного процесса нижних отделов репродуктивного тракта.

ЭхоГСС выполняется после предварительного ультразвукового исследования органов малого таза, в ходе которого тщательно оценивается структура матки, яичников, определяется их подвижность, а также наличие боли при движениях датчиком. Кроме этого, оценивается позадаточное пространство на наличие свободной жидкости. Если она визуализируется, то измеряется максимальная глубина кармана в сагиттальном срезе с выведением изображения цервикального канала и эндометрия.

Как правило, премедикации не требуется, однако для эмоционально лабильных женщин и пациенток с генитальным инфантилизмом желательна назначение седативных препаратов в терапевтических дозах за 30 мин до начала процедуры.

ЭхоГСС проводится в процедурном кабинете с соблюдением всех правил асептики и антисептики, в позднюю пролиферативную фазу цикла, когда имеются физиологическое расширение цервикального канала и минимальный риск наличия беременности. Это время является оптимальным для диагностики патологии эндометрия, отмечается минимальное действие прогестерона на тонус миометрия, что влияет на уменьшение болевого синдрома.

Исследование проводит врач ультразвуковой диагностики и врач-гинеколог. Если гинеколог имеет подготовку по эхографии, то он может привлечь к работе медицинскую сестру (акушерку) или другого ассистента.

Во влагалище вводятся ложкообразное зеркало и подъемник или зеркало Куско и визуально исследуется шейка матки и влагалище. Производятся манипуляции с зеркалом для оптимального обзора и иммобилизации шейки. Если боль или выделения из цервикального канала указывают на инфекцию малого таза, даже, несмотря на хорошие результаты лабораторного исследования мазков, процедуру откладывают до установления диагноза и проведения курса лечения.

Шейка дезинфицируется антисептиком. Следует избегать применения пулевых щипцов для фиксации шейки матки, так как столь болезненная процедура способна вызвать спазм устьев маточных труб и симулировать их непроходимость.

Катетер перед введением можно промыть физиологическим раствором с целью уменьше-

ния экзогенного артефакта, появляющегося при попадании в полость матки воздуха с первой порцией жидкости. Если используется баллонный катетер, то его осторожно вводят в цервикальный канал до тех пор, пока он не минует область внутреннего зева, что определяется врачом по отсутствию сопротивления мышечного тонуса шейки матки; возможно также расположение его в средней части цервикального канала при достаточной длине шейки и отсутствии ее деформации. После этого баллон **медленно** заполняется жидкостью (не воздухом) для фиксации катетера и obturации цервикального канала, что предотвращает обратный ток контрастного раствора. Удостоверившись в правильном расположении баллона, вынимают металлический проводник и осторожно удаляют зеркало, а вагинальный датчик вводят поверх катетера перед шейкой с маткой, расположенной в *anteversio*, или же ниже катетера и сзади от шейки с маткой, расположенной в *retroversio*. Для облегчения введения датчика следует применять стерильный гель.

Если используется скользящий регистр, то колпачок надевается на шейку матки, скользящий катетер, расположенный в центре, осторожными движениями вводят в цервикальный канал до прохождения области внутреннего зева (как правило, до отметки «4»). После этого через неподвижный катетер, отходящий от колпачка, шприцем отсасывают воздух, создавая тем самым, разряженное пространство для фиксации. У пациентки с емким влагалищем возможно удаление зеркала и введение вагинального датчика, однако это удается редко и приходится использовать трансабдоминальное сканирование.

Шприц присоединяется к катетеру, и раствор медленно вводится в полость матки (рис. 3).

Вводимая жидкость должна быть температуры 37 °С, а первая порция подается очень мед-

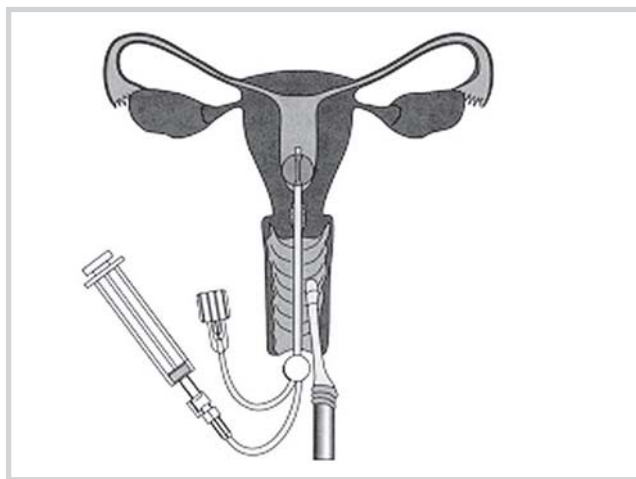


Рис. 3. Схема проведения ЭхоГСС.

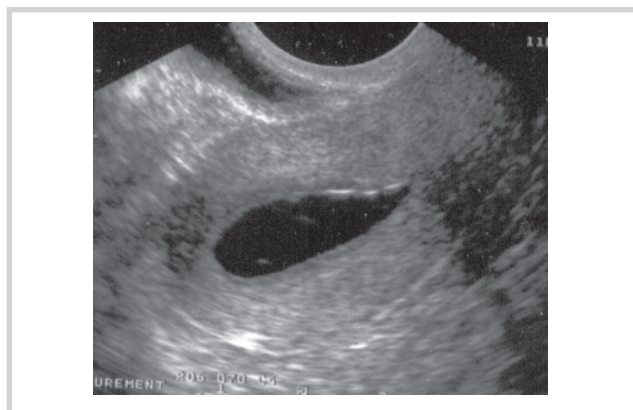


Рис. 4. Анэхогенный контраст в полости матки, определяется равномерно утолщенный эндометрий. ТВ (трансвагинальное) сканирование.

ленно во избежание раздражающего влияния на слизистую и рефлекторного спазма устьев маточных труб. При инстиляции раствора в полость матки происходит разведение ее стенок. Одновременно в процессе инфузии сканируют матку веерообразно от угла до угла в продольном сечении. При этом четко определяется ровная граница между слизистой и анэхогенным контрастом, заполняющим полость, форма которой овоидная, со значительным преобладанием размера, совпадающего с осью длины, и определяется каждый листок слизистой одинаковой толщины (рис. 4). Затем датчик поворачивают на 90°, визуализируют матку во фронтальном сечении от наружного зева до дна и определяют каждый маточный угол, где располагаются устья труб. В этой плоскости полость матки имеет форму, приближающуюся к равнобедренному треугольнику.

При использовании гиперэхогенных контрастов отмечается достаточно хорошая визуализация передней стенки полости матки (по отношению к датчику). Однако имеющиеся внутриматочные образования, особенно малых размеров, исходящие из задней стенки, не всегда доступны для исследования. Так, для выявления субмукозной миомы или полипа эндометрия больших размеров, синдрома Ашермана или аномалий развития матки акустические свойства контрастной жидкости на результат проведенного исследования не влияют. В тех случаях, когда имеется полип или субмукозная миома малых размеров, особенно расположенные на дальней (по отношению к датчику) стенке, их можно не диагностировать в связи с наличием акустической тени, создаваемой пузырьками газа, являющимися основой гиперэхогенных средств (рис. 5). Визуализация тонких синехий на фоне гиперэхогенного контраста невозможна. Для выявления внутриматочной патологии обычно бывает достаточно 5—



Рис. 5. Акустическая тень задней стенки матки, создаваемая гиперэхогенным контрастом, не позволяющая оценить заднюю стенку полости матки. ТВ сканирование.

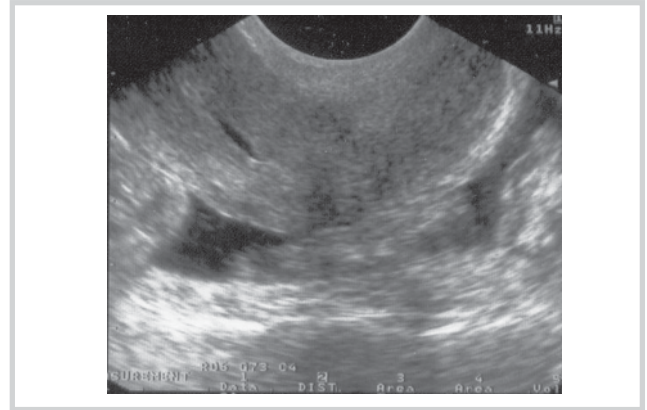


Рис. 8. Анэхогенный контраст в позадматочном пространстве. ТВ сканирование.



Рис. 6. Гиперэхогенный контраст в интерстициальном отделе левой маточной трубы. ТВ сканирование.



Рис. 9. Анэхогенный контраст в позадматочном пространстве. ТА (трансабдоминальное) сканирование.

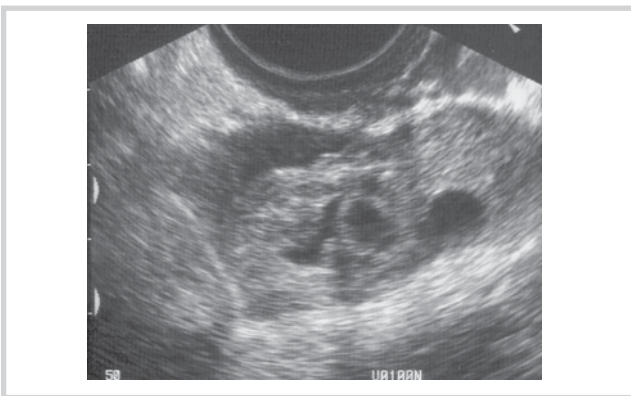


Рис. 7. Анэхогенный контраст в параовариальной области. ТВ сканирование.

10 мл жидкости, и предпочтение должно быть отдано анэхогенному контрасту [9].

Продолжая введение раствора, проводят полипозиционное сканирование в проекции интерстициальных отделов маточных труб. Учитывая, что диаметр просвета этого участка не превышает 1 мм, в редких случаях удается его визуализировать при серо-шкальной эхографии. Зафиксировать ток жидкости помогает применение цве-

тового картирования, а при спектральной доплерографии определяется кривая, совпадающая по времени с введением контраста. Также сложно визуализировать ток анэхогенной жидкости в просвете истмического и ампулярного отделов, так как невозможно провести ось сканирования вдоль всей трубы в связи с ее пространственными изгибами. Использование гиперэхогенных контрастов позволяет хорошо визуализировать интерстициальный отдел маточных труб (рис. 6).

Для констатации излития контраста из маточных труб исследуют параовариальную область с каждой стороны, где в норме располагается воронка. Поступление жидкости в перитональную полость определяется по турбулентному потоку, который также можно выявить с помощью цветового картирования. На фоне поступающего анэхогенного раствора четко визуализируется яичник, в последующем эта жидкость скапливается в позадматочном пространстве, что позволяет диагностировать двустороннюю анатомическую проходимость маточных труб (рис. 7—9). Эховист-200 также хорошо определяется как при трансвагинальном, так и при трансабдоминальном ис-



Рис. 10. Гиперэхогенный контраст в параовариальной области. ТВ сканирование.



Рис. 11. Гиперэхогенный контраст в обеих параовариальных областях. ТА сканирование.

следовании по появлению гиперэхогенных зон в типичных областях (рис. 10, 11). Проподимость маточных труб можно определить, наблюдая за накоплением жидкости в параовариальных областях и позадиматочном пространстве спустя 3—5 мин после начала инстилляции [9, 13]. При использовании цветового картирования в углублениях малого таза отмечается турбулентный ток жидкости, совпадающий по времени с введением контраста. Для достоверной регистрации двусторонней проходимости необходимо введение 15—30 мл раствора [9]. На конечный результат исследования при проходимых трубах не влияют акустические качества применяемых контрастных средств. В тех случаях, когда в малом тазу перед началом инстилляции имеется перитонеальная жидкость, наличие которой является вариантом нормы для периовуляторного периода, то предпочтительнее использование гиперэхогенного контраста, который лучше определяется на фоне анэхогенного перитонеального трансудата.

Проведение ЭхоГСС с применением гиперэхогенных контрастов позволяет фрагментарно визуализировать все отделы маточных труб в отличие от ЭхоГСС с использованием анэхогенных контрастов, когда определять просвет проходимых маточных труб практически невозможно.

Таким образом, метод «двойного контрастирования» позволяет оценить состояние полости матки с использованием анэхогенных контрастов, а проходимости маточных труб — с гиперэхогенными.

Следует начинать исследование с анэхогенного контраста для выявления внутриматочной патологии. После этого дополнительно вводят 15 мл эховиста-200 или левовиста, приготовленного непосредственно перед инстилляцией, так как процесс разведения препарата вызывает растворение микропузырьков, лежащих в основе гиперэхогенного акустического эффекта. Малый просвет иглы и избыточное давление на поршень шприца также приводят к растворению пузырьков, что превращает контраст в анэхогенный. Как правило, галактоза не вызывает аллергических реакций, однако гиперэхогенные контрасты не следует применять у женщин с галактоземией.

Введение гиперэхогенного контраста позволяет оценить интерстициальный отдел маточных труб. После фрагментарной визуализации внутритубарного потока (с применением доплерографии или без нее) констатируют поступление гиперэхогенного контраста в полость малого таза. Если не нарушено топографическое взаимоотношение ампулярного отдела и яичника, то в «реальном режиме» определяется поступление контраста на его поверхность.

Сочетание контрастных растворов позволяет максимально использовать достоинства каждого вида контраста и экономно расходовать дорогостоящий препарат эховист-200 или левовист, время действия которых после приготовления раствора, годного к применению, исчисляется минутами.

Следует отметить, что ЭхоГСС практически безболезненна, особенно у пациенток с проходимыми трубами, однако 20—37% женщин предъявляют жалобы на болезненные ощущения, среди которых сильные боли отмечаются у 2—4% [9, 30, 31]. Как правило, это связано с частичной или полной окклюзией маточных труб, аномалиями развития матки, половым инфантилизмом, внутритубарными и перитонеальными спайками, а также с индивидуальными особенностями женщины.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Пишеничникова Т.Я.* Бесплодие в браке. М: Медицина 1991; 200—206.
2. *Rowe R.J.* Infertility in the family. Fertility regulation today and tomorrow. Eds. by E. Diczfalusy and M. Bygdeman. New York 1987; 275—290.
3. *Фролова О.Г., Волгина В.Ф., Жирова И.А. и др.* Аборт (медико-социальные и клинические аспекты). М: Триада-Х 2003; 5—10.
4. *Бодрова В.И., Гольдберг Х.Г.* Здоровье российских женщин: репродуктивные аспекты. ВЦИОМ. Экономические и социальные перемены: мониторинг общественного мнения. М 1997; 3: 47—50.
5. *Nannini R., Chelo E., Branconi F. et al.* Dynamic echogysterography: a new diagnostic technique in the study of female infertility. Acta Eur Fert 1981; 12: 165—171.
6. *Richman T.S., Viscomi G.N., de Cherney A. et al.* Fallopian tubal patency assessed by ultrasound following fluid injection. Radiology 1981; 157: 507.
7. *Папаташвили А.М., Гугинейшвили М.С., Кахадзе В.Г.* Способ диагностики проходимости маточных труб. Авт. свид. СССР №1156653 от 22.01.85.
8. *Артамонов В.С., Волик Н.К., Сольский С.Я., Чубатый А.И.* Оценка проходимости маточных труб под ультразвуковым контролем. Эхография в перинатологии, гинекологии и педиатрии. В сборник научных трудов Украинской ассоциации врачей ультразвуковой диагностики в перинатологии и гинекологии. Днепропетровск 1999; 89.
9. *Озерская И.А.* Контрастная эхогистеросальпингоскопия в диагностике трубно-маточного фактора бесплодия: Дис. ... канд. мед. наук. М 1999; 77.
10. *Рязанцев А.А.* Эхографическая и лапароскопическая оценка проходимости маточных труб. Съезд Российской ассоциации специалистов ультразвуковой диагностики в медицине, 3-й: Тезисы докладов. М 1999; 19.
11. *Darwish A.M., Youssef A.A.* Screening sonogysterography in infertility. Gynecol Obstet Invest 1999; 5: 43—47.
12. *Lev-Toaff A.S., Pinheiro L.W., Bega G. et al.* Three-dimensional multiplanar sonogysterography: comparison with conventional two-dimensional sonogysterography and X-ray hysterosalpingography. J Ultrasound Med 2001; 20 (4): 295—306.
13. Трансвагинальный цветовой доплер: бесплодие, вспомогательная репродукция, акушерство. Под ред. А. Курьяка, А. Михайлова, С. Купешич. Ст-Петербург: Петрополис 2001; 59—67.
14. *Profuma F., Serafini G., Martinoli C. et al.* The sonographic evaluation of tubal patency with stimulated acoustic emission imaging. Ultrasound Obstet Gynecol 2002; 20 (4): 386—389.
15. *Alborzi S., Dehbashi S., Knodae R.* Sonogysterosalpingographic screening for infertile patients. Int J Gynaecol Obstet 2003; 82(1): 57—62.
16. *Гаспаров А.С., Летучих А.А., Хилькевич Е.Г.* Клиника, диагностика бесплодия у женщин с воспалительными заболеваниями гениталий. <http://gyna.medi.ru/ag12031.htm>.
17. *Желудова И.И., Рязанова В.В.* Определение проходимости маточных труб под ультразвуковым контролем. Ультразвук диагн 1996; 3: 16—17.
18. *Malinova M.* Ultrasonographic hysteroscopy — new approach for the investigation of the uterine cavity in women with postmenopausal bleeding. Akush Ginecol (Sofia) 1999; 38(1): 36—38.
19. *Kamel H.S., Darwish A.M., Mohamed S.A.* Comparison of transvaginal ultrasonography and vaginal sonohysteroscopy in the detection of endometrial polyps. Acta Obstet Gynecol Scand 2000; 79(1): 60—64.
20. *Soares S.R., Barbosa dos Reis M.M., Camargos A.F. et al.* Diagnostic accuracy of sonogysterography, transvaginal sonography, and hysterosalpingography in patients with uterine cavity diseases. Fertil Steril 2000; 73(2): 406—411.
21. *Chittacharoen A., Theppisai U., Linasmita V., Manonai J.* Sonogysterography in the diagnosis of abnormal uterine bleeding. J Obstet Gynaecol Res 2000; 26(4): 277—281.
22. *Bernard J.P., Rizk E., Cammate S. et al.* Saline contrast sonohysteroscopy in the preoperative assessment of benign disorders. Ultrasound Obstet Gynaecol 2001; 17(2): 145—149.
23. *Becker E.J., Lev-Toaff A.S., Kaufman E.P. et al.* The added value of transvaginal sonogysterography over transvaginal sonography alone women with known or suspected leiomyoma. J Ultrasound Med 2002; 21(3): 237—247.
24. *Mihm L.M., Quick V.A., Brumfield J.A. et al.* The accuracy of endometrial biopsy and saline sonogysterography in the determination of the cause of abnormal uterine bleeding. Am J Obstet Gynecol 2002; 186(5): 858—860.
25. *Nanda S., Chadha N., Sen J., Sangwan K.* Transvaginal sonography and saline sonogysterography in the evaluation of abnormal uterine bleeding. Aust NZ J Obstet Gynecol 2002; 42(5): 530—534.
26. *Kazandi M., Aksehirli S., Cirpan T., Akercan F.* Transvaginal sonography combined the uterine cavity in patients with abnormal uterine bleeding and postmenopausal endometrium more than 5 mm. Eur J Gynecol Oncol 2003; 24(2): 185—190.
27. *Timmerman D., Verguts J., Konstantinovic M.L. et al.* The pedicle artery ring based on sonography with color Doppler imaging can replace second-stage tests in women with abnormal vaginal bleeding. Ultrasound Obstet Gynecol 2003; 22(2): 166—171.
28. *Гришкова Т.В.* Первый опыт применения эхогистероскопии для диагностики внутриматочной патологии. Съезд Российской ассоциации специалистов ультразвуковой диагностики в медицине, 4-й: Тезисы докладов. М 2003; 10.
29. Применение Эховиста-200 для оценки проходимости маточных труб. М: Видар 1996; 16.
30. *Tanawattanacharoen S., Suwajanakorn S., Uerpairojit B. et al.* Transvaginal hysterosalpingo-contrast sonography (HyCoSy) compared with chromolaparoscopy. J Obstet Gynaecol Res 2000; 26(1): 71—75.
31. *Bonnamy L., Marret H., Perrotin F. et al.* Sonogysterography a prospective survey of results and complications in 81 patients. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2002; 102(1): 42—47.



— Доктор, я больше не могу выдержать эту диету! Вчера я чуть не откусила у мужа мочку уха!
— Ничего страшного, всего-то восемьдесят калорий!

Памяти Марии Львовны Крымской



16 сентября 2004 г ушла из жизни Мария Львовна Крымская.

М.Л. Крымская родилась в 1916 г. в г. Витебске. В 1939 г. после окончания II Московского медицинского института им. Н.И. Пирогова она прошла большой путь: от врача в НИИ вакцины и сывороток им. Л.А. Тарасевича до руководителя отделения. В годы Великой Отечественной войны юным врачом М.Л. Крымская заведовала хирургическим отделением в эвакуогоспитале (1943—1945). После демобилизации Мария Львовна связала свою судьбу со Всесоюзным научно-исследовательским институтом акушерства и гинекологии Минздрава СССР, где последовательно работала в должности старшего лаборанта в эндокринологической лаборатории, а затем с 1950 г. — младшим и старшим научным сотрудником отделения консервативных методов лечения, а в последующем — отделения гинекологической эндокринологии. В эти годы на нее как клинициста и научного сотрудника большое влияние оказали такие известные педагоги и ученые, как проф. К.М. Жмакин, В.И. Бодяжина, Л.А. Белошапко, В.С. Фриновский, Г.М. Салганник, В.И. Петрова, акад. Л.С. Персианинов. М.Л. Крымская активно участвовала в семинарах и клинических разборах проводимых ведущими отечественными эндокринологами и физиологами, была последовательницей школы проф. Н.А. Шершевского, академиком Н.А. Юдаева, П.К. Анохина, А.М. Вейна. В 1954 г. М.Л. Крымская защитила кандидатскую диссертацию на тему «Функциональная диагностика и гормональная терапия некоторых форм аменореи», а в 1969 г. — докторскую диссертацию «Клиника ановуляторных нарушений менструальной функции».

М.Л. Крымская — крупный отечественный ученый, педагог и клиницист. Являясь одним из основоположников школы отечественной гинекологической эндокринологии, М.Л. Крымская впервые в 1958 г. организовала семинар по гинекологической эндокринологии, который традиционно ежегодно продолжает проводиться в Научном центре АГиП РАМН. В 1968 г. отделением гинекологической эндокринологии стала руководить проф. Крымская Мария Львовна — ученица и последовательница школы проф. Е.И. Кватера.

М.Л. Крымская являлась представительницей славной плеяды отечественных гинекологов, внесших большой вклад в развитие гинекологической эндокринологии. Научные интересы М.Л. Крымской касались основных проблем нарушений в различных звеньях репродуктивной системы. Ею внесён значительный вклад в разработку проблемы диагностики и лечения

больных, страдающих поликистозом яичников, и в развитие учения о различных клинических вариантах данной патологии.

Многие годы совместно со своими учениками М.Л. Крымская изучала причины развития дисфункциональных маточных кровотечений, гиперпластических процессов эндо- и

миометрия, внесла значительный научный вклад в разработку тактики ведения пациенток с различными формами эндокринного бесплодия.

В последнее десятилетие своей творческой деятельности М.Л. Крымская сфокусировала сферу своих научных интересов на изучении проблемы старения женского организма и формирования патологических состояний в различных органах и системах в период климактерия. Логическим завершением многочисленных научных исследований и многолетнего опыта явилось издание в 1989 г. монографии «Климактерический период». Отделение активно сотрудничало с кафедрой акушерства и гинекологии I ММИ им. Н.И. Пирогова, руководимой талантливым ученым, проф. К.Н. Жмакиным. На клинической базе отделения сотрудниками кафедры (ныне ведущие специалисты — акад. В.Н. Серов, член-кор. РАМН И.А. Мануилова, проф. М.Н. Кузнецова и Т.Я. Пшеничникова) были защищены докторские диссертации, послужившие основой для написания ими дважды переиздававшегося «Руководства по гинекологической эндокринологии» (под ред. К.Н. Жмакина). Под руководством М.Л. Крымской сотрудниками отделения Е.М. Говорухиной (1985), В.П. Сметник (1980) и А.Г. Хомасуридзе (1979) защищены докторские диссертации.

В течение многих лет она была членом правления Московского общества эндокринологов. М.Л. Крымская награждена медалью «За боевые заслуги» и орденом «Великой Отечественной Войны II степени». Активная участница многочисленных международных, российских конгрессов и съездов М.Л. Крымская передавала свой опыт гинекологам нашей страны. Под руководством М.Л. Крымской было выполнено и успешно защищено 9 докторских и более 20 кандидатских диссертаций. Её перу принадлежат 120 научных трудов, опубликованных в отечественных и зарубежных журналах.

Мы потеряли человека большой души, высокой культуры, профессионала, пользующегося уважением людей, знавших ее в жизни и по работе.

Коллектив Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН

Перевод Н. Баркалиной

РОЛЬ АНТИОКСИДАНТОВ В ЛЕЧЕНИИ МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

A. Agarwal и соавт., США

Спермальный оксидативный стресс в мужском репродуктивном тракте приводит к пероксидному повреждению плазматической мембраны и потере целостности ДНК сперматозоидов. В норме существует баланс между содержанием токсичных форм кислорода и антиоксидантными системами. Одной из стратегий преодоления оксидативного стресса является повышение антиоксидантной емкости семенной плазмы. Представлен анализ исследований по оценке эффективности применения антиоксидантов в лечении мужского бесплодия. Не во всех исследованиях был продемонстрирован благоприятный эффект, не оценивали специфические группы бесплодных пациентов, частоту наступления беременности. Необходимо проведение мультицентровых двойных слепых исследований со статистически приемлемыми размерами выборок.

ВЛИЯНИЕ ПОДДЕРЖКИ РЕКОМБИНАНТНЫМ ЛГ У ЖЕНЩИН С ДЕСЕНСИТИЗАЦИЕЙ ГИПОФИЗА α -ГНГ И СТИМУЛЯЦИЕЙ ОВУЛЯЦИИ рФСГ В ЦИКЛАХ ВРТ

P. Humaidan и соавт., Дания

В проспективном рандомизированном исследовании 231 цикла контролируемой стимуляции овуляции оценивали влияние рЛГ на ответ яичников и частоту наступления беременности. Индукцию овуляции проводили рФСГ или рФСГ+рЛГ в соотношении 2:1. Дополнительное введение ЛГ начинали на 8-й день цикла. В 1-й, 8-й дни и в день аспирации фолликулов исследовали кровь на содержание E_2 , ЛГ и андростендиона в плазме. У пациенток старше 35 лет на фоне ЛГ значительно увеличилась частота имплантации и снизилось общее потребление ФСГ. Частота имплантации в подгруппе пациенток с наиболее высокой эндогенной концентрацией ЛГ ($>1,99$ МЕ/л) на 8-й день значительно увеличивалась на фоне экзогенного ЛГ. Таким образом, поддержка экзогенным ЛГ с 8-го дня не оказывает негативного влияния на ответ яичников и наступление беременности.

СПКЯ: ВОПРОСЫ ДИАГНОСТИКИ

R. Azziz и соавт., США

Первоначально в качестве диагностических критериев СПКЯ (1990 г.) рассматривали клиническую и/или биохимическую гиперандрогению и хроническую ановуляцию при отсутствии сопутствующих заболеваний. Наличие поликистозных яичников изначально не учитывали, хотя и отмечали, что у боль-

шинства женщин с СПКЯ при УЗИ выявлялись поликистозные яичники, и именно у этого контингента больных чаще наблюдалось повышение уровня андрогенов и инсулинорезистентность. В 2003 г. в Роттердаме было сформулировано новое определение СПКЯ, включающее хроническую ановуляцию, клиническую и биохимическую гиперандрогению или наличие поликистозных яичников. Таким образом, для систематизации научных данных по проблеме СПКЯ необходимо введение единого определения этого синдрома.

ОЦЕНКА ТОЛЕРАНТНОСТИ К ГЛЮКОЗЕ И ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У ПАЦИЕНТОК С СПКЯ

B. Yildiz и соавт., Турция

СПКЯ связан с высоким риском развития толерантности к глюкозе и возникновения сахарного диабета II типа, в связи с чем целесообразно обследование данного контингента больных на толерантность к глюкозе. Наиболее информативно проведение 2-часового теста с приемом глюкозы перорально. Инсулинорезистентность встречается не у всех пациенток с СПКЯ. В клинической практике отсутствуют единое определение этого состояния и общепринятый метод диагностики. «Золотым стандартом» для оценки инсулинорезистентности считается гипергликемическая инсулиновая нагрузка. Выбор альтернативного метода зависит от целей, размера и типа исследования. Для правильной интерпретации результатов динамических функциональных тестов необходимо принимать во внимание колебания, вызванные физиологическими особенностями и типами тестов.

ОРГАНИЗАЦИЯ ВЕРЕТЕНА ДЕЛЕНИЯ В ООЦИТАХ МЫШИ, ЧЕЛОВЕКА И ОВЦЫ ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ

J. Stachecki и соавт., США

Одной из главных проблем криоконсервации является нарушение целостности хромосом и веретена деления на стадии метафазы II, поскольку микротрубочки веретена деполимеризуются при нефизиологических температурах. Отсутствует единое мнение о возможности самопроизвольного восстановления веретена деления. За последние годы разработаны протоколы криоконсервации, которые позволили ооцитам отдельных особей сохранять жизнеспособность в 85% случаев. Ооциты овцы, мыши и человека способны в этих условиях после первой криоконсервации восстанавливать веретено деления и нормальную организацию хромосом в виде метафазной пластинки. Во вторых полярных тельцах выявляется нормальный хромосомный статус. Деполимеризация веретена деления обра-

тима и не является ключевой проблемой при криоконсервации ооцитов на стадии метафазы II.

ВЛИЯНИЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО ИНКУБИРОВАНИЯ ООЦИТОВ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОПОЛОДОТВОРЕНИЯ, КАЧЕСТВО ЭМБРИОНОВ И ЧАСТОТУ НАСТУПЛЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ ИКСИ

A. Isiklar и соавт., Турция

Проведен ретроспективный анализ циклов ЭКО+ИКСИ у 1260 пациенток без предыдущих попыток ЭКО для оценки влияния предварительного инкубирования ооцитов на исходы лечения. У пациенток 1-й группы ($n=670$) ИКСИ осуществляли сразу после взятия ооцитов, в то время как у пациенток 2-й группы ($n=590$) ооциты инкубировали в течение 2–4 ч. Средний возраст пациенток в группах не различался ($33,9 \pm 5,04$ и $34,1 \pm 5,06$ года соответственно). Число ооцитов с первым полярным тельцем, частота оплодотворения, характер дробления и качество эмбрионов были существенно выше во 2-й группе. Число перенесенных эмбрионов, частота имплантации и клинической беременности в группах не различались. Предварительное инкубирование ооцитов до проведения ИКСИ позволяет добиться лучшего созревания ооцитов и их оплодотворения, а также повысить качество эмбрионов.

ВОЗМОЖНОСТИ ДАЛЬНЕЙШЕГО РАЗВИТИЯ РАЗЛИЧНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ТИПОВ ЭМБРИОНОВ ЧЕЛОВЕКА НА СТАДИИ МОРУЛЫ И БЛАСТОЦИСТЫ НА 5-Е СУТКИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

V. Kovačič и соавт., Словения

В циклах ВРТ для переноса отбирают бластоцисты с овальной внутренней клеточной массой (ВКМ) и связанной трофэктодермой (ТЭ). В циклах с низким качеством эмбрионов отбор бластоцист затруднен, поскольку отсутствует система оценки их качества. Проводили разделение 1396 эмбрионов на стадии морулы и бластоцисты на 8 категорий. Категорию В1 составили бластоцисты с оптимальными параметрами. Принадлежность к иным категориям определяли по степени отклонений от нормы: присутствие фрагментов цитоплазмы и некроз ТЭ (В2), нерасширение бластоцели (В3), некомпактизованная или малая ВКМ (В4), фрагментация ВКМ или ТЭ (В5), исключение до 20% бластомеров (В6), некроз ВКМ и ТЭ (В7), исключение более 20% клеток из бластоцисты (В8). Частота рождения живых детей оценивалась из числа перенесенных бластоцист (88,9%) и составила 45,2, 32,8, 26,9, 23, 17,7, 16,7, 7,7 и 1,2% соответственно. Подобная система градации качества может быть эффективна для отбора наилучших эмбрионов на 5-е сутки культивирования.

МОРФОЛОГИЯ ПРОНУКЛЕУСОВ В ОЦЕНКЕ РАЗВИТИЯ ЭМБРИОНА И ХРОМОСОМНОГО СТАТУСА

V. Balaban и соавт., Турция

Оценивали связь между морфологией пронуклеусов, развитием эмбриона и хромосомным ста-

тусом у 68 супружеских пар. В период между оплодотворением и переносом 240 эмбрионов в полость матки оценивали характер дробления, качество эмбрионов и хромосомную структуру. Эмбрионы, развивавшиеся из зигот с нормальными пронуклеусами, обладали большей скоростью дробления и лучшей морфологией. Частота анеуплоидий у эмбрионов из зигот с нормальными пронуклеусами (1-я группа) составила 25,6%, с нарушениями в одном (2-я группа) или обоих пронуклеусах (3-я группа) — 73 и 83% соответственно. Стадии бластоцисты достигали 90% эмбрионов 1-й группы, 61% эмбрионов 2-й группы и 40% эмбрионов 3-й группы. Морфология пронуклеуса позволяет предсказать риск остановки развития эмбриона и возникновения хромосомных нарушений.

ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОМОСОМНОГО ДИСБАЛАНСА ЭМБРИОНОВ ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СРАВНИТЕЛЬНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ ГЕНОМА

J. Trussler и соавт., Великобритания

Исследование хромосомного набора эмбрионов человека на стадии дробления методом *FISH* указывает на высокую частоту хромосомных нарушений. Для оценки дисбаланса генов в бластомерах 40 эмбрионов человека использовали методы амплификации целого генома и сравнительной гибридизации генома. В 17 (42,5%) случаях выявлен нормальный кариотип, в 23 (57,5%) отмечены нарушения хромосомного состава в одной или более клетке, включая 3 (7,5%) с хаотичным хромосомным составом. Результаты коррелировали с данными, полученными при использовании метода *FISH* в 22 случаях, где оба теста были информативными. Частота мейотических анеуплоидий оказалась ниже ожидаемой. Хромосомные аномалии чаще являются результатом нарушений условий культивирования или неадекватной продолжительности клеточного цикла.

IN VIVO КОНЦЕНТРАЦИЯ ИНГИБИНОВ, АКТИВИНА А И ФоллиСТАТИНА НА РАННИХ СТАДИЯХ БЕРЕМЕННОСТИ У ЧЕЛОВЕКА

S. Muttukrishna и соавт., Великобритания

Оценивали присутствие ингибинов, активина А и фоллистатинов в жидкостях плода, плазме крови матери, плаценте и децидуальной оболочке. Взятие амниотической и целомической жидкости, плазмы крови матери, ворсин плаценты и децидуальной ткани проводили на 8–12-й неделе беременности. На 14–16-й неделе брали кровь плода путем кардиоцентеза и повторно — плазму крови матери. Во II триместре беременности ингибины и фоллистатин определялись в крови плода. Концентрация ингибина А и фоллистатина в плазме крови матери была существенно выше, концентрация ингибина В и про- α С у плода, напротив, превосходила материнскую. Концентрация ингибина В была выше на фоне преобладания тестостерона у эмбрионов мужского пола, что может свидетельствовать о роли этого вещества в формировании мужских гонад у плода.

ЧАСТОТА РОЖДЕНИЯ ЖИВЫХ ДЕТЕЙ У БЕСПЛОДНЫХ ЖЕНЩИН С СИНДРОМОМ АШЕРМАНА ПОСЛЕ ГИСТЕРОСКОПИЧЕСКОГО АДГЕЗИОЛИЗИСА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГИСТЕРОРЕЗЕКТОСКОПА ИЛИ СИСТЕМЫ VERSAPOINT

K. Zikopoulos и соавт., Бельгия

Проведен ретроспективный анализ результатов разделения внутриматочных синехий у 46 пациенток с бесплодием с I ($n=6$), II ($n=25$) и III ($n=15$) стадий синехий при использовании резектоскопа ($n=21$) или системы Versapoint ($n=26$). У 13 (92,9%) из 14 жен-

щин с нарушениями цикла по типу олиго- или аменореи после операции менструальный цикл нормализовался. Средняя частота рождения живых детей составила 33,3, 44,4 и 46,7% для групп пациенток с I, II и III стадией соответственно. Накопленная частота рождения живых детей у пациенток без сопутствующих факторов бесплодия при наступлении беременности в спонтанных циклах по группам (Versapoint/резектоскоп) не различалась. Разделение внутриматочных синехий при гистероскопии позволяет добиться рождения живых детей у бесплодных супружеских пар.

* * *

REPRODUCTIVE BIOMEDICINE ON-LINE 2004; 7

Перевод Н. Баркалиной

17 α -ГИДРОКСИПРОГЕСТЕРОН КАПРОАТ И ВАГИНАЛЬНЫЙ ПРОГЕСТЕРОН В ЦИКЛАХ ЭКО И ПЭ: ПРОСПЕКТИВНОЕ РАНДОМИЗИРОВАННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

V. Unfer и соавт., Италия

Одним из ключевых вопросов, связанных с проблемой ЭКО и ПЭ, является поддержание адекватной концентрации прогестерона. В проспективном рандомизированном исследовании с участием 320 пациенток в возрасте до 40 лет, проходивших лечение в циклах ВРТ, сравнивали эффективность поддержки лютеиновой фазы 17 α -гидроксипрогестерон капроатом внутримышечно (341 мг каждые 3 дня) и прогестероном в форме вагинального геля (90 мг ежедневно). Оценивали частоту имплантации, биохимической и клинической беременности, самопроизвольных выкидышей. Установлено, что 17 α -гидроксипрогестерон капроат более предпочтителен для поддержки лютеиновой фазы по сравнению с прогестероном вагинально.

ДЕФЕКТЫ ЛЮТЕИНОВОЙ ФАЗЫ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ АГОНИСТОВ В КАЧЕСТВЕ ТРИГГЕРА ОВУЛЯЦИИ: ОСОБЕННОСТИ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ОТВЕТА

J. Empereire и соавт., Франция

Оценивали характер лютеиновой фазы (ЛФ) у пациенток с одной безуспешной попыткой ЭКО при введении трипторелина 0,1 мг в качестве триггера овуляции. 1-ю группу составили пациентки с нормальной ЛФ, получавшие 0,1 мг трипторелина в последующем цикле ЭКО, остальные группы — пациентки с нарушениями ЛФ. Во 2-й группе назначали трипторелин 0,1 мг, в 3-й — трипторелин 0,5 мг однократно, в 4-й — трипторелин 0,1 мг трижды. В 5-й группе применяли поддержку оральным микронизированным прогестероном, в 6-й группе — чХГ 1500 МЕ. Харак-

тер ЛФ у всех пациенток в последующем цикле ЭКО определялся его первоначальной картиной. Увеличение дозы трипторелина не привело к нормализации ЛФ, которая наблюдалась только в группах с медикаментозной поддержкой. Дефекты ЛФ определяются особенностями преовуляторных концентраций гормонов у каждой пациентки.

ВКЛАД ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РАЗВИТИЕ ТОЛЕРАНТНОСТИ К ГЛЮКОЗЕ ПРИ СПКЯ

D. Ehrmann и соавт., США

У пациенток с СПКЯ существует предрасположенность к развитию толерантности к глюкозе и сахарного диабета II типа. Определенный вклад в формирование инсулинорезистентности, неспособности клеток β -островков поджелудочной железы адекватно компенсировать резистентность к инсулину, репродуктивных и метаболических нарушений вносят генетические факторы, вследствие чего СПКЯ можно рассматривать как сложное полигенное заболевание.

ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ СПКЯ У ПАЦИЕНТОК С БЕСПЛОДИЕМ

V. Gomel и соавт., Канада

Лапароскопический «дриллинг» яичников — простая хирургическая манипуляция, производимая минимальным доступом обычно в амбулаторных условиях, являющаяся альтернативой лечению пациенток с СПКЯ, которым традиционно назначают кломифенцитрат. Благоприятные эффекты процедуры сопряжены с разрушением андроген-продуцирующей стромы и не связаны с изменением чувствительности к инсулину или липопротеинового профиля. У большинства пациенток с СПКЯ с резистентностью к кломифен-

цитрату (56—94%) после операции восстанавливается овуляция, у половины этих больных отмечается наступление беременности в спонтанных циклах. Частота наступления беременности при введении экзогенных гонадотропинов и лапароскопическом «дриллинге» сопоставима, однако в последнем случае ниже частота многоплодной беременности.

КРИОКОНСЕРВАЦИЯ СПЕРМЫ НА КРИОПЕТЛЯХ: АЛЬТЕРНАТИВА ЗАМОРОЗКИ ОТДЕЛЬНЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ

N. Desai и соавт., США

Методика криоконсервации отдельных сперматозоидов при тяжелых формах олигозооспермии является перспективным методом лечения данного контингента больных. Исследовали возможность использования нейлонной петли для криоконсервации небольших количеств сперматозоидов, сравнивали восстановление жизнеспособности спермы при последующей разморозке при использовании криопетель и без них. Для криоконсервации отбирали 5—10 сперматозоидов, которые при помощи микроскопа и микроманипуляционной техники наносили на криопетли. Сперматозоиды после заморозки на криопетлях легко восстанавливали подвижность и жизнеспособность и после инъекции в ооцит были способны к деконденсации хроматина. Таким образом, использование криопетель является удобной методикой для заморозки небольшого числа сперматозоидов.

ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИЙ ДИСМОРФИЗМ ООЦИТОВ ШИМПАНЗЕ НА СТАДИИ МЕТАФАЗЫ II

K. Suzuki и соавт., Япония

Исследовали организацию цитоплазмы в ооцитах шимпанзе на стадии метафазы II, полученных в циклах контролируемой стимуляции яичников, до их оплодотворения при помощи техники ИКСИ. Выявлена высокая частота аномалий, которые сравнимы с вариантами цитоплазматического дисморфизма ооцитов человека в циклах ЭКО. Отмеченные аномалии являлись ооцит- и особьспецифическими и оказывали негативное влияние на последующее развитие полученного при оплодотворении эмбриона.

ВЛИЯНИЕ ГЛИЦИЛ-L-ГЛУТАМИНА НА РАЗВИТИЕ ПРЕИМПЛАНТАЦИОННЫХ ЭМБРИОНОВ МЫШИ *IN VITRO*

J. Biggers и соавт., США

Сравнивали влияние замены *L*-глутамина — компонента среды для культивирования преимплантационных эмбрионов мыши *in vitro* — на глицил-*L*-глутамин или аланил-*L*-глутамин. В среде с аланил-*L*-глутамином не отмечено значительного изменения частоты образования бластоцисты, наступления или завершения хэтчинга, объема внутренней клеточной массы и трофэктодермы. В среде с глицил-*L*-глутамином не отмечено изменения частоты образования бластоцисты, однако произошла незначительная активация хэтчинга и существенно увеличился объем внутренней клеточной массы и трофэктодермы. При переносе эмбрионов не отмечено выраженных аномалий

развития. Таким образом, глицил-*L*-глутамин более предпочтителен для замены глутамина в составе культуральных сред.

ВЛИЯНИЕ ГЛУТАМИНА В СОСТАВЕ СРЕД ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОЕ РАЗВИТИЕ ЭМБРИОНОВ МЫШЕЙ

J. Biggers и соавт., США

Представлен обзор современных данных литературы о возможном тератогенном влиянии глутамина в составе сред для культивирования на развитие эмбрионов мышей. Сообщается о нескольких случаях экзенцефалии в результате токсического действия аммиака, образующегося при распаде глутамина, в то же время, в других литературных источниках не упоминается о каких-либо побочных эффектах. Предполагают, что противоречивые данные по этому вопросу могут быть следствием генетического своеобразия эмбрионов. Ставится вопрос о правомерности использования экзогенного хлорида аммония для моделирования химических реакций, происходящих при распаде глутамина в клетках эмбриона, для изучения его токсического действия.

ВЛИЯНИЕ ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ НА ИМПЛАНТАЦИЮ И НАСТУПЛЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ ПРЕОБЛАДАНИИ МАКРОЦЕФАЛИЧЕСКИХ СПЕРМАТОЗОИДОВ

S. Kahraman и соавт., Турция

Использование для ИКСИ макроцефалических сперматозоидов с нарушениями в хромосомном наборе снижает частоту оплодотворения и имплантации и ухудшает клинические исходы. Исследовали влияние преимплантационной генетической диагностики (ПГД) на частоту наступления беременности у данного контингента супружеских пар. Из 82 эмбрионов, полученных при использовании макроцефалических сперматозоидов, аномалии были диагностированы в 46,4% случаев. Частота наступления беременности в группе с ПГД при переносе эмбрионов с нормальным кариотипом составила 33,3%, в группе без ПГД — 25% ($p < 0,01$). Частота самопроизвольных выкидышей в группе с ПГД составила 14,3%, в группе без ПГД — 46,7%. Использование ПГД позволяет эффективно отобрать оптимальные для переноса эмбрионы и повысить эффективность циклов ВРТ.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫХ ПИНОПОДИЙ В ЦИКЛАХ ВРТ С ДОНАЦИЕЙ ООЦИТОВ

K. Pantos и соавт., Греция

Изучали клиническое значение выявления пиноподий у 46 женщин с первичным бесплодием, 3 и более неудачными попытками ЭКО в анамнезе и показаниями к использованию донорских ооцитов. Образцы брали на 6-й и 8-й дни после введения прогестерона и исследовали на присутствие пиноподий при помощи сканирующей электронной микроскопии. Для каждой женщины по присутствию сформированных пиноподий определяли день максимальной рецептив-

ности эндометрия. В 73,91% случаев последующий перенос эмбрионов осуществляли с изменением временного интервала после введения прогестерона. В 76,47% случаев в пределах 2 попыток ЭКО диагностирована клиническая беременность, в 67,64% отмечено рождение живых здоровых детей. Определение времени формирования пинородий у женщин с многочисленными безуспешными попытками ЭКО имеет большую клиническую важность.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ ПЯТИЛЕТНИХ ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ ПОСЛЕ ИКСИ

M. Bonduelle и соавт., Бельгия

Оценивали физическое состояние 300 пятилетних детей, рожденных после процедуры ИКСИ, в сравнении с состоянием здоровья детей, рожденных в спонтанных циклах в Бельгии, Швеции и США. Принимали во внимание возраст матери, возраст и пол ребенка. Первоначально оценивали рост, затем общее состояние здоровья, основываясь на данных об общих и хронических заболеваниях, хирургических вмешательствах, результатах общих и неврологических исследований. В ходе исследования не было выявлено значительных различий по группам, за исключением того, что у детей, рожденных после ИКСИ, в анамнезе чаще встречались хирургические вмешательства, физиотерапия и диетотерапия. Таким образом, лечение бес-

плодия методом ИКСИ не оказывает значительного влияния на рост и развитие ребенка в детстве. Общее состояние здоровья детей удовлетворительно.

ПЕРКУТАННАЯ АСПИРАЦИОННАЯ БИОПСИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВНУТРИВЕННОГО КАТЕТЕРА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ТЕСТИКУЛЯРНОЙ СПЕРМЫ У ПАЦИЕНТОВ С ОБСТРУКТИВНОЙ АЗОСПЕРМИЕЙ

I. Fahmy и соавт., Египет

Аспирация тестикулярной иглой является альтернативным открытой биопсии методом диагностики и лечения азооспермии. Сравнивали новую методику получения тестикулярных сперматозоидов аспирационной иглой и обычным венозным катетером (1-я группа, $n=55$) и классический метод аспирации тонкой иглой (2-я группа, $n=31$) у 86 пациентов с обструктивной азооспермией. В 1-й группе успешное получение спермы констатировано у 54 (98,1%) из 55 пациентов, во 2-й группе — у 16 (51,6%) из 31 пациента ($p<0,05$). У всех 54 пациентов 1-й группы был получен необходимый для криоконсервации объем спермы, в то время как во 2-й группе криоконсервация была возможна лишь в 37,5% случаев. Получение сперматозоидов при помощи аспирационной иглы и венозного катетера является простым и эффективным методом, упрощающим получение спермы у пациентов с обструктивной азооспермией.

* * *

REPRODUCTIVE BIOMEDICINE ON-LINE 2004; 8—10

Перевод Н. Баркалиной

НЕОБХОДИМОСТЬ ОБСЛЕДОВАНИЯ ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ В ЦИКЛАХ ВРТ В ЛАТИНСКОЙ АМЕРИКЕ

J. Franco и соавт., Бразилия

Обращается внимание на необходимость обследования детей, рожденных в циклах ВРТ в Латинской Америке, несмотря на тяжелую социально-экономическую обстановку в регионе. Сообщается о предварительных результатах программы обследования, начатой в мае 2002 г. и исследующей интеллектуальные способности этих детей.

СИМПОЗИУМ: КРИОКОНСЕРВАЦИЯ И ВРТ. ВВЕДЕНИЕ

T. Pool и соавт., США

Криоконсервация жизнеспособного биологического материала с использованием методик медленной или быстрой заморозки, такой как витрификация, около полувека была ценным дополнением к исследованиям в области репродукции человека и уже на протяжении 20 лет применяется в циклах ВРТ в клиниках. Перед современными центрами ВРТ ежедневно стоит задача эффективного и экономически выгодного

сохранения значимых с точки зрения репродуктивной медицины клеток, способных в будущем восстанавливать свою жизнеспособность. Целью симпозиума является внедрение в клиническую практику новых взглядов и подходов к криоконсервации гамет человека с целью предоставления квалифицированной медицинской помощи бесплодным супружеским парам.

СИМПОЗИУМ: КРИОКОНСЕРВАЦИЯ И ВРТ. СОВРЕМЕННЫЕ И БУДУЩИЕ КОНЦЕПЦИИ В ХРАНЕНИИ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ СПЕРМЫ ЧЕЛОВЕКА

D. Mortimer и соавт., Канада

Обсуждаются актуальные проблемы криоконсервации спермы человека. Проводится оценка доступных данных литературы по единой системе анализа риска с медицинской и юридической точек зрения. Отдельное внимание уделяется проблеме возможной перекрестной контаминации образцов спермы при хранении в жидком азоте. Несмотря на отсутствие описания в литературе подобных случаев и чрезвычайно малый риск заражения сперматозоидов или эмбрионов, необходимо соблюдение всех мер предосторожности для уменьшения вероятности осложнений подобного рода во время получения криоконсервации, хранения, разморозки и использования сперматозоидов. На основе результатов анализа риска приводится ряд необходимых рекомендаций для работающих в этой области специалистов.

СИМПОЗИУМ: КРИОКОНСЕРВАЦИЯ И ВРТ. КРИОКОНСЕРВАЦИЯ ООЦИТОВ

J. Stachecki и соавт., США

В 1986 г. Chen впервые отмечена беременность после оплодотворения криоконсервированного ооцита человека. На сегодняшний день при использовании этого метода отмечено рождение примерно 100 детей, частота наступления беременности остается крайне низкой. Необходимы разработка механизмов криоконсервации ооцитов, отличных от таковых в отношении эмбрионов, проведение точного анализа всех ступеней протокола. Сообщается об увеличении частоты наступления беременности при использовании сред на основе холина и метода витрификации, которая, однако, является потенциально вредной вследствие повышенных концентраций криопротекторов и резкого процесса охлаждения. Токсичность метода может быть снижена путем использования высокомолекулярных растворов. Исследуется эффективность метода инъекции сложных углеводов в ооцит.

СИМПОЗИУМ: КРИОКОНСЕРВАЦИЯ И ВРТ. КРИОКОНСЕРВАЦИЯ ЭМБРИОНОВ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ВИТРИФИКАЦИИ

M. Kasai и соавт., Япония

При витрификации наблюдается затвердение не только клеток, но и всего раствора без образования льда. Для эмбрионов человека этот простой и быстрый метод дает значительные преимущества, поскольку более редки повреждения кристаллами льда. Однако в растворах для витрификации обязательно содер-

жание высоких концентраций токсичных криопротекторов. Главным компонентом современных растворов является этиленгликоль, дополнительно вводятся макромолекулы и/или малые сахара. Возможна криоконсервация эмбрионов методом последовательной витрификации или ультрарезкой витрификации. В последнем случае используют менее токсичные растворы с меньшей концентрацией криопротекторов, поскольку быстрое охлаждение/нагревание помогает предотвратить образование льда.

СИМПОЗИУМ: КРИОКОНСЕРВАЦИЯ И ВРТ. ВЛИЯНИЕ ПОСЛЕДСТВИЙ КРИОКОНСЕРВАЦИИ НА РАЗВИТИЕ ООЦИТОВ И ЭМБРИОНОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

G. Smith и соавт., США

За последние 30 лет были достигнуты значительные успехи в криоконсервации преимплантационных эмбрионов и ооцитов млекопитающих, и эти методы нашли применение в повседневной клинической практике. Криоконсервация ооцитов человека дает возможность иметь детей женщинам, леченым по поводу злокачественных новообразований, пациенткам старшего репродуктивного возраста. Однако в результате воздействия механических, химических и температурных факторов в процессе замораживания и разморозки возможно повреждение ооцитов и эмбрионов. Представлены данные о строении и функции клеточных структур ооцита и эмбриона для применения полученных знаний с целью коррекции нарушений, возникших в процессе криоконсервации.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ САХАРОВ ПРИ КРИОКОНСЕРВАЦИИ ООЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

D. Wright и соавт., США

За последние 20 лет в циклах с использованием криоконсервированных ооцитов было рождено 40 детей, в настоящее время прогрессирует около 50 беременностей. С внедрением этой методики в клиническую практику все ответственнее стали подходить к выбору техники криоконсервации. Уникальные свойства зрелого ооцита, такие как чувствительное веретено деления и большой объем клетки, негативно сказываются на эффективности циклов ВРТ. Используются два подхода к криоконсервации ооцитов: медленный протокол и витрификация. Исследования организмов в экстремальных условиях при охлаждении и дегидратации показали возможность накопления внутриклеточных сахаров для защиты. Новая методика микроинъекции сахаров в ооцит является альтернативой их добавлению во внешнюю среду.

СРАВНЕНИЕ НЕКРОТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ЯИЧНИКОВОЙ ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОЙ МЕДЛЕННОЙ ЗАМОРОЗКИ ИЛИ ВИТРИФИКАЦИИ И ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЫШАМ SCID-ЛИНИИ ПОСЛЕ ОВАРИЭКТОМИИ

G. Rahimi и соавт., Германия

Сравнивали некроз яичниковой ткани человека после последовательной медленной заморозки и витрификации при использовании ксенотрансплантации.

Образцы криоконсервированной ткани и свежие контрольные образцы 9 пациенток пересаживали мышам SCID-линии подкожно. Через 6 нед образцы извлекали и исследовали области некроза. Не выявлено значительных различий в размере некротических областей между группами после криоконсервации и контрольной группой. Таким образом, метод витрификации может быть альтернативой стандартному протоколу последовательной медленной криоконсервации.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ *CYP1A1*, *GSTM1* И *GSTT1* СВЯЗАН С ВЕРОЯТНОСТЬЮ РАЗВИТИЯ СПКЯ У ЖЕНЩИН ЮЖНОЙ ИНДИИ

K. Arvind Babu и соавт., Индия

Полиморфизм генов цитохрома *P450* может быть причиной повышения содержания токсичных веществ, а генов глутатион-S-трансферазы — приводить к недостаточной эффективности их обезвреживания. Изменения функционирования этих белков могут приводить к формированию фолликулярных кист в яичнике и нарушению гормонального профиля. Методом ПЦР исследовали полиморфизм генов *CYP1A1* (*T6235C*), *GSTM1* и *GSTT1* у 180 пациенток с поликистозными яичниками и у 72 здоровых женщин с успешными исходами беременностей. Выявлено, что присутствие гипериндуцируемого *CYP1A1* (*T6235C*) мутантного гена в комбинации с нулевым генотипом *GSTM1* и *GSTT1* может быть причиной нарушения баланса системы обезвреживания токсичных веществ, внося вклад в развитие СПКЯ.

ФАКТОРЫ РИСКА ДЛЯ НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ГЛЮКОЗЫ У ПАЦИЕНТОК С СПКЯ

J. Wang и соавт., Австралия

Оценивали вклад различных факторов в частоту нарушений метаболизма глюкозы у 67 пациенток с СПКЯ на протяжении 4—7-летнего обследования. Первоначально у всех женщин по результатам тестов отмечен нормальный метаболизм глюкозы. На протяжении периода обследования на фоне увеличения массы тела было выявлено повышение концентрации глюкозы через 2 ч после ее приема. Первоначально высокие значения ИМТ и отношения объем талии/объем бедер тесно коррелировали с повышением концентрации глюкозы. Таким образом, более быстрое развитие толерантности к глюкозе наблюдалось в группах пациенток с избытком массы тела или ожирением. Среднее увеличение массы тела не оказывало влияния на частоту нарушений глюкозного обмена.

ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОЕ *HLA*-ТИПИРОВАНИЕ И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

A. Kuliev и соавт., США

За последние годы отмечен значительный прогресс в использовании трансплантации стволовых

клеток для лечения тяжелых заболеваний костного мозга вследствие недостатка *HLA*-совместимых доноров. Представлены результаты преимплантационного *HLA*-типирования 147 циклов, в 109 из которых метод использовался в дополнение к преимплантационной генетической диагностике анемии Фанкони, талассемии, синдрома Вискотта—Олдрича, синдрома гипериммуноглобулина *M*, гипогидротической эктодермальной дисплазии с иммунодефицитом, X-сцепленной адренолейкодистрофии. В 38 случаях *HLA*-типирование проводили самостоятельно для выявления лейкемий и анемии Даймонда—Блекфэна. Таким образом, были отобраны *HLA*-совместимые эмбрионы, диагностировано 25 клинических беременностей, из которых 14 завершились успешными родами.

ПРЕИМПЛАНТАЦИОННАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА С *HLA*-ТИПИРОВАНИЕМ

S. Rechitsky и соавт., США

Преимплантационная генетическая диагностика (ПГД) в комбинации с *HLA*-типированием позволяет отобрать *HLA*-совместимые эмбрионы и добиться рождения детей, чьи стволовые клетки могут быть использованы для восстановления гемопоэтической популяции клеток у родственников. Представлены результаты 46 циклов ПГД и *HLA*-типирования у 26 супружеских пар при необходимости трансплантации стволовых клеток одному из детей по поводу анемии Фанкони, талассемии, синдрома Вискотта—Олдрича, синдрома гипериммуноглобулина *M*, гипогидротической эктодермальной дисплазии с иммунодефицитом. Отобрано 50 эмбрионов для переноса в 33 цикла, диагностировано 6 клинических беременностей, из которых 5 завершились успешными родами. Использование ПГД для *HLA*-типирования эффективно у этого контингента супружеских пар.

ЭТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ: РАЗМЫШЛЕНИЯ НАД ПОСЛЕДСТВИЯМИ *HLA*-ТИПИРОВАНИЯ ЭМБРИОНОВ

R. Edwards, Великобритания

Развитие преимплантационной генетической диагностики (ПГД), как и других областей ВРТ, влечет за собой возникновение многих этических вопросов. Часть из них схожа с основными проблемами ВРТ, такими, как правомерность проведения исследований на эмбрионах человека. Другие вопросы, относящиеся лишь к ПГД, получили освещение на состоявшейся встрече экспертов (Edwards и соавт., 2003). Представлены последние разработки в этой области и освещены их этические стороны.

ТЕЗИСЫ 20-й ЕЖЕГОДНОЙ ВСТРЕЧИ ESHRE*

Перевод Н. Баркалиной

O-004. Частота имплантации у пациенток в возрасте до 35 лет со сниженным фолликулярным запасом яичника статистически не отличалась от показателей пациенток с нормальным фолликулярным запасом. Более низкая частота наступления беременности в первой группе связана с меньшим числом полученных ооцитов.

O-006. У пациенток с избытком массы тела или ожирением при включении в программы ВРТ не наблюдается тяжелых побочных эффектов. Отмечена более низкая частота наступления беременности. Состояние новорожденных детей удовлетворительное.

O-007. 50% двоен и $\frac{2}{3}$ троен во Франции рождаются после многоплодной беременности в циклах ВРТ. Для снижения частоты многоплодной беременности необходимо сокращать число переносимых эмбрионов.

O-008. Минимальная стимуляция в спонтанных циклах является экономически эффективным методом лечения пациенток с безуспешными попытками ЭКО+ИКСИ и плохим яичниковым ответом. Ожидаемая накопленная частота наступления беременности в 4 спонтанных циклах составила 40%.

O-012. За диаметр лидирующего ооцита целесообразно принимать 14 мм, а не 16 мм. В этом случае отмечается большее количество ооцитов, лучшее качество эмбрионов и более высокая частота наступления беременности. Применение антагонистов ГнРГ предпочтительно начинать не позже 7-го дня стимуляции.

O-015. Лучшие характеристики дробления и более низкая частота фрагментаций отмечается при *in vitro* культивировании эмбрионов и предварительно криоконсервированных зигот в среде с пониженным содержанием кислорода (5% O_2).

O-016. Культивирование эмбрионов на среде с добавлением аутологичной культуры клеток эндометрия позволяет повысить частоту имплантации и наступления беременности за счет благоприятного эффекта образующегося в культуре основного фактора роста фибробластов.

O-019. Достижение ооцитом стадии метафазы II не всегда гарантирует успешность его оплодотворения. Хорошим морфологическим маркером для отбора ооцитов для инсеминации или криоконсервации является размер клетки.

O-020. Концентрации ингибитора активатора плазминогена в фолликулярной жидкости позволяют оце-

нить степень зрелости ооцита и оптимальное время для аспирации фолликулов.

O-021. В программах ВРТ следует уделять пристальное внимание делециям локуса *AZF* Y-хромосомы и их возможным фенотипическим проявлениям у потомства.

O-022. Наличие антитестикулярных аутоиммунных антител связано с резким снижением подвижности сперматозоидов. Идентификация тестикулярных антигенов позволит в ряде случаев понять этиологию мужского бесплодия и подобрать оптимальное лечение.

O-025. Интерлейкин-8 (Ил-8) вырабатывается клетками Лейдига и мужскими гаметамы взрослых и неполовозрелых самцов мыши. Выработка Ил-8 предположительно регулируется гонадотропинами и тестостероном. Тестикулярный Ил-8 может играть роль в обеспечении фертильности у мужчин.

O-026. В яичках неполовозрелых самцов мыши повышена выработка интерлейкина-1 (Ил-1). Введение липополисахарида вызывает активацию синтеза Ил-1 β , играющего иммунологическую роль, в то время как Ил-1 α выступает в качестве физиологического ростового фактора.

O-027. Ангиостатическая терапия направлена на подавление неоваскуляризации. В экспериментах на млекопитающих показана эффективность использования ангиостатиков для снижения вероятности повторного развития эндометриоза после хирургического или медикаментозного лечения.

O-032. У женщин с эндометриозом выявлена экспрессия рецепторов эстрадиола перитонеальными макрофагами. У данного контингента больных отмечается измененный характер антигенной экспрессии. Повышенная выработка провоспалительных цитокинов является следствием действия эстрадиола.

O-036. Частота хромосомных нарушений, выявляемых при ПГД у женщин младшего и старшего репродуктивного возраста, сопоставима. Повторный анализ хромосомного набора эмбрионов на 5-е сутки позволяет достоверно оценить правильность диагноза.

O-037. Полное кариотипирование в циклах ПГД эффективно для оценки анеуплоидий, поскольку позволяет выявить нарушения во 2, 4 и 9 парах хромосом, обычно не включаемых в *FISH*-анализ. Более информативно использование для кариотипирования материала бластомеров, а не полярных телец.

*Начало, продолжение в №6; 2004 г.

О-038. Расхождения данных хромосомного анализа методом *FISH* на 3-й и 6-й день культивирования эмбрионов могут объясняться дефектами проведения первоначального теста, хромосомным мозаицизмом на 3-и сутки, а также возможной способностью эмбрионов самопроизвольно корректировать хромосомные нарушения.

О-051. Частота и риск возникновения неврологических нарушений у детей, рожденных в циклах ЭКО+ИКСИ в период с 1995 по 2000 г., достоверно не отличается от контрольных показателей в популяции.

О-052. При оценке сперматогенной функции у мальчиков, рожденных в циклах ЭКО+ИКСИ при тяжелой олиго- или азооспермии у отца, у потомства не выявлено нарушений в хромосомном наборе, что свидетельствует о возможности нормального сперматогенеза.

О-053. Сравнение исходов беременностей в спонтанных циклах, циклах гормональной стимуляции и программах ВРТ выявило наилучший прогноз при спонтанных беременностях. Лучшие исходы отмечены в циклах гормональной стимуляции по сравнению с программами ВРТ. Соотношение было справедливым при родах одним ребенком и не сохранялось при родах двойней или тройней.

О-054. В циклах ЭКО+ИКСИ по сравнению со спонтанными циклами отмечена большая частота преждевременных родов и перинатальной смертности при родах одним ребенком. При родах двойней исходы беременностей по группам практически не различались, при этом у детей после ИКСИ наблюдалась меньшая заболеваемость.

О-057. Выявлено положительное влияние применения геля с тестостероном в течение 15 дней до введения ФСГ в протоколах с агонистами или антагонистами ГнРГ на число ооцитов на стадии метафазы II у пациенток с плохим ответом яичников. Необходимо подтверждение эффективности метода и подбор оптимальной дозы и продолжительности поддержки тестостероном.

О-058. Не выявлено значительных отличий в качестве зрелых фолликулов при применении мочевых или рекомбинантных гонадотропинов. При подборе лечения следует принимать во внимание безопасность, стоимость, индивидуальную переносимость и доступность препарата.

О-059. Инъекции ВЭФР в яичниковую ткань мышцей приводили к формированию яичниковой сосудистой сети, улучшая развитие фолликулов и препятствуя апоптозу в яичнике.

О-061. Экспрессия эмбрионом *sHLA-G* существенно повышает частоту имплантации. Исследование присутствия *sHLA-G* в среде, окружающей эмбрион при культивировании, и отбор *sHLA-G*-положительных эмбрионов для переноса позволяет значительно по-

высить эффективность циклов ВРТ и снизить вероятность многоплодной беременности.

О-064. Наличие 1–2 мелких гранул в цитоплазме ооцита сопровождается лучшим характером дробления по сравнению с ооцитами с большим количеством или размером гранул. Наличие гранул в ооците не оказывает влияния на качество эмбриона.

О-066. Применение препаратов ФСГ у пациентов с олигоастенозооспермией значительно увеличивает количество сперматозоидов, частоту оплодотворения и клинической беременности в программах ВРТ.

О-067. Использование комбинации карнитина, ацетил-*L*-карнитина и цинноксикама эффективно в лечении пациентов с олигоастенозооспермией. Отмечено улучшение показателей спермы и увеличение частоты оплодотворения.

О-068. Использование ФСГ-ВЧ до проведения процедуры *TESE* эффективно для улучшения показателей полученной спермы у пациентов с необструктивной азооспермией, нормальной концентрацией ФСГ в плазме крови и гистологической картиной гипосперматогенеза без нарушения созревания в яичке.

О-072. Высокие дозы гонадотропинов, индуцирующие овуляцию, оказывают негативное влияние на ультраструктуру митохондрий гранулезных клеток. Кроме того, у пациенток с плохим яичниковым ответом на фоне сильного оксидативного стресса отмечено снижение окислительной емкости фолликулярной жидкости.

О-073. У пациенток с СПКЯ присутствует дисфункция микроциркуляторного русла. Стертая реакция на введение ацетилхолина свидетельствует о снижении синтеза/диффузии оксида азота через базальную мембрану или о пониженной реактивности гладких мышц. Следует учитывать возможность развития у пациенток с СПКЯ сердечно-сосудистых заболеваний.

О-075. В перимплантационном эндометрии пациенток с привычным невынашиванием наблюдается снижение концентрации протеина-1, связывающего инсулиноподобный фактор роста (*IGFBP-1*), что может быть причиной нарушения инвазии трофобласта и прерывания беременности.

О-076. Высокобелковые диеты приводят к увеличению концентрации ионов аммония в женском репродуктивном тракте, что негативно сказывается на перимплантационном развитии эмбриона. Отмечается повышение частоты хромосомных нарушений, замедленное эмбриональное развитие и частое прерывание беременности.

О-078. Выявлена тесная взаимосвязь между полиморфизмом рецепторов ФСГ и характером яичникового ответа. Метод информативен для прогнозирования ответа яичников на стимуляцию и оценки возможного риска развития СГЯ.

О-089. Установлена роль релаксина и его рецепторов в регуляции инвазии трофобласта. Релаксин стимулирует рост толщины эндометрия, обеспечивает поддержку и защиту эмбрионального развития.

О-091. Антимюллеров гормон в женской репродуктивной системе регулирует рост и развитие фолликулов, подавляя развитие примордиальных фолликулов и ингибируя действие ФСГ. Концентрации антимюллерова гормона у женщин коррелируют с размером фолликулярного запаса яичников, снижаясь по мере его истощения.

О-092. В развитии мужской репродуктивной системы тестостерон и антимюллеров гормон дополняют друг друга, в то время как в период полового созревания играют противоположные роли. Тем не менее ингибирующее влияние антимюллерова гормона на клетки Лейдига проявляется лишь при его нефизиологических повышенных концентрациях.

О-097. Подсчет числа антральных фолликулов и исследование базальных концентраций ФСГ информативны лишь в оценке последующего яичникового ответа. Поскольку трансвагинальная ультрасонография является простым и малоинвазивным методом, она предпочтительна для прогнозирования характера ответа яичников на стимуляцию.

О-099. Для индивидуального подбора оптимальной дозы ФСГ для индукции овуляции у женщин с ановуляторным бесплодием целесообразно принимать во внимание характер менструального цикла, средний объем яичников и ИМТ.

О-103. При включении в программы ВРТ ВИЧ-положительных пациенток следует принимать во внимание возможность присутствия ВИЧ в фолликулярной жидкости при заборе ооцитов и некоторых эмбрионах при переносе, что создает потенциальный риск вертикальной передачи вируса.

О-104. Присутствие определенного полиморфного варианта гена, кодирующего строение рецептора ФСГ, коррелирует с тяжестью развившегося СГЯ у пациенток в программах ВРТ, но не с самой вероятностью его развития.

О-106. Применение низкомолекулярных гепаринов у пациенток с риском развития тромбоза при индукции овуляции не связано с возникновением каких-либо побочных эффектов. Предложено применение антитромботической терапии у пациенток в спонтанных циклах с высоким риском тромбоземболических осложнений.

О-107. Предлагается проводить более интенсивную антибиотикотерапию у пациенток с эндометриозом при трансвагинальной пункции фолликулов для снижения вероятности развития воспалительного процесса в малом тазу. Более предпочтительны у этого контингента больных трансабдоминальные методы пункции.

О-108. Ренин-ангиотензиновая система (РАС) играет важную роль в регуляции синтеза васкулярного эндотелиального фактора роста желтым телом и неоваскуляризации. Применение медикаментозных блокаторов РАС (алацеприла и кандесартан цилексетила) в циклах с криоконсервацией эмбрионов позволило существенно снизить частоту СГЯ.

О-109. Отмечена возможность формирования первого и второго веретен деления в ооците с соматическими хромосомами в процессе мейоза. При проведении соматической гаплоидизации сохраняется нормальное функционирование аппарата веретено—хромосомы.

О-110. Выявлена экспрессия мРНК основного фактора роста фибробластов фолликулами человека, начиная с примордиальной стадии, на протяжении эмбрионального периода, так и после рождения. Необходимо оценка роли этого фактора в активации примордиальных фолликулов.

О-111. Образование *zona pellucida* у человека осуществляется ооцитом, а не гранулезными клетками. Присутствие *zona pellucida* 1 и 3 в примордиальных фолликулах позволяет заключить, что ее образование начинается уже в процессе внутриутробного развития.

О-113. Повреждение митохондрий ооцитов не всегда создает неблагоприятные условия для развития ооцитов. Этот феномен чаще наблюдается в ооцитах женщин старшего репродуктивного возраста. При замене поврежденного пула митохондрий восстанавливается процесс нормального развития ооцитов.

О-115. Трехмерная ультрасонография позволяет точно диагностировать патологические процессы в полости матки. Использование соногистерографии, менее аккуратной и инвазивной методики, не столь предпочтительно.

О-120. Распространение в Великобритании неоправданно негативных данных о побочных эффектах ЗГТ не привело к сокращению использования ЗГТ большинством пациенток. Большая часть женщин прекратила прием препаратов, опасаясь возникновения рака молочной железы.

О-121. У пациенток с СПКЯ отмечают изменения центрального и периферического пульса в связи с ранним повышением тонуса крупных и малых артерий. Этот контингент больных относится к группе риска по развитию сердечно-сосудистых заболеваний в раннем возрасте и должен подвергаться регулярным медицинским обследованиям.

О-123. Сравнивали использование метформина и акарбозы у женщин с СПКЯ. После 12 недель лечения не было отмечено значительных изменений гормонального и метаболического профиля. Оба препарата улучшали характер менструальной функции при олигоамеорее, однако женщины часто прекращали лечение из-за побочных эффектов.

О-124. Эффективность применения метформина у пациенток с СПКЯ достаточно невысока, при этом более выраженная положительная реакция на проводимое лечение отмечена у женщин с повышенным ИМТ.

О-126. Концентрация антимюллера гормона в плазме крови пациенток с СПКЯ не имеет тенденции к снижению с возрастом в отличие от контрольной группы. Поскольку концентрация антимюллера гормона в плазме крови коррелирует с числом антральных фолликулов, она может быть использована для диагностики СПКЯ.

О-127. Использование флуоксетина не позволяет уменьшить чувство волнения у пациенток, включенных в программы ВРТ, вследствие чего должен применяться с осторожностью.

О-129. Частота спонтанной беременности после безуспешных попыток ЭКО+ИКСИ составила 11%. Выраженность чувства волнения и депрессии после безуспешных циклов через несколько лет возвращались к нормальным показателям.

О-130. Применение гипноза у пациенток с безуспешными попытками ЭКО+ИКСИ позволяет значительно повысить частоту клинической беременности в последующих циклах и улучшить отношение пациенток к проводимому лечению.

О-132. При родах двойней у матерей отмечена большая выраженность чувства родительского стресса и депрессии по сравнению с женщинами, родившими одного ребенка. Однако в случаях с двойнями у детей отмечена меньшая частота эмоциональных проблем и значительно большее когнитивное и моторное развитие.

О-135. В экспериментах на мышах выявлено ингибирующее действие фолликулов друг на друга при культивировании фолликулов приблизительно одного размера. При культивировании фолликулов различного диаметра не отмечено стимулирующего действия крупных на развитие малых.

О-136. Помещение бластоцист после разрушения *zona pellucida* (ZP) в гипоосмолярный раствор приводило к нарушениям их развития, при размораживании бластоцист с искусственно разрушенной ZP происходило усиленное повреждение бластомеров. Эмбрионы на стадии 8 бластомеров чувствительны к гиперосмолярным растворам независимо от целостности ZP.

О-138. Концентрации васкулярного эндотелиального фактора роста (ВЭФР) и лептина в фолликулярной жидкости могут использоваться для оценки вероятности наступления беременности, однако их колебания препятствуют точному определению критических прогностических значений.

О-139. В исследованиях на животных установлена возможность эпигенетических изменений при супер-

овуляции и культивировании эмбрионов. Необходима оценка вклада ВРТ в частоту эпигенетических изменений.

О-140. Описан новый молекулярный механизм дифференцировки эмбриональных и гемопоэтических стволовых клеток, экспериментальные манипуляции по инициации регенерации сердечной мышцы. Подчеркивается необходимость комбинированных исследований стволовых клеток эмбриона и человека.

О-144. В проспективном рандомизированном исследовании не отмечено различий в частоте наступления беременности при применении различных форм вагинального прогестерона. Стоимость лечения и незначительные побочные эффекты могут быть причиной предпочтения капсул или суппозиторий вагинальному гелю.

О-146. Индекс фрагментации ДНК коррелировал с концентрацией спермы и возрастом партнера, однако выраженность фрагментации ДНК не оказывала влияния на частоту наступления беременности.

О-148. Использование незрелых тестикулярных сперматозоидов, даже при их нормальной морфологии, негативно сказывается на развитии эмбрионов. Необходимо проведение исследований по оценке безопасности применения тестикулярных сперматозоидов в программах ВРТ.

О-149. В рандомизированном контролируемом исследовании установлено влияние полиморфизма рецептора ФСГ Ser680Asn на концентрацию эстрадиола при стимуляции ФСГ. Пониженную чувствительность рецептора можно преодолеть, используя более высокие дозы ФСГ.

О-150. Использование *N*-ацетил-цистеина эффективно для лечения кломифенцитрат-резистентных пациенток с ожирением при СПКЯ. Предположительно, *N*-ацетил-цистеин повышает чувствительность к инсулину у данного контингента больных.

О-151. Применение 150 МЕ рЛГ с 8-го дня стимуляции эффективно у пациенток с первоначально неадекватным ответом на стимуляцию рФСГ. рЛГ может с успехом использоваться для лечения женщин, у которых в предыдущих циклах для достижения эффекта приходилось использовать высокие дозировки рФСГ.

О-153. Тамоксифен эффективен и безопасен для применения в протоколах стимуляции программ ВРТ у пациенток с раком молочной железы в пременопаузе, несмотря на сохраняющиеся высокие концентрации эстрадиола. Возможно получение достаточного количества ооцитов и эмбрионов для криоконсервации.

О-154. При сравнении методик ИКСИ и интрацитоплазматической инъекции отобранных по морфологии сперматозоидов (*IMSI*) выявлено значительное увеличение частоты оплодотворения при *IMSI*. Частоту

та наступления беременности при *IMSI* составила 60%. *IMSI* эффективно в лечении супружеских пар с безуспешными попытками ЭКО+ИКСИ.

О-157. Выявлен более интенсивный рост эмбрионов мужского пола по сравнению с женскими после ИКСИ, но не рутинного ЭКО. Возможно, ИКСИ запускает определенные эпигенетические изменения в геноме.

О-158. Качество и количественный состав спермы определяется характером перфузии ткани яичка. В связи с тем, что исход процедуры ИКСИ напрямую определяется качеством спермы, пункцию яичка целесообразно производить в участках более интенсивного кровоснабжения.

О-159. Отмечено снижение количества спермы у мужчин более чем через 5 лет после вазэктомии, что может объясняться усилением апоптотических процессов на фоне увеличения концентрации проапоптотического белка *Vax*.

О-161. Структурный анализ хроматина спермы (*SCSA*) позволяет более достоверно, чем метод *СOM-ET*, оценить характер фрагментации ДНК в программах ВРТ.

О-162. Длительное использование мобильных телефонов негативно отражается на характере сперматогенеза, снижает концентрацию спермы и подвижность сперматозоидов. Необходимо проведение рандомизированных контролируемых исследований по этой проблеме.

О-164. Интерлейкины-12, -15 и -18 предположительно контролируют ремоделирование сосудистой стенки и активность *НК*-клеток человека. ПЦР для количественного определения цитокинов в эндометрии позволяет оценить адекватность маточной рецептивности.

О-165. Вспомогательный лазерный хэтчинг позволяет повысить частоту наступления беременности у пациенток с более чем 2 безуспешными попытками ЭКО в анамнезе.

О-167. Фактор, ингибирующий лейкемию, индуцирует синтез *HLA-G* клетками трофобласта линии *JEG3* и может определять успех процесса имплантации.

О-169. Перенос лишь одного эмбриона может быть законодательно закреплен в Швеции, поскольку метод не снижает частоты наступления беременности и характер ее исходов. Криоконсервация эмбрионов позволит в дальнейшем улучшить результаты циклов ВРТ.

О-170. Перенос одного эмбриона позволяет снизить риск многоплодной беременности без значительного влияния на эффективность программы ВРТ.

О-175. Рутинное использование ЛГ в циклах стимуляции не увеличивает частоту наступления беремен-

ности и не снижает длительность и стоимость лечения. Добавление ЛГ, возможно, позволяет повысить качество полученных эмбрионов.

О-176. Повышение уровней эстрадиола в протоколах с антагонистами ГнРГ по сравнению с а-ГнРГ не оказывает значительного влияния на исход программ ВРТ.

О-178. рФСГ более эффективен в циклах стимуляции овуляции и внутриматочной инсеминации у женщин с бесплодием неясного генеза по сравнению с мочевым ФСГ и чМГ.

О-179. Дополнительное использование антагонистов ГнРГ в протоколах стимуляции в циклах внутриматочной инсеминации позволяет существенно повысить частоту наступления беременности в связи с большим количеством образовавшихся фолликулов. Необходимо оценка риска возникновения многоплодной беременности в этих циклах.

О-182. Односторонняя термокаутеризация яичника так же эффективна, как и двусторонняя, для восстановления менструальной и репродуктивной функции у пациенток с СПКЯ.

О-184. Незначительные морфологические изменения миометрия и эндометрия в течение 24 часов при пребывании в условиях пониженной температуры свидетельствуют об устойчивости ткани к холодовой ишемии и возможности трансплантации матки у человека.

О-190. Обсуждается вопрос этической правомерности пренатальной и преимплантационной генетической диагностики (ПГД) наследственной предрасположенности к ряду заболеваний. Большинство клиницистов, выступающих в пользу диагностики, поддерживают ПГД, так как в этом случае отсутствует необходимость дальнейшего прерывания беременности.

О-191. Отмена анонимности донорства спермы, ооцитов и эмбрионов в Великобритании привела бы к резкому сокращению количества доноров и детей, родившихся в программах ВРТ. Необходимо найти баланс между интересами этих «возможных людей» и детей, желающих иметь информацию о своих генетических родителях.

О-194. Для оценки качества эмбриона, помимо характера дробления и частоты фрагментаций, целесообразно использовать концентрации продуктов метаболизма в среде культивирования.

О-198. Однократная ежедневная доза геля криона 8 эффективна в поддержке лютеиновой фазы как альтернатива прогестерону внутримышечно. Применение криона 8 дважды в день позволило повысить частоту имплантации и клинической беременности, снизить частоту прерывания беременности. Необходимы исследования по подбору оптимальной дозы.

О-204. Проведение антибактериальной терапии (амоксициллин+клавулановая кислота) не увеличивает частоту имплантации в программах ВРТ.

О-207. Выявлены различия в частоте имплантации и наступления беременности в зависимости от места переноса эмбриона. Наибольшая эффективность отмечена при ПЭ в среднюю часть полости матки.

О-210. Присутствие эмбриолога лишь в конце процедуры забора врачом ооцитов не оказывает влияния на количество полученных ооцитов, качество эмбрионов и клинические исходы, давая эмбриологу время для проведения иных манипуляций.

О-211. У женщин старше 50 лет сравнительно высокой частоты наступления беременности удается добиться при использовании донорских ооцитов. Толщина эндометрия, концентрация эстрадиола в плазме крови и продолжительность подготовки эндометрия не коррелируют с характером исхода цикла ЭКО при использовании ооцитов донора.

О-212. Присутствие кист в яичнике не оказывает влияния на характер яичникового ответа и исход циклов ЭКО.

О-213. Первоначальный неудовлетворительный ответ яичников на стимуляцию, хотя и преодолеваемый увеличением доз гонадотропинов, является предиктором низкой эффективности цикла ЭКО+ИКСИ, даже при хорошем качестве эмбрионов.

О-216. Уменьшение числа переносимых эмбрионов с трех до двух не снижает вероятности многоплодной беременности. Единственным эффективным методом у пациенток моложе 39 лет с хорошим качеством blastocyst и наличием криоконсервированных эмбрионов является перенос одного эмбриона.

О-217. Измерение концентраций $Ca-125$ в начале или конце стимуляции не информативно для оценки вероятности плохого яичникового ответа. Предположительно, стероидогенез яичников не влияет на концентрацию $Ca-125$.

О-218. Описана ортотопическая аутоперитонеальная криоконсервированной ткани яичника пациентке после химиотерапии. Ткань восстанавливает свою функцию в течение нескольких месяцев и поддерживает созревание зрелых ооцитов. Уже на протяжении 9 месяцев у женщины сохраняется менструальный цикл, в яичнике выражена фолликулярная активность.

О-219. Описан случай длительного поддержания овариальной функции при периодической гетеротопической аутоперитонеальной трансплантации ткани яичника (более 1 года). Аутоперитонеальная трансплантация в преректальную область эффективна и удобна для проведения периодических пересадок.

О-220. Описана криоперфузия и криоконсервация цельного яичника человека без повреждения поверх-

ностных и глубоких структур и ущерба фолликулярному запасу.

О-222. Сообщено об успешном переносе эмбриона, полученного в цикле ЭКО+ИКСИ у пациентки после гетеротопической аутоперитонеальной криоконсервированной ткани яичника.

О-228. В исследованиях на животных эмбриональные стволовые клетки человека с успехом позволяют лечить болезнь Паркинсона. Необходимо оценить их эффективность для использования у человека.

О-230. В исследованиях на животных Виагра значительно снижает частоту оплодотворения и характер дробления эмбриона, что необходимо принимать во внимание в клиниках лечения бесплодия.

О-232. Длительная дисменорея (до 11 лет) является частым признаком аденомиоза. Использование МРТ эффективно для постановки диагноза аденомиоза у этой группы больных.

О-234. Выявлено присутствие в строме эндометриальных гетеротопий чувствительных нервных волокон, играющих роль в этиологии характерных болей. Врожденное нервное волокно стимулируется активностью атипических эндометриальных желез.

О-237. Активность макрофагов, выработка провоспалительных цитокинов и липопротеинов низкой плотности, наблюдаемая при эндометриозе, предрасполагает к развитию атеросклероза. Не выявлено различий в частоте атеросклероза у пациенток с эндометриозом по сравнению с популяцией.

О-241. Для ранней диагностики внематочной беременности крайне информативна концентрация ХГ и трансвагинальное УЗИ. В лечении рано диагностированной внематочной беременности эффективно применение метотрексата, который уже повсеместно внедряется в клиническую практику.

О-242. В лечении внематочной беременности необходимо учитывать противопоказания к проведению медикаментозной терапии метотрексатом: присутствие гестационного мешка >35 мм, сердечной активности и гемоперитонеума. Абдоминальные, интерстициальные и первичные яичниковые беременности легко поддаются лапароскопическому лечению.

О-244. Снижение количества переносимых эмбрионов в зависимости от возраста пациентки и наличия безуспешных попыток ЭКО в анамнезе не отразилось на эффективности программ ВРТ в Бельгии.

О-247. Программы ВРТ могут применяться в отношении ВИЧ-положительных супружеских пар. В этих случаях предпочтительно применение техники ИКСИ для снижения вероятности заражения партнера.

О-251. Частота оплодотворения ооцитов тестикулярными сперматозоидами мужчин с обструктивной

азооспермией может быть повышена при предварительном *in vitro* культивировании и селекции криоконсервированных сперматозоидов.

О-255. Использование сред, обогащенных гиалуронатом и рекомбинантным альбумином, более эффективно для культивирования эмбрионов и позволяет добиться более высокой частоты имплантации.

О-257. Криоконсервация эмбрионов на 3-и сутки культивирования позволяет добиться более успешных исходов в программах ВРТ по сравнению с криоконсервацией на 2-е сутки. При заморозке-разморозке не отмечено повреждений структуры 3-дневных эмбрионов.

О-259. *In vitro* созревание ооцитов является эффективным методом для использования у женщин с СПКЯ или высоким риском развития СГЯ. Удаётся добиться созревания большого количества ооцитов из антральных фолликулов размером менее 10 мм в диаметре.

О-260. Сообщается о рождении во Франции первых детей после применения метода *in vitro* созревания ооцитов+ИКСИ у женщин с СПКЯ, что доказывает возможность использования этой технологии как альтернативы традиционному ЭКО и «дриллингу» яичников у этих пациенток.

О-262. Методом доплер-флоксометрического исследования установлено, что введение внутриматочной спирали не приводит к немедленным изменениям тока крови в маточных артериях.

О-263. На фоне снижения частоты многоплодной беременности в циклах ЭКО+ИКСИ и внутриматочной инсеминации в Нидерландах отмечено увеличе-

ние числа многоплодных беременностей в спонтанных циклах. Предположительно, определенный вклад вносит изменение условий окружающей среды и более старший возраст матерей.

О-265. Впервые отмечены различия в экспрессии мРНК васкулярного эндотелиального фактора роста эндометрием, покрывающим маточную перегородку и боковые стенки полости матки, у пациенток с внутриматочной перегородкой. Нарушения репродуктивной функции у этих женщин могут быть вызваны локальными сосудистыми нарушениями.

О-266. Использование ДНК-меток при моделировании менструации *in vitro* позволяет успешно идентифицировать задействованные в этом процессе гены.

О-267. Не выявлено различий в трансформации эндометрия при использовании низких (0,25 мг) и высоких (2 мг) доз ганиреликса. На фоне антагонистов ГнРГ по сравнению с а-ГнРГ наблюдается более физиологичное развитие эндометрия.

О-270. Использование для ИКСИ макроцефалических сперматозоидов ведет к увеличению частоты хромосомных нарушений у эмбрионов. Отбор сперм для ИКСИ в этих случаях следует производить, основываясь не только на их морфологических, но и на хромосомных характеристиках.

О-272. У 0,35% мужчин, чья сперма в связи с плохим качеством используется для ИКСИ, обнаружена дупликация Y-хромосомы. Впервые рассматривается возможность вклада дупликации Y-хромосомы в развитие мужского бесплодия.

Издательство МЕДИА СФЕРА

лицензия на издательскую деятельность ИД № 02132
127238 Москва, Дмитровское ш., 46, корп. 2, этаж 4.
Отдел подписки и распространения: Тел.: (095) 488-6637
Отдел рекламы: Тел.: (095) 488-6000 Факс: (095) 482-4312
E-mail: mediasph@mediasphera.ru; <http://www.mediasphera.ru>
Адрес для корреспонденции: 127238 Москва, а/я 54

Оригинал-макет журнала **“Проблемы репродукции”** изготовлен Издательством МЕДИА СФЕРА
Компьютерный набор и верстка: С.В. Олефир, М.Л. Калужнин
Редактор Л.П. Поленова. Корректоры: Е.А. Папоян, В.Ю. Глазунова, И.В. Корягина

“Проблемы репродукции” — научно-практический журнал. Основан в 1995 г.
Problemi reprodukcii (**Russian journal of human reproduction**) is published
6 times a year by Media Sphera Publishing Group. Founded in 1995.

Отпечатано в “Информполиграф”
Формат 60×90 1/8 Усл. печ. л. 11,0 Заказ