ISSN 0300-9092 (печ. вер.), ISSN 2412-5679 (эл. вер.)

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

акушерство и гинекология

11 /2021

■ Сухих Г.Т., Долгушина Н.В., Шмаков Р.Г., Климов В.А., Яроцкая Е.А., Петрова У.А. Исходы беременности у пациенток, вакцинированных от COVID-19 во время беременности: предварительные данные

■ Шипицына Е.В., Ширшова Н.Ю., Коган И.Ю. Вакцинация во время беременности: настоящее и будущее

■ Башмакова Н.В., Полякова И.Г., Сыманюк Э.Э., Храмцова А.Ю. Консультирование доноров гамет, эмбрионов и суррогатных матерей: проблемы и пути их решения в мировой практике

Scientific and practical journal

AND OBSTETRICS GYNECOLOGY

(Moscow)

■ Sukhikh G.T., Dolgushina N.V., Shmakov R.G., Klimov V.A., Yarotskaya E.L., Petrova U.L. Pregnancy outcomes after maternal COVID-19 vaccination during pregnancy: preliminary data

■ Shipitsyna E.V., Shirshova N.Yu., Kogan I.Yu. Vaccination during pregnancy: present and future

■ Bashmakova N.V., Polyakova I.G., Symaniuk E.E., Khramtsova A.Yu. Consulting gamete and embryo donors and surrogate mothers: problems and their solution ways in world practice

НОВАРИНГ®

(этинилэстрадиол + этоногестрел вагинальное кольцо)

0,015 мг + 0,120 мг/сутки

с Аппликатором

Режим применения 1 раз в месяц[1]

Единственное контрацептивное вагинальное кольцо в России с опытом применения более 10 лет[5,6]

Согласно проведенным клиническим исследованиям:

100% женщин успешно самостоятельно вводили кольцо при помощи аппликатора или пальцев[4]

96% женщин были удовлетворены использованием кольца[2]

97% женщин рекомендовали бы кольцо другим[2]

Контрацептивная эффективность составила примерно **99%**[3]

Оптимальный контроль цикла у **95%** женщин[7*]

КЛЮЧЕВАЯ ИНФОРМАЦИЯ ПО БЕЗОПАСНОСТИ ПРЕПАРАТА НОВАРИНГ® (этинилэстрадиол + этоногестрел)

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ • Венозный тромбоз или тромбоэмболия (ВТЭ), в том числе, тромбоз глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА), в настоящее время или в анамнезе. • Артериальный тромбоз или тромбоэмболия (АТЭ), в том числе инфаркт миокарда и инсульт; или продромальные состояния (транзиторная ишемическая атака, стенокардия), в настоящее время или в анамнезе • Выявленная наследственная или приобретенная предрасположенность к ВТЭ или АТЭ, включая резистентность к активированному протеину С, гипергомоцистеинемию, дефицит антитромбина III, дефицит протеина С, дефицит протеина S, антифосфолипидные антитела (антитела к кардиолипину, волчаночный антикоагулянт). • Наличие множественных факторов высокого риска ВТЭ или АТЭ, или наличие одного такого серьезного фактора риска, как сахарный диабет с диабетической ангиопатией; неконтролируемая артериальная гипертензия; тяжелая дислипопротеинемия. • Объемные оперативные вмешательства с длительной иммобилизацией или обширная травма. • Панкреатит с тяжелой гипертриглицеридемией в настоящее время или в анамнезе. • Острые или хронические заболевания печени тяжелой степени (до нормализации показателей функции печени). • Наличие опухолей печени (злокачественных или доброкачественных) в настоящее время или в анамнезе. • Наличие гормонозависимых злокачественных заболеваний, в том числе в анамнезе (например, молочной железы или матки), или подозрение на них. • Мигрень с очаговой неврологической симптоматикой в настоящее время или в анамнезе. • Кровотечения из влагалища неясной этиологии. • Гиперчувствительность к этоногестрелу, этинилэстрадиолу и/или к какому-либо из вспомогательных веществ в составе препарата. • Беременность, в том числе предполагаемая. • Период грудного вскармливания. • Возраст до 18 лет (в отсутствие данных по безопасности и эффективности НоваРинга® у девочек-подростков в возрасте до 18 лет)[1]. • Совместное применение с противовирусными препаратами прямого действия, содержащими омбитасвир/паритапревир/ритонавир и дасабувир. В случае выявления или развития впервые какого-либо из этих заболеваний/состояний или факторов риска на фоне применения НоваРинга®, вагинальное кольцо должно быть немедленно удалено.

С ОСТОРОЖНОСТЬЮ • Факторы риска развития тромбоза и тромбоэмболий, наследственная предрасположенность (тромбозы, инфаркт миокарда или нарушение мозгового кровообращения в возрасте менее 50 лет у братьев/сестер или у родителей), курение, ожирение, дислипопротеинемия, адекватно контролируемая артериальная гипертензия, мигрень без очаговой неврологической симптоматики, заболевания клапанов сердца, нарушения сердечного ритма. • Тромбофлебит поверхностных вен. • Сахарный диабет без сосудистых осложнений. • Хронические заболевания печени при нормальных показателях функции печени. • Желтуха и/или зуд, вызванные холестазом. • Желчнокаменная болезнь. • Порфирия. • Системная красная волчанка. • Гемолитико-уремический синдром. • Хорея Сиденгама (малая хорея). • Потеря слуха вследствие отосклероза. • (Наследственный) ангионевротический отек. • Хронические воспалительные заболевания кишечника (болезнь Крона и язвенный колит). • Серповидноклеточная анемия. • Хлоазма. • Послеродовой период. • Состояния, которые могут затруднять применение вагинального кольца: выпадение шейки матки, грыжа мочевого пузыря, грыжа прямой кишки, тяжелые хронические запоры.

ОСОБЫЕ УКАЗАНИЯ Риск развития ВТЭ и АТЭ. Риск развития опухолей. Ангионевротический отек и анафилаксия. Гепатит С. Применение НоваРинга® следует прекратить до начала терапии комбинацией препаратов омбитасвир/паритапревир/ритонавир с дасабувиром или без него и может быть возобновлено приблизительно через 2 недели после завершения лечения комбинацией этих лекарственных препаратов. Другие состояния: гипертриглицеридемия (или наличие в семейном анамнезе); развитие стойкого клинически значимого повышения АД. Состояния, которые развиваются или ухудшаются во время беременности, болезнь Крона и язвенный колит, острые или хронические заболевания печени, рецидив холестатической желтухи и/или зуда, вызванного холестазом, хлоазма. Состояния женщины, при которых она не сможет правильно ввести кольцо или при которых кольцо может выпасть, непреднамеренное введение НоваРинга® в уретру, в мочевой пузырь, вагинит. Требуется медицинское обследование / консультация. НоваРинг® не защищает от ВИЧ-инфекции (СПИДа) и других заболеваний, передаваемых половым путем. Снижение эффективности, изменения характера менструаций, повреждение, выпадение кольца.

ПОБОЧНЫЕ ДЕЙСТВИЯ Наиболее часто встречающиеся/клинически значимые нежелательные явления: вагинальная инфекция, депрессия, снижение либидо, головная боль, мигрень, боль в животе, тошнота, акне, напряжение и болезненность молочных желез, отсутствие менструаций, болезненные менструальноподобные кровотечения, боль в области малого таза, выделения из влагалища, дискомфорт при применении вагинального кольца, выпадение вагинального кольца.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ Контрацепция. Препарат НоваРинг® предназначен для женщин репродуктивного возраста (безопасность и эффективность препарата изучалась у женщин в возрасте от 18 до 40 лет).

Перед назначением любого препарата, упомянутого в данном материале, пожалуйста, ознакомьтесь с полной инструкцией по применению, предоставляемой компанией-производителем.

Компания MSD не рекомендует применять препараты компании способами, отличными от описанных в инструкции по применению

* В группе НоваРинга® частота межменструальных кровотечений была до 5%.

1. Инструкция по медицинскому применению препарата НоваРинг® 2. Novak A, et al., Contraception. 2003;67:187-194 3. Madden T, et al., Contraceptive vaginal ring. Clinical obstetrics and Gynecology, December 2008 - Volume 50-Issue 4: p. 878-885 4. Feldman R, et al, Contraception, 2016;94:362-365 5. Регистрационное удостоверение лекарственного препарата для медицинского применения ПП N015411/01 6. https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx 7. Bjarnadottirm R at al. Am J Obstet Gynecol. 2002; 186:389-395

Представленное изображение вагинального кольца НоваРинг и аппликатора препарата НоваРинг является схематичным

ООО «МСД Фармасьютикалс»
Россия, 119021, Москва, ул. Тимура Фрунзе, 11к1
Бизнес-центр «Демидов»

Tel.: +7 495 916 7100
Fax: +7 495 916 7094
www.msd.ru

RU-TRL-00143; 09-2020

Реклама

MSD

ISSN 0300-9092 (печ. вер.), ISSN 2412-5679 (эл. вер.)

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ ИМ. АКАДЕМИКА В.И. КУЛАКОВА МИНЗДРАВА РФ
РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО АКУШЕРОВ-ГИНЕКОЛОГОВ

акушерство и гинекология

11 /2021

https://aig-journal.ru

Научно-практический журнал

Основан в 1922 г.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Л.В. АДАМЯН, акад. РАН, проф., д.м.н. (Москва)
И.А. АПОЛИХИНА, проф., д.м.н. (Москва)
Д.А. АШРАФЯН, акад. РАН, проф., д.м.н. (Москва)
О.Р. БАЕВ, проф., д.м.н. (Москва)
В.С. БАРАНОВ, чл.-корр. РАН, проф., д.б.н. (Санкт-Петербург)
И.И. БАРАНОВ, проф., д.м.н. (Москва)
Е.Л. БОКЕРИЯ, д.м.н. (Москва)
М.Ю. ВЫСОКИХ, к.б.н. (Москва)
А.И. ГУС, проф., д.м.н. (Москва)
В.В. ДАНЫДОВ, проф., д.м.н. (Москва)
Д.Н. ДЕГТЯРЕВ, проф., д.м.н. (Москва)
Ю.Э. ДОБРОХОТОВА, проф., д.м.н. (Москва)
Н.В. ДОЛГУШИНА, проф., д.м.н. (Москва)
Э.Р. ДУРИНЯН, доц., к.м.н. (Москва)
Н.В. ЗАРОЧЕНЦЕВА, проф. РАН (Москва)
Н.Е. КАН, проф., д.м.н. (Москва)
Е.Ф. КИРА, проф., д.м.н. (Москва)
И.Ю. КОГАН, чл.-корр. РАН, проф., д.м.н. (Санкт-Петербург)
В.И. КРАСНОПОЛЬСКИЙ, акад. РАН, проф., д.м.н. (Москва)
Л.В. КРЕЧЕТОВА, д.м.н. (Москва)
С.А. ЛЕВАКОВ, проф., д.м.н. (Москва)
Л.С. ЛОГУТОВА, проф., д.м.н. (Москва)
А.Д. МАКАЦАРИЯ, акад. РАН, проф., д.м.н.
И.Б. МАНУХИН, проф., д.м.н. (Москва)
А.А. МОХОВ, проф., д.ю.н. (Москва)
В.Н. ПРИЛЕПСКАЯ, проф., д.м.н. (Москва)
Т.В. ПРИПУТНЕВИЧ, д.м.н. (Москва)
А.В. ПЫРЕГОВ, проф., д.м.н. (Москва)
В.Е. РАДЗИНСКИЙ, чл.-корр. РАН, проф., д.м.н. (Москва)
Д.В. РЕБРИКОВ, проф. РАН, д.б.н. (Москва)
Г.М. САВЕЛЬЕВА, акад. РАН, проф., д.м.н. (Москва)
С.А. СЕЛЬКОВ, проф., д.м.н. (Санкт-Петербург)
А.Н. СЕНЧА, д.м.н. (Москва)
И.С. СИДОРОВА, акад. РАН, проф. д.м.н. (Москва)
А.Е. СОЛОПОВА, д.м.н. (Москва)
А.Н. СТРИЖАКОВ, акад. РАН, проф., д.м.н. (Москва)
Н.К. ТЕТРУАШВИЛИ, д.м.н. (Москва)
Д.Ю. ТРОФИМОВ, проф. РАН, д.б.н. (Москва)
В.Л. ТЮТЮННИК, проф., д.м.н. (Москва)
Т.А. ФЕДОРОВА, проф., д.м.н. (Москва)
В.Е. ФРАНКЕВИЧ, к.ф.-м.н. (Москва)
А.З. ХАШУКОЕВА, проф., д.м.н. (Москва)
Р.Г. ШМАКОВ, проф. РАН, д.м.н. (Москва)
М.П. ШУВАЛОВА, к.м.н. (Москва)
BIRGIT ARABIN, prof (Berlin Germany)
FRANK A. CHERVENAK, MD, MMM (New York USA)
JOACHIM W. DUDENHAUSEN, prof (Berlin, Germany)
MOSHE HOD, prof (Israel)

Главный редактор
Г.Т. СУХИХ
акад. РАН, проф., д.м.н., чл. EASE, Москва

Зам. главного редактора
В.Н. СЕРОВ
акад. РАН, проф., д.м.н., Москва

Зам. главного редактора
Е.Г. ХИЛЬКЕВИЧ
д.м.н., чл. EASE, Москва

Ответственный секретарь
А.И. ЩЕГОЛЕВ
проф., д.м.н., Москва

Научный редактор
Э.Р. ДУРИНЯН
доц., к.м.н., Москва

Научный редактор
В.А. АКСЕНОВ
к.м.н. вице-президент
Межрегиональной общественной организации
«Общество специалистов
доказательной медицины»

Зав. редакцией
Е.В. КОНОВАЛ-ШОРОХОВА

АДРЕС РЕДАКЦИИ:
117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4
Телефон: (495) 438-69-46
E-mail: aig@oparina4.ru

Зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
ПИ № ФС77-36074 от 23 апреля 2009 г.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Е.Н. БАЙБАРИНА, проф., д.м.н. (Москва)
Н.В. БАШМАКОВА, проф., д.м.н. (Екатеринбург)
А.В. ДЕГТЯРЕВА, проф., д.м.н. (Москва)
А.Е. ДОННИКОВ, к.м.н. (Москва)
Р.М. ЕСАЯН, к.м.н. (Москва)
С.Н. ЗАНЬКО, проф., д.м.н. (Витебск)
В.В. ЗУБКОВ, д.м.н. (Москва)
Т.С. КАЧАЛИНА, проф., д.м.н. (Н. Новгород)
В.В. КОВАЛЕВ, проф., д.м.н. (Екатеринбург)
Е.А. КОГАН, проф., д.м.н. (Москва)
И.Н. КОСТИН, проф., д.м.н. (Москва)
А.М. КРАСНЫЙ, к.б.н. (Москва)
Ш.М. КУРБАНОВ, проф., д.м.н. (Душанбе)
В.Н. ЛОКШИН, проф., д.м.н. (Алматы)
А.И. МАЛЫШКИНА, проф., д.м.н. (Иваново)
Г.Б. МАЛЬГИНА, д.м.н. (Екатеринбург)
Б.И. МЕДВЕДЕВ, проф., д.м.н. (Челябинск)
Т.А. НАЗАРЕНКО, проф., д.м.н. (Москва)
М.А. НИКОЛАЕВА, д.б.н. (Москва)
С.В. ПАВЛОВИЧ, к.м.н. (Москва)
О.Г. ПЕКАРЕВ, проф., д.м.н. (Москва)
Г.А. ПЕНЖОЯН, проф., д.м.н. (Краснодар)
И.И. РЮМИНА, проф., д.м.н. (Москва)
И.А. САЛОВ, проф., д.м.н. (Саратов)
Д.Н. СИДЯЧЕВ, д.б.н. (Москва)
Е.В. УВАРОВА, чл.-корр. РАН, проф., д.м.н. (Москва)
И.Ф. ФАТКУДЛИН, проф., д.м.н. (Казань)
Т.Х. ФАТХУТДИНОВ, д.м.н. (Москва)
О.С. ФИЛИППОВ, проф., д.м.н. (Москва)
С.В. ХАБАРОВ, проф., д.м.н. (Тула)
З.С. ХОДЖАЕВА, проф., д.м.н. (Москва)
С.В. ХОХЛОВА, д.м.н. (Москва)
Г.Е. ЧЕРНУХА, проф., д.м.н. (Москва)
Е.Л. ЯРОЦКАЯ, проф., д.м.н. (Москва)
А. ГРАЦИОТТИН, проф. (Милан, Италия)
Х. ВИЛЛАР, проф. (Оксфорд, Великобритания)
С. КЕННЕДИ, проф. (Оксфорд, Великобритания)
Т. МАХМУД, проф. (Кёрколди, Великобритания)
ДЖ.К. ДИ РЕНЦО, проф. (Перуджа, Италия)
В. СЕНИКАС, проф. (Оттава, Канада)
ДЖ. ШЬЯРРА, проф. (Чикаго, США)

Журнал входит в Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук. Импакт-фактор РИНЦ: 5-летний – 0,862, 2-летний – 1,183.
Журнал «Акушерство и гинекология» представлен в следующих международных информационных изданиях:
Abstracts of Bulgarian Scientific Medical Literature; Experta Medica; Ulrich's International Periodicals Directory;
включен в продукты EBSCO; входит в Russian Science Citation Index, Emerging Sources Citation Index; представлен в базе данных SCOPUS.

УЧРЕДИТЕЛИ

Федеральное государственное
бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр
акушерства, гинекологии и перинатологии
им. академика В.И. Кулакова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(член Ассоциации научных редакторов и издателей – АНРИ)

Общероссийская общественная организация
«Российское общество акушеров-гинекологов»

Журнал «Акушерство и гинекология»
член Международного Комитета
по публикационной этике (COPE), WAME

Дата выхода 25.11.2021

bionika media

ИЗДАТЕЛЬ ООО «Бионика Медиа»

Адрес для корреспонденции:
Адрес: 117485 Москва, ул. Обручева, д. 30/1, стр. 2
www.bionika-media.ru
Председатель Совета директоров: И.Г. Красивская
Генеральный директор: О.О. Горяинова

Размещение рекламы:

ООО «Бионика Медиа»
Руководитель департамента по рекламе в медицинской прессе: Н.И. Давлекеева

Руководитель направления Женское здоровье:
Михно О.А.

Департамент по рекламе в медицинской прессе:
А.Д. Луковкина, А.А. Пантелеева

Арт-директор: М.А. Лындина

Отдел дизайна и верстки:
М.Н. Григорьева,
М.И. Полякова, А.И. Смирнов

Корректор – Е.В. Селиверстова

Подписка и распространение:

Тел.: (495) 786-25-41
E-mail: podpiska@bionika.ru
Свободная цена

Индексы по каталогу «Почта России»
ПР282 – подписка на полгода

Формат 60×90 1/8. Печ. л. 16. Отпечатано в ООО «Бирюс-Принт». Тираж 10 000 экз. Адрес: 115201, г. Москва, МО Москворечье-Сабурово вн.тер.г., 1-ый Котляковский пер., д.3, этаж 1, пом. 1/12

Перепечатка и любое воспроизведение материалов и иллюстраций в печатном или электронном виде из журнала «Акушерство и гинекология» допускается только с письменного разрешения Издателя ООО «Бионика Медиа»

© ООО «Бионика Медиа»

ISSN 0300-9092 (print. ver.), ISSN 2412-5679 (online ver.)

NATIONAL MEDICAL RESEARCH CENTER FOR OBSTETRICS, GYNECOLOGY AND PERINATOLOGY NAMED AFTER ACADEMICIAN V.I. KULAKOV OF MINISTRY OF HEALTHCARE OF RUSSIAN FEDERATION
RUSSIAN SOCIETY OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS

OBSTETRICS AND GYNECOLOGY

AKUSHERSTVO I GINEKOLOGIYA (MOSCOW)

Scientific and Practical Journal
11 /2021
https://aig-journal.ru
Founded in 1922

EDITORIAL BOARD:
L.V. ADAMYAN, Acad. RAS, prof., MD (Moscow)
I.A. APOLIKHINA, prof., MD (Moscow)
L.A. ASHRAFYAN, Acad. RAS, prof., MD (Moscow)
O.R. BAEV, prof., MD (Moscow)
V.S. BARANOV, corr. member RAS, prof., Sc.D. (St. Petersburg)
I.I. BARANOV, prof., MD (Moscow)
E.L. BOKERIYA, MD (MOSCOW)
M.Yu. VYSOKIKH, PhD (Moscow)
A.I. GUS, prof., MD (Moscow)
V.V. DAVIDOV, prof., MD (Moscow)
D.N. DEGTYAREV, prof., MD (Moscow)
Yu.E. DOBROKHOTOVA, prof., MD (Moscow)
N.V. DOLGUSHINA, prof., MD (Moscow)
E.R. DURINYAN, PhD (Moscow)
N.V. ZAROCHENTSEVA, Prof RAS, MD (Moscow)
N.E. KAN, prof., MD (Moscow)
E.F. KIRA, prof., MD (Moscow)
I.Yu. KOGAN, corr. member RAS, prof., MD (St. Petersburg)
V.I. KRASNOPOLSKIY, Acad. RAS, prof., MD (Moscow)
L.V. KRECHETOVA, MD (Moscow)
S.A. LEVAKOV, prof., MD (Moscow)
L.S. LOGUTOVA, prof., MD (Moscow)
A.D. MAKATSARIYA, Acad. RAS, prof., MD (Moscow)
I.B. MANUKHIN, prof., MD (Moscow)
A.A. MOKHOV, prof., Doctor of Law (Moscow)
V.N. PRILEPSKAYA, prof., MD (Moscow)
T.V. PRIPUTNEVICH, MD (Moscow)
A.V. PYREGOV, prof., MD (Moscow)
V.E. RADZINSKY, corr. member RAS, prof., MD (Moscow)
D.V. REBRIKOV, prof. RAS, PhD (Moscow)
G.M. SAVELYEVA, Acad. RAS, prof., MD (Moscow)
S.A. SELKOV, prof., MD (St. Petersburg)
A.N. SENCHA, MD (Moscow)
I.S. SIDOROVA, Acad. RAS, prof. MD (Moscow)
A.E. SOLOPOVA, MD (Moscow)
A.N. STRIZHAKOV, Acad. RAS, prof., MD (Moscow)
N.K. TETRUASHVILI, MD (Moscow)
D.Yu. TROFIMOV, prof. RAS, Sc.D. (Moscow)
V.L. TYUTYUNNIK, prof., MD (Moscow)
T.A. FEDOROVA, prof., MD (Moscow)
V.E. FRANKEVICH, PhD (Moscow)
A.Z. KHASHUKOEVA, prof., MD (Moscow)
R.G. SHMAKOV, prof. RAS, MD (Moscow)
M.P. SHUVALOVA, PhD (Moscow)
BIRGIT ARABIN, prof (Berlin Germany)
FRANK A. CHERVENAK, MD, MMM (New York USA)
JOACHIM W. DUDENHAUSEN, prof (Berlin, Germany)
MOSHE HOD, prof (Israel)

Editor-in-Chief
G.T. SUKHIKH
Acad. RAS, prof., MD, member of EASE, Moscow

Deputy Editor-in-Chief
V.N. SEROV
Acad. RAS, prof., MD, Moscow

Deputy Editor-in-Chief
E.G. KHILKEVICH
MD, member of EASE, Moscow

Executive secretary
A.I. SHCHEGOLEV
prof., MD, Moscow

Science editor
E.R. DURINYAN
assoc. prof., PhD, Moscow

Science Editor
V.A. AKSENOV
MD, PhD, Vice-president of the Public Interregional Organization "Society of specialists in evidence-based medicine"

Managing Editor
E.V. KONOVAL-SHOROKHOVA

EDITORIAL OFFICE:
4, Academician Oparin Street, Moscow, Russia 117997
Telephone: (495) 438-69-46
E-mail: aig@oparina4.ru

EDITORIAL COUNCIL:
E.N. BAYBARINA, prof., MD (Moscow)
N.V. BASHMAKOVA, prof., MD (Ekaterinburg)
A.V. DEGTYAREVA, prof., MD (Moscow)
A.E. DONNIKOV, PhD (Москва)
R.M.ESAYAN,PhD (Moscow)
S.N. ZANKO, prof., MD (Vitebsk)
V.V. ZUBKOV, MD (Moscow)
T.S. KACHALINA, prof., MD (N. Novgorod)
V.V. KOVALEV, prof., MD (Ekaterinburg)
E.A. KOGAN, prof., MD (Moscow)
I.N. KOSTIN, prof., MD (Moscow)
A.M. KRASNYI, PhD (Moscow)
Sh.M. KURBANOV, prof., MD (Dushanbe)
V.N. LOKSHIN, prof., MD (Almaty)
A.I. MALYSHKINA, prof., MD (Ivanovo)
G.B. MALGINA, MD (Ekaterinburg)
B.I. MEDVEDEV, prof., MD (Chelyabinsk)
T.A. NAZARENKO, prof., MD (Moscow)
M.A. NIKOLAEVA, PhD (Moscow)
S.V. PAVLOVICH, PhD (Moscow)
O.G. PEKAREV, prof., MD (Moscow)
A.G. PENZHOYAN, Prof., MD (Krasnodar)
I.I. RYUMINA, prof., MD (Moscow)
I.A. SALOV, prof., MD (Saratov)
D.N. SILACHEV , PhD (Moscow)
E.V. UVAROVA, corr. member RAS,prof., MD (Moscow)
I.F. FATKULLIN, prof., MD (Kazan)
T.Kh. FATHUDINOV, MD (Moscow)
O.S. FILIPPOV, prof., MD (Moscow)
S.V. KHABAROV, prof., MD (Tula)
Z.S. KHODZHAEVA, prof., MD (Moscow)
S.V. KHOKHLOVA, MD (Moscow)
G.E. CHERNUKHA, prof., MD (Moscow)
E.L. YAROTSKAYA, prof., MD (Moscow)
A. GRAZIOTTIN, prof. (Milan, Italy)
J. VILLAR, prof. (Kirkcaldy, United Kingdom)
S. KENNEDY, prof. (Oxford, United Kingdom)
T. MAHMOOD, prof. (Oxford, United Kingdom)
G.C. DI RENZO, prof. (Perugia, Italy)
V. SENIKAS, prof. (Ottawa, Canada)
J. SCIARRA, prof. (Chicago, USA)

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media (Roskomnadzor)
PI No FS77-36074, April 23, 2009

The journal is included in the list of Russian peer-reviewed scientific journals in which major scientific results of dissertations for the degree of doctor and candidate of sciences should be published. RISC impact factor: 5 years – 0.862, 2 years – 1.183.
The journal is presented in the following international publications: Abstracts of Bulgarian Scientific Medical Literature; Experta Medica; Ulrich's International Periodical Directory; included in EBSCO products; presented in Russian Science Citation Index, Emerging Sources Citation Index; included in SCOPUS database.

FOUNDERS
National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation (member of Association of Science Editors and Publishers)

Russian Society of Obstetricians and Gynecologists

Journal Obstetrics and Gynecology (Moscow) member of Committee on Publication Ethics (COPE), WAME

Date of issue 25.11.2021

bionika media

PUBLISHER
Bionika Media Ltd.
Address for correspondence:
30/1 bldg. 2 Obrucheva str., Moscow, Russia, 117485

Chairman of the Board of Directors: I.G. Krasivskaya
General manager: O.O. Goryainova

Advertising
Bionika Media Ltd.
Head of the department of advertising in the medical press:
N.I. Divlekeeva

Head of direction Women's health:
Mikhno O.A.

The department of advertising in the medical press:
A.D. Lukovkina, A.A. Panteleeva

Art Director: M.A. Lyndina

Department of design and page-proofs:
M.N. Grigoryeva,
M.I. Polyakova, A.I. Smirnov

Proof reader – E.V. Seliverstova

Subscription and distribution:
Telephone: (495) 786-25-41
E-mail: podpiska@bionika.ru

Open price
Indexes in Russian Post
ПР282 – half-year subscription

Format 60×90 1/8. Printed pages 16. Printed at LLC «Borus-Print». Printing 10 000 copies. Address: 115201, Moscow, 1st Kotlyakovsky Lane, 3, floor 1, room 1/12.
Reprinting and any reproduction of materials and illustrations in printed or electronic form is allowed only with written authorization from The Publisher (Bionika Media Ltd.)

© Bionika Media Ltd.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕСС-РЕЛИЗ

Сухих Г.Т., Долгушина Н.В., Шмаков Р.Г., Климов В.А., Яроцкая Е.Л., Петрова У.Л. Исходы беременности у пациенток, вакцинированных от COVID-19 во время беременности: предварительные данные — 5

ОБЗОРЫ

Шипицына Е.В., Ширшова Н.Ю., Коган И.Ю. Вакцинация во время беременности: настоящее и будущее — 9

Киракосян Е.В., Назаренко Т.А., Павлович С.В. Поиск причин формирования нарушений репродуктивной системы: обзор научных исследований — 18

Гапоненко А.А., Митюрина Е.В., Франкевич В.Е. Метаболомный профиль фолликулярной жидкости как маркер качества ооцитов в программах вспомогательных репродуктивных технологий — 26

Бабаян А.А., Макарова Н.П., Кондакова Н.В., Гохберг Я.А., Непша О.С., Калинина Е.А. Анализ маточной жидкости как новая возможность повышения частоты имплантации в программах вспомогательных репродуктивных технологий — 32

Савостина Г.В., Перминова С.Г., Екимов А.Н., Веюкова М.А. Преимплантационное генетическое тестирование эмбрионов на анеуплоидии: возможности, проблемы и перспективы — 42

Башмакова Н.В., Полякова И.Г., Сыманюк Э.Э., Храмцова А.Ю. Консультирование доноров гамет, эмбрионов и суррогатных матерей: проблемы и пути их решения в мировой практике — 50

Гохберг Я.А., Тимофеева А.В., Калинина Е.А. Молекулярные маркеры рецептивности эндометрия в программах вспомогательных репродуктивных технологий — 56

Михайлова Н.Д., Мишиева Н.Г., Кириллова А.О., Мартазанова Б.А., Джинчарадзе Л.Г. Дозревание ооцитов *in vitro* — 64

Чернуха Г.Е., Табеева Г.И., Рштуни С.Д., Машаева Р.И., Черных В.Б., Марченко Л.А. Гены, вовлеченные в развитие преждевременной недостаточности яичников — 71

Зырянов С.К., Бутранова О.И., Ченкуров М.С. Хлорамфеникол: новые возможности старого препарата — 81

Андреева Е.Н., Абсатарова Ю.С. Место альтернативной терапии в алгоритмах ведения пациенток с климактерическим синдромом с позиции персонализированной медицины — 96

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Кулакова Е.В., Непша О.С., Екимов А.Н., Драпкина Ю.С., Макарова Н.П., Ибрагимова Л.К., Сысоева А.П., Калинина Е.А. Реимплантационное генетическое тестирование эмбрионов в программах вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с наружным генитальным эндометриозом — 104

Ибрагимова Л.К., Смольникова В.Ю., Эльдаров Ч.М., Бобров М.Ю., Агаджанян Д.С., Романов Е.А., Калинина Е.А. Особенности метаболомного профиля фолликулярной жидкости и сред культивирования эмбрионов пациенток с наружным генитальным эндометриозом — 114

Непша О.С., Кулакова Е.В., Екимов А.Н., Драпкина Ю.С., Макарова Н.П., Краевая Е.Е., Калинина Е.А. Использование митохондриальной ДНК эмбрионов в качестве предиктора эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий — 125

CONTENTS

PRESS RELEASE

Sukhikh G.T., Dolgushina N.V., Shmakov R.G., Klimov V.A., Yarotskaya E.L., Petrova U.L. Pregnancy outcomes after maternal COVID-19 vaccination during pregnancy: preliminary data — 5

REVIEWS

Shipitsyna E.V., Shirshova N.Yu., Kogan I.Yu. Vaccination during pregnancy: present and future — 9

Kirakosyan E.V., Nazarenko T.A., Pavlovich S.V. Search for the causes of reproductive system disorders: a research review — 18

Gaponenko A.A., Mityurina E.V., Frankevich V.E. The follicular fluid metabolomic profile as a marker for oocyte quality in assisted reproductive technology programs — 26

Babayan A.A., Makarova N.P., Kondakova N.V., Gokhberg Ya.A., Nepsha O.S., Kalinina E.A. Uterine fluid analysis as a new opportunity to increase implantation ratesin assisted reproductive technology programs — 32

Savostina G.V., Perminova S.G., Ekimov A.N., Veyukova M.A. Preimplantation genetic testing for embryo aneuploidy: opportunities, problems, and prospects — 42

Bashmakova N.V., Polyakova I.G., Symaniuk E.E., Khramtsova A.Yu. Consulting gamete and embryo donors and surrogate mothers: problems and their solution ways in world practice — 50

Gokhberg Ya.A., Timofeeva A.V., Kalinina E.A. Molecular markers for endometrial receptivity in assisted reproductive technology programs — 56

Mikhailova N.D., Mishieva N.G., Kirillova A.O., Martazanova B.A., Dzhincharade L.G. *In vitro* oocyte maturation — 64

Chernukha G.E., Tabeeva G.I., Rshtuni S.D., Mashaeva R.I., Chernykh V.B., Marchenko L.A. Genes involved in premature ovarian failure — 71

Zyryanov S.K., Butranova O.I., Chenkurov M.S. Chloramphenicol: new possibilities of the old drug — 81

Andreeva E.N., Absatarova Yu.S. The place of alternative therapy in the algorithms for managing patients with climacteric syndrome in the context of personalized medicine — 96

ORIGINAL ARTICLES

Kulakova E.V., Nepsha O.S., Ekimov A.N., Drapkina Yu.S., Makarova N.P., Ibragimova L.K., Sysoeva A.P., Kalinina E.A. Preimplantation genetic testing of embryos in assisted reproductive technology programs in patients with external genital endometriosis — 104

Ibragimova L.K., Smol'nikova V.Yu., El'darov Ch.M., Bobrov M.Yu., Agadzhanyan D.S., Romanov E.A., Kalinina E.A. Metabolomic profile of follicular fluid and embryo culture media in patients with extragenital endometriosis — 114

Nepsha O.S., Kulakova E.V., Ekimov A.N., Drapkina Yu.S., Makarova N.P., Kraevaya E.E., Kalinina E.A. Value of embryonic mitochondrial DNA in predicting the effectiveness of assisted reproductive technologies — 125

Митюрина Е.В., Перминова С.Г., Кравченко А.В., Козырина Н.В., Векокова М.А., Гапоненко А.А. Морфологические аномалии ооцитов у ВИЧ-инфицированных пациенток, получающих антиретровирусную терапию 135

Шамина М.А., Тимофеева А.В., Федоров И.С., Калинина Е.А. Влияние прегравидарной подготовки на качество ооцитов пациенток в рамках проведения программ вспомогательных репродуктивных технологий 143

Макарова Н.П., Лобанова Н.Н., Кулакова Е.В., Непша О.С., Екимов А.Н., Калинина Е.А. Влияние преимплантационного генетического тестирования на результаты программ вспомогательных репродуктивных технологий у супружеских пар с мужским фактором бесплодия 154

Драпкина Ю.С., Кулакова Е.В., Непша О.С., Екимов А.Н., Макарова Н.П., Калинина Е.А. Оптимизация эмбриологического этапа в программах лечения бесплодия методами ВРТ с применением культуральных сред с гиалуроновой кислотой у супружеских пар с ПГТ-А 166

Мелкозерова О.А., Окулова Е.О., Михельсон А.А., Третьякова Т.Б. Молекулярно-генетические предикторы и состояние овариального резерва при глубоком инфильтративном эндометриозе 175

ОБМЕН ОПЫТОМ

Дмитриева И.Е., Назаренко Т.А., Бурдули А.Г., Полушкина Е.С., Хохлова С.В. Восстановление репродуктивной функции у женщин после лечения неходжкинских лимфом 187

Беспалова О.Н., Жернакова Т.С. Опыт применения препарата Интралипид при ранних репродуктивных потерях 194

Уруймагова А.Т., Прилепская В.Н., Межевитинова Е.А., Донников А.Е., Абакарова П.Р., Довлетханова Э.Р., Гусаков К.И., Одыванова А.А. Эффективность и приемлемость двухэтапной терапии рецидивирующего бактериального вагиноза 202

Квашнина Е.В., Тутаков М.А., Вахлова О.С., Томина Е.В., Шилова Н.В. Влияние заместительной гормональной терапии эстрадиолом в криопротоколах на метаболизм эстрогенов у женщин с различными полиморфизмами гена катехол-О-метилтрансферазы 213

Юреневa С.В., Прокофьева С.В., Спиридонова Н.В., Юрасова Е.А., Ильина Л.М. Оценка удовлетворенности пациенток лечением препаратом Анжелик Микро в течение 13 циклов в реальной клинической практике в России 222

Сутурина Л.В., Дикке Г.Б. Опыт применения у молодых женщин низкодозированной левоноргестрел-содержащей внутриматочной системы LCS16 и комбинированного орального контрацептива, содержащего 30 мкг этинилэстрадиола и 3 мг дроспиренона 230

В ПОМОЩЬ ПРАКТИЧЕСКОМУ ВРАЧУ

Стуклов Н.И., Басиладзе И.Г., Кислый Н.Д. Основные проблемы дефицита железа в России, возможные варианты решений 237

Калугина А.А., Боярский К.Ю., Маколкин А.А., Зверева И.О., Вознесенская Ю.В., Холодов Д.В. Обзор результатов клинических исследований фоллитропина дельта в протоколах овариальной стимуляции. Первый опыт применения в России 246

Костава М.Н. ВПЧ-ассоциированные заболевания в вопросах и ответах 267

ЗАМЕТКИ ИЗ ПРАКТИКИ

Прибушеня О.В., Лазаревич А.А. Монохориальная тройня с синдромом обратной артериальной перфузии близнецов 278

Mityurina E.V., Perminova S.G., Kravchenko A.V., Kozyrina N.V., Veyukova M.A., Gaponenko A.A. Morphological abnormalities in oocytes in patients with HIV infection receiving antiretroviral therapy 135

Shamina M.A., Timofeeva A.V., Fedorov I.S., Kalinina E.A. Assessment of the expression level of hsa_piR_020497 piRNA in the follicular fluid of patients with different in vitro fertilization outcomes 143

Makarova N.P., Lobanova N.N., Kulakova E.V., Nepsha O.S., Ekimov A.N., Kalinina E.A. Impact of preimplantation genetic testing on assisted reproductive technology outcomes in couples with male factor infertility 154

Drapkina Yu.S., Kulakova E.V., Nepsha O.S., Ekimov A.N., Makarova N.P., Kalinina E.A. Improvement of the embryological stage in assisted reproduction treatment with hyaluronan-enriched culture medium in couples using preimplantation genetic testing for aneuploidy 166

Melkozerova O.A., Okulova E.O., Mikhelson A.A., Tretyakova T.B. Molecular genetic predictors and ovarian reserve in women with deep infiltrating endometriosis 175

EXCHANGE OF EXPERIENCE

Dmitrieva I.E., Nazarenko T.A., Burduli A.G., Polushkina E.S., Khokhlova S.V. Fertility outcomes in women after therapy for non-Hodgkin lymphoma 187

Bespalova O.N., Zhernakova T.S. Experience with Intralipid in early reproductive losses 194

Uruimagova A.T., Prilepskaya V.N., Mezhevitinova E.A., Donnikov A.E., Abakarova P.R., Dovletkhanova E.R., Gusakov K.I., Odyvanova A.A. Efficiency and acceptability of two-stage therapy for recurrent bacterial vaginosis 202

Kvashnina E.V., Tutakov M.A., Vakhlova O.S., Tomina E.V., Shilova N.V. Effect of hormone replacement therapy with estradiol in frozen embryo transfer on estrogen metabolism in women with various polymorphisms of catechol-O-methyltransferase gene 213

Yureneva S.V., Prokofieva S.V., Spiridonova N.V., Yurasova E.A., Ilyina L.M. Evaluation of patients' satisfaction with Angeliq Micro in real clinical practice after 13 cycles of treatment in Russia 222

Suturina L.V., Dikke G.B. Experience in the use of low-dosed levonorgestrel-containing intrauterine system LCS16 and combined oral contraceptive containing 30 mcg ethinyl estradiol and 3 mg drospirenone in young women 230

GUIDELINE FOR PRACTITIONER

Stuklov N.I., Basiladze I.G., Kisly N.D. Iron deficiency in Russia: main problems and possible solutions 237

Kalugina A.A., Boyarsky K.Yu., Makolkin A.A., Zvereva I.O., Voznesenskaya Yu.V., Kholodov D.V. Review of the results of clinical studies of follitropin delta in ovarian stimulation protocols. The first experience of its use in Russia 246

Kostava M.N. HPV-associated diseases: questions and answers 267

CLINICAL NOTES

Pribushenya O.V., Lazarevich A.A. Monochorionic-triplet pregnancy with twin reversed arterial perfusion syndrome 278

ПРЕСС-РЕЛИЗ

©Коллектив авторов, 2021

Г.Т. СУХИХ, Н.В. ДОЛГУШИНА, Р.Г. ШМАКОВ, В.А. КЛИМОВ, Е.Л. ЯРОЦКАЯ, У.Л. ПЕТРОВА

ИСХОДЫ БЕРЕМЕННОСТИ У ПАЦИЕНТОК, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ОТ COVID-19 ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ: ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

COVID-19 является опасной инфекцией во время беременности. Установлено, что заболеваемость беременных COVID-19 выше, чем в популяции [1]. Многочисленные исследования свидетельствуют о неблагоприятных исходах беременности и высокой летальности у пациенток с COVID-19 [2–4]. Единственным доказанным способом специфической профилактики заболевания является вакцинация. Исходя из известных данных о влиянии вакцин от COVID-19 на акушерские и перинатальные исходы, нет данных о том, что доступные в настоящее время вакцины представляют опасность для беременных женщин или плода [5], поэтому иностранные национальные ассоциации рекомендуют вакцинацию от COVID-19 беременным женщинам и женщинам в период лактации [6]. В Российской Федерации вакцинация беременных женщин была разрешена с июня 2021 г. вакциной Гам-КОВИД-Вак (Спутник V). Были проведены доклинические исследования, в ходе которых не было выявлено отрицательного влияния Гам-КОВИД-Вак на течение беременности, эмбриофетальное и пренатальное развитие потомства у животных [7].

Цель исследования: Провести анализ осложнений беременности у пациенток, вакцинированных отечественными вакцинами против COVID-19 во время беременности.

Материалы и методы

Собраны данные о 773 женщинах, вакцинированных от COVID-19 во время беременности, предоставленные 26 субъектами РФ: 3 – Республика Бурятия, 4 – Республика Алтай, 7 – Кабардино-Балкарская Республика, 8 – Республика Калмыкия, 10 – Республика Карелия, 11 – Республика Коми, 16 – Республика Татарстан, 18 – Удмуртская Республика, 22 – Алтайский край, 25 – Приморский край, 31 – Белгородская область, 36 – Воронежская область, 37 – Ивановская область, 40 – Калужская область, 44 – Костромская область, 46 – Курская область, 48 – Липецкая область, 58 – Пензенская область, 63 – Самарская область, 67 – Смоленская область, 69 – Тверская область, 71 – Тульская область, 75 – Забайкальский край, 76 – Ярославская область, 89 – Ямало-Ненецкий автономный округ, 92 – г. Севастополь.

Большинство женщин были вакцинированы вакциной Гам-КОВИД-Вак (Спутник V) (91,6%) и получили два компонента вакцины (57,9%).

Большинство пациенток были вакцинированы в I триместре беременности: 683 (88,4%) женщины – до 12 недель, 51 (6,6%) женщина – в сроки от 12 до 22 недель, 39 (5%) женщин – после 22 недель беременности.

Результаты

Беременность завершилась у 157 (20,3%) из 773 женщин, у 616 (79,7%) беременность продолжает развиваться. Искусственный аборт по желанию женщины до 12 недель был выполнен 55 из 773 женщин. Своевременные роды живым плодом произошли у 24 женщин. Рожденные в срок дети были в удовлетворительном состоянии, имели среднюю массу тела 3300 г, оценку по шкале Апгар 8–9 баллов и были выписаны домой на 4–5-е сутки после родов.

Внематочная беременность была диагностирована у 7 (0,9%) из 773 женщин. В 2020 г. в РФ частота внематочной беременности составила 2,6% общего числа беременностей [8, 9].

Преждевременные роды двойней произошли у одной женщины. В 2020 г. в РФ число преждевременных родов составило 5,9% общего числа родов [9]. При COVID-19 частота преждевременных родов в 2–4 раза выше и составляет 14–25% [7].

Частота самопроизвольного выкидыша и пороков развития плода была рассчитана на число женщин, пролонгирующих беременность после 22 недель, число которых суммарно с женщинами, закончившими беременность, составило 488 человек.

Самопроизвольная потеря беременности до 22 недель (самопроизвольный выкидыш или неразвивающаяся беременность) произошла у 65 женщин

Название вакцины	2 компонента	1 компонент	Всего
Гам-КОВИД-Вак (Спутник V)	448 (57,9%)	260 (33,7%)	708 (91,6%)
КовиВак	4 (0,5%)	3 (0,4%)	7 (0,9%)
ЭпиВакКорона	18 (2,3%)	9 (1,2%)	27 (3,5%)
Спутник Лайт	–	31 (4,0%)	31 (4,0%)

(13,3%), из них у 56 (86,2%) потери беременности произошли в I триместре, у 9 (13,8%) – во II триместре. В популяции 15–20% всех клинически диагностированных беременностей заканчиваются выкидышем, из них 80% – до 12 недель беременности [10]. При COVID-19 частота самопроизвольных выкидышей повышается на 25% [11].

Пороки развития плода были выявлены у 5 женщин (1,1%). В 2020 г. в РФ число прерываний беременности в связи с пороками развития плода составило 1,1% общего числа беременностей [9].

Заболеваемость COVID-19 у вакцинированных пациенток была низкой. COVID-19 во время беременности перенесли 16 женщин (2%), из них 15 (93,7%) – в легкой форме, 1 (6,3%) – в среднетяжелой форме.

Заключение

Частота осложнений беременности у пациенток, вакцинированных от COVID-19 во время беременности, была не выше, чем в популяции, и значительно ниже, чем при заболевании COVID-19 во время беременности, что свидетельствует в пользу вакцинации беременных женщин с целью профилактики неблагоприятных перинатальных исходов.

Вклад авторов: Шмаков Р.Г., Долгушина Н.В. – концепция и дизайн исследования, Долгушина Н.В., Климов В.А. – сбор и обработка материала, Долгушина Н.В. – написание текста, Яроцкая Е.Л. – редактирование текста, Петрова У.Л. – оформление статьи, Сухих Г.Т., Шмаков Р.Г. – финальное утверждение рукописи.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Благодарность: Выражаем благодарность за помощь в сборе материала главным внештатным специалистам по акушерству и гинекологии и главным внештатным специалистам по репродуктивному здоровью субъектов и федеральных округов Российской Федерации, предоставивших в оперативном режиме данные по вакцинации женщин во время беременности.

Для цитирования: Сухих Г.Т., Долгушина НВ., Шмаков Р.Г., Климов В.А., Яроцкая Е.Л., Петрова У.Л. Исходы беременности у пациенток, вакцинированных от COVID-19 во время беременности: предварительные данные. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 5-8
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.5-8

Литература

1. *Белокриницкая Т.Е., Артымук Н.В., Филиппов О.С., Фролова Н.И.* Клиническое течение, материнские и перинатальные исходы новой коронавирусной инфекции COVID-19 у беременных Сибири и Дальнего Востока. Акушерство и гинекология. 2021; 2: 48-54. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.2.48-54.
2. *Jafari M., Pormohammad A., Sheikh Neshin S.A., Ghorbani S., Bose D., Alimohammadi S.* et al. Clinical characteristics and outcomes of pregnant women with COVID-19 and comparison with control patients: A systematic review and meta-analysis. Rev. Med. Virol. 2021; 31(5): 1-16.e2208. https://dx.doi.org/10.1002/rmv.2208.
3. *Di Toro F., Gjoka M., Di Lorenzo G., De Santo D., De Seta F., Maso G.* et al. Impact of COVID-19 on maternal and neonatal outcomes: A systematic review and meta-analysis. Clin. Microbiol. Infect. 2021; 27(1): 36-46. https://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2020.10.007.
4. *Liu H., Wang L.L., Zhao S.J., Kwak-Kim J., Mor G., Liao A.H.* Why are pregnant women susceptible to COVID-19? An immunological viewpoint. J. Reprod. Immunol. 2020; 139: 103122. https://dx.doi.org/10.1016/j.jri.2020.103122.
5. *Shimabukuro T.T., Kim S.Y., Myers T.R., Moro P.L., Oduyebo T., Panagiotakopoulos L.* et al. Preliminary findings of mRNA COVID-19 vaccine safety in pregnant persons. N. Engl. J. Med. 2021; 384(24): 2273-82. https://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2104983.
6. https://www.rcog.org.uk/en/guidelines-research-services/coronavirus-covid-19-pregnancy-and-womens-health/covid-19-vaccines-and-pregnancy/
7. Временные методические рекомендации Минздрава России «Организация оказания медицинской помощи беременным, роженицам, родильницам и новорожденным при новой коронавирусной инфекции COVID-19». Версия 4 (01.07.2021 г.).
8. Статистическая отчетная форма Минздрава России №13 «Сведения о беременности с абортивным исходом».
9. Статистическая отчетная форма Минздрава России №32 «Отчет о медицинской помощи беременным, роженицам и родильницам».
10. Российское общество акушеров-гинекологов (РОАГ). Клинические рекомендации «Выкидыш (самопроизвольный аборт)». 2021.
11. *Sacinti K.G., Kalafat E., Sukur Y.E., Koc A.* Increased incidence of first-trimester miscarriage during the COVID-19 pandemic. Ultrasound Obstet. Gynecol. 2021; 57(6): 1013-4. https://dx.doi.org/10.1002/uog.23655.

Поступила 17.11.2021
Принята в печать 19.11.2021

Сведения об авторах:
Сухих Геннадий Тихонович, академик РАН, д.м.н., директор НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России, +7(495)438-18-00, g_sukhikh@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-7712-1260, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Долгушина Наталия Витальевна, д.м.н., профессор, заместитель директора – руководитель департамента организации научной деятельности, НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России, +7(495)438-49-77, n_dolgushina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0001-1116-138X, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Шмаков Роман Георгиевич, д.м.н., профессор РАН, главный внештатный специалист по акушерству МЗ РФ, директор Института акушерства, НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России, +7(495)438-73-00, r_shmakov@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-2206-1002, 117997, Россия, Москва,ул. Академика Опарина, д. 4.
Климов Владимир Анатольевич, к.м.н., руководитель службы организации медицинской помощи, НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России, +7(977)937-62-27, Klimov12008@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0002-4699-7614, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Яроцкая Екатерина Львовна, д.м.н., доцент, заведующая отделом международного сотрудничества, НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России, +7(495)438-11-66, e_yarotskaya@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0003-0335-9660, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Петрова Ульяна Леонидовна, аспирант, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(991)118-24-31, u_petrova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0003-0388-3104, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

©A group of authors, 2021

G.T. SUKHIKH, N.V. DOLGUSHINA, R.G. SHMAKOV, V.A. KLIMOV,
E.L. YAROTSKAYA, U.L. PETROVA

PREGNANCY OUTCOMES AFTER MATERNAL COVID-19 VACCINATION DURING PREGNANCY: PRELIMINARY DATA

V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology of Minzdrav of Russia, Moscow, Russia

COVID-19 significantly raises risk during pregnancy. Currently, available evidence suggests that pregnant women are more susceptible to COVID-19 than the general population [1]. Pregnant women with COVID-19 are at increased risk of severe illness, death, and adverse pregnancy outcomes [2–4]. The most effective way to prevent the disease is vaccination. Current research evidence suggests that approved COVID-19 vaccines are safe, effective, and unlikely to pose any dangers to pregnant women or fetuses [5]. National and international associations issued guidelines supporting COVID-19 vaccination in pregnant and lactating women [6]. In the Russian Federation, vaccination of pregnant women with the Gam-COVID-Vac (Sputnik V) vaccine has been permitted since June 2021. Results of animal preclinical studies suggest no adverse impact of the Gam-COVID-Vac vaccine on the course of pregnancy and fetal, embryonic, and prenatal development of offspring [7].

Objective: This study aimed to analyze pregnancy complications after maternal COVID-19 vaccination with domestic vaccines during pregnancy.

Materials and methods

The study analyzed medical records on 773 women vaccinated against COVID-19 during pregnancy. The data were provided by 26 regions of the Russian Federation, including that on 3 women from the Republic of Buryatia, 4 from the Republic of Altai, 7 from the Kabardino-Balkar Republic, 8 from the Republic of Kalmykia, 10 from the Republic of Karelia, 11 from the Republic Komi, 16 from the Republic of Tatarstan, 18 from the Udmurt Republic, 22 from Altai Krai, 25 from Primorsky Krai, 31 from Belgorod Region, 36 from Voronezh Region, 37 from Ivanovo Region, 40 from Kaluga Region, 44 from Kostroma Region, 46 from Kursk Region, 48 from Lipetsk Region, 58 from Penza Region, 63 from Samara Region, 67 from Smolensk Region, 69 from Tver Region, 71 from Tula Region, 75 from Trans-Baikal Krai, 76 from Yaroslavl Region, 89 from Yamalo-Nenets Autonomous Okrug, and 92 from Sevastopol.

Most of the women were vaccinated with Gam-COVID-Vac (Sputnik V) vaccine (91.6%) and received two vaccine doses (57.9%).

Most of the patients were vaccinated in the first trimester of pregnancy, including 683 (88.4%), 51 (6.6%), and 39 (5%) before 12 weeks, from 12 to 22 weeks, and after 22 weeks of pregnancy, respectively.

Results

Pregnancy was completed in 157 (20.3%) of 773 women, and in 616 (79.7%), pregnancy continues to develop. Induced abortion before 12 weeks gestation at the woman's request was performed in 55 out of 773 women. In 24 women, pregnancy resulted in a full-term live birth. The term newborns were in satisfactory condition with a mean birth weight of 3300 g, Apgar score of 8–9, and were discharged home 4–5 days after delivery.

Ectopic pregnancy was diagnosed in 7 (0.9%) of 773 women. In 2020, the ectopic pregnancy rate in the Russian Federation was 2.6% of the total number of pregnancies [8, 9].

One woman gave birth to preterm twins. In 2020, the preterm birth rate in the Russian Federation was 5.9% of the total number of births [9]. During the COVID-19 pandemic, the preterm birth rate is 2–4 times higher and amounts to 14–25% [7].

Spontaneous miscarriage rate and fetal malformation rate were calculated for completed pregnancies above 22 weeks' gestation (n=488).

Spontaneous pregnancy loss before 22 weeks (spontaneous miscarriage or missed miscarriage) occurred in 65 women (13.3%), of whom 56 (86.2%) and 9 (13.8%) lost their pregnancies in the first and second trimester, respectively. In the population, 15–20% of all clinically diagnosed pregnancies end in miscarriage,

Vaccine name	2 doses	1 dose	Total
Gam-COVID-Vac (Sputnik V)	448 (57.9%)	260 (33.7%)	708 (91.6%)
CoviVac	4 (0.5%)	3 (0.4%)	7 (0.9%)
EpiVacCorona	18 (2.3%)	9 (1.2%)	27 (3.5%)
Sputnik Light	–	31 (4.0%)	31 (4.0%)

80% before 12 weeks of pregnancy [10]. During the COVID-19 pandemic, the incidence of spontaneous miscarriage was increased by 25% [11].

Fetal malformations were diagnosed in 5 women (1.1%). In 2020, in the Russian Federation induced abortion rate due to fetal malformations was 1.1% of the total number of pregnancies [9].

The incidence of COVID-19 in vaccinated patients was low. Sixteen women (2%) suffered COVID-19 during pregnancy, of whom in 15 (93.7%) and 1 (6.3%), the disease was mild and moderate, respectively.

Conclusion

The incidence of pregnancy complications after COVID-19 vaccination during pregnancy was no higher than in the population, and it was significantly lower than in women with COVID-19 during pregnancy. This observation emphasizes the need to vaccinate pregnant women to prevent adverse perinatal outcomes.

Aurthors' contributions: Shmakov R.G., Dolgushina N.V. – concept and design of the study, Dolgushina N.V., Klimov V.A. – collection and processing of the material, Dolgushina N.V. – writing the text, Yarotskaya E.L. – editing the text, Petrova U.L. – design of the article, Sukhoi G.T., Shmakov R.G. – final approval of the manuscript.

Conflicts of interest: The authors have no conflicts of interest to declare.

Funding: There was no funding for this study.

Acknowledgement: The authors express their gratitude to the chief non-staff specialists in obstetrics and gynecology and reproductive health of federal districts and subjects of the Russian Federation for their contribution to collecting data on vaccination of pregnant women.

For citation: Sukhikh G.T., Dolgushina N.V., Shmakov R.G., Klimov V.A., Yarotskaya E.L., Petrova U.L. Pregnancy outcomes after maternal COVID-19 vaccination during pregnancy: preliminary data.Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 5-8 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.5-8

References

1. *Belokrinitskaya T.E., Artymuk N.V., Filippov O.S., Frolova N.I.* Clinical course, maternal and perinatal outcomes of 2019 novel coronavirus infectious disease (COVID-19) in pregnant women in Siberia and Far East. Obstetrics and Gynecology. 2021; 2: 48-54. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.2.48-54.
2. *Jafari M., Pormohammad A., Sheikh Neshin S.A., Ghorbani S., Bose D., Alimohammadi S.* et al. Clinical characteristics and outcomes of pregnant women with COVID-19 and comparison with control patients: A systematic review and meta-analysis. Rev. Med. Virol. 2021; 31(5): 1-16.e2208. https://dx.doi.org/10.1002/rmv.2208.
3. *Di Toro F., Gjoka M., Di Lorenzo G., De Santo D., De Seta F., Maso G.* et al. Impact of COVID-19 on maternal and neonatal outcomes: A systematic review and meta-analysis. Clin. Microbiol. Infect. 2021; 27(1): 36-46. https://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2020.10.007.
4. *Liu H., Wang L.L., Zhao S.J., Kwak-Kim J., Mor G., Liao A.H.* Why are pregnant women susceptible to COVID-19? An immunological viewpoint. J. Reprod. Immunol. 2020; 139: 103122. https://dx.doi.org/10.1016/j.jri.2020.103122.
5. *Shimabukuro T.T., Kim S.Y., Myers T.R., Moro P.L., Oduyebo T., Panagiotakopoulos L.* et al. Preliminary findings of mRNA COVID-19 vaccine safety in pregnant persons. N. Engl. J. Med. 2021; 384(24): 2273-82. https://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2104983.
6. https://www.rcog.org.uk/en/guidelines-research-services/coronavirus-covid-19-pregnancy-and-womens-health/covid-19-vaccines-and-pregnancy/
7. Temporary methodological recommendations of the Ministry of Health of the Russian Federation "Organization of medical care for pregnant women, women in labor, maternity and newborns with a new coronavirus infection COVID-19". Version 4 (01.07.2021). (in Russian)].
8. Statistical report form of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 13 "Information on pregnancy with abortive outcome". (in Russian)].
9. Statistical reporting form of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 32 "Report on medical care for pregnant women, women in labor and maternity hospitals". (in Russian)].
10. Russian Society of Obstetricians and Gynecologists (ROAG). Clinical recommendations "Miscarriage (spontaneous abortion)". 2021. (in Russian)].
11. *Sacinti K.G., Kalafat E., Sukur Y.E., Koc A.* Increased incidence of first-trimester miscarriage during the COVID-19 pandemic. Ultrasound Obstet. Gynecol. 2021; 57(6): 1013-4. https://dx.doi.org/10.1002/uog.23655.

Received 17.11.2021
Accepted 19.11.2021

Authors' information:
Gennady T. Sukhikh, MD, PhD, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, +7(495)438-18-00, g_sukhikh@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-7712-1260, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Nataliya V. Dolgushina, MD, PhD, Professor, Deputy Director – Head of the Department of Research and Development, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, +7(495)438-49-77, n_dolgushina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0001-1116-138X, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Roman G. Shmakov, MD, PhD, Professor of the Russian Academy of Sciences, Head Specialist in Obstetrics of Ministry of Health of Russia, Director of the Institute of Obstetrics, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, +7(495)438-72-00, r_shmakov@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-2206-1002, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Vladimir A. Klimov, PhD, Head of the Medical care organization service, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, +7(977)937-62-27, Klimov12008@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0002-4699-7614, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Ekaterina L. Yarotskaya, MD, PhD, Associate Professor, Head of the Department of International Cooperation, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, +7(495)438-11-66, e_yarotskaya@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0003-0335-9660, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Uliana L. Petrova, PhD student, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, +7(991)118-24-31, u_petrova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0003-0388-3104, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.

ОБЗОРЫ

©Коллектив авторов, 2021

Е.В. ШИПИЦЫНА[1], Н.Ю. ШИРШОВА[2], И.Ю. КОГАН[1]

ВАКЦИНАЦИЯ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ: НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ

[1]ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия
[2]СПбГУЗ «Городская поликлиника № 32», Санкт-Петербург, Россия

Вакцинация во время беременности – одна из наиболее эффективных и перспективных стратегий предотвращения заболеваемости и смертности по инфекционным причинам среди беременных женщин и новорожденных детей, находящая все более широкое применение во всем мире. Высокая эффективность и безопасность вакцинации беременных женщин были показаны для ряда важных инфекций, таких как грипп, коклюш, столбняк. По мере накопления данных об эффективности и безопасности вакцинопрофилактики новой коронавирусной инфекции во время беременности все большее число стран включает ее в приоритетные программы вакцинации. В последние годы достигнут прогресс в разработке новых вакцин, предназначенных главным образом для использования во время беременности (вакцины против стрептококка группы В, респираторно-синцитиального вируса, цитомегаловируса). По данным многих исследований, рекомендация акушера-гинеколога о вакцинации с предоставлением достаточной информации о необходимости и безопасности вакцинации для женщины и новорожденного ребенка является ключевым фактором для принятия беременной женщиной решения вакцинироваться.

***Заключение:** В данном обзоре представлен анализ литературы относительно основных аспектов вакцинации во время беременности: эффективности и безопасности, рекомендуемых в настоящее время вакцин и факторов, влияющих на отношение беременных женщин к вакцинации. Обсуждены вопросы вакцинации беременных женщин от новой коронавирусной инфекции и перспективные направления и разработки в области вакцинопрофилактики во время беременности.*

***Ключевые слова:** вакцинация во время беременности, грипп, коклюш, столбняк, SARS-CoV-2.*

Вклад авторов: Шипицына Е.В. – концепция и дизайн, поиск и анализ литературы, написание текста; Ширшова Н.Ю., Коган И.Ю. – концепция и дизайн, поиск и анализ литературы, редактирование текста.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование: Работа выполнена без финансовой поддержки.

Для цитирования: Шипицына Е.В., Ширшова Н.Ю., Коган И.Ю. Вакцинация во время беременности: настоящее и будущее. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 9-16
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.9-16

©A group of authors, 2021

E.V. SHIPITSYNA[1], N.YU. SHIRSHOVA[2], I.YU. KOGAN[1]

VACCINATION DURING PREGNANCY: PRESENT AND FUTURE

[1]D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology, Saint Petersburg, Russia
[2]City Polyclinic No. 32, Saint Petersburg, Russia

Vaccination during pregnancy, which is finding increasing use worldwide, is one of the most effective and promising strategies for preventing morbidity and mortality from infectious diseases among pregnant women and newborn babies. Vaccination for pregnant women has been shown to be highly effective and safe in a number of important infections, such as influenza, pertussis, and tetanus. As there is more evidence that vaccination during pregnancy against the novel coronavirus infection is effective and safe, an increasing number of countries include it in priority vaccination programs. In recent years, progress has been made to design new vaccines against Group B streptococcus, respiratory syncytial virus, and cytomegalovirus, which are designed mainly for pregnant women. According to many studies, an obstetrician/gynecologist's vaccination recommendation with sufficient information on the need and safety of vaccination for a woman and a newborn baby is a key factor for a pregnant woman's decision to get vaccinated.

***Conclusion:** This review analyzes the literature on the main aspects of vaccination during pregnancy: the efficacy and safety of currently recommended vaccines and the factors influencing the attitude of pregnant women to vaccination. It discusses the issues of pregnant women's vaccination against the novel coronavirus infection and the promising areas and developments in vaccination during pregnancy.*

Keywords: *vaccination during pregnancy, influenza, pertussis, tetanus, SARS-CoV-2.*

Authors' contributions: Shipitsyna E.V. – concept and design of the investigation; search for and analysis of the literature; Shirshova N.Yu., Kogan I.Yu. – concept and design of the investigation; search for and analysis of the literature; editing the text.
Conflicts of interest: The authors declare that there are no conflicts of interest.
Funding: The investigation has not been sponsored.

For citation: Shipitsyna E.V., Shirshova N.Yu., Kogan I.Yu. Vaccination during pregnancy: present and future. Akusherstvo i Ginekologiya/ Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 9-16 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.9-16

За последние несколько десятилетий был достигнут существенный прогресс в области организации помощи беременным женщинам и родовспоможения, однако проблема материнской и младенческой смертности глобально до сих пор не решена. По данным Всемирной организация здравоохранения (ВОЗ), в мире в 2014 г. по предотвратимым причинам умерли 5,9 млн детей в возрасте до 5 лет [1]. Немногим меньше половины из них (2,7 млн) – это новорожденные дети, при этом 60–80% – недоношенные и/или маловесные дети. Почти половина случаев детской смертности в возрасте до 5 лет напрямую или косвенно связана с неполноценным питанием. Подавляющее большинство остальных случаев детской смертности вызвано инфекционными болезнями – пневмонией, диареей, малярией, ВИЧ/СПИД. Смерть большинства детей может быть предотвращена с помощью доступных, хорошо известных мер, в первую очередь иммунизации [1].

Вакцины против туберкулеза, гепатита В, полиомиелита, столбняка, коклюша, дифтерии, ротавируса, кори, инфекции, вызываемой *Haemophilus influenzae* типа b (Hib), вводятся миллионам младенцев, предотвращая 2,5 млн смертей ежегодно [2]. Количество ежегодно вакцинируемых младенцев – более 116 млн, или 86% всех родившихся детей, достигло рекордно высокого уровня. С 2010 по 2017 гг. показатель смертности детей в возрасте до 5 лет снизился на 24%, в основном благодаря иммунизации [3].

Отдельного внимания заслуживают стратегии вакцинации, направленные на предотвращение смертности среди новорожденных детей. Учитывая, что в настоящее время почти половина смертей среди детей в возрасте до 5 лет приходится на период новорожденности и большая часть этих смертей вызвана инфекциями, эти стратегии обладают огромным потенциалом снижения детской смертности. К таким стратегиям относятся вакцинация новорожденного ребенка и вакцинация женщины во время беременности для индукции защитных антител, которые передаются ребенку. Защита может быть улучшена путем интеграции этих подходов [2].

Вакцинация во время беременности, как и в целом использование лекарств во время беременности, на протяжении десятилетий является предметом этических дискуссий. До недавнего времени преобладающий этический подход к вакцинации во время беременности основывался на принципе предосторожности, ограничивающем внедрение новых вмешательств. Такой подход в сочетании с неприятием риска производителями вакцин привел к исключению беременных женщин из испытаний вакцин и, соответственно, к пробелам в доказательствах безопасности и эффективности вакцин среди беременных. В последние годы в связи с повышенным вниманием к потенциалу вакцинации во время беременности были пересмотрены соответствующие этические подходы, что привело к определенным изменениям в этой области [4].

Целью данного обзора был анализ литературы, охватывающей основные аспекты вакцинации во время беременности: эффективность и безопасность рекомендуемых в настоящее время вакцин и факторы, влияющие на отношение беременных женщин к вакцинации. Обсуждены вопросы вакцинации беременных женщин от коронавирусного заболевания 2019 г. (COVID-19) и перспективные разработки в области вакцинопрофилактики во время беременности.

Эффективность и безопасность вакцин, рекомендуемых во время беременности

Текущие стратегии вакцинации во время беременности

Иммунизация беременных женщин для защиты матери, плода и новорожденного ребенка от инфекции находит все более широкое применение во всем мире, в странах как с низким и средним уровнем доходов, так и с высоким уровнем доходов [4]. Первые доказательства защитного действия вакцинации (против оспы) во время беременности были зарегистрированы еще в конце XIX в. [5]. Многочисленные вспышки инфекций, включая пандемии, жертвами которых часто становились беременные женщины и младенцы, в совокупности с достижениями в области вакцинопрофилактики инфекций в конечном итоге привели к смене парадигмы в исследованиях и политике в отношении вакцинации беременных женщин [5].

Вакцинация во время беременности индуцирует образование или повышение уровня специфических материнских антител, которые затем передаются ребенку. Иммуноглобулины G в основном передаются через плаценту в III триместре беременности, в то время как секреторный иммуноглобулин А проходит через грудное молоко [6, 7]. Уровни материнских антител, передаваемых ребенку через плаценту, многократно возрастают в течение последних недель беременности. Эти антитела обеспечивают защиту новорожденного от инфекций в раннем возрасте. Важное отличие вакцинации беременной женщины от вакцинации новорожденного ребенка – это временный характер защиты, обеспечиваемой материнскими антителами, которые функционально сохра-

няются у младенцев только в течение нескольких месяцев. Однако это те самые несколько месяцев, когда ребенок чрезвычайно уязвим для инфекций [2].

Важно подчеркнуть, что вакцинация беременной женщины защищает не только ребенка, но и женщину. В настоящее время ВОЗ, национальными агентствами здравоохранения и профильными профессиональными сообществами целого ряда стран рекомендуется рутинная вакцинация беременных женщин против гриппа (с использованием инактивированных 3- или 4-валентных вакцин), коклюша (с использованием комбинации бесклеточной коклюшной вакцины, дифтерийного анатоксина в сниженной концентрации и столбнячного анатоксина) и столбняка (с использованием столбнячного анатоксина или комбинации столбнячного и дифтерийного анатоксинов) [4]. При наличии факторов риска и по медицинским показаниям может проводиться вакцинация против гепатитов А и В, менингококковых и пневмококковых инфекций, полиомиелита и некоторых других инфекций с использованием инактивированных вакцин [4]. Вакцинация во время беременности неизменно вызывает опасения по поводу безопасности; однако вакцины, которые в настоящее время вводят беременным женщинам, имеют отличные характеристики безопасности [8]. Живые вакцины в настоящее время не рекомендуются во время беременности ввиду теоретической возможности передачи живого патогена ребенку, однако практически эта возможность реализуется крайне редко [9].

Вакцинопрофилактика гриппа

Беременные женщины подвержены повышенному риску тяжелых осложнений гриппа и госпитализации [10]. Тяжесть гриппа возрастает с каждым триместром, и наиболее высокая заболеваемость наблюдается у беременных с сопутствующими заболеваниями, такими как нарушения обмена веществ и хронические заболевания легких [11]. Инфицирование гриппом во время беременности связано с неблагоприятными перинатальными исходами [12]. Кроме того, дети в возрасте до 6 месяцев подвержены высокому риску тяжелого гриппа и связанных с ним осложнений с высокими показателями госпитализации и смертности [12]. На сегодняшний день ни одна вакцина против гриппа не одобрена для использования у детей младше 6 месяцев. Таким образом, защиты детей в первые месяцы жизни можно добиться только вакцинацией беременных женщин.

Пандемия гриппа H1N1 2009–2010 гг. привела к увеличению доли беременных женщин и детей раннего возраста среди прививаемых лиц и значительно расширила список стран, включивших вакцинацию беременных против гриппа в приоритетные национальные программы здравоохранения. В настоящее время ВОЗ и многие национальные агентства здравоохранения рекомендуют вакцинацию беременных женщин от гриппа одной дозой инактивированной вакцины перед началом сезона гриппа; при этом вакцинация может проводиться во время любого триместра беременности [10]. Вакцинация беременных женщин против гриппа снижает риск заболевания гриппом легкой и средней степени тяжести вдвое [13], а риск госпитализации беременной женщины с гриппом – в среднем на 40% [14]. Вакцинация беременных против гриппа доказала свою эффективность, обеспечив профилактику лабораторно подтвержденных случаев гриппа у 35–70% матерей и 28–61% младенцев в возрасте до 6 месяцев [15]. Иммунизация беременных инактивированной вакциной против гриппа безопасна как для женщины, так и для плода, о чем свидетельствуют многочисленные исследования [8].

В Российской Федерации вопрос вакцинопрофилактики гриппа также остро встал в связи с пандемической угрозой 2009–2010 гг. В настоящее время в соответствии с Приказом №125н Минздрава России от 21.03.2014 «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям» беременные женщины включены в контингенты, подлежащие вакцинации против гриппа [16].

Вакцинопрофилактика коклюша

Несмотря на наличие успешных программ всеобщей вакцинации против коклюша (83% глобального охвата вакциной против коклюша, дифтерии, столбняка (КДС) в 2020 г.) [17], в последние годы в некоторых странах наблюдался рост заболеваемости коклюшем; при этом самые высокие показатели заболеваемости и смертности отмечались у детей в возрасте до 1 года [18]. Поскольку вакцинация против коклюша начинается не раньше 6-недельного (в России – 3-месячного) возраста, в этот период (так называемое окно восприимчивости) ребенок не защищен от коклюшной инфекции. Вспышки заболеваемости коклюшем и уязвимость младенцев перед заболеванием подтолкнули органы здравоохранения многих стран рекомендовать иммунизацию против коклюша с использованием комбинации бесклеточной коклюшной вакцины, дифтерийного анатоксина в сниженной концентрации и столбнячного анатоксина (бКДС) для всех беременных женщин во II или III триместре беременности [19]. Вакцинация беременных женщин вакциной бКДС вызывает аналогичный гуморальный ответ по сравнению с небеременными женщинами, и текущая стратегия материнской вакцинации против коклюша является безопасной стратегией для матери, плода и младенца [8, 20]. В целом уровни антител, специфичных для коклюша, довольно быстро снижаются, и уже через 1 год после вакцинации матери бКДС титры антител значительно ниже [21]. Это наблюдение обосновывает необходимость бустерной вакцинации при последующих беременностях. Недавние исследования показывают, что иммунизация матерей вакциной бКДС во II или III триместре беременности предотвращает коклюш как минимум у 9 из 10 младенцев в возрасте до 6 месяцев [22]. Относительно оптимальных сроков вакцинации против коклюша, последние данные показывают, что вакцинация во II триместре приводит к индукции значительно более высоких уровней антител у доношенных детей по сравнению с иммунизацией в III триместре [23].

Вакцинопрофилактика столбняка

Столбняк матерей и новорожденных является важной причиной материнской и неонатальной заболеваемости и смертности в странах мира с низким уровнем дохода. Материнский столбняк, определяемый как столбняк во время беременности или в течение 6 недель после родов, связан с выкидышем, абортом и антисанитарными условиями родов, тогда как неонатальный столбняк вторичен и является следствием ненадлежащего послеродового ухода за пуповиной [24]. В начале 1980-х гг. неонатальный столбняк приводил к более полумиллиону смертей во всем мире, поэтому в 1989 г. Всемирная ассамблея здравоохранения запустила Программу ликвидации столбняка у матерей и новорожденных, основным инструментом которой явилась иммунизация беременных женщин [25]. Неиммунизированным беременным женщинам или беременным женщинам с неизвестным статусом вакцинации против столбняка рекомендуют получать две дозы столбнячного анатоксина с интервалом не менее 4 недель. Первую дозу следует вводить как можно раньше во время беременности, а последнюю – не менее чем за 2 недели до родов. Всего 5 доз считаются достаточными для пожизненного иммунитета, поэтому дополнительные дозы следует вводить во время последующих беременностей или с интервалами не менее 1 года [25]. После запуска этой программы смертность от материнского и неонатального столбняка существенно снизилась – более чем на 90% по сравнению с началом 1980-х гг., а в 2018 г. большинство из охваченных Программой стран достигли элиминации материнского и неонатального столбняка [26]. Обширные и длительные исследования показали, что вакцина на основе столбнячного анатоксина имеет хороший профиль безопасности у беременных [8, 9].

Вакцинопрофилактика COVID-19

В самом начале пандемии COVID-19 возникла серьезная озабоченность по поводу влияния тяжелого острого респираторного синдрома, вызванного коронавирусом 2 (SARS-CoV-2), на течение и исходы беременности [27]. COVID-19 во время беременности связан со значительным риском заболеваемости и смертности среди беременных женщин и новорожденных детей [28–30]. Осложнения беременности более вероятны у женщин с ранее существовавшими сопутствующими заболеваниями, такими как избыточный вес, диабет, гипертония, сердечные и хронические респираторные заболевания [31]. Таким образом, беременные женщины и новорожденные дети, как особенно уязвимые группы, нуждаются в защите путем вакцинации, однако безопасность новых, не испытанных в популяциях беременных женщин вакцин является предметом серьезной озабоченности.

Исключение беременных женщин из клинических испытаний вакцин является давней проблемой. В связи с этим рекомендации по вакцинации беременных женщин обычно основываются на небольшом количестве данных. Так это было, например, с первоначальными рекомендациями для инактивированных противогриппозных вакцин, хотя впоследствии проведенные надлежащим образом испытания подтвердили эти рекомендации. Основанием для рекомендаций по вакцинированию беременных женщин могут также служить данные, полученные при непреднамеренном вакцинировании достаточно большого числа беременных, как это было, например, с конъюгированной вакциной против менингококка А [32]. В последние годы были опубликованы международные рекомендации, поддерживающие включение беременных в клинические испытания новых вакцин, а впоследствии, во время быстрого появления SARS-CoV-2, многие эксперты в области здравоохранения выступили за включение беременных в испытания вакцин против SARS-CoV-2 [33, 34]. Вопреки этим рекомендациям и несмотря на потенциально серьезнейшие последствия инфекции SARS-CoV-2, беременные женщины были исключены из первоначальных клинических испытаний всех применяемых сегодня вакцин против SARS-CoV-2.

На сегодняшний день данные, описывающие безопасность и эффективность вакцин против SARS-CoV-2 при беременности, ограниченны. Тем не менее во многих странах ведутся электронные регистры наблюдения за состоянием вакцинированных лиц, и данные из этих регистров предоставляют важную информацию о безопасности и эффективности вакцин, в том числе среди беременных женщин. Так, в исследовании Центров по контролю и профилактике заболеваний США были проанализированы данные 30 000 женщин, иммунизированных против SARS-CoV-2 с использованием мРНК вакцин (примерно равного количество вакцин производства Pfizer-BioNTech и Moderna) [35]. Сообщений о серьезных реакциях у беременных женщин было не больше, чем от небеременных, за исключением тошноты и рвоты, которые наблюдались несколько чаще среди беременных, но только после получения второй дозы. Далее было проанализировано 827 исходов беременности, и показатели самопроизвольного выкидыша, осложнений беременности, преждевременных родов и врожденных дефектов среди вакцинированных и невакцинированных женщин были сопоставимы [35].

Эффективность вакцины производства Pfizer-BioNTech среди беременных женщин была оценена также в масштабном исследовании по типу случай-контроль в Израиле с использованием электронного регистра беременных [36]. Исследование включило 7530 беременных женщин, получивших первую дозу вакцины в сроки не менее 4 недель до включения в исследование, и столько же невакцинированных беременных женщин, сопоставимых с вакцинированными по возрасту, гестационному сроку, региону проживания, группе населения и статусу иммунизации против гриппа. Исследование показало, что риск заражения SARS-CoV-2 был значительно ниже в группе вакцинированных женщин по сравнению с невакцинированными.

Еще одно исследование, направленное на оценку иммуногенности и реактогенности мРНК вакцин от SARS-CoV-2 у беременных и кормящих женщин по сравнению с небеременными женщинами и беременными женщинами с COVID-19, показало, что мРНК

вакцины генерируют устойчивый гуморальный иммунитет у беременных и кормящих женщин с иммуногенностью и реактогенностью, аналогичными тем, которые наблюдаются у небеременных женщин [37]. Показатели иммунного ответа, индуцированные вакциной, были статистически значимо выше по сравнению с естественной инфекцией. Передача антител против COVID-19 новорожденным происходит через плаценту и грудное молоко [37].

Неживые вакцины против SARS-CoV-2 на основе мРНК или аденовирусных векторов не вызывают больших опасений относительно безопасности для женщины и ребенка, в том числе относительно тератогенного действия [34]. По мере того, как накапливаются данные относительно безопасности и эффективности вакцин против SARS-CoV-2 у беременных женщин, все большее число национальных регуляторных органов и профессиональных сообществ во всем мире рекомендуют рутинную вакцинацию беременных и кормящих женщин [34]. В Российской Федерации вакцинация беременных женщин от COVID-19 регламентируется двумя документами Минздрава России (обновлены в конце июля 2021 г.), а именно методическими рекомендациями «Организация оказания медицинской помощи беременным, роженицам, родильницам и новорожденным при новой коронавирусной инфекции COVID-19» [38] и временными методическими рекомендациями о вакцинации взрослого населения от COVID-19 [39]. Из этих документов следует, что вакцинировать беременных следует в случаях, когда ожидаемая польза для матери превышает потенциальный риск для плода. Вакцинация показана беременным женщинам с высоким риском развития тяжелой формы COVID-19: женщинам с ожирением, хроническими заболеваниями легких, сахарным диабетом, сердечно-сосудистыми заболеваниями, онкологическими заболеваниями, хронической болезнью почек, заболеваниями печени. Вакцинацию следует проводить с использованием препарата «Гам-КОВИД-Вак (Спутник V)», начиная с 22 недель беременности [39]. Отмечается, что клинические данные по применению вакцины Гам-КОВИД-Вак у женщин, кормящих грудью, отсутствуют. Поэтому исключить риск для новорожденных/младенцев, находящихся на грудном вскармливании, нельзя. В связи с этим применение вакцины Гам-КОВИД-Вак в период грудного вскармливания противопоказано [38].

Перспективы перинатальной вакцинопрофилактики инфекций

Потенциал иммунизации во время беременности обширен, и в настоящее время разрабатывается несколько новых вакцин, предназначенных главным образом для использования во время беременности [5]. В первую очередь речь идет о вакцинопрофилактике инфекций, вызываемых стрептококками группы В (СГВ). СГВ является ведущей причиной инвазивных бактериальных заболеваний новорожденных, способных приводить к смерти или тяжелым неврологическим последствиям. Во время беременности СГВ-инфекции могут привести к мертворождению, преждевременным родам, послеродовому эндометриту [40]. Вакцинация беременных женщин обладает потенциалом предотвращать не только ранние (первая неделя жизни), но и поздние (8–90 дней жизни) инфекции у новорожденных детей, а также послеродовые инфекции у женщин. На данный момент несколько компаний испытывают вакцины против СГВ, направленные главным образом на капсульные полисахариды возбудителя. В фазах 1 и 2 клинических испытаний несколько вакцин показали хорошую переносимость и иммуногенность [41, 42]. Оценка клинической эффективности вакцины в фазе 3 затруднена ввиду низкой распространенности инвазивных неонатальных СГВ-инфекций, а также использования во многих странах интранатальной антибиотикопрофилактики. В этих условиях определение коррелятов иммунной защиты, то есть уровня естественно приобретенных материнских антител против СГВ, способного обеспечить иммунную защиту от СГВ-инфекции, представляется актуальной задачей.

Еще одна важнейшая мишень вакцинопрофилактики во время беременности – респираторно-синцитиальный вирус (РСВ). РСВ является основной причиной госпитализаций младенцев с инфекциями нижних дыхательных путей [43]. По оценкам, в 2015 г. во всем мире по поводу РСВ-ассоциированной инфекции нижних дыхательных путей было госпитализировано около 3,2 млн детей в возрасте до 5 лет, и 118 000 госпитализированных детей скончались; при этом более 40% госпитализаций и почти половина смертей произошли у младенцев в возрасте до 6 месяцев [43]. В настоящее время вакцинация беременных женщин считается наиболее перспективной стратегией защиты младенцев от РСВ. Несколько вакцин в настоящее время находятся на разных стадиях разработки и могут быть доступны в течение нескольких лет [43]. Одна из этих вакцин, вакцина с наночастицами против белка F РСВ (Novavax), уже была протестирована на 4636 беременных женщинах в рамках фазы III международного клинического испытания [44]. К сожалению, данная вакцина не показала значимой эффективности против основной конечной точки, а именно, клинически выраженной инфекции нижних отделов респираторного тракта у детей до 90 дней жизни. Тем не менее вакцина обладала хорошей иммуногенностью у беременных женщин, эффективным трансплацентарным переносом антител с высоким уровнем концентрации антител против РСВ у младенцев при рождении и имела возрастающую со временем эффективность против тяжелых исходов РСВ-инфекции у младенцев. Кроме того, вакцина не показала значительных проблем безопасности у беременных женщин и их детей [44].

В настоящее время возобновился интерес к разработке вакцин против цитомегаловируса (ЦМВ), начавшийся еще в 1970-х гг., и несколько перспективных вакцин (субъединичных, векторных, живых ослабленных, основанных на нуклеиновых кислотах ЦМВ или на вирусоподобных частицах) проходят клинические испытания или доклинические исследования [45]. Врожденная ЦМВ-инфекция во всем мире является основным фактором долгосрочных

неврологических нарушений у ребенка, включая глухоту, микроцефалию и задержку умственного развития [46]. Прогресс в разработке вакцины против ЦМВ тормозится из-за неполного понимания коррелятов иммунной защиты плода: известно, что наличие естественно приобретенного иммунитета матери не всегда является залогом защиты ребенка от вируса. Тем не менее очевидно, что иммунитет женщины до беременности действительно обеспечивает некоторую степень защиты как от передачи ЦМВ ребенку, так и от ассоциированной с ЦМВ заболеваемости (если передача происходит) у новорожденного, поэтому исследования в этой области продолжаются [45]. Существует консенсус, что ключевой конечной точкой в клинических испытаниях вакцин от ЦМВ должна быть защита от вертикальной передачи вируса, а не от врожденного ЦМВ-ассоциированного заболевания. Связано это с тем, что такие заболевания лишь в редких случаях развиваются сразу после рождения, и чаще всего проходят годы до появления клинически выраженных последствий врожденной ЦМВ-инфекции, как, например, в случаях нейросенсорной глухоты [45].

Отношение беременных женщин к вакцинации во время беременности

Для успешного внедрения программ иммунизации среди беременных женщин необходимо понимание их знаний и убеждений относительно вакцинации во время беременности. В целом ряде работ изучался широкий диапазон факторов, влияющих на желание беременной женщины вакцинироваться: доступность и стоимость вакцины, наличие медицинской страховки, социально-экономический статус женщины, ее образование, этническая принадлежность, отношение к вакцинации в целом, рекомендации ее практикующего врача и другие [47–49]. Несмотря на некоторое варьирование результатов опросов, консенсус состоит в том, что женщина готова вакцинироваться во время беременности, если это будет рекомендовано ее врачом акушером-гинекологом и она получит достаточную информацию о необходимости вакцинации и ее безопасности. Настоятельные рекомендации акушера-гинеколога, подобные настоятельным рекомендациям педиатров в отношении вакцинации детей, имеют важное значение для принятия беременной женщиной решения вакцинироваться.

Что касается готовности беременных женщин вакцинироваться от COVID-19, к настоящему времени опубликованы единичные исследования, проведенные после первой волны коронавируса в Европе. Так, в многоцентровом исследовании, проведенном в шести европейских странах в виде анонимного онлайн-опроса беременных (n=6661) и кормящих (n=9402) женщин в период с апреля по июль 2020 г., нерешительность/нежелание в отношении вакцины от COVID-19 были выявлены у 40–50% респондентов и были выше среди беременных, чем среди кормящих женщин [50]. Более высокая готовность к вакцинации от COVID-19 наблюдалось среди впервые беременных женщин, а также среди кормящих женщин, родивших менее 6 месяцев назад. С меньшей вероятностью согласились бы на вакцинацию беременные и кормящие женщины с низким и средним уровнем образования и безработные женщины.

Еще в одном опросе, проведенном в Швейцарии, только 29,7% (153/515) беременных и 38,6% (400/1036) кормящих женщин были готовы пройти вакцинацию против SARS-CoV-2 [51]. Положительными предикторами согласия на вакцинацию были возраст старше 40 лет, более высокий уровень образования, III триместр беременности, история вакцинации против гриппа в течение предыдущего года. Женщины также были более склонны к вакцинации, если рекомендация вакцинироваться исходила от акушера-гинеколога.

В опросе, проведенном в период с октября по ноябрь 2020 г. в 16 странах, о готовности вакцинироваться заявили 52,0% беременных (2747/5282) и 73,4% небеременных женщин (9214/12562). Желание вакцинироваться в целом было самым высоким в Индии, на Филиппинах и во всех странах Латинской Америки и самым низким в России, США и Австралии. Самыми сильными предикторами согласия вакцинироваться были уверенность в безопасности и эффективности вакцины, беспокойство по поводу тяжелого течения COVID-19, использование женщиной средств индивидуальной защиты (масок), доверие к институтам общественного здравоохранения/медицинской науки, а также положительное отношение к рутинно применяемым в стране вакцинам [52].

Заключение

Вакцинация во время беременности – одна из наиболее эффективных и перспективных стратегий предотвращения заболеваемости и смертности по инфекционным причинам среди беременных женщин и новорожденных детей. Рекомендуемые в настоящее время схемы вакцинопрофилактики гриппа, коклюша и столбняка доказали свою безопасность и высокую эффективность для использования во время беременности. По мере накопления данных относительно безопасности и эффективности вакцинации против SARS-CoV-2 при беременности все большее число стран внедряют вакцинацию беременных и кормящих женщин. Вакцины против СГВ, РСВ, ЦМВ, разрабатываемые в настоящее время для применения во время беременности, призваны снизить клиническое бремя этих важных перинатальных инфекций. Рекомендация акушера-гинеколога о вакцинации с предоставлением достаточной информации о необходимости и безопасности вакцинации для женщины и ребенка является ключевым фактором для принятия беременной женщиной решения вакцинироваться.

Литература/References

1. United Nations. The global strategy for women's, children's and adolescent's health (2016-2030). New York; 2015. Available: https://www.who.int/life-course/partners/global-strategy/globalstrategyreport2016-2030-lowres.pdf

2. *Kollmann T.R., Marchant A, Way S.S.* Vaccination strategies to enhance immunity in neonates. Science. 2020; 368(6491): 612-5. https://dx.doi.org/10.1126/science.aaz9447.
3. World Health Organisation. Global accine action plan 2011-2020. Geneva: WHO; 2013.
4. *Abu-Raya B., Maertens K., Edwards K.M., Omer S.B., Englund J.A., Flanagan K.L.* et al. Global perspectives on immunization during pregnancy and priorities for future research and development: An international consensus statement. Front. Immunol. 2020; 11: 1282. https://dx.doi.org/10.3389/FIMMU.2020.01282.
5. *Kachikis A., Eckert L.O., Englund J.* Who's the target: mother or baby? Viral Immunol. 2018; 31(2): 184-94. https://dx.doi.org/10.1089/vim.2017.0135.
6. *Calvert A., Jones C.E.* Placental transfer of antibody and its relationship to vaccination in pregnancy. Curr. Opin. Infect. Dis. 2017; 30(3): 268-73. https://dx.doi.org/10.1097/QCO.0000000000000372.
7. *Maertens K., De Schutter S., Braeckman T., Baerts L., Van Damme P., De Meester I.* et al. Breastfeeding after maternal immunisation during pregnancy: Providing immunological protection to the newborn: A review. Vaccine. 2014; 32(16): 1786-92. https://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.01.083.
8. *Macias Saint-Gerons D., Solà Arnau I., De Mucio B., Arévalo-Rodríguez I., Alemán A., Castro J.L.* et al. Adverse events associated with the use of recommended vaccines during pregnancy: An overview of systematic reviews. Vaccine. 2021; 39(Suppl. 2): B12-26. https://dx.doi.org/10.1016/J.VACCINE.2020.07.048.
9. World Health Organisation. Global advisory committee on vaccine safety. Safety of immunization during pregnancy. A review of the evidence. 2014. Available: https://www.who.int/vaccine_safety/publications/safety_pregnancy_nov2014.pdf
10. *Fell D., Azziz-Baumgartner E., Baker M., Batra M., Beauté J.P.B., Beutels P.* et al. Influenza epidemiology and immunization during pregnancy: Final report of a World Health Organization working group. Vaccine. 2017; 35(43): 5738-50. https://dx.doi.org/10.1016/J.VACCINE.2017.08.037.
11. *Louie J.K., Acosta M., Jamieson D.J., Honein M.A.* Severe 2009 H1N1 influenza in pregnant and postpartum women in California. N. Engl. J. Med. 2010; 362(1): 27-35. https://dx.doi.org/10.1056/NEJMOA0910444.
12. *Fell D., Savitz D., Kramer M., Gessner B., Katz M., Knight M.* et al. Maternal influenza and birth outcomes: systematic review of comparative studies. BJOG. 2017; 124(1): 48-59. https://dx.doi.org/10.1111/1471-0528.14143.
13. *Manske J.* Efficacy and effectiveness of maternal influenza vaccination during pregnancy: a review of the evidence. Matern. Child Health J. 2014; 18(7): 1599-609. https://dx.doi.org/10.1007/S10995-013-1399-2.
14. *Thompson M.G., Kwong J.C., Regan A.K., Katz M.A., Drews S.J., Azziz-Baumgartner E.* et al. Influenza vaccine effectiveness in preventing influenza-associated hospitalizations during pregnancy: a multi-country retrospective test negative design study, 2010-2016. Clin. Infect. Dis. 2018; 68(9): 1444-53. https://dx.doi.org/10.1093/cid/ciy737.
15. *Madhi S.A., Cutland C.L., Kuwanda L., Weinberg A., Hugo A., Jones S.* et al. Influenza vaccination of pregnant women and protection of their infants. N. Engl. J. Med. 2014; 371(10): 918-31. https://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1401480.
16. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Приказ №125н от 21.03.2014 "Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям". [Health Ministry of the Russian Federation. Order №125n of 21.03.2014 "National Vaccination schedules". 2014; 1–17 (in Russian)]. Available: https://www.rospotrebnadzor.ru/deyatelnost/epidemiological-surveillance/?ELEMENT_ID=5575
17. World Health Organisation. WHO Global Health Observatory (GHO) data. Diphtheria-tetanus-pertussis (DTP3) immunization coverage. 2020. Available: https://www.who.int/data/gho/data/themes/immunization
18. *Masseria C., Martin C., Krishnarajah G., Becker L., Buikema A., Tan T.* Incidence and burden of pertussis among infants less than 1 year of age. Pediatr. Infect. Dis. J. 2017; 36(3): e54-61. https://dx.doi.org/10.1097/INF.0000000000001440.
19. *Sawyer M., Liang J.L., Messonnier N., Clark T.A.* Updated recommendations for use of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid, and acellular pertussis vaccine (Tdap) in pregnant women — Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2012. MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep. 2013; 62(7): 131-5.
20. *Munoz F., Bond N., Maccato M., Pinell P., Hammill H., Swamy G.* Safety and immunogenicity of tetanus diphtheria and acellular pertussis (Tdap) immunization during pregnancy in mothers and infants: a randomized clinical trial. JAMA. 2014; 311(17): 1760-9. https://dx.doi.org/10.1001/JAMA.2014.3633.
21. *Huygen K., Caboré R., Maertens K., Van Damme P., Leuridan E.* Humoral and cell mediated immune responses to a pertussis containing vaccine in pregnant and nonpregnant women. Vaccine. 2015; 33(33): 4117-23. https://dx.doi.org/10.1016/J.VACCINE.2015.06.108.
22. *Amirthalingam G., Andrews N., Campbell H., Ribeiro S., Kara E., Donegan K.* et al. Effectiveness of maternal pertussis vaccination in England: An observational study. Lancet. 2014; 384(9953): 1521-8. https://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60686-3.
23. *Eberhardt C., Blanchard-Rohner G., Lemaître B., Boukrid M., Combescure C., Othenin-Girard V.* et al. Maternal immunization earlier in pregnancy maximizes antibody transfer and expected infant seropositivity against pertussis. Clin. Infect. Dis. 2016; 62(7): 829-36. https://dx.doi.org/10.1093/CID/CIW027.
24. *Thwaites S., Beeching N., Newton C.* Maternal and neonatal tetanus. Lancet. 2015; 385(9965): 362-70. https://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60236-1.
25. United Nations Children's Fund, World Health Organization, UNPF. Maternal and neonatal tetanus elimination by 2005: strategies for achieving and maintaining elimination. Available: https://apps.who.int/iris/handle/10665/69618
26. *Njuguna H.N., Yusuf N., Raza A.A., Ahmed B., Tohme R.A.* Progress toward maternal and neonatal tetanus elimination — worldwide, 2000-2018. MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep. 2020; 69(17): 515-20. https://dx.doi.org/10.15585/MMWR.MM6917A2.
27. *Припутневич Т.В., Гордеев А.Б., Любасовская Л.А., Шабанова Н.Е.* Новый коронавирус SARS-COV-2 и беременность: обзор литературы. Акушерство и гинекология. 2020; 5: 6-12. [Priputnevich T.V., Gordeev A.B., Ljubasovskaja L.A., Shabanova N.E. New coronavirus SARS-COV-2 and pregnancy: literature review. Akusherstvo i ginekologija/ Obstetrics and Gynecology. 2020; 5: 6-12 (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.5.6-12.
28. *Chmielewska B., Barratt I., Townsend R., Kalafat E., van der Meulen J., Gurol-Urganci I.* et al. Effects of the COVID-19 pandemic on maternal and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. Lancet Glob. Health. 2021; 9(6): e759-72. https://dx.doi.org/10.1016/S2214-109X(21)00079-6.
29. *Villar J., Ariff S., Gunier R.B., Thiruvengadam R., Rauch S., Kholin A.* et al. Maternal and neonatal morbidity and mortality among pregnant women with and without COVID-19 infection: The INTERCOVID Multinational Cohort Study. JAMA Pediatr. 2021; 175(8): 817-26. https://dx.doi.org/10.1001/jamapediatrics.2021.1050.
30. *Беженарь В.Ф., Зазерская И.Е., Кучерявенко А.Н., Мещанинова С.Г., Мазурок В.А., Ржеутская Р.Е., Годзоева А.О.* Случай стремительного течения новой коронавирусной инфекции COVID-19 у беременной. Акушерство и гинекология. 2021; 1: 186-93. [Bezhenar' V.F., Zazerskaja I.E., Kucherjavenko A.N., Meshhaninova S.G., Mazurok V.A., Rzheutskaja R.E. et al. A case of fulminant new coronavirus infection COVID-19 in a pregnant woman. Akusherstvo i ginekologija/ Obstetrics and Gynecology. 2021;1: 186-93 (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.1.186-193.
31. *Savasi V.M., Parisi F., Patanè L., Ferrazzi E., Frigerio L., Pellegrino A.* et al. Clinical findings and disease severity in hospitalized pregnant women with coronavirus disease 2019 (COVID-19). Obstet. Gynecol. 2020; 136(2): 252-8. https://dx.doi.org/10.1097/AOG.0000000000003979.
32. World Health Organisation. Global vaccine safety: meningococcal A conjugate vaccine during pregnancy. Available: https://www.who.int/groups/global-advisory-committee-on-vaccine-safety/topics/meningococcal-a-conjugate-vaccine/pregnancy
33. *Krubiner C.B., Faden R.R., Karron R.A., Little M.O., Lyerly A.D., Abramson J.S.* et al. Pregnant women & vaccines against emerging epidemic threats: Ethics

guidance for preparedness, research, and response. Vaccine. 2021; 39: 85-120. https://dx.doi.org/10.1016/J.VACCINE.2019.01.011.

34. *Wang E.W., Parchem J.G., Atmar R.L., Clark E.H.* SARS-CoV-2 vaccination during pregnancy: A complex decision. Open Forum Infect. Dis. 2021; 8(5): ofab180. https://dx.doi.org/10.1093/ofid/ofab180.

35. *Shimabukuro T.T., Kim S.Y., Myers T.R., Moro P.L., Oduyebo T., Panagiotakopoulos L.* et al. Preliminary findings of mRNA Covid-19 vaccine safety in pregnant persons. N. Engl. J. Med. 2021; 384(24): 2273-82. https://dx.doi.org/10.1056/NEJMOA2104983.

36. *Goldshtein I., Nevo D., Steinberg D., Rotem R., Gorfine M., Chodick G., Segal Y.* Association between BNT162b2 vaccination and incidence of SARS-CoV-2 infection in pregnant women. JAMA. 2021; 326(8): 728-35. https://dx.doi.org/10.1001/JAMA.2021.11035.

37. *Gray K.J., Bordt E.A., Atyeo C., Deriso E., Akinwunmi B., Young N.* et al. Coronavirus disease 2019 vaccine response in pregnant and lactating women: a cohort study. Am. J. Obstet. Gynecol. 2021; 225(3): 303.e1-303.e17. https://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2021.03.023.

38. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Методические рекомендации «Организация оказания медицинской помощи беременным, роженицам, родильницам и новорожденным при новой коронавирусной инфекции COVID-19». 2021: 130-1. [Health Ministry of the Russian Federation. Clinical recommendations «Organization of medical care for pregnant women, parturient women, puerperae and newborn infants with new coronavirus infection COVID-19». 2021; 130-131 (in Russian)]. Available: https://minzdrav.gov.ru/poleznye-resursy/rekomendatsii-po-vaktsinatsii-beremennyh-zhenschin

39. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Временные методические рекомендации «Порядок проведения вакцинации взрослого населения против COVID-19». 2021. [Health Ministry of the Russian Federation. Clinical recommendations «Vaccination of the adult population against COVID-19». 2021 (in Russian)]. Available: https://minzdrav.gov.ru/news/2021/07/02/16927-utverzhdeny-vremennye-metodicheskie-rekomendatsii-poryadok-provedeniya-vaktsinatsii-vzroslogo-naseleniya-protiv-covid-19

40. *Lawn J.E., Bianchi-Jassir F., Russell N.J., Kohli-Lynch M., Tann C.J., Hall J.* et al. Group B streptococcal disease worldwide for pregnant women, stillbirths, and children: why, what, and how to undertake estimates? Clin. Infect. Dis. 2017; 65(Suppl. 2): S89-99. https://dx.doi.org/10.1093/cid/cix653.

41. *Madhi S.A., Cutland C.L., Jose L., Koen A., Govender N., Wittke F.* et al. Safety and immunogenicity of an investigational maternal trivalent group B streptococcus vaccine in healthy women and their infants: a randomised phase 1b/2 trial. Lancet Infect. Dis. 2016; 16(8): 923-34. https://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00152-3.

42. *Heyderman R.S., Madhi S.A., French N., Cutland C., Ngwira B., Kayumbo D.* et al. Group B streptococcus vaccination in pregnant women with or without HIV in Africa: a non-randomised phase 2, open-label, multicentre trial. Lancet Infect. Dis. 2016; 16(5): 546-55. https://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00484-3.

43. *Coultas J.A., Smyth R., Openshaw P.J.* Respiratory syncytial virus (RSV): a scourge from infancy to old age. Thorax. 2019; 74(10): 986-93. https://dx.doi.org/10.1136/THORAXJNL-2018-212212.

44. *Madhi S.A., Polack F.P., Piedra P.A., Munoz F.M., Trenholme A.A., Simões E.A.F.* et al. Respiratory syncytial virus vaccination during pregnancy and efects in infants. N. Engl. J. Med. 2020; 383(5): 426-39. https://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1908380.

45. *Schleiss M.R., Permar S.R., Plotkin S.A.* Progress toward development of a vaccine against congenital cytomegalovirus infection. Clin. Vaccine Immunol. 2017; 24(12): e00268-17. https://dx.doi.org/10.1128/CVI.00268-17.

46. *Permar S., Schleiss M., Plotkin S.* Advancing our understanding of protective maternal immunity as a guide for development of vaccines to reduce congenital cytomegalovirus infections. J. Virol. 2018; 92(7): e00030-18. https://dx.doi.org/10.1128/JVI.00030-18.

47. *Healy C.M., Rench M.A., Montesinos D.P., Ng N., Swaim L.S.* Knowledge and attitiudes of pregnant women and their providers towards recommendations for immunization during pregnancy. Vaccine. 2015; 33(41): 5445-51. https://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.08.028.

48. *Chervenak F.A., McCullough L.B., Bornstein E., Johnson L., Katz A., McLeod-Sordjan R.* et al. Professionally responsible coronavirus disease 2019 vaccination counseling of obstetrical and gynecologic patients. Am. J. Obstet. Gynecol. 2021; 224(5): 470-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2021.01.027.

49. *Kilich E., Dada S., Francis M.R., Tazare J., Chico R.M., Paterson P.* et al. Factors that influence vaccination decision-making among pregnant women: A systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2020; 15(7): e0234827. https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0234827

50. *Ceulemans M., Foulon V., Panchaud A., Winterfeld U., Pomar L., Lambelet V.* et al. Vaccine willingness and impact of the covid-19 pandemic on women's perinatal experiences and practices – a multinational, cross-sectional study covering the first wave of the pandemic. Int. J. Environ. Res. Public Health. 2021; 18(7): 3367. https://dx.doi.org/10.3390/ijerph18073367.

51. *Stuckelberger S., Favre G., Ceulemans M., Nordeng H., Gerbier E., Lambelet V.* et al. SARS-CoV-2 vaccine willingness among pregnant and breastfeeding women during the first pandemic wave: A cross-sectional study in Switzerland. Viruses. 2021; 13(7): 1199. https://dx.doi.org/10.3390/V13071199.

52. *Skjefte M., Ngirbabul M., Akeju O., Escudero D., Hernandez-Diaz S., Wyszynski D.F.* et al. COVID-19 vaccine acceptance among pregnant women and mothers of young children: results of a survey in 16 countries. Eur. J. Epidemiol. 2021; 36(2): 197-211. https://dx.doi.org/10.1007/S10654-021-00728-6.

Поступила 20.09.2021
Принята в печать 28.10.2021
Received 20.09.2021
Accepted 28.10.2021

Сведения об авторах:
Шипицына Елена Васильевна, д.б.н., в.н.с. международного отдела, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, +7(812)323-75-44, shipitsyna@inbox.ru, https://orcid.org/0000-0002-2309-3604, 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
Ширшова Наталья Юрьевна, к.м.н., главный врач, городская поликлиника № 32, +7(812)234-57-49, p32@zdrav.spb.ru, 197022, Россия, Санкт-Петербург, Вяземский переулок, д. 3.
Коган Игорь Юрьевич, чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор, директор, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, +7(812)328-98-22, ovrt@ott.ru, https://orcid.org/0000-0002-7351-6900, 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
Автор, ответственный за переписку: Елена Васильевна Шипицына, shipitsyna@inbox.ru

Authors' information:
Elena V. Shipitsyna, Dr. Bio. Sci., Leading Researcher of the International Department, D.O. Ott Reasearch Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, +7(812)323-75-44, shipitsyna@inbox.ru, https://orcid.org/0000-0002-2309-3604, 199034, Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.
Natalia Yu. Shirshova, PhD, Head Physician, City Policlinic № 32, +7(812)234-57-49, p32@zdrav.spb.ru, 197022, Russia, St. Petersburg, Viazemsky Lane, 3.
Igor Yu. Kogan, Corresponding Member of RAS, Dr. Med. Sci., Professor, Director, D.O. Ott Reasearch Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, +7(812)328-98-22, ovrt@ott.ru, https://orcid.org/0000-0002-7351-6900, 199034, Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.
Corresponding author: Elena V. Shipitsyna, shipitsyna@inbox.ru

Кайлина® ЛНГ

Левоноргестрел 19,5 мг

Новое поколение ЛНГ-ВМС

BAYER

ЕСЛИ ВЫ СПРОСИТЕ МЕНЯ О КОНТРАЦЕПЦИИ,

Я ВЫБЕРУ НАДЕЖНУЮ ЗАЩИТУ С НИЗКОЙ ДОЗОЙ ГОРМОНОВ

СКОРО В АПТЕКАХ!

- НАДЕЖНАЯ КОНТРАЦЕПЦИЯ НА СРОК ДО 5 ЛЕТ ИНДЕКС ПЕРЛЯ 0,29*[1]
- МАЛЕНЬКИЙ РАЗМЕР И УЗКИЙ ПРОВОДНИК ДЛЯ ЛЕГКОЙ ПРОЦЕДУРЫ УСТАНОВКИ**[1]
- ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФЕРТИЛЬНОСТИ ПОСЛЕ УДАЛЕНИЯ ВМС[1]
- СОХРАНЕНИЕ ЕСТЕСТВЕННОГО ЦИКЛА И ОВУЛЯЦИИ***[2]

Материал предназначен только для специалистов здравоохранения

ВМС — внутриматочная, ЛНГ-ВМС — внутриматочная терапевтическая система, ВМС — внутриматочная система

*По данным индекс Перл-регистрационных испытаний Кайлина® ЛНГ. **по сравнению с препаратом Мирена®, *** у пациенток с ожирением. При женщин.

1. Инструкция по медицинскому применению препарата Кайлина® ЛНГ от 19.09.2023 г. 2. Apter D. et al. Fertil Steril. 2014; 101(3): 766–774.

Кайлина® ЛНГ. Международное непатентованное наименование: левоноргестрел. Лекарственная форма: Система внутриматочная терапевтическая. Состав: 19,5 мг левоноргестрела в виде порошка. Показания к применению: контрацепция сроком до 5 лет. Противопоказания: беременность и подозрение на нее, острые или рецидивирующие воспалительные заболевания органов малого таза, инфекции нижних отделов половых путей, инфекции, передаваемые половым путем, послеродовый эндометрит, септический аборт в течение трех месяцев, кровотечение из половых путей неясной этиологии, врожденные или приобретенные аномалии матки, в том числе деформация, которая искажает полость матки, острые заболевания печени, доброкачественные или злокачественные опухоли печени, рак молочной железы, подозрение на рак молочной железы, беременность в анамнезе, ишемическая болезнь сердца или другие заболевания, указывающие на повышенный риск тромбоза, тяжелый инсульт, в анамнезе ишемический инсульт, другие или другие заболевания, указывающие на повышенный риск тромбоза, тяжелая форма сахарного диабета, сопровождающаяся повреждением сосудов, гипертоническая болезнь, которая не поддается медикаментозной терапии, тяжелая форма гипертонической болезни, желтуха, сопровождающаяся кожным зудом, в анамнезе

©Коллектив авторов, 2021

Е.В. КИРАКОСЯН[1,2], Т.А. НАЗАРЕНКО[2], С.В. ПАВЛОВИЧ[1,2]

ПОИСК ПРИЧИН ФОРМИРОВАНИЯ НАРУШЕНИЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ: ОБЗОР НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

[1]ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия
[2]ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Непрерывное развитие вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) привело к тому, что сейчас преодолены все формы мужского и женского бесплодия, однако эффективность использования методов ВРТ остается ограниченной и составляет приблизительно 30%. С чем это связано? Проведен обзор источников мировой литературы в базах данных Scopus, Web of Science, MedLine, Cochrane CENTRAL, Cochrane Database of Systematic Reviews (CDSR), Database of Abstracts of Reviews of Effectiveness (DARE), EMBASE, Global Health, CyberLeninka, РИНЦ для всестороннего изучения вклада разнообразных факторов в развитие нарушений репродуктивной системы. Рассмотрена возможная роль генетических, иммунологических причин, нарушений внутриячникового стероидо- и фолликулогенеза, приводящих к формированию дефекта ооцита, митохондриальных нарушений, что, в свою очередь, может способствовать нарушению раннего эмбриогенеза. Проанализированные данные являются многообещающими, но необходимы дальнейшие исследования по изучению этиопатогенеза нарушений репродуктивной системы с целью оптимизации алгоритма обследования и лечения пациентов. Особое внимание как объекту изучения уделено наиболее наглядной клинической модели нарушений репродуктивной системы — бесплодию неясного генеза, при котором репродуктивная система анатомически и функционально полноценна, однако зачатия не происходит.

***Заключение:** Обобщена и проанализирована информация о роли генетических, иммунологических причин, нарушений внутриячникового стероидо- и фолликулогенеза, приводящих к формированию дефекта ооцита, митохондриальных нарушений, что, в свою очередь, может способствовать нарушению раннего эмбриогенеза. Приведен актуальный в настоящий момент с клинической точки зрения алгоритм диагностики и лечения пациентов с бесплодием неясного генеза.*

***Ключевые слова:** бесплодие неясного генеза, необъяснимое бесплодие, идиопатическое бесплодие, функциональное бесплодие, эмбриональный арест, экстракорпоральное оплодотворение, ЭКО, полноэкзомное секвенирование, моногенные мутации.*

Вклад авторов: Киракосян Е.В., Назаренко Т.А., Павлович С.В. – разработка концепции статьи, анализ данных литературы, редактирование; Киракосян Е.В. – написание текста.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование: Финансирование данной работы не проводилось.

Для цитирования: Киракосян Е.В., Назаренко Т.А., Павлович С.В. Поиск причин формирования нарушений репродуктивной системы: обзор научных исследований. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 18-25
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.18-25

©A group of authors, 2021

E.V. KIRAKOSYAN[1,2], T.A. NAZARENKO[2], S.V. PAVLOVICH[1,2]

SEARCH FOR THE CAUSES OF REPRODUCTIVE SYSTEM DISORDERS: A RESEARCH REVIEW

[1]I.M. Sechenov First Moscow State Medical University,
Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russia
[2]Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology,
Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

The continuous development of assisted reproductive technologies (ART) has led to the fact that all types of male and female infertility have now been overcome; however, the effectiveness of using ART methods remains limited and is approximately 30%. What is the reason for this? The paper reviews the world literature sources available in the databases Scopus, Web of Science, MedLine, Cochrane CENTRAL, Cochrane Database of Systematic Reviews (CDSR), Database of Abstracts of Reviews of Effectiveness (DARE), EMBASE, Global Health, CyberLeninka, and Russian Science Citation Index (RSCI) for a comprehensive study of the contribution of various factors to the development of reproductive system disorders. It considers the possible role of genetic and immunological causes, abnormal intra-ovarian steroidogenesis and folliculogenesis, leading to oocyte defects and

mitochondrial disorders, which can in turn contribute to impaired early embryogenesis. The analyzed findings are promising, but further investigations of the etiopathogenesis of reproductive system disorders are needed to optimize the algorithm for patient examination and treatment. Particular attention is paid to the most demonstrative clinical model of reproductive system disorders, such as infertility of unknown origin, as an investigation object, when the reproductive system appears anatomically and functionally normal; however, conception does not occur.

Conclusion: *The information on the role of genetic and immunological causes, abnormal intra-ovarian steroidogenesis and folliculogenesis, leading to oocyte defects and mitochondrial disorders, which can in turn promote impaired early embryogenesis is summarized and analyzed. The algorithm for the diagnosis and treatment of patients with infertility of unknown origin, which is currently relevant from a clinical point of view, is given.*

Keywords: *infertility of unknown origin, unexplained infertility, idiopathic infertility, functional infertility, embryonic arrest, in vitro fertilization, IVF, whole exome sequencing, monogenic mutations.*

Authors' contributions: Kirakosyan E.V., Nazarenko T.A., Pavlovich S.V. – development of the concept of the article; analysis of literature data; editing; Kirakosyan E.V. – writing the text.
Conflicts of interest: The authors declare that there are no conflicts of interest.
Funding: The investigation has not been sponsored.

For citation: Kirakosyan E.V., Nazarenko T.A., Pavlovich S.V. Search for the causes of reproductive system disorders: a research review. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 18-25 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.18-25

Непрерывное развитие вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в течение более 40 лет привело к тому, что в настоящее время преодолены все формы мужского и женского бесплодия. Однако эффективность использования методов ВРТ кардинально не изменяется на протяжении более 20 лет и составляет приблизительно 30%. ВРТ являются ведущим способом решения проблемы преодоления бесплодия, но в чем заключается причина их ограниченной эффективности?

Ранее к основным факторам бесплодия относили ряд анатомических причин, таких, как спаечный процесс в полости малого таза, аномалии строения матки, непроходимость маточных труб. Функциональное бесплодие связано с нарушением овуляции, с малыми формами наружного генитального эндометриоза, и в значительной степени – с так называемым бесплодием неясного генеза. Сегодня среди специалистов не существует единого мнения по поводу определения и, соответственно, распространенности бесплодия неясного генеза: от 4–10% по данным Российской ассоциации репродукции человека до 25% по данным Национального института охраны здоровья и совершенствования медицинской помощи Великобритании.

Различия в подходах к диагностике нарушений репродуктивной системы значительно влияют на выбор тактики лечения и отражаются на его эффективности. Так, в Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) отсутствует раздел эндометриоз-ассоциированного бесплодия, которое, по данным зарубежной литературы, составляет 25% и занимает одно из ведущих мест в структуре бесплодного брака. Чем обусловлено бесплодие при наружном генитальном эндометриозе, пока неизвестно. Многие специалисты классифицируют это заболевание как «неясное бесплодие» или «другие формы бесплодия» [1].

Еще менее изученной остается проблема развития патозооспермии, при этом идиопатическая патозооспермия занимает 2–3-е место в структуре нарушений сперматогенеза. Сейчас ВРТ, с одной стороны, достигли пика своей эффективности, с другой стороны, исчерпали свой потенциал при лечении бесплодия, что заставляет вновь задуматься о причинах формирования инфертильности, нарушений оогенеза и сперматогенеза, оплодотворения, раннего эмбриогенеза.

Следует отметить, что при проведении экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), получении качественных бластоцист и их тестировании методами преимплантационной генетической диагностики беременность после переноса эуплоидных эмбрионов наступает не более чем в 45–50% случаев.

Как разобраться в тонких нюансах регуляции репродуктивной системы? Как с помощью новых знаний повысить эффективность ВРТ в лечении разных форм бесплодия? Ответы на эти вопросы беспокоят исследователей всего мира.

Все вышеизложенное объясняет выбор темы настоящего обзора и основное направление научного поиска.

Бесплодие – тяжелое состояние, нарушающее социальную и психологическую адаптацию человека, влияющее на его здоровье, качество, продолжительность жизни, а также важнейшая медицинская и социальная проблема. Оно характеризуется отсутствием наступления беременности при регулярных половых отношениях без предохранения в течение 12 и более месяцев [2]. Бесплодие затрагивает примерно 8–12% мирового населения и связано с такими факторами, как возраст женщины и количество заболеваний, влияющих на фертильность, то есть способность зачать и произвести потомство [3].

Несмотря на постоянное совершенствование диагностических методов, частота установления диагноза бесплодия неясного генеза, одной из номенклатурных форм бесплодия, не уменьшается, а, напротив, возрастает. Именно поэтому, рассматривая новые направления исследований по определению этиопатогенеза инфертильности, целесообразно обратиться к проблеме бесплодия неясного генеза, при котором известные причины бесплодия не обнаруживаются.

Бесплодие неясного генеза – это форма бесплодия, при которой в процессе обследования у супружеской пары не выявляются причины бесплодия, то есть женщина имеет регулярный менструальный цикл, сохраненную овуляцию, сохраненный овариальный резерв, проходимые маточные трубы и отсутствие указаний в анамнезе на ранее перенесенные гинекологические операции, а партнер – фертильную сперму [4, 5]. Необъяснимое бесплодие, идиопатическое бесплодие – синонимы бесплодия неясного генеза [6–8].

В настоящее время частота бесплодия неясного генеза составляет 10–30% у бесплодных пар, 10–17% – у бесплодных женщин. Поиск возможных причин не всегда приносит результат, эмпирическая, симптоматическая терапия, как правило, не эффективны. На современном этапе развития репродуктивных технологий актуален дальнейший поиск новых подходов к выяснению этиопатогенеза нарушений репродуктивной системы [9–11].

В связи с чрезвычайной актуальностью изложенной темы в настоящей работе представлен анализ данных современных исследований, в которых предпринимаются попытки обосновать с новых позиций принципы функционирования репродуктивной системы и факторы, способствующие нарушению репродуктивной функции.

Молекулярно-генетические предикторы нарушений репродуктивной системы

Известно, что несколько хромосомных аберраций, диагностируемых при кариотипировании, связано с женским бесплодием, однако совсем недавно в кариотипе были обнаружены моногенные мутации, ассоциированные с преждевременной недостаточностью яичников, дисгенезией гонад. Не исключено, что дефекты созревания ооцитов, ранняя остановка развития эмбриона обусловлены генетическими мутациями. В этом контексте интерес представляет возможная генетическая детерминация преждевременной недостаточности яичников, синдрома поликистозных яичников и повторяющейся потери беременности [3].

Преждевременная недостаточность яичников (ПНЯ) представляет собой клинический синдром, характеризующийся прекращением функционирования яичников до 40 лет в три последовательные стадии: скрытая – снижение фертильности, биохимическая – увеличение скорости высвобождения фолликулостимулирующего гормона в 2 раза и клиническая – олиго- или аменорея [12, 13]. Распространенность ПНЯ составляет 10–13%. Хромосомные аномалии (делеции, транслокации) и премутационный статус гена *FMR1* являются частыми причинами ПНЯ. У 30% женщин с ПНЯ обнаруживаются мутации в гене *PGRMC1*, у 1,5–15% – в гене *BMP15*, у 1–2% – в генах *GDF9, FIGLA, NR5A1* и *NANOS3* [3].

Полное секвенирование экзома в больших семьях, в которых наблюдался комплекс симптомов: задержка полового развития, аменорея и дисгенезия яичников, выявило мутации в генах гомологичной рекомбинации и мейоза (*STAG3, SYCE1, HFM1*), репарации ДНК (*MCM8, MCM9, ERCC6, NUP107*), транскрипции мРНК (*SOHLH1*) и трансляции мРНК (*eIF4ENIF1*) [3,14].

Обнаружены патогенные аллели генов, которые, вероятно, связаны с дефектом созревания ооцитов. Гетерозиготные мутации в гене тубулина бета 8 (*TUBB8*) вызывают дефекты сборки мейотического веретена и созревания ооцитов, патогенные аллели в TUBB8 могут обнаруживаться примерно в 30% случаев при остановке созревания ооцитов; мутации в гене *PATL2* и генах *ZP*, кодирующих белки блестящей оболочки, встречаются реже [15].

Ранняя остановка развития эмбриона – одна из причин неудач программ ЭКО. Генетические причины данного явления пока неизвестны. Определены гены, связанные с дефектами созревания ооцитов и преимплантационной эмбриональной летальностью: *ZP1, TUBB8, ZP3, PATL2, WEE2, ZP2, TLE6* и *PADI6*. В парах с повторяющимся невынашиванием беременности определение мутаций в гене *SYCP3* показало взаимосвязь между мейозом, анеуплоидией и повторяющимися выкидышами. Мутации в генах фактора V (*F5*), фактора II (*F2*) и антикоагулянтного белка ворсин плаценты аннексина A5 (*ANXA5*) связаны с повышенным риском повторной потери беременности. Мутации в генах *NLRP7* и *KHDC3L* связаны с пузырным заносом, заболеванием трофобласта [4].

Известны случаи, когда у молодых женщин при неоднократных попытках ЭКО, получении достаточного количества зрелых ооцитов и их успешном оплодотворении происходит блок развития эмбрионов на 2–3-и сутки культивирования. Причины этого явления не установлены, специалисты связывают данный феномен с «ооцитарным фактором», то есть какими-то, пока неизвестными, дефектами яйцеклетки. Некоторые специалисты показали, что наиболее часто это явление встречается у пациенток с бесплодием неясного генеза.

Гораздо более редкой является ситуация, когда в программах ЭКО не удается получить зрелые ооциты при удовлетворительных показателях фолликуло- и стероидогенеза или когда оплодотворение зрелых ооцитов не происходит, в том числе с помощью интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в яйцеклетку (ИКСИ).

Таким образом, несмотря на несомненные успехи методов ВРТ в лечении разных форм бесплодия, остается много «белых пятен», в основном связанных с недостатком знаний о процессах внутриячникового гаметогенеза и раннего эмбриогенеза.

Несколько большие успехи были достигнуты при изучении возможных генетических причин тяжелых форм патозооспермии. Генетические причины азооспермии включают аномалии числа и структуры аутосом или половых хромосом и встречаются у 5% всех бесплодных мужчин и 16% мужчин с азооспермией или олигозооспермией. 5–15% случаев азооспермии или олигозооспермии связаны с микроделециями Y-хромосомы; 6–8% случаев обструктивной азооспермии связаны с мутациями в гене трансмембранного рецептора муковисцидоза *CFTR*, который вызывает врожденное двустороннее отсутствие семявыносящего протока [16].

Недавно в генах *NR5A1, SYCP3, ZMYND15, TAF4B, TEX11 NANOS1, PLK4, MEIOB, SYCE1, USP9Y, SOHLH1, TEX15, HSF2* и *KLHL10* были обнаружены точечные мутации, вызывающие азооспермию [17–19]. В настоящее время известно, что с морфологическими дефектами сперматозоидов связаны гены *AURKC, ZPBP, DPY19L2, SPATA16, PICK1, BRDT* и *SUN5*, с дефектами подвижности сперматозоидов – гены *SLC26A8, CATSPER1, SEPT12, CFAP43, CFAP44, DNAH1* и *PLCZ1* [17]. При подозрении на синдром частичной нечувствительности к андрогенам у мужчин с идиопатической азооспермией или олигозооспермией может быть исследован ген *AR*, сцепленный с Х-хромосомой и кодирующий андрогенный рецептор.

Более точная информация получена при проведении молекулярно-генетических исследований влияния ряда генов на репродуктивную функцию у животных. Так, при проведении серии анализов для определения генов, которые способствуют первичной дисфункции гонад, обнаружено, что при мутации Csmd1 у самцов наблюдается повышенная частота бесплодия с тяжелой гистологической дегенерацией семенников; у самок значительно снижается функция яичников из-за чрезмерной атрезии ооцитов и успешность размножения из-за уменьшения количества овуляций, а также нарушается ветвление протоков молочной железы [20, 21].

Исследователи попытались установить взаимосвязь между генетическими вариациями рецептора эстрогена 2 и бесплодием неясного генеза. Известно, что эстрогены связываются с двумя типами эстрогеновых рецепторов – альфа и бета, которые распределены в организме неравномерно. Бета-рецептор эстрогена кодируется геном рецептора эстрогена 2 (*ESR2*), высоко экспрессируется в клетках гранулезы и растущих фолликулах. Замечено, что при мутации гена *ESR2* происходит снижение фертильности с неэффективной овуляцией, развиваются устойчивость к экзогенной стимуляции овуляции у мышей и гипергонадотропный гипогонадизм у женщин. Предположили, что менее тяжелые варианты *ESR2* могут привести к нормальному женскому фенотипу и половому развитию, но могут быть причиной недостаточной фертильности [11].

Ряд генетических мутаций может приводить к гипоталамической аменорее у гомозиготных по генам *KAL1, FGFR1, PROKR2* и *GNRHR* женщин [22].

В исследованиях по изучению влияния хромосомных полиморфизмов 1/9/16qh +/–, D/G и *inv* (9) на фертильность бесплодных пар сравнивались частота оплодотворения, дробление эмбрионов, доля эмбрионов хорошего качества, частота клинической беременности, имплантации и выкидышей на ранней стадии в группах с разными хромосомными полиморфизмами и в контрольной группе. Результаты показали, что наличие хромосомных полиморфизмов статистически значимо не влияет на оцениваемые параметры и клинические исходы в исследуемых группах [23].

В последние десять лет некоторые исследования показали, что длина теломер может быть связана с ПНЯ, но результаты этих исследований противоречивы. В систематическом обзоре оценивали длину теломер или активность теломеразы в клетках гранулезы и/или лейкоцитах как предполагаемого маркера ПНЯ. Короткие теломеры и пониженная активность теломеразы в клетках гранулезы, по-видимому, связаны с недостаточностью яичников, но авторы сомневаются в корректности использования длины теломер клеток гранулезы и/или лейкоцитов в качестве раннего и надежного маркера снижения функции яичников [24]. Длина теломер лейкоцитов (leukocyte telomere length, LTL) наиболее изучена в клинических и эпидемиологических исследованиях из-за доступности лейкоцитов. LTL уменьшается с возрастом [25, 26]. Изучение физиологического процесса старения через спектр теломер открывает новый подход к исследованию женской фертильности [24].

Недавнее исследование длины теломер в половых клетках показало, что этот параметр может быть биомаркером качества половых клеток и эмбрионов. Действительно, митотическая активность зародышевых клеток сильно различается в зависимости от пола: мужские стволовые половые клетки постоянно делятся, и их запас остается неизменным в течение всей жизни, начиная с полового созревания. С другой стороны, женские половые клетки прекращают деление еще до рождения, причем клетки гранулезы должны делиться медленно, но регулярно, чтобы поддерживать запас клеток гранулезы вокруг ооцитов в примордиальных и первичных фолликулах с 7-го месяца внутриутробной жизни до менопаузы, и делиться интенсивно во время созревания фолликулов [27]. Следовательно, рассматривая женскую фертильность, интереснее исследовать длину теломер в клетках гранулезы, чем в половых клетках. Короткие теломеры могут влиять на женскую фертильность, ограничивая способность клеток гранулезы к митозу, поддерживающему постоянно на протяжении жизни пул фолликулов и происходящему каждый месяц в ответ на стимуляцию гонадотропинами для подготовки фолликула и овуляции. Исследования по установлению потенциальной взаимосвязи между длиной теломер и/или активностью теломеразы в клетках гранулезы и лейкоцитах у женщин с ПНЯ показали, что длину теломер в клетках гранулезы следует рассматривать, как новый маркер продолжительности репродуктивной жизни у женщин [28, 29].

Если LTL имеет ту же связь с ПНЯ, что и длина теломер клеток гранулезы, то LTL может служить более доступным маркером в клинической и лабораторной практике. Однако недавнее исследование, проведенное с участием 35 доноров фертильных яйцеклеток, не обнаружило корреляции между длиной теломер клеток гранулезы и LTL при измерении с помощью количественной полимеразной цепной реакции [30]. Короткие теломеры и снижение активности теломеразы в клетках гранулезы, по-видимому, связаны со скрытой недостаточностью яичников. Если бы эти результаты были подтверждены большим количеством наблюдений, группами с более точными характеристиками и более адаптированной методологией, измерение этих параметров могло бы стать ранним и надежным маркером снижения функции яичников [31]. Однако вопрос,

являются ли короткие теломеры у женщин с ПНЯ причиной или следствием данного заболевания, предстоит решить в будущих исследованиях. На основании этого можно предположить, что предотвращение укорочения теломер с помощью лекарств может позволить избежать преждевременного старения организма, сохраняя и повышая тем самым репродуктивную способность пациентов [32].

Рекрутинг фолликулов и селекция ооцитов: точки приложения для вспомогательных репродуктивных технологий

Процесс развития фолликула от примордиального до зрелого третичного, или преовуляторного, длится 120–300 суток и состоит из трех стадий.

На прегонадотропной стадии происходит первичное рекрутирование фолликулов – преобразование примордиального фолликула в первичный. Этот процесс обусловлен исключительно функциональным взаимодействием между ооцитом, гранулезными клетками и стромой яичника и не зависит от эндогенной гонадотропной стимуляции.

Первичное рекрутирование фолликулов полностью определяется внутрияичниковыми факторами и не зависит от действия гонадотропинов. Следует отметить, что внутрияичниковый оогенез изучен крайне недостаточно, чем объясняется отсутствие действенных способов влияния на этот процесс.

На гонадотропинчувствительной стадии фолликулогенеза происходит переход из стадии первичного фолликула к вторичному, а затем к малому антральному (до 5 мм). На этом этапе также определяющее влияние оказывают внутрияичниковые факторы.

С клинической точки зрения на данной стадии имеет значение наличие нескольких полиморфизмов гена *AMГ* и его рецептора АМГР 2, которые, вероятно, участвуют в патогенезе синдрома поликистозных яичников и избыточном ответе яичников на гонадотропную стимуляцию, что позволяет до начала лечения определить у пациента ожидаемый тип овариального ответа на стимуляцию овуляции [33].

На гонадотропинзависимой стадии фолликулогенеза происходит циклическое рекрутирование фолликулов – рост и развитие когорты антральных фолликулов (5–9 мм), селекция доминантного фолликула, его созревание при участии гонадотропинов – фолликулостимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего (ЛГ) гормонов. В настоящее время данная стадия является наиболее клинически значимой.

В естественном менструальном цикле пороговый уровень эндогенного ФСГ обеспечивает селекцию одного доминантного фолликула. В протоколах ЭКО введение экзогенных гонадотропинов обеспечивает рост нескольких фолликулов, которые в естественном менструальном цикле неизбежно подверглись бы атрезии. Контролируемая стимуляция яичников является базовым этапом в реализации программ ЭКО.

Полиморфизмы гена рецептора ФСГ: Asn680Ser (rs 6166), Thr307Ala (rs 6165), –29G/A (rs 1394205), Ile160Thr (rs 121909659) могут являться причиной снижения эффективности стимуляции яичников и повышения потребности в ФСГ. Так, полиморфизм Asn680Ser (rs6166) является доказанным прогностическим фактором «бедного» ответа яичников на гонадотропную стимуляцию.

Полиморфизмы гена β-субъединицы ЛГ: Trp8Arg; Ile15Thr; Gly102Ser распространены достаточно широко, приводят к снижению активности эндогенного ЛГ и могут являться фактором снижения эффективности стимуляции препаратами ФСГ, что приводит к использованию больших курсовых доз ФСГ у пациенток с нормальными показателями овариального резерва. Назначение препаратов с ЛГ-активностью таким пациенткам в следующем протоколе снижает потребность в ФСГ.

Существует альтернативная, научно обоснованная теория, что в течение менструального цикла имеет место не одна, а несколько волн роста антральных фолликулов. Волнами роста фолликулов называют синхронный рост когорты антральных фолликулов через определенный интервал времени. Выделяют большую и малую типы волн, в которых инициация роста фолликулов начинается одновременно, но через несколько дней среди фолликулов большой волны один становится лидирующим, быстро растет – феномен девиации и селекции – и овулирует, остальные фолликулы подвергаются атрезии. В малой волне не наблюдается феномена девиации, селекции, овуляции лидирующего фолликула и все фолликулы подвергаются атрезии. Волны роста фолликулов были зарегистрированы у пациенток с помощью ультразвукового исследования; причем 75% женщин имели две волны, 32% – три волны роста фолликулов. В менструальных циклах с двумя или тремя волнами одна развивается в фолликулярную фазу цикла и является овуляторной, а другие – в лютеиновую фазу цикла и являются ановуляторными. В исследованиях показано, что развитие фолликулов в течение лютеиновой фазы цикла возможно при энуклеации желтого тела или при введении экзогенных гонадотропинов [34].

Митохондриальная дисфункция как возможная причина нарушения гаметогенеза, овуляции, раннего эмбриогенеза

Одними из наиболее важных клеточных органелл, влияющих на старение, являются митохондрии [35]. В отличие от других клеточных органелл, митохондрии обладают собственным уникальным геномом – двухцепочечной кольцевой ДНК (мтДНК) размером примерно 16,5 тыс. пар нуклеотидов. Из-за отсутствия механизмов репарации генома и защитных механизмов гистонов частота мутаций мтДНК примерно в 15 раз выше, чем в генетическом аппарате ядра. Показано, что увеличение количества мутаций мтДНК может быть вызвано возрастным накоплением активных форм кислорода и свободных радикалов, что приводит к дисфункции митохондрий. Митохондрии млекопитающих наследуются по материнской линии, так как митохондрии сперматозоидов разрушаются после оплодотворения

в ооците, чтобы защитить эмбрион и потомство от возможной передачи мутаций и гетероплазмии [36]. Хотя уровень гетероплазматического наследования мтДНК у людей низок (1–2%), установлено, что это низкоуровневое наследование гетероплазмии вместе с другими унаследованными митохондриальными и соматическими мутациями может вносить вклад в патологические процессы, связанные со старением [37]. Ранее сообщалось о снижении качества ооцитов, дефектах функции митохондрий и повышенном уровне мутаций и делеций в мтДНК ооцитов при старении. Продемонстрировано, что дефекты митохондриального биогенеза и системы продукции аденозинтрифосфата (АТФ) связаны с аномалиями мейоза, хромосомной анеуплоидией, задержкой развития, фолликулярной атрезией и, как результат, аномальным развитием эмбриона. Качество и количество митохондрий в ооцитах важны и могут быть показателями успешного оплодотворения и роста эмбриона [36].

В настоящее время активно изучается эффект от применения различных антиоксидантов и коферментов – L-карнитина, кофермента Q10, ресвератрола, α-липоевой кислоты для улучшения митохондриальной функции и фертильности. Выделение митохондрий из ооцитов молодых и здоровых доноров и их трансплантация в более старые и нездоровые ооциты может значительно улучшить скорость производства АТФ и качество ооцитов в целом. Предполагается, что перенос митохондрий – новый подход к лечению нарушений репродуктивной системы, направленный на передачу здоровой мтДНК следующему поколению. Предположили, что тромбоциты содержат низкий уровень дефектных митохондрий из-за высокой скорости обновления, происходящего каждые 10 дней, и могут рассматриваться как хороший источник здоровых митохондрий по сравнению с аутологичными клетками гранулезы, в которых мутации и делеции мтДНК по мере старения увеличиваются [36].

Недавние исследования показали, что в яичниках человека присутствуют оогониальные клетки-предшественники, которые могут рассматриваться, как один из возможных аутологичных источников здоровых митохондрий. При оценке клинической эффективности введения аутологичных митохондрий из оогониальных клеток-предшественников путем интрацитоплазматической инъекции для улучшения качества ооцитов у женщин с множественными неудачными попытками ЭКО наблюдались высокие показатели оплодотворения и эмбриональные показатели, что четко отражало улучшение качества ооцитов [36]. Митохондриальный перенос все чаще проводится в рамках исследований и клинической практике. В разных клинических исследованиях по изучению методов манипулирования митохондриями в клинических условиях источниками митохондрий являлись стволовые клетки яичников, клетки гранулезы или мезенхимальные стволовые клетки костного мозга [38]. Сообщается, что митохондрии, полученные из оогониальных клеток-предшественников зародышевой линии и унипотентных клеток коркового слоя яичников, являются наиболее перспективными и высококачественными источниками здоровых и активных митохондрий [36].

Заключение

В настоящее время актуальность проблем, связанных с восстановлением, сохранением, повышением фертильности, очень высока и растет с каждым годом. Известно, что несколько хромосомных аберраций, диагностируемых при кариотипировании, связаныо с женским бесплодием, однако совсем недавно были обнаружены моногенные мутации и другие факторы, предрасполагающие к развитию нарушений репродуктивной системы. В данном обзоре мы обобщили и проанализировали информацию о роли генетических, иммунологических причин, нарушений внутриячникового стероидо- и фолликулогенеза, приводящих к формированию дефекта ооцита, митохондриальных нарушений, что, в свою очередь, может способствовать нарушению раннего эмбриогенеза. Проанализированные данные являются многообещающими, но необходимы дальнейшие исследования по изучению этиопатогенеза нарушений репродуктивной системы с целью оптимизации алгоритма обследования и лечения пациентов. Особое внимание как объекту изучения уделено наиболее наглядной клинической модели нарушений репродуктивной системы – бесплодию неясного генеза, при котором репродуктивная система анатомически и функционально полноценна, однако зачатие не происходит.

В заключение приводим актуальный в настоящий момент с клинической точки зрения алгоритм диагностики и лечения пациентов с бесплодием неясного генеза (рисунок).

Рисунок. Алгоритм диагностики и лечения пациентов с бесплодием неясного генеза

Литература/References

1. *Назаренко Т.А.* Вспомогательная репродукция в клинической практике. Разбор клинических случаев с использованием международных и отечественных рекомендаций. М.: МедКом-Про; 2020. 121с. [Nazarenko T.A. Assisted reproduction in clinical practice. Analysis of clinical cases using international and domestic recommendations. M.: MedKom-Pro; 2020. 121 p. (in Russian)].
2. *Borght M.V., Wyns C.* Fertility and infertility: definition and epidemiology. Clin. Biochem. 2018; 62: 2-10. https://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012.
3. *Guerri G., Maniscalchi T., Barati S., Gerli S., Renzo G.C.D., Morte C.D.* et al. Non-syndromic monogenic female infertility. Acta Biomed. 2019; 90(10-S): 68-74. https://dx.doi.org/10.23750/abm.v90i10-S.8763.
4. *Назаренко Т.А.* Бесплодный брак. Что может и должен сделать врач женской консультации. Российский вестник акушера-гинеколога. 2015; 15(3): 81-5. [Nazarenko T.A. Barren marriage. What can and should be done by female clinic's physician. Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist. 2015; 15(3): 81-5. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.17116/rosakush201515381-85.
5. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению). Клинические рекомендации (протокол лечения). 2019: 33. [Ministry of Health of the Russian Federation. Female infertility (modern approaches to diagnosis and treatment). Clinical guidelines (Treatment protocol). 2019: 33. (in Russian)].
6. *Zegers-Hochschild F., Adamson G.D., Dyer S., Racowsky C., de Mouzon J., Sokol R.* et al. The International glossary on infertility and Fertility Care, 2017. Fertil. Steril. 2017; 108(3): 393-406. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.06.005.
7. *Halassy S., Mikhael S., Chorich L.P., Tam K.B., Diamond M.P., Burkholder A.B.* et al. Hall establishing the link between genetic variations of estrogen receptor 2 and unexplained infertility. J. Endocr. Soc. 2020; 4(1-S): SUN-738. https://dx.doi.org/10.1210/jendso/bvaa046.855.
8. *Foucaut A.-M., Faure C., Julia C., Czernichow S., Levy R., Dupont C.*; ALIFERT Collaborative Group. Sedentary behavior, physical inactivity and body composition in relation to idiopathic infertility among men and women. PLoS One. 2019; 14(4): e0210770. https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0210770.
9. *Wang R., Danhof N.A., Tjon-Kon-Fat R.I., Eijkemans M.J.C., Bossuyt P.M.M., Mochtar M.H.* et al. Interventions for unexplained infertility: a systematic review and network meta-analysis. Cochrane Database Syst. Rev. 2019; (9): CD012692. https://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD012692.pub2.
10. *Cariati F., D'Argenio V., Tomaiuolo R.* The evolving role of genetic tests in reproductive medicine. J. Transl. Med. 2019; 17(1): 267. https://dx.doi.org/10.1186/s12967-019-2019-8.
11. *Berek J.S., Novak E., Berek D.L.* Berek & Novak's gynecology, 16th ed. Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2019: 942-1000.
12. *Webber L., Davies M., Anderson R., Bartlett J., Braat D., Cartwright B.* et al.; European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) Guideline Group on POI. ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency. Hum. Reprod. 2016; 31(5): 926-37. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dew027.
13. *Rudnicka E., Kruszewska J., Klicka K., Kowalczyk J., Grymowicz M., Skórska J.* et al. Premature ovarian insufficiency – aetiopathology, epidemiology, and diagnostic evaluation. Prz. Menopauzalny. 2018; 17(3): 105-8. https://dx.doi.org/10.5114/pm.2018.78550.
14. *Kamalidehghan B., Habibi M., Afjeh S.S., Shoai M., Alidoost S., Ghale R.A.* et al. The importance of small non-coding RNAs in human reproduction: A review article. Appl. Clin. Genet. 2020; 13: 1-11. https://dx.doi.org/10.2147/TACG.S207491.
15. *Chen B., Zhang Z., Sun X., Kuang Y., Mao X., Wang X.* et al. Biallelic mutations in PATL2 cause female infertility characterized by oocyte maturation arrest. Am. J. Hum. Genet. 2017; 101(4): 609-15. https://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.08.018.
16. *Tournaye H., Krausz C., Oates R.D.* Novel concepts in the aetiology of male reproductive impairment. Lancet Diabetes Endocrinol. 2017; 5(7): 544-53. https://dx.doi.org/10.1016/S2213-8587(16)30040-7.
17. *Guerri G., Maniscalchi T., Barati S., Maria B.G., Del Giudice F., De Berardinis E.* et al. Non-syndromic monogenic male infertility. Acta Biomed. 2020; 90(10-S): 62-7. https://dx.doi.org/10.23750/abm.v90i10-S.8762.
18. *Arafat M., Har-Vardi I., Harlev A., Levitas E., Zeadna A., Abofoul-Azab M.* et al. Mutation in TDRD9 causes non-obstructive azoospermia in infertile men. J. Med. Genet. 2017; 54(9): 633-9. https://dx.doi.org/10.1136/jmedgenet-2017-104514.
19. *Sánchez-Sáez F., Gómez-H L., Dunne O.M., Gallego-Páramo C., Felipe-Medina N., Sánchez-Martín M.* et al. Meiotic chromosome synapsis depends on multivalent SYCE1-SIX6OS1 interactions that are disrupted in cases of human infertility. Sci. Adv. 2020; 6(36): eabb1660. https://dx.doi.org/10.1126/sciadv.abb1660.
20. *Lee A.S., Rusch J., Lima A.C., Usmani A., Huang N., Lepamets M.* et al. Rare mutations in the complement regulatory gene CSMD1 are associated with male and female infertility. Nat. Commun. 2019; 10: 4626. https://dx.doi.org/10.1038/s41467-019-12522-w.
21. *Rigau M., Juan D., Valencia A., Rico D.* Intronic CNVs and gene expression variation in human populations. PLoS Genet. 2019; 15(1): e1007902. https://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1007902.
22. *Roberts R.E., Farahani L., Webber L., Jayasena C.* Current understanding of hypothalamic amenorrhoea. Ther. Adv. Endocrinol. Metab. 2020; 11: 1-12. https://dx.doi.org/10.1177/2042018820945854.
23. *Li S., Cheng Y., Ye-Shang, Zhou D., Zhang Y., Yin T., Yang J.* Chromosomal polymorphisms associated with reproductive outcomes after IVF-ET. J. Assist. Reprod. Genet. 2020; 37(7): 1703-10. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-020-01793-8.
24. *Fattet A.-J., Toupance S., Thornton S.N., Monnin N., Guéant J.-L., Benetos A., Koscinski I.* Telomere length in granulosa cells and leukocytes: a potential marker of female fertility? A systematic review of the literature. J. Ovarian Res. 2020; 13(1): 96. https://dx.doi.org/10.1186/s13048-020-00702-y.
25. *Arias-Sosa L.A.* Understanding the role of telomere dynamics in normal and dysfunctional human reproduction. Reprod. Sci. 2019; 26(1): 6-17. https://dx.doi.org/10.1177/1933719118804409.
26. *Benetos A., Verhulst S., Labat C., Lai T.-P., Girerd N., Toupance S.* et al. Telomere length tracking in children and their parents: implications for adult onset diseases. FASEB J. 2019; 33(12): 14248-53. https://dx.doi.org/10.1096/fj.201901275R.
27. *Rocca M.S., Foresta C., Ferlin A.* Telomere length: lights and shadows on their role in human reproduction. Biol. Reprod. 2019; 100(2): 305-17. https://dx.doi.org/10.1093/biolre/ioy208.
28. *Kosebent E.G., Uysal F., Ozturk S.* Telomere length and telomerase activity during folliculogenesis in mammals. J. Reprod. Dev. 2018; 64(6): 477-84. https://dx.doi.org/10.1262/jrd.2018-076.
29. *Xu X., Chen X., Zhang X., Liu Y., Wang Z., Wang P.* et al. Impaired telomere length and telomerase activity in peripheral blood leukocytes and granulosa cells in patients with biochemical primary ovarian insufficiency. Hum. Reprod. 2017; 32(1): 201-7. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dew283.
30. *Lara-Molina E.E., Franasiak J.M., Marin D., Tao X., Díaz-Gimeno P., Florensa M.* et al. Cumulus cells have longer telomeres than leukocytes in reproductive age women. Fertil. Steril. 2020; 113(1): 217-23. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.08.089.
31. *Barlow D.H.* Telomere length and its assessment for female reproduction. Fertil. Steril. 2020; 113(1): 91-2. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.10.021.
32. *Vasilopoulos E., Fragkiadaki P., Kalliora C., Fragou D., Docea A.O., Vakonaki E.* et al. The association of female and male infertility with telomere length (Review). Int. J. Mol. Med. 2019; 44(2): 375-89. https://dx.doi.org/10.3892/ijmm.2019.4225.
33. *Коган И.Ю., Гзгзян А.М., Лесик Е.А.* Протоколы стимуляции яичников в циклах ЭКО. Руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2019. 128с. [Kogan I.Yu., Gzgzyan A.M., Lesik E.A. Ovarian Stimulation Protocols in

IVF Cycles: A Guide for Physicians. M.: GEOTAR-Media; 2019. 128 p. (in Russian)].

34. *Когап И.Ю.* Экстракорпоральное оплодотворение. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2021. 368с. [Kogan I.Yu. In Vitro Fertilization. M.: GEOTAR-Media; 2021. 368 p. (in Russian)].
35. *Wang Z.B., Hao J.X., Meng T.G., Guo L., Dong M.Z., Fan L.H.* et al. Transfer of autologous mitochondria from adipose tissue-derived stem cells rescues oocyte quality and infertility in aged mice. Aging (Albany NY). 2017; 9(12): 2480-8. https://dx.doi.org/10.18632/aging.101332.
36. *Mobarak H., Heidarpour M., Tsai P.-Sh. J., Rezabakhsh A., Rahbarghazi R., Nouri M., Mahdipour M.* Autologous mitochondrial microinjection; a strategy to improve the oocyte quality and subsequent reproductive outcome during aging. Cell Biosci. 2019; 9: 95. https://dx.doi.org/10.1186/s13578-019-0360-5.
37. *Kristensen S.G., Pors S.E., Andersen C.Y.* Improving oocyte quality by transfer of autologous mitochondria from fully grown oocytes. Hum. Reprod. 2017; 32(4): 725-32. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dex043.
38. *Ishii T., Hibino Y.* Mitochondrial manipulation in fertility clinics: regulation and responsibility. Reprod Biomed Soc Online. 2018; 5: 93-109. https://dx.doi.org/10.1016/j.rbms.2018.01.002.

Поступила 26.03.2021
Принята в печать 08.04.2021
Received 26.03.2021
Accepted 08.04.2021

Сведения об авторах:
Киракосян Евгения Валериковна, аспирант, кафедра акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии ИПО, ПМГМУ им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Министерства здравоохранения РФ, +7(916)574-79-63, evgeniya.kirakosyan@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-6021-2449, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Назаренко Татьяна Алексеевна, д.м.н., профессор, директор института репродуктивной медицины, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Министерства здравоохранения РФ, +7(495)531-44-44, t_nazarenko@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-5823-1667, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Павлович Станислав Владиславович, к.м.н., ученый секретарь, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Министерства здравоохранения РФ; профессор кафедры акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии ИПО, ПМГМУ им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), +7(495)438-20-88, s_pavlovich@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-1313-7079, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Автор, ответственный за переписку: Евгения Валериковна Киракосян, evgeniya.kirakosyan@mail.ru

Authors' information:
Evgeniya V. Kirakosyan, graduate, Department of Obstetrics, Gynecology, Perinatology and Reproductology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, +7(916)574-79-63, evgeniya.kirakosyan@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-6021-2449, 117997, Russia, Moscow, Akademika Oparina str., 4.
Tatyana A. Nazarenko, Dr. Med. Sci., Professor, Director of the Institute of Reproductive Medicine, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, +7(495)531-44-44, t_nazarenko@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-5823-1667, 117997, Russia, Moscow, Akademika Oparina str., 4.
Stanislav V. Pavlovich, Ph.D., Academic Secretary, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation; Professor, Department of Obstetrics, Gynecology, Perinatology and Reproductology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), +7(495)438-20-88, s_pavlovich@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-1313-7079, 117997, Russia, Moscow, Akademika Oparina str., 4.
Corresponding author: Evgeniya V. Kirakosyan, evgeniya.kirakosyan@mail.ru

©Коллектив авторов, 2021

А.А. ГАПОНЕНКО, Е.В. МИТЮРИНА, В.Е. ФРАНКЕВИЧ

МЕТАБОЛОМНЫЙ ПРОФИЛЬ ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ЖИДКОСТИ КАК МАРКЕР КАЧЕСТВА ООЦИТОВ В ПРОГРАММАХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

Одним из ведущих факторов, определяющих успешность проведения вспомогательных репродуктивных технологий, является получение эмбриона с высоким имплантационным потенциалом, что, в свою очередь, в большей степени зависит от качества гамет. Основным критерием оценки качества ооцитов является их морфологическая характеристика. Исследования последних лет направлены на поиск более точных и неинвазивных маркеров, определяющих способность яйцеклетки к оплодотворению и дальнейшему развитию эмбриона. Фолликулярная жидкость является уникальным объектом исследования, так как несет в себе информацию об особенностях метаболической активности ооцита, а значит, и его компетентности. Изучение метаболома биологических жидкостей стало возможным благодаря технологиям, основанным на использовании масс-спектрометрии и ядерного магнитного резонанса. В данном обзоре приведены исследования, в которых обсуждаются возможности изучения метаболомного профиля фолликулярной жидкости для оценки качества ооцита, а также целесообразности использования ряда метаболитов в качестве дополнительных маркеров. Приведены результаты ряда работ, посвященных изучению полного метаболомного профиля фолликулярной жидкости у пациенток различных возрастных групп, а также в зависимости от показателей антимюллерова гормона. Представлены данные о составе фолликулярной жидкости у женщин с синдромом поликистозных яичников и наличием других метаболических нарушений. Описаны исследования метаболома фолликулярной жидкости при эндометриоидных кистах яичников, а также у пациенток с повторными неудачами имплантации.

***Заключение:** Результаты проводимых исследований подтверждают перспективность и актуальность дальнейшего изучения метаболомного профиля фолликулярной жидкости, которые в дальнейшем могут позволить разработать предиктивную модель качества ооцитов.*

***Ключевые слова:** вспомогательные репродуктивные технологии, фолликулярная жидкость, метаболомный профиль, масс-спектрометрия.*

Вклад авторов: Гапоненко А.А., Митюрина Е.В., Франкевич В.Е. – разработка концепции и дизайна исследования, получение данных для анализа, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста рукописи.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование: Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Для цитирования: Гапоненко А.А., Митюрина Е.В., Франкевич В.Е. Метаболомный профиль фолликулярной жидкости как маркер качества ооцитов в программах вспомогательных репродуктивных технологий. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 26-31
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.26-31

©A group of authors, 2021

A.A. GAPONENKO, E.V. MITYURINA, V.E. FRANKEVICH

THE FOLLICULAR FLUID METABOLOMIC PROFILE AS A MARKER FOR OOCYTE QUALITY IN ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY PROGRAMS

Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

One of the leading factors in determining the success of assisted reproductive technologies is to obtain an embryo with a high implantation potential, which in turn depends more on the quality of gametes. The main criterion for assessing the quality of oocytes is their morphological characteristics. Recent studies are aimed at searching for more accurate and non-invasive markers that determine the egg ability to be fertilized and to subsequently develop to a normal embryo. Follicular fluid is a unique investigation object, as it carries information about the features of the metabolic activity of the oocyte, and hence its competence. A study of biological fluid metabolomes has become possible due to the technologies based on the use of mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. This review presents studies that discuss whether the follicular fluid metabolomic profile can be investigated to assess the quality of an oocyte and the feasibility of using a number of metabolites as additional markers. It also gives

the results of a number of studies of the complete metabolomic profile of follicular fluid from patients of different age groups and according to the values of anti-Müllerian hormone. There are data on the composition of follicular fluid in women with polycystic ovary syndrome and other metabolic disorders. The review describes the studies of follicular fluid metabolomes in patients with ovarian endometrioid cysts and in those with recurrent implantation failures.

Conclusion: *The results of the studies conducted have confirmed the prospects and relevance of further investigation of the follicular fluid metabolic profile, which may allow one to create predictive oocyte quality model in the future.*

Keywords: *assisted reproductive technologies, follicular fluid, metabolomic profile, mass spectrometry.*

Authors'contributions: Gaponenko A.A., Mityurina E.V., Frankevich V.E. – development of the concept and design of the investigation; obtaining the findings for analysis; review of publications on the topic of the article; analysis of the findings; writing the text of the manuscript.
Conflicts of interest: The authors declare that there are no conflicts of interest.
Funding: The investigation has not been sponsored.

For citation: Gaponenko A.A., Mityurina E.V., Frankevich V.E. The follicular fluid metabolomic profile as a marker for oocyte quality in assisted reproductive technology programs. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 26-31 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.26-31

Наиболее эффективным методом лечения бесплодия является использование вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), которые широко внедрены во всех странах мира. По данным European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), в ближайшее время ежегодно в мире будет проводиться более 1 млн циклов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) [1]. Однако, несмотря на значительное совершенствование методов ВРТ, частота наступления беременности остается сравнительно невысокой и составляет около 35% на проведенный цикл [2].

Основную роль в достижении положительных результатов при использовании методов ВРТ, несомненно, играет качество гамет. В экспериментах на животных было показано, что качество ооцитов имеет более существенное значение, нежели характеристики сперматозоидов [3, 4]. В связи с этим оценка качества ооцита – одна из ключевых задач эмбриологии, позволяющая произвести в последующем селекцию лучших эмбрионов с максимальным потенциалом к имплантации. Основным способом определения качества ооцитов является их морфологическая оценка и визуализация различных экстра- и цитоплазматических аномалий строения. Данный метод является простым, доступным, но и субъективным. Помимо этого, были предложены и другие методы. Так, Patrizio P. et al. (2007) в качестве маркера качества ооцитов изучали экспрессию генов в гранулезных клетках [5], а Dawson A. et al. (2006) для скрининга ооцитов с хромосомными дефектами проводили биопсию полярного тельца [6]. Другие исследователи для оценки компетентности ооцитов изучали веретено деления [7] или содержание и мутации митохондриальной ДНК [8]. Однако все эти методики являются трудоемкими и инвазивными. В связи с чем научный интерес многих исследователей в настоящее время направлен на поиск неинвазивных маркеров качества ооцитов. Одним из таких направлений является изучение компонентов фолликулярной жидкости (ФЖ), что стало возможным благодаря развитию постгеномных методов анализа. Особое место среди них занимают метаболомные технологии, основанные на использовании масс-спектрометрии и ядерного магнитного резонанса (ЯМР) [9]. Каждая из этих технологий имеет свои уникальные преимущества и недостатки. Так, метод масс-спектрометрии обладает высокой чувствительностью и специфичностью [10], а преимущества спектроскопии ЯМР состоят в том, что при оценке биологических жидкостей не требуется специальной подготовки образца и имеется возможность анализа небольших объемов исследуемого материала [11]. Методика масс-спектрометрии требует, чтобы различные классы соединений анализировались отдельно, и поэтому часто необходим этап предварительной хроматографии, что замедляет время анализа [12].

Метаболомика занимается измерением всех низкомолекулярных метаболитов (эндо- и экзогенных), которые могут быть обнаружены в живой клетке или организме [13]. Более того, существует мнение, что оценка метаболомного профиля любой биологической среды более информативна, чем прямые исследования экспрессии генов (геномика), мРНК (транскриптомика) и белков (протеомика). Сторонники метаболомного анализа жидкости объясняют это тем, что данная методика обеспечивает немедленную и точечную оценку функционального состояния биологической системы и ее клеток [14]. Биологические жидкости находятся в динамическом равновесии с клетками, поэтому качественный и количественный анализ метаболитов в жидкости отражает метаболизм внутри этих клеток [12]. ФЖ является биологической средой, в которой происходят наиболее важные этапы оогенеза, следовательно, есть основания полагать, что ее состав может указывать на качество ооцита, которое играет ключевую роль в оплодотворении, имплантации и раннем развитии эмбриона [15]. Более того, ФЖ является идеальной средой для оценки компетентности ооцитов, поскольку она получается вместе с ооцитом во время фолликулярной аспирации и обычно утилизируется. Ограничением ценности оценки ФЖ является факт высокой частоты встречаемости анеуплоидных ооцитов, что не может быть обнаружено с помощью анализа ее состава [12].

Первые работы по изучению отдельных компонентов ФЖ проводились еще в 90-е гг. XX в. Так, Boreto-Ruiz W.C. et al. (1984) выявили взаимосвязь более высоких уровней эстрадиола в ФЖ с успешным оплодотворением и наступлением беременности. Авторы сделали вывод, что более высокие концентрации эстрадиола в ФЖ свидетельствуют о лучшем качестве ооцитов [16]. Позднее другие исследователи не подтвердили эти данные. Tarlatzis B. et al (1985), Ben-Rafael Z. et al. (1987), напротив, показали, что высокие концентрации эстрадиола и прогестерона в ФЖ свидетельствуют о плохом качестве ооцитов [17, 18], а Asimakopoulos B. et al. (2008) и вовсе не обнаружили корреляции между уровнями данных гормонов и характеристиками ооцитов [19]. Противоречивые данные в определении компетентности ооцитов были получены и при изучении роли других гормонов. Так, в исследовании Mendoza C. et al. (2002) уровни пролактина в ФЖ положительно коррелировали с качеством ооцитов [12, 20], а в работах Lee M. et al. (1987), Reinthaller A. et al. (1987) эти показатели, напротив, имели обратную зависимость [12, 21, 22]. Другие исследователи не выявили корреляции качества ооцитов с уровнем пролактина в ФЖ [12, 23]. Аналогично в ряде работ [24, 25] были опровергнуты полученные ранее данные о том, что высокие концентрации лютеинизирующего гормона (ЛГ) и андростендиона, а также низкие уровни тестостерона связаны с наступлением беременности в цикле ЭКО [12].

Помимо стероидных гормонов, в состав ФЖ входят ферменты, электролиты, цитокины, антиоксиданты, а также пептиды и белки. Компоненты ФЖ сгруппированы в следующие категории: а) гормоны; б) факторы роста суперсемейства трансформирующих факторов роста бета; в) другие факторы роста и интерлейкины; г) реактивные формы кислорода (АФК); д) антиапоптотические факторы; е) белки, пептиды и аминокислоты; г) сахара; з) простаноиды [15].

Исследования, направленные на поиск предиктора качества ооцитов среди данных компонентов ФЖ, не смогли идентифицировать вещества, которые можно было бы использовать как надежный маркер способности ооцитов к оплодотворению, развитию эмбриона и беременности. В связи с чем большинство исследователей в настоящее время проводят оценку не одного или двух веществ из отдельных фолликулов, а стремятся к сложному молекулярному анализу всех веществ, содержащихся в ФЖ [12, 15], что, возможно, будет способствовать более высокой точности прогнозирования исхода программы ЭКО.

Панель метаболитов ФЖ, обсуждаемых в литературе в качестве предикторов компетентности ооцитов, включает глюкозу, лактат, холин, фосфохолин, пролин, лейцин/изолейцин, глутамин и липопротеиды высокой плотности (ЛПВП). Так, в исследовании Wallace M. et al. (2012) было показано, что с плохим качеством ооцитов коррелируют низкие уровни лактата, холина/фосфохолина и более высокие концентрации глюкозы, ЛПВП [26].

Низкомолекулярные метаболиты представляют собой конечные продукты клеточных регуляторных процессов и, следовательно, показывают реакцию биологических систем на различные генетические, питательные или другие внешние воздействия [27]. В связи с этим можно предположить, что метаболомный профиль ФЖ может отличаться у пациенток различных возрастных групп и при некоторых гинекологических заболеваниях. Так, например, высокий уровень глюкозы в ФЖ наблюдался у пациенток с ожирением [26], наличие которого ассоциировано с плохим качеством ооцитов. Song J. et al. (2020) с использованием жидкостной хроматографии/масс-спектроскопии изучали метаболомные изменения ФЖ у пациенток в зависимости от индекса массы тела (ИМТ). Авторы показали значительные изменения в ФЖ по мере увеличения ИМТ, что позволило сделать вывод об усилении апоптоза и развитии митохондриальной дисфункции в этой биологической среде. Однако остается неясным, насколько эти изменения оказывают негативное влияние на качество ооцитов, их способность к оплодотворению и дальнейшее развитие эмбриона [28].

В исследовании Karaer A. et al. (2019) было показано, что высокие концентрации глюкозы в ФЖ наблюдаются и у женщин с эндометриоидными кистами яичников [14]. Известно, что развитие фолликулов и стероидогенез зависят от содержания глюкозы; следовательно, изменение ее уровня в ФЖ будет оказывать неблагоприятное воздействие на рост фолликулов и созревание ооцитов. Повышение или снижение уровня глюкозы в ФЖ оказывает негативный эффект на созревание ядра и цитоплазмы ооцитов, а нарушение или асинхронность данного процесса, как известно, может приводить к появлению тех или иных морфологических аномалий строения яйцеклеток. Следует сказать, что имеются ограниченные данные о влиянии высоких уровней глюкозы на компетентность человеческого ооцита.

В исследовании Rice S. et al. (2005) было показано, что у женщин с синдромом поликистозных яичников наблюдается снижение в ФЖ уровня лактата, что подтверждает его роль в развитии ооцитов [29]. Эти же данные были подтверждены позднее в работе Wallace M. et al. (2012). Концентрация лактата была снижена в ФЖ тех фолликулов, где были получены ооциты, которые оплодотворились, но эмбрионы не дробились или же дробились, но беременность не наступила [26].

У пациенток с эндометриоидными кистами яичников в исследовании Karaer A. et al. (2019), напротив, наблюдалось повышение уровня лактата в ФЖ, что авторы объясняют повышенной гликолитической активностью гранулезных клеток и увеличением потребности в энергии растущего фолликула. Наряду с изменением концентрации лактата было отмечено и повышение уровней пирувата, что объясняется превращением глюкозы в пируват клетками кумулюса. Полученные данные позволили авторам сделать вывод о важной роли лактата и пирувата в обеспечении фолликулов энергией по мере роста и созревания ооцитов [14]. Помимо описан-

ных изменений, у пациенток с эндометриоидными кистами яичников в ФЖ наблюдается повышение моноацилглицеринов, жирных кислот, карнитина, диацилглицерола, фосфатидной кислоты, фосфатидилсерина, лизофосфатидилглицерола, лизофосфатидилинозитола и лизофосфатидной кислоты, что было показано в работе Cordeiro F.B. et al. (2017) [9, 30]. По мнению авторов, наличие воспалительных и пролиферативных изменений, характерных для эндометриоза яичников, объясняет повышение уровней лизофосфатидилглицерола и лизофосфатидной кислоты в фолликулярной среде [9, 30].

Наиболее важным маркером качества ооцитов и фактором для прогноза исхода цикла ВРТ является возраст женщины. Известно, что состав ФЖ изменяется с возрастом, что может быть причиной снижения компетентности ооцитов [31]. Zhang et al. (2020) с использованием жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии изучали метаболизм липидов в ФЖ у пациенток разных возрастных групп. Известно, что липиды являются важной энергетической поддержкой роста и развития ооцитов; они участвуют в построении мембраны, регулируют клеточный цикл, развитие и апоптоз. В исследовании было показано, что метаболизм липидов у пациенток старшей возрастной группы претерпевает значительные изменения в основном за счет повышения уровня арахидоновой кислоты, которая влияет на развитие ооцитов, вызывая снижение фертильности [32]. Montani D. et al. (2019) показали различия в липидном профиле ФЖ у пациенток с положительным и отрицательным исходом цикла ВРТ [33]. В другом исследовании при оценке метаболомного профиля ФЖ у женщин старше 40 лет наблюдалось снижение уровня глюкозы и повышение лактата, что обусловлено нарушением метаболизма фолликулярных клеток у пациенток данной возрастной группы. Обращает на себя внимание тот факт, что у пациенток моложе 40 лет со сниженными показателями овариального резерва наблюдались аналогичные изменения состава ФЖ [34].

Анализ метаболома ФЖ в зависимости концентрации сывороточного антимюллерова гормона (АМГ) в разных возрастных группах показал, что уровни глюкозы были снижены, а концентрации лактата и прогестерона существенно повышены, как у женщин до 35 лет со сниженным овариальным резервом, так и у пациенток старше 35 лет с нормальными показателями овариального резерва. Авторы делают вывод, что данные метаболические нарушения могут быть причиной нарушения компетентности в развитии ооцитов и последующего развития эмбриона [35].

De la Barca C.J.M. et al. (2017) провели оценку 136 метаболитов в ФЖ у 57 женщин в зависимости от параметров овариального резерва [36]. В группу со сниженным овариальным резервом были отнесены пациентки, имеющие уровень АМГ <2 нг/мл, ФСГ > 8 МЕ/л и наличие менее 4 фолликулов. Было показано значительное снижение активности плазмалогенов у женщин со сниженными параметрами овариального резерва по сравнению с группой контроля. Функции плазмалогенов ФЖ до конца не изучены, а снижение их уровня в сыворотке крови связано с окислительно-восстановительным дисбалансом. Одна из гипотез состоит в том, что уменьшение плазмалогенов в ФЖ у пациенток старшего репродуктивного возраста может быть связано с окислительным стрессом, приводящим к чрезмерному потреблению этих молекул [37]. Более высокие уровни активных форм кислорода и более низкие концентрации антиоксидантов как свидетельство окислительного стресса были обнаружены в ФЖ у пациенток с отрицательным исходом программы ЭКО в сравнении с теми, у кого беременность наступила [38].

Рядом исследователей было высказано предположение, что состав ФЖ изменяется при стимуляции яичников [12, 39, 40]. Так, Enien W. et al. (1995) продемонстрировали, что при проведении овариальной стимуляции гормональная внутрифолликулярная среда изменяется в зависимости от используемого протокола [40]. Авторы изучали содержание эстрадиола, прогестерона, тестостерона и хорионического гонадотропина в 129 образцах ФЖ в стимулированных и естественных циклах ЭКО, а также рассчитывали соотношение прогестерон/эстрадиол. Было показано, что концентрация эстрадиола и тестостерона в ФЖ была существенно ниже, а соотношение прогестерон/эстрадиол значимо выше в стимулированных циклах по сравнению с естественными циклами. Более того, уровень эстрадиола и хорионического гонадотропина человека были значительно ниже при проведении овариальной стимуляции в протоколе с антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона по сравнению с «длинным» протоколом [40]. В работе Santos M. (2012) также было показано, что в стимулированных циклах концентрация эстрадиола и ЛГ в ФЖ существенно ниже, чем в естественных циклах. Авторы полагают, что стимуляция овуляции приводит к изменениям в уровнях различных компонентов ФЖ, однако корреляции с качеством гамет ими выявлено не было [39].

Xia L. et al. (2014) с использованием газовой хроматографии/масс-спектрометрии изучали метаболомный профиль ФЖ у пациенток с повторными неудачами имплантации в программе ЭКО. Авторы показали, что в данной группе женщин наблюдается повышение уровней 12 аминокислот (валина, треонина, изолейцина, цистеина, серина, пролина, аланина, фенилаланина, лизина, метионина) и понижение содержания дикарбоновых кислот, холестерина и некоторых органических кислот. Данные компоненты ФЖ, по мнению исследователей, ответственны за качество и созревание ооцитов, и определение их концентраций может быть полезно для отбора компетентных ооцитов и эмбрионов у пациенток с повторными неудачами имплантации в программе ЭКО [41].

Заключение

Таким образом, изучение компонентов ФЖ, влияющих на результативность программ ВРТ, – одно

из важнейших направлений репродуктивной медицины. Однако, как показано в данном обзоре литературы, несмотря на большое количество исследований метаболомного профиля данной биологической среды, предикторы качества ооцитов и исходов программ ВРТ до конца не определены. Требуется дальнейшее изучение состава ФЖ на большей выборке пациенток, а также в зависимости от показателей овариального резерва, возраста и наличия различной гинекологической патологии.

Литература/References

1. *De Geyter C., Wyns C., Calhaz-Jorge C., de Mouzon J., Ferraretti A.P., Kupka M.* et al. 20 years of the European IVF-monitoring Consortium registry: what have we learned? A comparison with registries from two other regions. Hum. Reprod. 2020; 35(12): 2832-49. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deaa250.
2. *Gleicher N., Kushnir V.A., Barad D.H.* Worldwide decline of IVF birth rates and its probable causes. Hum. Reprod. Open. 2019; 2019(3): hoz017. https://dx.doi.org/10.1093/hropen/hoz017.
3. *Sirard M.A., Richard F., Blondin P., Robert C.* Contribution of the oocyte to embryo quality. Theriogenology. 2006; 65(1): 126-36. https://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.020.
4. *De Sousa P.A., Caveney A., Westhusin M.E., Watson A.J.* Temporal patterns of embryonic gene expression and their dependence on oogenetic factors. Theriogenology. 1998; 49(1): 115-28. https://dx.doi.org/10.1016/s0093-691x(97)00406-8.
5. *Patrizio P., Fragouli E., Bianchi V., Borini A., Wells D.* Molecular methods for selection of the ideal oocyte. Reprod. Biomed. Online. 2007; 15(3): 346-53. https://dx.doi.org/10.1016/s1472-6483(10)60349-5.
6. *Dawson A., Griesinger G., Diedrich K.* Screening oocytes by polar body biopsy. Reprod. Biomed. Online. 2006; 13(1): 104-9. https://dx.doi.org/10.1016/s1472-6483(10)62023-8.
7. *Moon J.H., Hyun C.S., Lee S.W., Son W.Y., Yoon S.H., Lim J.H.* Visualization of the metaphase II meiotic spindle in living huma oocytes using the Polscope enables the prediction of embryonic developmental competence after ICSI. Hum. Reprod. 2003; 18(4): 817-20. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deg165.
8. *Santos T.A., El Shourbagy S., St John J.C.* Mitochondrial content reflects oocyte variability and fertilization outcome. Fertil. Steril. 2006; 85(3): 584-91. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2005.09.017.
9. *Николенко И.Т., Смольникова В.Ю., Чаговец В.В.* Возможности прогнозирования исходов программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с эндометриоидными кистами яичников на основании метаболомного профиля фолликулярной жидкости. Акушерство и гинекология. 2020; 11: 44-8. [Nikolenko I.G., Smolnikova V.Yu., Chagovets V.V. Possibilities of predicting the outcomes of assisted reproductive technology programs in patients with endometrioid ovarian cysts based on the metabolic profile of the follicular fluid. Obstetrics and gynecology. 2020; 11: 44-8. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.11.44-48.
10. *Lei Z., Huhman D.V., Sumner L.W.* Mass spectrometry strategies in metabolomics. J. Biol. Chem. 2011; 286(29): 25435-42. https://dx.doi.org/10.1074/jbc.R111.238691.
11. *Bracewell-Milnes T., Saso S., Abdalla H., Nikolau D., Norman-Taylor J., Johnson M.* et al. Metabolomics as a tool to identify biomarkers to predict and improve outcomes in reproductive medicine: a systematic review. Hum. Reprod. Update. 2017; 23(6): 723-36. https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmx023.
12. *McRae C., Sharma V., Fisher J.* Metabolite profiling in the pursuit of bi-omarkers for IVF outcome: the case for metabolomics studies. Int. J. Reprod. Med. 2013; 2013: 603167. https://dx.doi.org/10.1155/2013/603167.
13. *Wishart D.S.* Metabolomics: the principles and potential applications to transplantation. Am. J. Transplant. 2005; 5(12): 2814-20. https://dx.doi.org/10.1111/j.1600-6143.2005.01119.x.
14. *Karaer A., Tuncay G., Mumcu A., Dogan B.* Metabolomics analysis of follicular fluid in women with ovarian endometriosis undergoing in vitro fertilization. Syst. Biol. Reprod. Med. 2019; 65(1): 39-47. https://dx.doi.org/10.1080/19396368.2018.1478469.
15. *Revelli A., Delle Piane L., Casano S., Molinari E., Massobrio M., Rinaudo P.* Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics. Reprod. Biol. Endocrinol. 2009; 7 :40. https://dx.doi.org/10.1186/1477-7827-7-40.
16. *Botero-Ruiz W., Laufer N., DeCherney A.H., Polan M.L., Haseltine F.P., Behrman H.R.* The relationship between follicular fluid steroid concentration and successful fertilization of human oocytes in vitro. Fertil. Steril. 1984; 41(6): 820-6. https://dx.doi.org/10.1016/s0015-0282(16)47892-1.
17. *Tarlatzis B.C., Laufer N., DeCherney A.H., Polan M.L., Haseltine F.P., Behrman H.R.* Adenosine 3',5'-monophosphate levels in human follicular fluid: relationship to oocyte maturation and achievement of pregnancy after in vitro fertilization. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1985; 60(6): 1111-5. https://dx.doi.org/10.1210/jcem-60-6-1111.
18. *Ben-Rafael Z., Meloni F., Strauss J.F. 3rd, Blasco L., Mastroianni L. Jr., Flickinger G.L.* Relationships between polypronuclear fertilization and follicular fluid hormones in gonadotropin-treated women. Fertil. Steril. 1987; 47(2): 284-8. https://dx.doi.org/10.1016/s0015-0282(16)50007-7.
19. *Asimakopoulos B., Abu-Hassan D., Metzen E., Al-Hasani S., Diedrich K., Nikolettos N.* The levels of steroid hormones and cytokines in individual follicles are not associated with the fertilization outcome after intracytoplasmic sperm injection. Fertil. Steril. 2008; 90(1): 60-4. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.05.054.
20. *Mendoza C., Ruiz-Requena E., Ortega E., Cremades N., Martinez F., Bernabeu R.* et al. Follicular fluid markers of oocyte developmental potential. Hum. Reprod. 2002; 17(4): 1017-22. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/17.4.1017.
21. *Lee M.S., Ben-Rafael Z., Meloni F., Mastroianni L. Jr., Flickinger G.L.* Relationship of human oocyte maturity, fertilization, and cleavage to follicular fluid prolactin and steroids. J. In Vitro Fert. Embryo Transf. 1987; 4(3):168-72. https://dx.doi.org/10.1007/BF01555465.
22. *Reinthaller A., Deutinger J., Riss P., Müller-Tyl E., Fischl F., Bieglmayer C.* et al. Relationship between the steroid and prolactin concentration in follicular fluid and the maturation and fertilization of human oocytes. J. In Vitro Fert. Embryo Transf. 1987; 4(4): 228-31. https://dx.doi.org/10.1007/BF01533761.
23. *Messinis I.E., Templeton A.A.* Relationship between intrafollicular levels of prolactin and sex steroids and in-vitro fertilization of human oocytes. Hum. Reprod. 1987; 2(7): 607-9. https://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a136598.
24. *Oda T., Yoshimura Y., Izumi Y., Yoshimura S., Hara T., Takehara Y.* et al. The effect of the follicular fluid adenosine 3',5'-monophosphate degradation rate on successful fertilization and cleavage of human oocytes. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1990; 71(1): 116-21. https://dx.doi.org/10.1210/jcem-71-1-116.
25. *Rosenbusch B., Djalali M., Sterzik K.* Is there any correlation between follicular fluid hormone concentrations, fertilizability, and cytogenetic analysis of human oocytes recovered for in vitro fertilization? Fertil. Steril. 1992; 57(6): 1358-60. https://dx.doi.org/10.1016/s0015-0282(16)55105-x.
26. *Wallace M., Cottell E., Gibney M.J., McAuliffe F.M., Wingfield M., Brennan L.* An investigation into the relationship between the metabolic profile of follicular fluid, oocyte developmental potential, and implantation outcome. Fertil. Steril. 2012; 97(5): 1078-84.e1-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.01.122.
27. *Singh R., Sinclair K.D.* Metabolomics: approaches to assessing oocyte and embryo quality. Theriogenology. 2007; 68(Suppl. 1): S56-62. https://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.007.
28. *Song J., Xiang S., Pang C., Guo J., Sun Z.* Metabolomic alternations of follicu-lar fluid of obese women undergoing in-vitro fertilization treatment. Sci. Rep. 2020; 10(1): 5968. https://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-62975-z.
29. *Rice S., Christoforidis N., Gadd C., Nikolaou D., Seyani L., Donaldson A.* et al. Impaired insulin-dependent glucose metabolism in granulosa-lutein cells from anovulatory women with polycystic ovaries. Hum. Reprod. 2005; 20(2): 373-81. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deh609.

30. *Cordeiro F.B., Cataldi T.R., da Costa L., de Souza B.Z., Montani D.A.* et al. Metabolomic profiling in follicular fluid of patients with infertility-related deep endometriosis. Metabolomics. 2017; 13: 120. https://dx.doi.org/10.1007/s11306-017-1262-3.

31. *Hulas-Stasiak M., Gawron A.* Follicular atresia in the prepubertal spiny mouse (Acomys cahirinus) ovary. Apoptosis. 2011; 16(10): 967-75. https://dx.doi.org/10.1007/s10495-011-0626-9.

32. *Zhang X., Wang T., Song J., Deng J., Sun Z.* Study on follicular fluid metabolomics components at different ages based on lipid metabolism. Reprod. Biol. Endocrinol. 2020; 18(1): 42. https://dx.doi.org/10.1186/s12958-020-00599-8.

33. *Montani D.A., Braga D.P.A.F., Borges E. Jr., Camargo M., Cordeiro F.B., Pilau E.J.* et al. Understanding mechanisms of oocyte development by follicular fluid lipidomics. J. Assist. Reprod. Genet. 2019; 36(5): 1003-11. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01428-7.

34. *Dogan B., Karaer A., Tuncay G., Tecellioglu N., Mumcu A.* High-resolution 1H-NMR spectroscopy indicates variations in metabolomics profile of follicular fluid from women with advanced maternal age. J. Assist. Reprod. Genet. 2020; 37(2): 321-30. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-020-01693-x.

35. *Pacella L., Zander-Fox D.L., Armstrong D.T., Lane M.* Women with reduced ovarian reserve or advanced maternal age have an altered follicular environment. Fertil. Steril. 2012; 98(4): 986-94.e1-2. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.06.025.

36. *de la Barca J.M.C., Boueilh T., Simard G., Boucret L., Ferré-L'Hotellier V., Tessier L.* et al. Targeted metabolomics reveals reduced levels of polyunsaturated choline plasmalogens and a smaller dimethylarginine/arginine ratio in the follicular fluid of patients with a diminished ovarian reserve. Hum. Reprod. 2017; 32(11): 2269-78. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dex303.

37. *Maeba R., Maeda T., Kinoshita M., Takao K., Takenaka H., Kusano J.* et al. Plasmalogens in human serum positively correlate with high-density lipoprotein and decrease with aging. J. Atheroscler. Thromb. 2007; 14(1): 12-8. https://dx.doi.org/10.5551/jat.14.12.

38. *Bedaiwy M.A., Elnashar S.A., Goldberg J.M., Sharma R., Maicha E.J., Arrigain S.* et al. Effect of follicular fluid oxidative stress parameters on intracytoplasmic sperm injection outcome. Gynecol. Endocrinol. 2012; 28(1): 51-5. https://dx.doi.org/10.3109/09513590.2011.579652.

39. *de los Santos M.J., García-Láez V., Beltrán-Torregrosa D., Horcajadas J.A., Martínez-Conejero J.A., Esteban F.J.* et al. Hormonal and molecular characterization of follicular fluid, cumulus cells and oocytes from preovulatory follicles in stimulated and unstimulated cycles. Hum. Reprod. 2012; 27(6): 1596-605. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/des082.

40. *Enien W.M., el Sahwy S., Harris C.P., Seif M.W., Elstein M.* Human chorionic gonadotrophin and steroid concentrations in follicular fluid: the relationship to oocyte maturity and fertilization rates in stimulated and natural in vitro fertilization cycles. Hum. Reprod. 1995; 10(11): 2840-4. https://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a135804.

41. *Xia L., Zhao X., Sun Y., Hong Y., Gao Y., Hu S.* Metabolomic profiling of human follicular fluid from patients with repeated failure of in vitro fertilization using gas chromatography/mass spectrometry. Int. J. Clin. Exp. Pathol. 2014; 7(10): 7220-9.

Поступила 31.05.2021
Принята в печать 15.06.2021
Received 31.05.2021
Accepted 15.06.2021

Сведения об авторах:
Гапоненко Александра Александровна, аспирант, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(926)700-44-14, sasha.gap@mail.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Митюрина Елена Викторовна, к.н.н., с.н.с. научно-клинического отделения вспомогательных репродуктивных технологий им. Фредерика Паулсена, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(964)796-74-65, mity-elena@yandex.ru, 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Франкевич Владимир Евгеньевич, д.ф-м.н., руководитель отдела системной биологии в репродукции, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(495)438-07-88 доб. 2198, v_frankevich@oparina4.ru, 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:
Alexandra A. Gaponenko, post-graduate student, F. Paulsen Research and Clinical Department for Assisted Reproductive Technologies, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, +7(926)700-44-14, sasha.gap@mail.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparin str., 4.
Elena V. Mityurina, PhD, Senior Researcher, F. Paulsen Research and Clinical Department for Assisted Reproductive Technologies, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, +7(964)796-74-65, mity-elena@yandex.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparin str., 4.
Vladimir E. Frankevich, PhD, Head of the Department of Systemic Biology in Reproduction, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, +7(495)438-07-88, v_frankevich@oparina4.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparin str., 4.

©Коллектив авторов, 2021

А.А. БАБАЯН, Н.П. МАКАРОВА, Н.В. КОНДАКОВА, Я.А. ГОХБЕРГ, О.С. НЕПША, Е.А. КАЛИНИНА

АНАЛИЗ МАТОЧНОЙ ЖИДКОСТИ КАК НОВАЯ ВОЗМОЖНОСТЬ ПОВЫШЕНИЯ ЧАСТОТЫ ИМПЛАНТАЦИИ В ПРОГРАММАХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Значительная доля неэффективных циклов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) побуждает исследователей продолжать поиск новых подходов для определения рецептивности эндометрия. Большинство современных методов оценки функционального состояния эндометрия является инвазивными и не может выполняться в одном цикле с переносом эмбриона в программах ВРТ. Внедрение технологий нового поколения (эпигеномика, транскриптомика, протеомика и метаболомика) позволяет лучше понять сложные биологические процессы, способствующие успешному исходу программ ВРТ. Возможность получения маточной жидкости непосредственно в цикле переноса эмбриона, с одной стороны, и применение омиксных технологий, позволяющих проводить поиск прогностических и диагностических маркеров, с другой стороны, открывают новые перспективы для изучения эндометрия в период окна имплантации. Анализ секрета эндометрия позволит определить молекулярный профиль маточной жидкости для выявления смещения или нарушения окна имплантации. Настоящий обзор посвящен описанию возможностей применения современных омиксных технологий с целью определения молекулярного профиля маточной жидкости в период окна имплантации для разработки индивидуального подхода к лечению в программах ВРТ.

***Заключение:** Результаты проводимых исследований подтверждают перспективность и актуальность изучения белкового, метаболомного и транскриптомного профилей с целью определения наиболее благоприятного периода времени для переноса эмбриона, что может быть использовано с целью повышения эффективности программ ВРТ.*

***Ключевые слова:** вспомогательные репродуктивные технологии, ВРТ, маточная жидкость, секретом, внеклеточные везикулы, протеом, малые некодирующие РНК, имплантация эмбриона.*

Вклад авторов: Бабаян А.А. – сбор и анализ литературных данных, написание статьи; Макарова Н.П. – редактирование статьи, утверждение публикации; Кондакова Н.В. – сбор и анализ литературных данных; Гохберг Я.А. – поиск литературных данных; Непша О.С. – критический анализ рукописи статьи, редактирование; Калинина Е.А. – финальное утверждение публикации.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

Финансирование: Работа проведена в рамках государственного задания «Решение проблемы бесплодия в современных условиях путем разработки клинико-диагностической модели бесплодного брака и использования инновационных технологий в программах вспомогательной репродукции» (№ 121040600410-7).

Для цитирования: Бабаян А.А., Макарова Н.П., Кондакова Н.В., Гохберг Я.А., Непша О.С., Калинина Е.А. Анализ маточной жидкости как новая возможность повышения частоты имплантации в программах вспомогательных репродуктивных технологий. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 32-40
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.32-40

©A group of authors, 2021

A.A. BABAYAN, N.P. MAKAROVA, N.V. KONDAKOVA,
YA.A. GOKHBERG, O.S. NEPSHA, E.A. KALININA

UTERINE FLUID ANALYSIS AS A NEW OPPORTUNITY TO INCREASE IMPLANTATION RATES IN ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY PROGRAMS

Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

A significant proportion of ineffective cycles of assisted reproductive technologies (ART) prompt investigators to continue to search for new approaches to defining endometrial receptivity. Most modern methods for evaluating the functional state of the endometrium are invasive and cannot be performed in one cycle with embryo transfer in the ART programs. The introduction of new-generation technologies (epigenomics, transcriptomics, proteomics, and metabolomics) makes it possible to better understand the complex biological processes that contribute to the successful outcome of ART programs. The possibility of obtaining uterine fluid directly in the embryo transfer cycle, on the one hand, and the use of omix technologies that allow the search for prognostic and diagnostic

markers, on the other hand, open up new perspectives for studying the endometrium during the implantation window. Endometrial secretion analysis will be able to identify the molecular profile of uterine fluid to detect window of displacement or disruption. This review describes the possibilities of applying modern omix technologies in identifying the molecular profile of uterine fluid during the implantation window for the elaboration of an individual treatment approach in the ART programs.

Conclusion: *The results of the studies conducted confirm the prospects and relevance of investigating the protein, metabolomic and transcriptomic profiles to determine the most favorable time period for embryo transfer, which can be used to enhance the effectiveness of ART programs.*

Keywords: *assisted reproductive technologies, ART, uterine fluid, secretome, extracellular vesicles, proteome, small noncoding RNAs, embryo implantation.*

Authors' contributions: Babayan A.A. – literature data collection and analysis; writing the article; Makarova N.P. – editing the article; approval of the publication; Kondakova N.V. – literature data collection and analysis; Gokhberg Ya.A. – search for literature data; Nepsha O.S. – critical analysis of the manuscript; editing; Kalinina E.A. – final approval of the publication.
Conflicts of interest: The authors declare that there are no possible conflicts of interest.
Funding: The investigation was conducted within the framework of the state assignment "Solving the problem of infertility in modern conditions, by creating a clinical and diagnostic model of infertile marriage and using innovative technologies in the assisted reproduction programs" (No. 121040600410-7).

For citation: Babayan A.A., Makarova N.P., Kondakova N.V., Gokhberg Ya.A., Nepsha O.S., Kalinina E.A. Uterine fluid analysis as a new opportunity to increase implantation ratesin assisted reproductive technology programs. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 32-40 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.32-40

Прогресс в репродуктивной медицине зависит от внедрения в клиническую практику современных технологий и разработки новых подходов и концепций для решения давних проблем в области лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [1]. Несмотря на возросшую эффективность программ ВРТ, она все еще далека от 100%, а проблема фертильности населения репродуктивного возраста является актуальной и не сдает своих позиций. Одной из важных причин, наряду с социальными и экономическими, несмотря на многочисленные и непрекращающиеся исследования в области репродукции, является все еще плохо изученная «молекулярная физиология» половых клеток, эмбрионов и эндометрия – трех основных компонентов, определяющих результативность программ ВРТ [2]. Надо понимать, что бесплодие обусловлено многофакторными нарушениями в одном или нескольких типах клеток/тканей. Появление омикс-технологий значительно расширяет наши знания и предоставляет больше информации о биологических процессах, связанных с репродуктивной функцией [3, 4]. Главным преимуществом этих технологий является получение огромного объема информации при относительно небольших затратах и усилиях.

Омикс-технологии представляют собой дисциплины, которые включают изучение комплексных и глобальных событий и процессов на уровне взаимодействия клеточных структур, от дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) до последствий реализации ее биологической функции, т.е. от ДНК и генов до метаболитов. Самой первой из омиксных технологий стала геномика. Она изучает структуру и функции генов – определяет нуклеотидные последовательности суммарного набора молекул ДНК, локализацию места их расположения и проводит сравнительный анализ структур геномов разных организмов. Эпигеномика — наука, изучающая наследственные изменения в экспрессии генов, которые происходят без каких-либо изменений в последовательности генов в результате эпигенетических модификаций ДНК и гистонов. Геномика – это инвентаризация информационного материала клетки, тогда как действительно работающие структуры – это белки. И протеомика изучает белковый состав биологических объектов, а также структурно-функциональные свойства белковых молекул, транслируемых с одного генома. Если геномная карта одинакова для всех клеток организма человека, то каждая клетка и ткань имеют собственную протеомную карту, которая индивидуальна для каждого типа клеток и изменяется в зависимости от состояния клетки, поэтому характерна для данного периода времени. Секретомика – это раздел протеомики, изучающий все секретируемые белки клетками, тканями. Метаболомика изучает конечные и промежуточные продукты обмена веществ в биологической системе, точнее, низкомолекулярные метаболические профили клеток, тканей и органов. Используя омикс-платформы, можно анализировать все классы биологических соединений, эпигенетических меток, генов, рибонуклеиновой кислоты (мРНК), белков и метаболитов. Различия между этими «-омиками» заключаются в том, что геномика/транскриптомика позволяет оценивать потенциальную информацию, протеомика позволяет оценивать фактически выполненные планы, а метаболомика в основном отражает результаты после выполнения этих планов [3].

Омикс-технологии обладают высокой пропускной способностью измерительных приборов, что позволяет изучать молекулярные аспекты клеточных структур и их функций посредством детекции белков, транскриптов РНК и/или метаболитов в глобальном масштабе, открывая, таким образом, дополнительные возможности в области репродуктивной медицины. Каждая из описанных выше технологий может быть внедрена в репродуктивную сферу для того, чтобы определить оптимальные

молекулярные особенности клеток и тканей, участвующих в размножении, а именно сперматозоидов, яичек, ооцитов, клеток гранулезы, эмбрионов и клеток эндометрия, а также их метаболитов в репродуктивных жидкостях (семенной плазме, фолликулярной жидкости, среде культивирования эмбрионов, маточной жидкости (МЖ) и т.д.). Внедрение системного подхода к изучению репродуктивных процессов приведет к совершенствованию способов селекции сперматозоидов и ооцитов, улучшению способов оплодотворения и состава сред для культивирования эмбрионов, пересмотру критериев выбора наиболее жизнеспособных эмбрионов, обладающих высоким имплантационным потенциалом, а также определению наиболее благоприятного момента и состояния эндометрия для переноса эмбриона (ПЭ), что может привести к повышению числа рожденных детей [5, 6].

Актуальность изучения состава маточной жидкости в контексте лечения бесплодия методами ВРТ

Внедрение преимплантационного генетического тестирования эмбрионов на анеуплоидии в современные протоколы лечения пациенток с бесплодием повысило эффективность программ ВРТ до 60–70% [7–9], однако доля циклов, в которых перенос эуплоидных эмбрионов не приводит к имплантации, остается значительной и может достигать 40%.

Имплантация эмбриона – это высоко скоординированный процесс, при котором эмбрион на стадии бластоцисты прикрепляется в полости матки матери. Данный процесс включает три фазы: оппозицию, адгезию и инвазию. Во время оппозиции бластоциста направляется в определенное место эндометрия для имплантации. Во время этих событий прямой контакт между эмбрионом и эндометрием отсутствует, а двунаправленные взаимодействия опосредуются растворимыми молекулами, присутствующими в МЖ. Во время фазы адгезии происходит непосредственное взаимодействие между трофэктодермой и клетками эндометрия. В фазе инвазии клетки трофобласта подвергаются дифференцировке, становятся инвазивными и проникают в эпителий, прорываясь через базальную мембрану в строму, чтобы достичь материнской сосудистой сети [10].

Имплантация может происходить только в течение короткого периода времени – в середине секреторной фазы каждого цикла, когда эндометрий становится рецептивным (окно имплантации). Эндометрий характеризуется двумя свойствами: рецептивностью и селективностью, которые представляют две взаимодополняющие концепции [11]. Селективность – внутренняя запрограммированная функция эндометрия по распознаванию и отторжению эмбрионов с пониженным потенциалом развития. Восприимчивость же позволяет эндометрию обеспечивать оптимальную среду для развития эмбриона и образования плаценты. Отсутствие имплантации может быть следствием нарушения селективности и/или восприимчивости эндометрия [12]. Первичное взаимодействие между эмбрионом и эндометрием происходит посредством компонентов, входящих в состав МЖ. Качественный и количественный состав молекул в МЖ определяет дальнейшую судьбу эмбриона. Показано, что с качеством эмбриона связана одна треть неудач имплантации, в то время как субоптимальная рецептивность эндометрия и измененный диалог «эмбрион-эндометрий» ответственны за оставшиеся две трети [13].

У фертильных женщин окно имплантации обычно длится 30–36 ч, что соответствует 7–9-му дню после всплеска лютеинизирующего гормона, который параллелен пику прогестерона (ПР) в естественном цикле (ЕЦ) [14] или между днями «ПР+4» и «ПР+7» при циклической гормональной терапии. Примерно в 30% циклов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) ПЭ не попадает в окно имплантации, в результате чего отсутствует синхронизация эмбриона и эндометрия [1]. При ПЭ в цикле стимуляции яичников может происходить преждевременное созревание эндометрия, в циклах с антагонистами наблюдали ускорение созревания эндометрия на 2,5 дня, а раннее созревание эндометрия (более 3 дней) никогда не приводило к клинической беременности [15]. Именно преждевременное созревание эндометрия может приводить к отсутствию синхронизации с развивающимся эмбрионом, вызывая снижение показателей успешности лечения бесплодия методами ВРТ в цикле со стимуляцией функции яичников. Таким образом, правильная оценка состояния эндометрия является центральным звеном успешной имплантации эмбрионов.

В последние два десятилетия ткани эндометрия активно изучаются с помощью гистологических, гистохимических и биохимических методов. Было описано большое количество белков и других молекул, которые экспрессируются в эндометрии в зависимости от фазы цикла. Однако полученные данные не позволяют получить общую картину физиологии нормального эндометрия и патофизиологии эндометрия, приводящей к репродуктивным неудачам.

В последние годы была изучена экспрессия генов в клетках эндометрия в разные фазы менструального цикла, а в качестве диагностического инструмента окна имплантации была предложена матрица рецептивности эндометрия (endometrial receptivity array – ERA) [16]. Использование в рутинной клинической практике теста ERA показало, что он имеет ряд существенных недостатков. Уровень экспрессии генов клеток эндометрия не всегда коррелирует с присутствием посттрансляционных продуктов (белков) в МЖ, не все матричные РНК (мРНК) транслируются в белок. Из сотен изменений уровней экспрессии генов в тесте ERA относительно немногие являются общими для более двух исследований [15]. Именно поэтому более перспективными представляются исследования белка, поскольку белок является основным участником большинства физиологических процессов. Хотя тест ERA представляет собой многоо-

бещающий инструмент оценки рецептивности, по своей сути для выполнения данного исследования необходимо провести инвазивную процедуру забора биологического материала – биопсию. Проведение данной манипуляции исключает ее использование в цикле ПЭ. Также к недостаткам теста ERA относят влияние вариабельности экспрессии генов клеток эндометрия от цикла к циклу женщины. Материал, полученный с помощью биопсии эндометрия, с высокой долей информативности может описывать локальное состояние определенного участка эндометрия, но не всего эндометрия.

В связи с вышесказанным назрел вопрос о необходимости разработки и внедрения альтернативных методов диагностики и инструментальных подходов, которые будут дополнять и/или заменять традиционные. Идеальный биомаркер рецептивности эндометрия следует искать либо в МЖ, либо в плазме периферической крови [17].

МЖ может быть собрана безболезненным способом путем аспирации атравматичным катетером [18, 19]. Изучение секрета эндометрия в период окна имплантации представляет научный интерес, потому что определенный молекулярный профиль в это время может быть репрезентативным для оценки рецептивности эндометрия и, следовательно, иметь диагностическую ценность при ВРТ. Анализ содержимого МЖ является многообещающей альтернативой диагностическим методам с использованием фрагментов тканей. МЖ состоит из большого числа аминокислот, ионов, углеводов, липидов, белков (включая цитокины и ферменты), гормонов, факторов роста, экстраклеточных везикул, а также свободных или связанных с экзосомами микроРНК [20]. В последнее десятилетие ряд работ был направлен на секретомный анализ лаважа матки [21] и самой МЖ [22, 23], а также на изучение роли различных компонентов секретома (растворимых компонентов и экстраклеточных везикул) [24]. Считается, что МЖ в силу отсутствия клеточного компонента лучше поддается протеомным методам исследования [21].

Способы получения маточной жидкости в клинической практике

Многочисленные научные и клинические данные рандомизированных исследований указывают на то, что гистологическому исследованию эндометрия не хватает точности в определении рецептивности [18, 23, 25], что вызвало необходимость в более надежных методах оценки эндометрия. Сбор МЖ для оценки рецептивных свойств эндометрия в программах ВРТ является атравматичным методом, что подтверждают данные исследований [26, 27]. Безопасно осуществлять сбор проб МЖ возможно в различные фазы менструального цикла путем введения в матку стерильного катетера для ПЭ, соединенного со шприцем (10 мл) под ультразвуковым контролем. Катетер вводят аккуратно, избегая травмирования шейки матки или соприкосновения с дном матки. В случае повышенной вагинальной секреции влагалище обрабатывают стерильным физиологическим раствором. Для секретомного анализа следует использовать образцы без примеси крови [26, 27]. Объем аспирируемой МЖ может варьировать от 5 до 50 мкл. После выполнения описанных манипуляций пробы немедленно помещают в стерильные пробирки, замораживают при температуре -80°С. С целью увеличения аспирируемого объема некоторые исследователи применяют лаваж («смывы») полости матки, то есть предварительно орошают полость матки стерильным физиологическим раствором в объеме 3–5 мл. Стоит отметить, что чистая МЖ является более информативным биологическим материалом по причине отсутствия разбавления. Сбор проб МЖ можно осуществлять при различных заболеваниях репродуктивной системы и различных факторах бесплодия, что позволяет расширить спектр и объем проводимых исследований в программах ВРТ [28].

Протеомный анализ маточной жидкости

Секреция эндометрия важна для поддержания жизнеспособности эмбриона до имплантации [29]. Протеомный анализ состава МЖ показал, что в ней содержится не менее 600–1500 различных белков [30, 31]. Протеомный спектр МЖ отражает не только паттерны экспрессии белка в ткани эндометрия, но может содержать компоненты других жидкостей репродуктивной системы, влияющих на имплантацию эмбриона [32]. Полученные результаты в настоящее время позволили приблизиться к пониманию патогенеза заболеваний, связанных с изменениями тканей эндометрия, например, при онкологических заболеваниях [33, 34]. Протеомика может предоставить больше информации о репродукции человека и служить инновационным инструментом для изучения рецептивности эндометрия в рутинной практике клиник ЭКО [28, 35].

В 2009 г. Casado-Vela et al. впервые сообщили о протеомном профиле 803 белков в аспирате МЖ в секреторную фазу менструального цикла [22]. В дальнейших исследованиях были проанализированы 4694 белка в МЖ на 16–21-й дни менструального цикла [36]. В образцах были обнаружены белки, участвующие в процессах межклеточной и локальной адгезии, врожденного иммунитета, бактериальной инвазии эпителиальных клеток и биосинтеза антибиотиков, что согласуется с главной ролью эндометрия – облегчение имплантации эмбриона и модуляция иммунного ответа.

Parmar T. et al. выяснили, что молекулярные профили МЖ в разные дни менструального цикла женщины отличаются. Циклическая смена фаз эндометрия находится под влиянием половых гормонов и характеризуется критическими молекулярными изменениями [37]. Xi G. et al. также описали протеомные профили МЖ при переходе эндометрия от пролиферативной к секреторной фазе [28]. Авторы изучали МЖ в период предполагаемого окна имплантации, формируя экспериментальные группы от дня пика ЛГ: «ЛГ+9» против «ЛГ+4»;

«ЛГ+2» против «ЛГ+7». Разные молекулярные профили в анализируемые дни забора МЖ подтвердили большой разброс экспрессии белков в период окна имплантации разных женщин. Другие авторы обнаружили, что МЖ по сравнению с тканями эндометрия содержит больше белков экзосомальных, внеклеточных, цитозольных и плазматических мембран [38]. В проводимых исследованиях не было названо ни одного уникального маркера, связанного с окном имплантации. Только два белка, а именно миристоилированный богатый аланином субстрат киназы С (MARCKS) и аминотрансфераза с разветвленной цепью (BCAT) показали одинаковый характер изменений экспрессии [38]. MARCKS – белок, который участвует во многих клеточных процессах: от построения цитоскелета до ответа клеток на воспаление. Белок BCAT связан с неврологической дисфункцией, ростом. Тем не менее роль MARCKS и BCAT в имплантации эмбриона до конца не ясна.

Две группы авторов сравнивали состав МЖ непосредственно перед ПЭ на 3-и сутки после оплодотворения в циклах стимуляции функции яичников в когортах женщин с «положительной» и «отрицательной» имплантацией [26, 39]. В обоих исследованиях образцы анализировали с помощью жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. В работе Azkargorta et al. (2018) [48] в образцах МЖ женщин с неудачной имплантацией была отмечена активация процессов, связанных с воспалительным и иммунным ответом, а также было детектировано обогащение белков, ассоциированных с межклеточной адгезией и окислительно-восстановительными процессами (реакция на стресс). Часть белков, связанных со стрессом и иммунным ответом, являлась частью сигнального каскада комплемента. Полученные результаты могут означать, с одной стороны, нарушение местной регуляции работы комплемента, а с другой – активацию противомикробного ответа у женщин с неудачной имплантацией. В результате тщательного биоинформатического анализа набора дифференциально представленных белков авторами был предложен потенциальный биомаркер для определения рецептивности эндометрия и успешной имплантации: белок PYGB (Glycogen phosphorylase, brain form), количественное содержание которого было повышено в циклах с успешной имплантацией (p=0,0012).

Matorras et al. (2018) [49] обнаружили 20 специфических белков, которые по-разному экспрессируются в МЖ в циклах с имплантацией эмбриона: экспрессия каталазы была значительно выражена, а 19 других снижена (среди них аргиназа-1, актин B, PARK-7, кофилин-1, статмин, аннексин-2 и CAPZB). Большинство белков связаны с процессом деления и/или роста клеток, с энергетическими путями, метаболизмом и клеточной коммуникацией. Выявленное подавление экспрессии большинства белков может указывать на особое функциональное состояние клеток эндометрия в период имплантации эмбриона.

Edgell et al. (2018) оценили концентрацию потенциальных биомаркеров рецептивности (сосудисто-эндотелиальный фактор роста (VEGF), интерлейкин-8 (IL8), фактор роста фибробластов-2 (FGF2), колониестимулирующий фактор-3 (CSF3), растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 (sFlt-1), растворимый гликопротеин 130 (sGP130), плацентарный фактор роста (PlGF) в МЖ в раннюю и среднюю секреторную фазы менструального цикла в группах фертильных женщин и женщин с бесплодием неясного генеза. Было отмечено значительное повышение концентрации 5 биомаркеров: PlGF (p=0,001), IL8 (p=0,004), sGP130 (p=0,009), sFlt-1 (p=0,021) и CSF3 (p=0,029) в МЖ в среднюю секреторную фазу менструального цикла у женщин с бесплодием, при этом белок CSF3 был значительно повышен и в ранней секреторной фазе (p=0,006) [40].

Пациенты, страдающие повторными неудачами имплантации (recurrent implantation failure – RIF), составляют одну из самых сложных групп пациентов. Синдром RIF определяют как невозможность наступления клинической беременности после переноса четырех эмбрионов хорошего качества в течение как минимум трех или более циклов у женщин в возрасте до 40 лет [41]. У некоторых пациентов с RIF окно имплантации может смещаться во времени, что приводит к дисбалансу между развивающимся эмбрионом и эндометрием и может быть причиной неудач имплантации. Также RIF может возникать в результате «некорректного» молекулярного профиля МЖ во время окна имплантации. Оба варианта могут присутствовать у одного и того же пациента с RIF [42]. В связи с чем концепция патогенеза RIF требует дополнительных молекулярно-генетических и морфофункциональных исследований, которые помогут в лечении данного состояния.

В результате сравнительного протеомного анализа состава образцов МЖ ранней и средней секреторной фаз цикла фертильных женщин, пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и пациенток с RIF было выявлено 3158 белков в секреторной фазе, из которых для 367 были выявлены значительные изменения при переходе от ранней секреторной фазы к средней [42]. Дополнительная проверка 45 белков с помощью целевой масс-спектрометрии показала, что 21 белок имеет сопоставимые уровни между ранней секреторной фазой контрольных образцов и средней секреторной фазой образцов с RIF, что указывает на смещение окна имплантации. Вероятно, у женщин с RIF изменяется протеомный профиль МЖ в среднюю секреторную фазу цикла, что может служить причиной низкой эффективности программ лечения бесплодия методами ВРТ.

Липидомный анализ маточной жидкости

Из четырех видов биологических молекул, составляющих тело человека (нуклеиновые кислоты, аминокислоты, углеводы и липиды), липиды выделяются среди различных клеточных метаболитов огромным количеством различных молекулярных

видов. Липиды чрезвычайно распространены в биологических системах, составляя 50% массы клеточных мембран животных. Липидомика представляет собой раздел метаболомики, изучающий виды липидов, существующие в клетках или биологических системах, а также метаболические пути и связанные с ними сети. Липиды выполняют функции, которые выходят за рамки структуры клеточной мембраны и хранения энергии. Липидные медиаторы участвуют в путях передачи сигналов, пролиферации, апоптозе и переносе через мембрану клетки.

Современный анализ липидов предпочтительно выполнять с помощью масс-спектрометрии, которая позволяет изучать интактные виды молекул липидов из очень малых объемов образцов. Это дает преимущество именно липидомике в оценке репродуктивного статуса пациентов в программах лечения бесплодия. Исследования в области репродуктивной медицины показали, что некоторые липиды, такие как триглицериды, простагландины, тромбоксаны, эйкозаноиды, эндоканнабиноиды и сфинголипиды, играют важную роль в репродуктивной биологии именно на ранних сроках беременности (предимплантационное развитие эмбриона и процессы имплантации) [43, 44]. Простагландины являются одними из самых изученных липидов в эндометрии. Рядом авторов было показано, что простагландины играют важную роль в овуляции, оплодотворении и имплантации, в то время как эндоканнабиноиды необходимы для синхронизации процессов между предимплантационным развитием эмбриона и рецептивностью эндометрия [45].

Vilella et al. исследовали содержание липидов в МЖ человека во время естественного цикла, циклов стимуляции овуляции и при циклической гормональной терапии, выявив значительно повышенные концентрации простагландинов E2 и F2α во время окна имплантации. Эти два липида были предложены в качестве неинвазивных биомаркеров статуса эндометрия, которые целесообразно использовать непосредственно перед ПЭ для прогнозирования успешной беременности [46].

В своем исследовании, используя подход нецелевой липидомики, Braga et al. показали полезность липидного профиля МЖ в качестве неинвазивного теста для прогнозирования восприимчивости эндометрия [47]. В исследовании Matorras et al. был выполнен сравнительный анализ липидомных паттернов МЖ в циклах ЭКО с успешной и неуспешной имплантацией при ПЭ на 3-и сутки культивирования. Было показано, что 8 метаболитов значительно изменены в МЖ в «неимплантационных» циклах. Отметим, что все метаболиты были глицерофосфолипидами, за исключением омега-6 полиненасыщенных жирных кислот. Лизофосфолипиды, особенно лизофосфатидилхолины, привлекли к себе внимание как потенциальные биомаркеры бесплодия из-за их роли в качестве липидных медиаторов внутриклеточной передачи сигналов и их дисрегулируемых уровней при воспалительных заболеваниях. Показано, что преобразование в лизофосфатидную кислоту под действием лизофосфолипазы D играет важную роль в развитии беременности у человека, а лизофосфатидная кислота играет роль в процессе имплантации [48].

Анализ липидного состава МЖ в исследовании Cavagna et al. показал, что существуют значительные изменения концентрации лизофосфатидилхолинов, в то время как три лизофосфатидилэтаноламина резко снижаются в «неимплантационных» циклах. Сниженные уровни лизофосфатидилэтаноламинов также были связаны с минимальным/легким эндометриозом (пациенты с лапароскопически подтвержденным эндометриозом на стадиях I–II) [49].

Роль полиненасыщенных жирных кислот омега-3 и омега-6 изучали в крови при беременности и бесплодии. Было показано, что сывороточные уровни линолевой кислоты, омега-6, альфа-линоленовой кислоты и омега-3 влияют на имплантацию эмбриона и частоту наступления беременности у женщин в программах ВРТ [50]. Отрицательная связь была обнаружена между уровнями альфа-линоленовой кислоты в сыворотке и частотой наступления беременности в программах ВРТ, в то время как повышенное соотношение «линолевая кислота/альфа-линоленовая кислота» в сыворотке крови женщины способствует имплантации эмбриона и увеличивает частоту наступления беременности.

Matorras et al. в своем исследовании отмечают, что изучение липидного состава МЖ необходимо проводить в программах переноса генетически нормального эмбриона; только так возможно нивелировать влияние качества эмбриона на исходы программ лечения бесплодия методами ВРТ [50].

Спектроскопическое исследование холина, креатина, лактата и липидов в МЖ непосредственно перед ПЭ у пациенток с множественными неудачными попытками ЭКО показало, что во всех случаях положительной имплантации были высокие концентрации холина и малые – лактата. Главным маркером МЖ у бесплодных женщин было усиление лактатных и липидных сигналов [51].

Таким образом, проводимые исследования по изучению липидного состава МЖ могут предложить мощный инструмент для определения имплантационного статуса эндометрия, чтобы улучшить процедуры лечения бесплодия методами ВРТ.

Заключение

События, ведущие к успешной имплантации, являются результатом регулируемой экспрессии эмбриональных и эндометриальных генов. Омиксные технологии меняют наше понимание этих сложных процессов, значительно расширяя возможности идентификации новых потенциальных биомаркеров для характеристики рецептивности эндометрия и предоставляя огромный набор ключевых молекул, которые полезны для определения молекулярных причин неудач имплантации.

Анализ секретома МЖ позволяет лучше понять сложные и динамические изменения, связанные с рецептивностью эндометрия и имплантацией эмбриона. Одновременный анализ множества молекул, обеспечиваемый внедрением современных тех-

нологий, с использованием принципов системной биологии имеет решающее значение для разработки лучших методов диагностики и лечения. Они играют ключевую роль в поиске прогнозирующих биомаркеров заболевания, предоставляют инструменты для более глубокого понимания имплантации эмбриона, а также патологических ситуаций с целью улучшения тактики ведения пациентов.

Использование анализа МЖ в клинической практике репродуктивной медицины является малоинвазивным методом мониторинга рецептивности эндометрия. Необходимы хорошо спланированные и мощные исследования с инновационными омикс-подходами и комплексным анализом данных. Внедрение технологий нового поколения и многоцентровое сотрудничество, вероятно, обеспечат надежные и действительные биомаркеры для прогнозирования рецептивного статуса эндометрия непосредственно перед ПЭ без риска нарушения имплантации. Выявление неблагоприятного паттерна имплантации может изменить стратегии ПЭ (криоконсервация или отсрочка ПЭ) и даже открыть возможность терапии эндометрия и обеспечить персонализированный подход к каждому пациенту.

Литература/References

1. *Ruiz-Alonso M., Valbuena D., Gomez C., Cuzzi J., Simon C.* Endometrial Receptivity Analysis (ERA): data versus opinions. Hum. Reprod. Open. 2021; 2021(2): hoab011. https://dx.doi.org/10.1093/hropen/hoab011.
2. *Varghese A.C., Goldberg E., Bhattacharyya A.K., Agarwal A.* Emerging technologies for the molecular study of infertility, and potential clinical applications. Reprod. Biomed. Online. 2007; 15(4): 451-6. https://dx.doi.org/10.1016/s1472-6483(10)60372-0.
3. *Silvestri E., Lombardi A., de Lange P., Glinni D., Senese R., Ciaffi F.* et al. Studies of complex biological systems with applications to molecular medicine: The need to integrate transcriptomic and proteomic approaches. J. Biomed. Biotechnol. 2011; 2011: 810242. https://dx.doi.org/10.1155/2011/810242.
4. *Драпкина Ю.С., Тимофеева А.В., Чаговец В.В., Кононихин А.С., Франкевич В.Е., Калинина Е.А.* Применение омиксных технологий в решении проблем репродуктивной медицины. Акушерство и гинекология. 2018; 9: 24-32. [Drapkina Yu.S., Timofeeva A.V., Chagovets V.V., Kononikhin A.S., Frankevich V.E., Kalinina E.A. Use of omics technologies to solve the problems of reproductive medicine. Obstetrics and Gynecology. 2018; 9: 24-32. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.9.24-32.
5. *Гзгберг Я.А., Макарова Н.П., Бабаян А.А., Калинина Е.А.* Роль различных факторов воздействия на эндометрий в повышении эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий. Акушерство и гинекология. 2021; 1: 28-34. [Gokhberg Ya.A., Makarova N.P., Babayan A.A., Kalinina E.A. The role of various factors affecting the endometrium in enhancing the effectiveness of assisted reproductive technology programs. Obstetrics and Gynecology. 2021; 1: 28-34. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.1.28-34.
6. *Egea R.R., Garrido N.G., Escrivá M.M., Varghese A.C.* OMICS: Current and future perspectives in reproductive medicine and technology. J. Hum. Reprod. Sci. 2014; 7(2): 73-92. https://dx.doi.org/10.4103/0974-1208.138857.
7. *Fiorentino F., Bono S., Biricik A., Nuccitelli A., Cotroneo E., Cottone G.* et al. Application of next-generation sequencing technology for comprehensive aneuploidy screening of blastocysts in clinical preimplantation genetic screening cycles. Hum. Reprod. 2014; 29(12): 2802-13. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deu277.
8. *Yang Z., Lin J., Zhang J., Fong W.I., Li P., Zhao R.* et al. Randomized comparison of next-generation sequencing and array comparative genomic hybridization for preimplantation genetic screening: a pilot study. BMC Med. Genomics. 2015; 8: 30. https://dx.doi.org/10.1186/s12920-015-0110-4.
9. *Yang Z., Liu J., Collins G.S., Salem S.A., Liu X., Lyle S.S.* et al. Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis IVF patients: results from a randomized pilot study. Mol. Cytogenet. 2012; 5(1): 24. https://dx.doi.org/10.1186/1755-8166-5-24.
10. *Hernández-Vargas P., Muñoz M., Domínguez F.* Identifying biomarkers for predicting successful embryo implantation: applying single to multi-OMICs to improve reproductive outcomes. Hum. Reprod. Update. 2020; 26(2): 264-301. https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmz042.
11. *Macklon N.S., Brosens J.J.* The human endometrium as a sensor of embryo quality. Biol. Reprod. 2014; 91(4): 98. https://dx.doi.org/10.1095/biolreprod.114.122846.
12. *Diedrich K., Fauser B.C., Devroey P., Griesinger G.*; Evian Annual Reproduction (EVAR) Workshop Group. The role of the endometrium and embryo in human implantation. Hum. Reprod. Update. 2007; 13(4): 365-77. https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmm011.
13. *Franasiak J.M., Forman E.J., Hong K.H., Werner M.D., Upham K.M., Treff N.R., Scott R.T. Jr.* The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15 169 consecutive trophectoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. Fertil. Steril. 2014; 101(3): 656-63.e1. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.11.004.
14. *Bastu E., Mutlu M.F., Yasa C., Dural O., Nehir Aytan A., Celik C.* et al. Role of mucin 1 and glycodelin A in recurrent implantation failure. Fertil. Steril. 2015; 103(4): 1059-64.e2. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.01.025.
15. *Haouzi D., Dechaud H., Assou S., De Vos J., Hamamah S.* Insights into human endometrial receptivity from transcriptomic and proteomic data. Reprod. Biomed. Online. 2012; 24(1): 23-34. https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2011.09.009.
16. *Hromadová L., Tokareva I., Veselá K., Trávník P., Veselý J.* Endometrial receptivity analysis – a tool to increase an implantation rate in assisted reproduction. Ceska Gynekol. 2019; 84: 177-83.
17. *Edgell T.A., Rombauts L.J.F., Salamonsen L.A.* Assessing receptivity in the endometrium: the need for a rapid, non-invasive test. Reprod. Biomed. Online. 2013; 27(5): 486-96. https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.05.014.
18. *Van der Gaast M.H., Beier-Hellwig K., Fauser B.C.J.M., Beier H.M., Macklon N.S.* Endometrial secretion aspiration prior to embryo transfer does not reduce implantation rates. Reprod. Biomed. Online. 2003; 7(1): 105-9. https://dx.doi.org/10.1016/s1472-6483(10)61737-3.
19. *Boomsma C.M., Kavelaars A., Eijkemans M.J., Lentjes E.G., Fauser B.C., Heijnen C.J.* et al. Endometrial secretion analysis identifies a cytokine profile predictive of pregnancy in IVF. Hum. Reprod. 2009; 24(6): 1427-35. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dep011.
20. *Grasso A., Navarro R., Balaguer N., Moreno I., Alama P., Jimenez J.* et al. Endometrial Liquid Biopsy Provides a miRNA roadmap of the secretory phase of the human endometrium. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2020; 105(3): dgz146. https://dx.doi.org/10.1210/clinem/dgz146.
21. *Scotchie J.G., Fritz M.A., Mocanu M., Lessey B.A., Young S.L.* Proteomic analysis of the luteal endometrial secretome. Reprod. Sci. 2009; 16(9): 883-93. https://dx.doi.org/10.1177/1933719109337165.
22. *Casado-Vela J., Rodriguez-Suarez E., Iloro I., Ametzazurra A., Alkorta N., García-Velasco J.A.* et al. Comprehensive proteomic analysis of human endometrial fluid aspirate. J. Proteome Res. 2009; 8(10): 4622-32. https://dx.doi.org/10.1021/pr9004426.
23. *Ametzazurra A., Matorras R., García-Velasco J.A., Prieto B., Simón L., Martínez A., Nagore D.* Endometrial fluid is a specific and non-invasive biological sample for protein biomarker identification in endometriosis. Hum. Reprod. 2009; 24(4): 954-65. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/den450.
24. *Gurung S., Greening D.W., Catt S., Salamonsen L., Evans J.* Exosomes and soluble secretome from hormone-treated endometrial epithelial cells

direct embryo implantation. Mol. Hum. Reprod. 2020; 26(7): 510-20. https://dx.doi.org/10.1093/molehr/gaaa034.

25. *Berlanga O., Bradshaw H., Vilella-Mitjana F., Garrido-Gómez T., Simón C.* How endometrial secretomics can help in predicting implantation. Placenta. 2011; 32: S271-5. https://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2011.06.002.
26. *Matorras R., Quevedo S., Corral B., Prieto B., Exposito A., Mendoza R.* et al. Proteomic pattern of implantative human endometrial fluid in in-vitro fertilization cycles. Arch. Gynecol. Obstet. 2018; 297(6): 1577-86. https://dx.doi.org/10.1007/s00404-018-4753-1.
27. *Matorras R., Martinez-Arranz I., Arretxe E., Iruarrizaga-Lejarreta M., Corral B., Ibañez-Perez J.* et al. The lipidome of endometrial fluid differs between implantative and non-implantative IVF cycles. J. Assist. Reprod. Genet. 2019; 37(2): 385-94. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01670-z.
28. *Guo X., Li T.C., Chen X.* The endometrial proteomic profile around the time of embryo implantation. Biol. Reprod. 2021; 104(1): 11-26. https://dx.doi.org/10.1093/biolre/ioaa150.
29. *Dunlap K.A., Filant J., Hayashi K., Rucker E.B., Song G., Deng J.M.* et al. Postnatal deletion of Wnt7a inhibits uterine gland morphogenesis and compromises adult fertility in mice. Biol. Reprod. 2011; 85(2): 386-96. https://dx.doi.org/10.1095/biolreprod.111.091769.
30. *Hannan N.J., Nie G., Rainzcuk A., Rombauts L.J.F., Salamonsen L.A.* Uterine lavage or aspirate: which view of the intrauterine environment? Reprod. Sci. 2012; 19(10): 1125-32. https://dx.doi.org/10.1177/1933719112443879.
31. *Fitzgerald H.C., Evans J., Johnson N., Infusini G., Webb A., Rombauts L.J.R.* et al. Idiopathic infertility in women is associated with distinct changes in proliferative phase uterine fluid proteins. Biol. Reprod. 2018; 98(6): 752-64. https://dx.doi.org/10.1093/biolre/ioy063.
32. *Zhang Y., Wang Q., Wang H., Duan E.* Uterine fluid in pregnancy: a biological and clinical outlook. Trends Mol. Med. 2017; 23(7): 604-14. https://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2017.05.002.
33. *Perez-Sanchez C., Colas E., Cabrera S., Falcon O., Sanchez-del-Río A., García E.* et al. Molecular diagnosis of endometrial cancer from uterine aspirates. Int. J. Cancer. 2013; 133(10): 2383-91. https://dx.doi.org/10.1002/ijc.28243.
34. *Salamonsen L.A., Evans J., Nguyen H.P., Edgell T.A.* The microenvironment of human implantation: determinant of reproductive success. Am. J. Reprod. Immunol. 2016; 75(3): 218-25. https://dx.doi.org/10.1111/aji.12450.
35. *Aslam B., Basit M., Nisar M.A., Khurshid M., Rasool M.H.* Proteomics: technologies and their applications. J. Chromatogr. Sci. 2017; 55(2): 182-96. https://dx.doi.org/10.1093/chromsci/bmw167.
36. *Azkargorta M., Bregón-Villahoz M., Escobes I., Ibáñez-Pérez J., Iloro I., Iglesias M.* et al. In-depth proteomics and natural peptidomics analyses reveal antibacterial peptides in human endometrial fluid. J. Proteomics 2020; 216: 103652. https://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103652.
37. *Parmar T., Sachdeva G., Savardekar L., Katkam R.R., Nimbkar-Joshi S., Gadkar-Sable S.* et al. Protein repertoire of human uterine fluid during the mid-secretory phase of the menstrual cycle. Hum. Reprod. 2008; 23(2): 379-86. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dem367.
38. *Kasvandik S., Saarma M., Kaart T., Rooda I., Velthut-Meikas A., Ehrenberg A.* et al. Uterine fluid proteins for minimally invasive assessment of endometrial receptivity. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2020; 105(1): dgz019. https://dx.doi.org/10.1210/clinem/dgz019.
39. *Azkargorta M., Escobes I., Iloro I., Osinalde N., Corral B., Ibañez-Perez J.* et al. Differential proteomic analysis of endometrial fluid suggests increased inflammation and impaired glucose metabolism in non-implantative IVF cycles and pinpoints PYGB as a putative implantation marker. Hum. Reprod. 2018; 33(10): 1898-906. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dey274.
40. *Edgell T.A., Evans J., Lazzaro L., Boyes K., Sridhar M., Catt S.* et al. Assessment of potential biomarkers of pre-receptive and receptive endometrium in uterine fluid and a functional evaluation of the potential role of CSF3 in fertility. Cytokine. 2018; 111: 222-9. https://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2018.08.026.
41. *Coughlan C., Ledger W., Wang Q., Liu F., Demirol A., Gurgan T.* et al. Cutting Recurrent implantation failure: efinition and management. Reprod. Biomed. Online. 2014; 28(1): 14-38. https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.08.011.
42. *Sebastian-Leon P., Garrido N., Remohi J., Pellicer A., Diaz-Gimeno P.* Asynchronous and pathological windows of implantation: two causes of recurrent implantation failure. Hum. Reprod. 2018; 33(4): 626-35. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dey023.
43. *Achache H., Tsafrir A., Prus D., Reich R., Revel A.* Defective endometrial prostaglandin synthesis identified in patients with repeated implantation failure undergoing in vitro fertilization. Fertil. Steril. 2010; 94(4): 1271-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.07.1668.
44. *Sordelli M.S., Beltrame J.S., Cella M., Gervasi M.G., Perez Martinez S., Burdet J.* et al. Interaction between lysophosphatidic acid, prostaglandins and the endocannabinoid system during the window of implantation in the rat uterus. PLoS One. 2012; 7(9): e46059. https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0046059.
45. *Arosh J.A., Banu S.K., McCracken J.A.* Novel concepts on the role of prostaglandins on luteal maintenance and maternal recognition and establishment of pregnancy in ruminants. J. Dairy Sci. 2016; 99(7): 5926-40. https://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10335.
46. *Vilella F., Ramirez L., Berlanga O., Martínez S., Alamá P., Meseguer M.* et al. PGE2 and PGF2α Concentrations in Human Endometrial Fluid as Biomarkers for Embryonic Implantation. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2013; 98(10): 4123-32. https://dx.doi.org/10.1210/jc.2013-2205.
47. *De Almeida Ferreira Braga D.P., Borges E., Godoy A.T., Montani D.A., Setti A.S., Zanetti B.F.* et al. Lipidomic profile as a non-invasive tool to predict endometrial receptivity. Mol. Reprod. Dev. 2019; 86(2): 145-55. https://dx.doi.org/10.1002/mrd.23088.
48. *Almagor M., Levin Y., Halevy Amiran R., Fieldust S., Harir Y., Or Y., Shoham Z.* Spontaneous in vitro hatching of the human blastocyst: the proteomics of initially hatching cells. In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim. 2020; 56(10): 859-65. https://dx.doi.org/10.1007/s11626-020-00522-w.
49. *Cavagna M., Mantese J.* Biomarkers of endometrial receptivity – a review. Placenta. 2003; 24(Suppl. B): S39-47. https://dx.doi.org/ 10.1016/s0143-4004(03)00184-x.
50. *Kermack A.J., Wellstead S.J., Fisk H.L., Cheong Y., Houghton F.D., Macklon N.S., Calder P.C.* The fatty acid composition of human follicular fluid is altered by a 6-week dietary intervention that includes marine omega-3 fatty acids. Lipids. 2021; 56(2): 201-9. https://dx.doi.org/10.1002/lipd.12288.
51. *Yurci A., Gungor N.D., Gurbuz T.* Spectroscopy analysis of endometrial metabolites is a powerful predictor of success of embryo transfer in women with implantation failure: a preliminary study. Gynecol. Endocrinol. 2021; 37(5): 415-21. https://dx.doi.org/10.1080/09513590.2021.1883584.

Поступила 24.09.2021
Принята в печать 09.11. 2021
Received 24.09.2021
Accepted 09.11.2021

Сведения об авторах:
Бабаян Алина Анатольевна, к.м.н., научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ, a_babayan@oparina4.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Макарова Наталья Петровна, д.б.н., в.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ, np_makarova@oparina4.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Кондакова Наталья Владимировна, эмбриолог отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ, n_kondakova@oparina4.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Непша Оксана Сергеевна, к.б.н., научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ, o_nepsha@oparina4.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Гохберг Яэль Александровна, аспирант отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ, dr.yaelgokhberg@gmail.com, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Калинина Елена Анатольевна, д.м.н., руководитель отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ, e_kalinina@oparina4.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:
Alina A. Babayan, Ph.D., Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, a_babayan@oparina4.ru, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Natalia P. Makarova, Dr. Biol. Sci., Senior Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, np_makarova@oparina4.ru, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Natalia V. Kondakova, embryologist at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, n_kondakova@oparina4.ru, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Oksana S. Nepsha, Ph.D. (Biol. Sci.), Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, nepsha@oparina4.ru, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Yael A. Gokhberg, postgraduate student at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, dr.yaelgokhberg@gmail.com, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Elena A. Kalinina, Dr. Med. Sci., Professor, Head of the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, e_kalinina@oparina4.ru, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

Фертифолин

Инозит 1000 мг
Метафолин® 100 мкг

Естественная помощь в улучшении фертильности

Комбинация Мио-инозитола и Фолата способствует:[1]

- **Коррекции гормонального баланса**
- **Восстановлению менструального цикла**
- **Коррекции овуляторной дисфункции**

METAFOLIN®

Фертифолин содержит активную форму фолата, которая усваивается практически у всех женщин[2]

АМ.01.48.01.003.R.000269.12.20 от 10.12.2020
Реклама

ООО «Орион Фарма»
119034, Москва, Сеченовский переулок, д. 6, стр. 3
Тел.: +7 495 363 50 71, факс: +7 495 363 50 74
www.orionpharma.ru

Узнайте больше о Фертифолине

(FER-34)

1. Чернуха Г.Е. и соавт. Неиспользованные возможности коррекции эндокринно-метаболических нарушений при синдроме поликистозных яичников. Акушерство и Гинекология № 10/2019, 144-151
2. В.Е. Радзинский, Доктор.Ру. 2020; 19(6): 30–35.

Материал предназначен для специалистов здравоохранения.

БАД. НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ЛЕКАРСТВОМ

©Коллектив авторов, 2021

Г.В. САВОСТИНА, С.Г. ПЕРМИНОВА, А.Н. ЕКИМОВ, М.А. ВЕЮКОВА

ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ ЭМБРИОНОВ НА АНЕУПЛОИДИИ: ВОЗМОЖНОСТИ, ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Анеуплоидии у эмбрионов человека вносят существенный вклад в этиологию неудач имплантации и ранних репродуктивных потерь в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Существующие в настоящее время методы морфологической оценки качества эмбрионов не позволяют исключить перенос анеуплоидного эмбриона в полость матки. Наиболее распространенным методом оценки плоидности эмбриона является преимплантационное генетическое тестирование на анеуплоидии (ПГТ-А). Внедрение ПГТ-А в клиническую практику позволило значительно снизить вероятность переноса анеуплоидного эмбриона в полость матки и повысить эффективность программ ВРТ. Однако целесообразность применения ПГТ-А у различных групп пациентов с высоким риском образования анеуплоидных эмбрионов, а также у супружеских пар с «хорошим прогнозом» требует обсуждений. В статье дан подробный анализ данных литературы, посвященной исследованию оценки эффективности применения ПГТ-А эмбрионов в группе пациенток старшего репродуктивного возраста, пациенток с повторными неудачами имплантации, привычным невынашиванием беременности, а также в парах, в которых у супруга выявлены грубые нарушения сперматогенеза. Обсуждается целесообразность рутинного применения ПГТ-А у супружеских пар с «хорошим прогнозом», а также при использовании донорских ооцитов. Представлены этапы становления ПГТ-А, преимущества и недостатки различных методов ПГТ-А и способов забора материала для анализа, а также возможные причины ложноположительных и ложноотрицательных результатов ПГТ-А.

Заключение: *ПГТ-А – современный высокоинформативный метод оценки хромосомного статуса эмбриона перед его переносом в программах ВРТ. В настоящее время наиболее распространенным методом ПГТ-А является высокопроизводительное секвенирование нового поколения (NGS), а способом получения материала – биопсия клеток трофэктодермы.*

Ключевые слова: *преимплантационное генетическое тестирование, анеуплоидии эмбрионов, привычное невынашивание, старший репродуктивный возраст, повторные неудачи ВРТ.*

Вклад авторов: Савостина Г.В. – поиск и анализ литературы, обработка исходного материала, написание текста рукописи; Перминова С.Г., Екимов А.Н., Веюкова М.А. – редактирование и финальное утверждение рукописи.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.
Финансирование: Статья подготовлена без финансовой поддержки.

Для цитирования: Савостина Г.В., Перминова С.Г., Екимов А.Н., Веюкова М.А. Преимплантационное генетическое тестирование эмбрионов на анеуплоидии: возможности, проблемы и перспективы. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 42-49
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.42-49

©A group of authors, 2021

G.V. SAVOSTINA, S.G. PERMINOVA, A.N. EKIMOV, M.A. VEYUKOVA

PREIMPLANTATION GENETIC TESTING FOR EMBRYO ANEUPLOIDY: OPPORTUNITIES, PROBLEMS, AND PROSPECTS

Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Human embryo aneuploidies make a substantial contribution to the etiology of implantation failures and early reproductive losses in assisted reproductive technology (ART) programs. The currently available methods for the morphological assessment of embryo quality cannot rule out aneuploid embryo transfer into the uterine cavity. The most common method for assessing the ploidy of an embryo is preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A). The introduction of PGT-A into clinical practice could considerably reduce the likelihood of aneuploid embryo transfer into the uterine cavity and enhance the effectiveness of ART programs. However, the expediency of using PGT-A in various groups of patients at high risk for aneuploid embryo formation, as well as in married couples with a good prognosis requires discussion. The paper gives a detailed analysis of the literature data from the studies evaluating the effectiveness of using PGT-A for embryos in patients of older reproductive age, in those with recurrent implantation failures or recurrent miscarriage, as well as in couples in whom the male partner had severe spermatogenic failure. The paper discusses the expediency of routine use of PGT-A in married couples with a good prognosis, as well as when using donor oocytes. It presents the stages of PGT-A, advantages and

disadvantages of various methods of PGT-A and material sampling methods for analysis, as well as the possible reasons for of false positive and false negative results of PGT-A.

Conclusion: *PGT-A is a modern high-hrly informative method for assessing the chromosomal status of an embryo before its transfer in the ART programs. Currently, the most common method of PGT-A is high-throughput next-generation sequencing (NGS), whereas trophectoderm biopsy is a procedure to obtain material.*

Keywords: *preimplantation genetic testing, embryo aneuploidies, recurrent miscarriage, older reproductive age, recurrent ART failures.*

Authors' contributions: Savostina G.V. – literature search and analysis; processing of the source material, writing the text of the manuscript; Perminova S.G., Ekimov A.N., Veyukova M.A. – editing the manuscript and its final approval.
Conflicts of interest: The authors declare that there are no conflicts of interest.
Funding: The paper has been prepared without sponsorship.

For citation: Savostina G.V., Perminova S.G., Ekimov A.N., Veyukova M.A. Preimplantation genetic testing for embryo aneuploidy: opportunities, problems, and prospects. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 42-49 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.42-49

Без сомнений, вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) являются наиболее эффективным методом достижения беременности у супружеских пар, страдающих бесплодием. Однако, несмотря на колоссальные успехи в области репродукции и непрерывное совершенствование методов ВРТ, частота наступления беременности в программах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) не превышает 30–40% в расчете на перенос эмбрионов и не имеет тенденции к увеличению [1]. При этом около 20% беременностей, наступивших в программах ВРТ, заканчиваются ранними репродуктивными потерями [1]. На результативность программ ЭКО влияет множество факторов, но основополагающим является установление «диалога» между кариотипически нормальным эмбрионом хорошего качества и рецептивным эндометрием [2]. Значительный вклад в этиологию ранней эмбриональной гибели и неудач имплантации вносят анеуплоидии. Известно, что около 55% ранних репродуктивных потерь ассоциировано с эмбриональными анеуплоидиями [3]. При этом доказано существование прямой корреляции между частотой образования анеуплоидных эмбрионов и возрастом женщины. Так, если у женщин в возрасте 26–30 лет доля анеуплоидных эмбрионов составляет 20–27%, то в возрасте 45 лет 95,5% эмбрионов имеют хромосомные аномалии [4].

В структуре эмбриональных анеуплоидий основное место занимают трисомии, частота которых может достигать 68% [5]. Хромосомные аномалии могут развиваться вследствие мейотических ошибок, возникающих на этапе гаметогенеза и митотических или постзиготических ошибок, развивающихся после оплодотворения. Известно, что мейотические ошибки в большинстве случаев вызваны несбалансированным делением хроматид и нерасхождением хромосом в ооците. Природа овогенеза такова, что женские гаметы в большей степени подвержены хромосомным аномалиям на стадии мейоза, чем мужские, особенно по мере увеличения возраста женщины [6]. Анеуплоидии постзиготического происхождения возникают во время деления клеток эмбриона, и чем раньше они появляются, тем более обширными и неблагоприятными для жизнеспособности эмбриона могут стать. Ошибки митоза в большинстве случаев ассоциированы с неправильной сегрегацией хромосом и часто приводят к развитию мозаицизма [7].

Использование визуальных методов оценки качества эмбрионов не позволяет исключить перенос анеуплоидного эмбриона в полость матки [8]. В 44,5% случаев анеуплоидные эмбрионы имеют нормальные морфокинетические характеристики [9].

В настоящее время для выявления анеуплоидий в эмбриональных клетках применяется преимплантационное генетическое тестирование на анеуплоидии (ПГТ-А). Внедрение ПГТ-А значительно снизило вероятность переноса эмбриона с хромосомными аномалиями в полость матки, а также частоту неудачных попыток имплантации и ранних репродуктивных потерь [10].

В начале своего развития ПГТ-А включало анализ пяти хромосом, трисомии по которым совместимы с жизнью (X, Y, 18, 13 и 21) и проводилось методом флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) с использованием ДНК-зондов, меченных флуорохромом. В настоящее время подтверждена низкая эффективность ПГТ-А методом FISH с биопсией эмбриона на 3-и сутки культивирования, что объясняется неполной оценкой хромосомного набора и высокой частотой недиагностированного мозаицизма, возникающего из-за ошибок деления на стадии постзиготического дробления эмбриона третьего дня развития [11]. Необходимость идентификации и анализа полного хромосомного набора привела к разработке таких новых молекулярно-генетических методов диагностики, таких как сравнительная геномная гибридизация (array comparative genomic hybridization, aCGH), количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени (кПЦР) с возможностью анализа всех хромосом, высокопроизводительное секвенирование нового поколения (next generation sequencing, NGS) [12].

Метод aCGH основан на сравнении исследуемого генетического материала с эталонным образцом, что позволяет обнаружить наличие несбалансированных хромосомных перестроек и аномальное количество хромосом в исследуемых клетках. На первом этапе проводится полногеномная амплификация, далее продукты амплификации метят флуоресцентными зондами и наносят на ДНК-

микрочип. С помощью лазерного сканера и специализированного программного обеспечения проводится оценка интенсивности флюоресценции. Сравнение интенсивности флуоресценции исследуемого и референсного образцов позволяет идентифицировать крупные несбалансированные хромосомные нарушения [13]. Метод aCGH стал революционным в области анализа плоидности эмбрионов; с его помощью стал возможен анализ всего хромосомного набора и выявление анеуплоидий с высокой точностью [14]. Среди недостатков метода выделяют его высокую стоимость [15].

ПГТ-А с использованием кПЦР в реальном времени позволяет определить количество копий каждой хромосомы на основании анализа ее отдельных участков, что в ряде случаев может приводить к ошибочным результатам. Для этого проводится сравнительный анализ амплификации трех или четырех специфичных локусов каждой хромосомы с эталонным геном из той же хромосомы. Преимуществами данной технологии по сравнению с aCGH являются более короткое время анализа и меньшие экономические затраты, связанные с отсутствием необходимости проведения полногеномной амплификации. Однако разрешающая способность данного метода крайне низкая в связи меньшим количеством исследуемых участков хромосом [16].

Наиболее распространенным из всех существующих в настоящее время молекулярно-генетических методов ПГТ-А является NGS. На первом этапе происходит полногеномная амплификация исследуемой ДНК, к целевым фрагментам ДНК лигируются баркодированные адаптеры, представляющие собой олигонуклеотиды с уникальными именно для данного образца последовательностями. Это позволяет проводить одновременное исследование сразу нескольких образцов в ходе одного запуска секвенатора. Способны ли технологические особенности NGS обеспечить большую точность и чувствительность анализа по сравнению с aCGH, в настоящее время является предметом острых дискуссий [17–19].

Munné S. et al. (2020) провели сравнительный анализ частоты наступления клинических беременностей на перенос при проведении ПГТ-А методами aCGH и NGS. Всего было проанализировано 6805 циклов ПГТ-А с aCGH и 1490 циклов ПГТ-А с NGS. В результате исследования была выявлена более высокая частота наступления беременности на перенос в группе пациентов с ПГТ-А методом NGS по сравнению с группой, включавшей ПГТ-А методом aCGH (85 и 71% соответственно) [19]. Однако авторы подчеркивают, что результативность программы ЭКО в расчете на цикл при сравнении двух методов была сопоставимой (63 против 59%). Аналогичные результаты были получены в исследованиях других авторов [20, 21].

Высокая разрешающая способность данного метода, возможность проведения полногеномного анализа оценки сбалансированности кариотипа, а также одновременное тестирование нескольких десятков образцов, значительно оптимизирующее экономические затраты, определяет его широкое использование в клинической практике [22]. На точность результата могут повлиять случайные ошибки полногеномной амплификации, травматизация клеток во время биопсии эмбриона, а также контаминация биопсированного материала чужеродной ДНК [14].

Способы забора биологического материала для проведения ПГТ-А включают биопсию полярных телец ооцитов и эмбрионов на стадии дробления или бластоцисты [23]. Преимуществом биопсии полярных телец является отсутствие инвазивного воздействия на эмбрион. Однако информативность данного метода значительно ниже по сравнению с биопсией эмбриона, что объясняется невозможностью исключения хромосомных аномалий отцовского происхождения, а также анеуплоидий, возникающих на стадии постзиготического дробления эмбриона [24]. Биопсия полярных телец с последующим ПГТ-А проводится исключительно в странах, где криоконсервация и генетическая диагностика эмбрионов имеют юридические ограничения. Биопсия бластомера проводится на 3-и сутки культивирования эмбрионов, при этом оптимальным является забор не более 1-й клетки. Биопсия 2 и более бластомеров ассоциирована с неблагоприятным влиянием на дальнейшее эмбриональное развитие [25]. Биопсия клеток трофэктодермы выполняется только на бластоцистах хорошего и отличного качества на 5–6-е сутки культивирования и считается наиболее предпочтительной с точки зрения информативности и инвазивности [26].

Недавнее обнаружение внеклеточной ДНК в жидкости бластоцели и культуральной среде эмбрионов послужило поводом для создания новых вариантов ПГТ-А, основанных на анализе внеклеточной ДНК из жидкости бластоцели и культуральной среды эмбрионов. Использование данных методов позволяет снизить механическое воздействие на эмбрион по сравнению со стандартным ПГТ-А с биопсией бластоцисты. Однако способна ли внеклеточная ДНК достоверно отражать кариотип эмбриона? По данным различных авторов соответствие молекулярных кариотипов внеклеточной ДНК из культуральной среды и клеток трофэктодермы варьирует от 27 до 85,7% [23]. По результатам пока еще немногочисленных исследований были получены противоречивые данные относительно информативности и целесообразности анализа ДНК, определяемой в жидкости бластоцели и культуральной среде эмбрионов. Необходимы дальнейшие исследования для определения возможности использования малоинвазивного и неинвазивного вариантов ПГТ-А в качестве надежных методов выявления анеуплоидий эмбрионов.

Показания к проведению преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии

Учитывая, что анеуплоидии эмбрионов являются наиболее частой причиной неудач имплантации и ранних репродуктивных потерь, в том числе у жен-

щин старшего репродуктивного возраста и в случае тяжелых нарушений сперматогенеза, проведение ПГТ-А может быть рекомендовано женщинам старшего репродуктивного возраста, супружеским парам с привычным невынашиванием в анамнезе, повторными неудачами имплантации при ЭКО и тяжелой патологией спермы [27].

По мере увеличения возраста женщины наряду со снижением овариального резерва отмечается стремительное снижение качества эмбрионов. По данным Ubaldi et al. (2017), у женщин 44 лет с оптимальным овариальным резервом частота эуплоидных эмбрионов составила 14,4%, у женщин 45 лет – 45%, а у женщин 46 лет и старше все эмбрионы имели хромосомные аномалии [28].

Rubio et al. (2017) опубликовали результаты многоцентрового рандомизированного клинического исследования, включившего сравнительный анализ частоты родов в группах женщин старшего репродуктивного возраста с использованием ПГТ-А и в контрольной группе без ПГТ-А. Частота родов после первой попытки переноса эмбриона в полость матки была значительно выше в группе пациенток с ПГТ-А и составила 52,9% по сравнению с 24,2% в группе контроля. Отмечалась также низкая частота ранних репродуктивных потерь в группе с ПГТ-А по сравнению с контролем (2,7 и 39,0% соответственно). При этом среднее количество переносов эмбрионов в полость матки, необходимых для достижения беременности составило 1,8 для первой группы и 3,7 – для второй [29]. Аналогичные результаты были получены в исследованиях Ubaldi F. (2017) [28], Бейк Е.П. (2018) [30], Reig A. (2020) [31]. Выявлено значительное снижение частоты ранних репродуктивных потерь, увеличение частоты живорождений и более короткое время достижения беременности при проведении ПГТ-А женщинам старшего репродуктивного возраста.

При этом, согласно результатам исследования Murphy L. et al., опубликованного в 2019 г., применение ПГТ-А в программах ВРТ у женщин младше 38 лет не оказывает положительного влияния на исходы программ ВРТ. В исследовании выявлена более низкая частота родов в расчете на пункцию по сравнению с пациентками, которым не проводилось ПГТ-А [32].

Таким образом, высокая частота образования анеуплоидных эмбрионов у женщин старшего репродуктивного возраста оказывает значительное влияние на вероятность наступления беременности в данной группе пациентов. Следует учитывать стремительное снижение количества эуплоидных эмбрионов по мере увеличения возраста женщины вплоть до полного их отсутствия. Вероятность получения хотя бы одной эуплоидной бластоцисты у женщин старшего репродуктивного возраста снижается также в связи с неоптимальным ответом на овариальную стимуляцию, снижением количества зрелых ооцитов и скорости развития эмбрионов до стадии бластоцисты. Результаты проведенных исследований указывают на целесообразность применения ПГТ-А в программах ВРТ у женщин старшего репродуктивного возраста. Исключение переноса анеуплоидного эмбриона в полость матки у женщин старшего репродуктивного возраста имеет решающее значение при достижении беременности методом ВРТ [28–31].

Доля привычного невынашивания беременности составляет примерно 5% в популяции [33]. Причины данной патологии включают генетические, анатомические, эндокринные, инфекционные, иммунологические и тромбофилические факторы; однако более чем в половине случаев причину привычного выкидыша установить не удается [34, 35]. Исследование кариотипов абортусов у женщин с привычным невынашиванием беременности в анамнезе показало значительное увеличение частоты анеуплоидий по сравнению с таковой у женщин без самопроизвольного прерывания беременности в анамнезе [36]. По данным последних исследований, около 67% рецидивирующих самопроизвольных выкидышей ассоциированы с хромосомными аномалиями эмбрионов [36]. По мнению авторов [36], проведение ПГТ-А супружеским парам с привычным невынашиванием, связанным с хромосомными аномалиями эмбрионов, а также с идиопатическим привычным невынашиванием может улучшить результативность программ ВРТ. Несколько исследований, включавших женщин с привычным выкидышем в анамнезе, продемонстрировало снижение частоты выкидышей при проведении программы ЭКО с ПГТ-А по сравнению с естественным зачатием [35]. В исследовании Sato T. et al. (2019) не было выявлено значимых различий в частоте живорождений в расчете на одну пациентку с привычным выкидышем при проведении программы ЭКО с ПГТ-А и без ПГТ-А. Однако было выявлено увеличение частоты живорождений на перенос эмбриона и снижение частоты репродуктивных потерь в расчете на биохимическую беременность в группе пациенток с проведением программы ЭКО с ПГТ-А. Несмотря на то что применение ПГТ-А не повлияло на частоту живорождений в расчете на пациентку, оно позволило снизить количество переносов эмбрионов, необходимых для достижения родов живым плодом, в группе пациентов с привычным невынашиванием беременности [37]. Аналогичные результаты получены в исследованиях других авторов [35]. В целом проведение программы ЭКО с ПГТ-А не увеличивает частоту живорождения у женщин с привычным невынашиванием беременности, однако снижает частоту выкидышей и уменьшает время достижения беременности. Целесообразность применения ПГТ-А у данной группы пациентов обсуждается.

Согласно данным Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (ESHRE) от 2019 г., частота повторных неудач имплантации в программах ВРТ составляет 10–20% [38]. Основной причиной рецидивирующих неудач имплантации являются анеуплоидии эмбрионов [39]. В исследовании Cozzolino M. et al. (2020) было выявлено увеличение частоты имплантации и снижение частоты ранних репродуктивных потерь при проведении ПГТ-А у пациенток с тремя и более неудачами имплантации по сравнению с таковыми у пациенток без проведе-

ния ПГТ-А. При этом у пациенток с пятью и более неудачами имплантации в анамнезе проведение ПГТ-А не оказало значимого влияния на исходы программ ВРТ. Учитывая более высокую частоту анеуплоидных эмбрионов у пациентов с повторными неудачами ВРТ, проведение ПГТ-А для исключения переноса эмбриона с хромосомными аномалиями может быть оправдано. Тем не менее не было получено значимых различий в частоте живорождений при проведении ПГТ-А и без него [40]. Для оценки целесообразности применения ПГТ-А в данной группе пациентов необходимо проведение дальнейших исследований.

Несмотря на то что основной вклад в возникновение анеуплоидий эмбрионов вносят ошибки расхождения хромосом в мейозе у женщин, некоторые анеуплоидии могут иметь отцовское происхождение. У мужчин с аномальным кариотипом сперматозоиды, как правило, имеют несбалансированный набор хромосом. Другие факторы, такие как варикоцеле, химиотерапия в анамнезе, возраст и образ жизни пациента, также могут отрицательно влиять на мейотическое деление во время сперматогенеза [41]. В нескольких исследованиях была выявлена повышенная частота анеуплоидных эмбрионов у пациентов с тератозооспермией и олигозооспермией по сравнению с таковой при нормозооспермии [42]. В исследовании Coates et al. (2015) по результатам биопсии трофэктодермы эмбрионов и ПГТ-А методом aCGH было выявлено значительное увеличение числа аномалий половых хромосом у пациентов с олигозооспермией при использовании как донорских (1,7 против 2,0%), так и собственных ооцитов (6,1 против 5,9%) [43]. При этом клинические исходы в независимости от проведения ПГТ-А были идентичными. По результатам исследования Киселевой Ю.Ю. и соавт. (2017), была выявлена зависимость между уровнем ДНК-фрагментации сперматозоидов и кариотипом эмбрионов. При нормальном уровне фрагментации ДНК сперматозоидов частота образования кариотипически нормальных эмбрионов составила 66,17%, а при повышенном уровне фрагментации ДНК – 47,96% [44]. Однако не было выявлено статистически значимых различий в частоте эмбриональных анеуплоидий при нормальном и повышенном уровне ДНК-фрагментации. В исследовании Tarozzi N. et al. (2019) не было выявлено различий в количестве анеуплоидных эмбрионов у пациентов с патологией спермы и без нее. Однако у супружеских пар с мужским фактором бесплодия отмечался более высокий уровень мозаичных бластоцист [45]. В исследовании Gat I. et al. (2017) было продемонстрировано отсутствие корреляционной зависимости между ДНК-фрагментацией сперматозоидов и частотой образования анеуплоидных эмбрионов [46].

Получены противоречивые данные о наличии корреляции между нарушениями сперматогенеза и частотой образования анеуплоидных эмбрионов. Необходимы дальнейшие исследования для оценки целесообразности проведения ПГТ-А в данной группе пациентов.

Что касается пациенток с «хорошим прогнозом», в недавно опубликованных исследованиях было продемонстрировано отсутствие статистически значимого улучшения исходов ВРТ при проведении ПГТ-А у супружеских пар с низким риском образования анеуплоидных эмбрионов (женщины 38 лет и младше, наличие трубно-перитонеального фактора бесплодия, первая попытка ЭКО) [47].

Также были опубликованы исследования, направленные на анализ результатов ВРТ при проведении программы ЭКО с донорскими ооцитами [48, 49]. Несмотря на то что, донорами ооцитов обычно являются здоровые, молодые, фертильные женщины, около 20–27% эмбрионов могут быть анеуплоидными [50]. При этом частота живорождений в программе ЭКО с донорскими ооцитами лишь на 5–10% превышает таковую при использовании собственных ооцитов, что указывает на возможную целесообразность проведения ПГТ-А данной группе пациентов [51]. Однако, согласно результатам исследования Masbou A. et al. (2019), в котором проводился сравнительный анализ клинических исходов программ ЭКО с донорскими ооцитами в зависимости от проведения ПГТ-А, не было выявлено улучшения исходов программ ВРТ при проведении ПГТ-А, хотя и наблюдалась тенденция к снижению частоты ранних репродуктивных потерь [49].

Аналогичные данные были получены в исследовании Doyle N. et al. (2020) по результатам анализа частоты живорождения в программах ЭКО с донорскими ооцитами в зависимости от проведения ПГТ-А. Частота живорождения в группе с ПГТ-А составила 53,8%, а в группе без ПГТ-А –55,8%. По-видимому, проведение ПГТ-А у супружеских пар с донорскими ооцитами не увеличивает вероятность живорождения, но, возможно, снижает риск ранних репродуктивных потерь [48].

Применение ПГТ-А в качестве рутинного дополнения к программе ЭКО все еще остается предметом острых дискуссий. Так, в 2020 г. Gleicher N. et al. [52] была опубликована критическая статья, в которой обсуждается нецелесообразность рутинного использования ПГТ-А в программах ЭКО. По мнению авторов исследования, демонстрирующие высокую эффективность применения ПГТ-А в программах ВРТ, были проведены не вполне корректно в связи с тщательно подобранными группами пациентов и несоответствующими методами статистического анализа. По мнению авторов, метод ПГТ-А, не прошедший валидацию и сертификацию регулирующими органами, не должен применяться в рутинной практике. Авторы анализируют устоявшиеся предположения, свидетельствующие о пользе ПГТ-А, и опровергают их, ссылаясь на результаты опубликованных исследований. Так, вопреки существующему мнению, авторы утверждают, что анеуплоидии хоть и вносят свой вклад в этиологию ранних репродуктивных потерь и неудач имплантации, не являются основной причиной развития последних. Это объясняется способностью бластоцист к самокоррекции, высокой частотой эмбрионального мозаицизма у человека и, возможно, представлением его в качестве варианта

нормы [53]. Также авторы утверждают о невозможности исключения хромосомного мозаицизма на основании анализа нескольких биопсированных клеток [52]. По мнению авторов, результат ПГТ-А эмбриона не может отражать окончательную судьбу плоидности плода в связи с доказанной способностью бластоцисты к самокоррекции. Приводятся данные, свидетельствующие о том, что даже при беременности плодом с нормальным хромосомным набором плацента может содержать «островки» анеуплоидных клеток. Недавние исследования убедительно продемонстрировали способность бластоцисты человека к самокоррекции, что ставит под сомнение результаты предшествующей биопсии трофэктодермы [53]. Также, по мнению авторов, невозможно определение процентной доли мозаицизма всего эмбриона на основании биопсии лишь клеток трофэктодермы, которая не может исключить наличие мозаичной анеуплоидии в клетках эмбриобласта или в клетках трофэктодермы, не подвергшихся биопсии. И наконец, авторы ставят под сомнение безвредность биопсии бластомеров и клеток трофэктодермы, ссылаясь на результаты исследований, демонстрирующие высокую чувствительность эмбрионов к любым механическим воздействиям, и в качестве основной причины неудач имплантации после ПГТ-А представляют повреждение эмбрионов во время биопсии [54].

Однако, несмотря на крайне негативную оценку ПГТ-А Gleicher N. et al. (2020) [52], у метода больше сторонников, чем противников, так как его использование позволяет повысить частоту наступления беременности и родов в определенных группах пациентов.

Заключение

ПГТ-А – современный высокоинформативный метод оценки хромосомного статуса эмбриона перед его переносом в программах ВРТ. В настоящее время наиболее распространенным методом ПГТ-А является NGS, а способом получения материала – биопсия клеток трофэктодермы. ПГТ-А находится в фокусе современных научных исследований, направленных на оценку эффективности, безопасности, целесообразности применения в клинической практике и объективности результатов. ПГТ-А применяется в основном при повышенном риске образования анеуплоидных эмбрионов: старшем репродуктивном возрасте женщины, повторных неудачных попытках имплантации, привычном невынашивании беременности и тяжелых нарушениях сперматогенеза. Изучение целесообразности применения ПГТ-А в группе пациентов с «хорошим прогнозом» (женщины младше 38 лет, наличие трубно-перитонеального фактора бесплодия, первая попытка ЭКО), а также в программах ВРТ с использованием донорских ооцитов требует проведения рандомизированных контролируемых исследований с качественно спланированным дизайном. Перенос мозаичного эмбриона при отсутствии эуплоидного эмбриона следует проводить только после консультации врача-генетика. Проведение рандомизированных исследований с качественным дизайном позволит найти консенсус между сторонниками и противниками ПГТ-А.

Литература/References

1. Российская Ассоциация Репродукции Человека. Отчет за 2018 год. Available at: http://www.rahr.ru/registr_otchet.php [Russian Association of Human Reprodaction. 2018 Report. (in Russian)]. http://www.rahr.ru/registr_otchet.php.
2. *Загайнова В.А., Коган И.Ю., Беспалова О.Н., Сельков С.А., Соколов Д.И.* Роль периферических и эндометриальных NK-клеток при повторных репродуктивных потерях. Акушерство и гинекология. 2021; 7: 19-27. [Zagainova V.A., Kogan I.Yu., Bespalova O.N., Selkov S.A., Sokolov D.I. The role of peripheral and endometrial NK cells in repeated reproductive loss. Obstetrics and Gynecology. 2021; 7: 19-27. (in Russuan)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.7.19-27.
3. *Кулакова Е.В., Калинина Е.А., Трофимов Д.Ю., Макарова Н.П., Хечумян Л.Р., Дударова А.Х.* Вспомогательные репродуктивные технологии у супружеских пар с высоким риском генетических нарушений. Преимплантационный генетический скрининг. Акушерство и гинекология. 2017; 8: 21-7. [Kulakova E.V., Kalinina E.A., Trofimov D.Yu., Makarova N.P., Khechumyan L.R., Dudarova A.Kh. Assisted reproductive technologies in couples with a high risk of genetic disorders. Preimplantation genetic screening. Obstetrics and Gynecology. 2017; 8: 21-7. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.8.21-7.
4. *Долгушина Н.В., Коротченко О.Е., Бейк Е.П., Абдурахманова Н.Ф., Ильина Е.О., Кулакова Е.В.* Клинико-экономический анализ эффективности преимплантационного генетического скрининга у пациенток позднего репродуктивного возраста. Акушерство и гинекология. 2017; 11: 56-61. [Dolgushina N.V., Korotchenko O.E., Beik E.P., Abdurakhmanova N.F., Ilyina E.O., Kulakova E.V. Clinical and economic analysis of the effectiveness of pre-implantation genetic screening in patients of late reproductive age. Obstetrics and Gynecology. 2017; 11: 56-61 (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.11.56-61.
5. *Tyc K.M., McCoy R.C., Schindler K., Xing J.* Mathematical modeling of human oocyte aneuploidy. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2020; 117(19): 10455-64. https://dx.doi.org/10.1073/pnas.1912853117.
6. *Смирнова А.А., Зыряева Н.А., Аншина М.Б.* Возрастные изменения и риск хромосомных аномалий в ооцитах человека (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2019; 25(2): 16-26. [Smirnova A.A., Zyryaeva N.A., Anshina M.B. Age-related changes and the risk of chromosomal abnormalities in human oocytes (literature review). Problems of Reproduction. 2019; 25(2): 16-26. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.17116/repro20192502116.
7. *Capalbo A., Hoffmann E.R., Cimadomo D., Ubaldi F.M., Rienzi L.* Human female meiosis revised: new insights into the mechanisms of chromosome segregation and aneuploidies from advanced genomics and time-lapse imaging. Hum. Reprod. Update. 2017; 23(6): 706-22. https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmx026.
8. *Королькова А.И., Мишиева Н.Г., Бурменская О.В.* Современные методы селекции эмбрионов при проведении программ вспомогательных репродуктивных технологий. Акушерство и гинекология. 2018; 2: 13-8. [Korolkova A.I., Mishieva N.G., Burmenskaya O.V. Modern methods of embryo selection in assisted reproductive technology programs. Obstetrics and Gynecology. 2018; 2: 13-8. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.2.13-18.
9. *Minasi M.G., Fiorentino F., Ruberti A., Biricik A., Cursio E., Cotroneo E.* et al. Genetic diseases and aneuploidies can be detected with a single blastocyst biopsy: a successful clinical approach. Hum. Reprod. 2017; 32(8): 1770-7. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dex215.
10. *Keltz M.D., Vega M., Sirota I., Lederman M., Moshier E.L., Gonzales E., Stein D.* Preimplantation genetic screening (PGS) with Comparative genomic

hybridization (CGH) following day 3 single cell blastomere biopsy markedly improves IVF outcomes while lowering multiple pregnancies and miscarriages. J. Assist. Reprod. Genet. 2013; 30(10): 1333-9. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-013-0070-6.

11. *Dahdouh E.M., Balayla J., Audibert F.;* Genetics Committee, Wilson R.D., Audibert F., Brock J.A., Campagnolo C., Carroll J., Chong K. et al. Technical Update: Preimplantation genetic diagnosis and screening. J. Obstet. Gynaecol. Can. 2015; 37(5): 451-63. https://dx.doi.org/10.1016/s1701-2163(15)30261-9.
12. *Keltz M.D., Vega M., Sirota I., Lederman M., Moshier E.L., Gonzales E., Stein D.* Preimplantation genetic screening (PGS) with Comparative genomic hybridization (CGH) following day 3 single cell blastomere biopsy markedly improves IVF outcomes while lowering multiple pregnancies and miscarriages. J. Assist. Reprod. Genet. 2013; 30(10): 1333-9. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-013-0070-6.
13. *Rodrigo L., Mateu E., Mercader A., Cobo A.C., Peinado V., Milán M.* et al. New tools for embryo selection: comprehensive chromosome screening by array comparative genomic hybridization. Biomed. Res. Int. 2014; 2014: 517125. https://dx.doi.org/10.1155/2014/517125.
14. *Coonen E., Rubio C., Christopikou D., Dimitriadou E., Gontar J., Goossens V.* et al.; ESHRE PGT-SR/PGT-A Working Group. ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the detection of structural and numerical chromosomal aberrations. Hum. Reprod. Open. 2020; 2020(3): hoaa017. https://dx.doi.org/10.1093/hropen/hoaa017.
15. *Munné S., Cohen J.* Advanced maternal age patients benefit from preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. Fertil. Steril. 2017; 107(5): 1145-6. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.03.015.
16. *Werner M.D., Scott R.T. Jr, Treff N.R.* 24-chromosome PCR for aneuploidy screening. Curr. Opin. Obstet. Gynecol. 2015; 27(3): 201-5. https://dx.doi.org/10.1097/GCO.0000000000000167.
17. *Малышева О.В., Бичевая Н.К., Гзгзян А.М.* Технологические платформы преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии: сравнительная эффективность диагностики хромосомной патологии. Акушерство и гинекология. 2020; 4: 65-71. [Malysheva O.V., Bichevaya N.K., Gzgzyan A.M. Technological platforms for preimplantation genetic testing for aneuploidy: comparative effectiveness of diagnosing chromosomal abnormalities. Obstetrics and Gynecology. 2020; 4: 65-71. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.4.65-71.
18. *Глинкина Ж.И., Курцер М.А., Младова Е.С., Овчинникова М.М., Высоцкий А.Ю., Троценко И.Д.* Скрининг анеуплоидий у преимплантационных эмбрионов с использованием высокопроизводительного секвенирования. Доктор.Ру. 2016; 7: 39-44. [Glinkina Zh.I., Kurtser M.A., Mladova E.S., Ovchinnikova M.M., Vysotsky A.Yu., Trotsenko I.D. Using next-generation sequencing technology for aneuploidy screening in preimplantation embryos. Doctor.ru. 2016; 7: 39-44 (in Russian)].
19. *Munné S., Spinella F., Grifo J., Zhang J., Beltran M.P., Fragouli E., Fiorentino F.* Clinical outcomes after the transfer of blastocysts characterized as mosaic by high resolution Next Generation Sequencing- further insights. Eur. J. Med. Genet. 2020; 63(2): 103741. https://dx.doi.org/10.1016/j.ejmg.2019.103741.
20. *Aleksandrova N.V., Shubina E.S., Ekimov A.N., Kodyleva T.A., Mukosey I.S., Makarova N.P., Kulakova E.V., Levkov L.A., Barkov I.Y., Trofimov D.Y., Sukhikh G.T.* Comparative results of preimplantation genetic screening by array comparative genomic hybridization and new-generation sequencing. Mol. Biol. (Mosk.). 2017; 51(2): 308-13. https://dx.doi.org/10.7868/S0026898417010025.
21. *Friedenthal J., Maxwell S.M., Munné S., Kramer Y., McCulloh D.H., McCaffrey C., Grifo J.A.* Next generation sequencing for preimplantation genetic screening improves pregnancy outcomes compared with array comparative genomic hybridization in single thawed euploid embryo transfer cycles. Fertil. Steril. 2018; 109(4): 627-32. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.12.017.
22. *Munné S., Kaplan B., Frattarelli J.L., Child T., Nakhuda G., Shamma F.N.* et al.; STAR Study Group. Preimplantation genetic testing for aneuploidy versus morphology as selection criteria for single frozen-thawed embryo transfer in good-prognosis patients: a multicenter randomized clinical trial. Fertil. Steril. 2019; 112(6): 1071-9.e7. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.07.1346.
23. *Лебедев И.Н.* Преимплантационное генетическое тестирование анеуплоидий: современное состояние, тренды и перспективы развития. Медицинская генетика. 2019; 18(3): 3-12. https://dx.doi.org/10.25557/2073-7998.2019.03.3-12. [Lebedev I.N. Preimplantation genetic testing for aneuploidy: state of the art, trends and perspectives. Medical Genetics. 2019; 18(3): 3-12. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.25557/2073-7998.2019.03.3-12.
24. *Neumann K., Sermon K., Bossuyt P., Goossens V., Geraedts J., Traeger-Synodinos J.* et al. An economic analysis of preimplantation genetic testing for aneuploidy by polar body biopsy in advanced maternal age. BJOG. 2020; 127(6): 710-8. https://dx.doi.org/10.1111/1471-0528.16089.
25. *Scott R.T. Jr, Upham K.M., Förman E.J., Hong K.H., Scott K.L., Taylor D.* et al. Blastocyst biopsy with comprehensive chromosome screening and fresh embryo transfer significantly increases in vitro fertilization implantation and delivery rates: a randomized controlled trial. Fertil. Steril. 2013; 100(3): 697-703. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.04.035.
26. *Schmutzler A.G.* Theory and practice of preimplantation genetic screening (PGS). Eur. J. Med. Genet. 2019; 62(8): 103670. https://dx.doi.org/10.1016/j.ejmg.2019.103670.
27. *Адамян Л.В.*, ред. Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению). Клинические рекомендации (протокол лечения). М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2019. [Adamyan L.V., ed. Female infertility (modern approaches to diagnosis and treatment). Clinical guidelines (Treatment protocol). Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2019. (in Russian)].
28. *Ubaldi F.M., Cimadomo D., Capalbo A., Vaiarelli A., Buffo L., Trabucco E.* et al. Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy testing in women older than 44 years: a multicenter experience. Fertil. Steril. 2017; 107(5): 1173-80. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.03.007.
29. *Rubio C., Bellver J., Rodrigo L., Castillón G., Guillén A., Vidal C.* et al. *In vitro* fertilization with preimplantation genetic diagnosis for aneuploidies in advanced maternal age: a randomized, controlled study. Fertil. Steril. 2017; 107(5): 1122-9. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.03.011.
30. *Бейк Е.П., Коротченко О.Е., Гвоздева А.Д., Сыркашева А.Г., Долгушина Н.В.* Роль преимплантационного генетического скрининга в повышении эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток позднего репродуктивного возраста. Акушерство и гинекология. 2018; 4: 78-84. [Beik E.P., Korotchenko O.E., Gvozdeva A.D., Syrkasheva A.G., Dolgushina N.V. Role of preimplantation genetic screening in enhancing the effetiveness of assisted reproductive technology programs in late reproductive-aged patients. Obstetrics and Gynecology. 2018; 4: 78-84 (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.4.78-84.
31. *Reig A., Franasiak J., Scott R.T. Jr, Seli E.* The impact of age beyond ploidy: outcome data from 8175 euploid single embryo transfers. J. Assist. Reprod. Genet. 2020; 37(3): 595-602. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-020-01739-0.
32. *Murphy L.A., Seidler E.A., Vaughan D.A., Resetkova N., Penzias A.S., Toth T.L.* et al. To test or not to test? A framework for counselling patients on preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A). Hum. Reprod. 2019; 34(2): 268-75. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dey346.
33. *Hong Li Y., Marren A.* Recurrent pregnancy loss: A summary of international evidence-based guidelines and practice. Aust. J. Gen. Pract. 2018; 47(7): 432-6. https://dx.doi.org/10.31128/AJGP-01-18-4459.
34. *El Hachem H., Crepaux V., May-Panloup P., Descamps P., Legendre G., Bouet P.E.* Recurrent pregnancy loss: current perspectives. Int. J. Womens Health. 2017; 9: 331-45. https://dx.doi.org/10.2147/IJWH.S100817.
35. *Тетруашвили Н.К.* Привычный выкидыш. Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. 2017; 4: 70-87. [Tetruashvili N.K. Reccurent miscarriage. Obstetrics and Gynecology: News. Opinions. Training. 2017; 4: 70-87. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.24411/2303-9698-2017-00010.
36. *Popescu F., Jaslow C.R., Kutteh W.H.* Recurrent pregnancy loss evaluation combined with 24-chromosome microarray of miscarriage tissue provides a probable or definite cause of pregnancy loss in over 90% of patients. Hum. Reprod. 2018; 33(4): 579-87. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dey021.

37. *Sato T., Sugiura-Ogasawara M., Ozawa F., Yamamoto T., Kato T., Kurahashi H.* et al. Preimplantation genetic testing for aneuploidy: a comparison of live birth rates in patients with recurrent pregnancy loss due to embryonic aneuploidy or recurrent implantation failure. Hum. Reprod. 2019; 34(12): 2340-8. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dez229. Erratum in: Hum. Reprod. 2020; 35(1): 255.
38. ESHRE Reproductive Endocrinology Guideline Group. Ovarian stimulation gor IVF/ICSI. Guideline of the European Society of Human Reproduction and Embryology. October, 2019.
39. *Лычагин А.С., Малинина О.Ю.* Невынашивание беременности: вклад мужского фактора и возможности его преодоления. Проблемы репродукции. 2017; 23(5): 106-14. [Lychagin A.S., Malinina O.Yu. Miscarriage: the contribution of the male factor and the possibility of overcoming it. Problems of Reproduction. 2017; 23(5): 106-14. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.17116/repro2017235106-114.
40. *Cozzolino M., Diaz-Gimeno P., Pellicer A., Garrido N.* Evaluation of the endometrial receptivity assay and the preimplantation genetic test for aneuploidy in overcoming recurrent implantation failure. J. Assist. Reprod. Genet. 2020; 37(12): 2989-97. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-020-01948-7.
41. *Colaco S., Sakkas D.* Paternal factors contributing to embryo quality. J. Assist. Reprod. Genet. 2018; 35(11):1953-68. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-018-1304-4.
42. *Petousis S., Prapas Y., Papatheodorou A., Margioula-Siarkou C., Papatzikas G., Panagiotidis Y.* et al. Fluorescence in situ hybridisation sperm examination is significantly impaired in all categories of male infertility. Andrologia. 2018; 50(2). https://dx.doi.org/10.1111/and.12847.
43. *Coates A., Hesla J.S., Hurliman A., Coate B., Holmes E., Matthews R.* et al. Use of suboptimal sperm increases the risk of aneuploidy of the sex chromosomes in preimplantation blastocyst embryos. Fertil. Steril. 2015; 104(4): 866-72. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.06.033.
44. *Киселева Ю.Ю., Кодылева Т.А., Кириллова А.О.* Использование скрининговых тестов на выявление наиболее распространенных мутаций перед программой вспомогательных репродуктивных технологий. Проблемы репродукции. 2017; 23(2): 47-9. [Kiseleva Yu.Yu., Kodyleva T.A., Kirillova A.O. The use of screening tests for the detection of the most common mutations by an advanced program of special reproductive technologies. Problems of reproduction. 2017; 23(2): 47-9. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.17116/repro201723247-49.
45. *Tarozzi N., Nadalini M., Lagalla C., Coticchio G., Zacà C., Borini A.* Male factor infertility impacts the rate of mosaic blastocysts in cycles of preimplantation genetic testing for aneuploidy. J. Assist. Reprod. Genet. 2019; 36(10): 2047-55. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01584-w.
46. *Gat I., Li N., Yasovich N., Antes R., Kuznyetsov V., Zohni K.* et al. Sperm DNA fragmentation index does not correlate with blastocyst euploidy rate in egg donor cycles. Gynecol. Endocrinol. 2018; 34(3): 212-6. https://dx.doi.org/10.1080/09513590.2017.1379500.
47. *Ozgur K., Berkkanoglu M., Bulut H., Yoruk G.D.A., Candurmaz N.N., Coetzee K.* Single best euploid versus single best unknown-ploidy blastocyst frozen embryo transfers: a randomized controlled trial. J. Assist. Reprod. Genet. 2019; 36(4): 629-36. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-018-01399-1.
48. *Doyle N., Gainty M., Eubanks A., Doyle J., Hayes H., Tucker M.* et al. Donor oocyte recipients do not benefit from preimplantation genetic testing for aneuploidy to improve pregnancy outcomes. Hum. Reprod. 2020; 35(11): 2548-55. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deaa219.
49. *Masbou A.K., Friedenthal J.B., McCulloh D.H., McCaffrey C., Fino M.E., Grifo J.A., Licciardi F.* A comparison of pregnancy outcomes in patients undergoing donor egg single embryo transfers with and without preimplantation genetic testing. Reprod. Sci. 2019; 26(12): 1661-5. https://dx.doi.org/10.1177/1933719118820474.
50. *Franasiak J.M., Forman E.J., Hong K.H., Werner M.D., Upham K.M., Treff N.R., Scott R.T. Jr.* The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophectoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. Fertil. Steril. 2014; 101(3): 656-63.e1. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.11.004.
51. *Yang Z., Liu J., Collins G.S., Salem S.A., Liu X., Lyle S.S.* et al. Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis IVF patients: results from a randomized pilot study. Mol. Cytogenet. 2012; 5(1): 24. https://dx.doi.org/10.1186/1755-8166-5-24.
52. *Gleicher N., Patrizio P., Brivanlou A.* Preimplantation genetic testing for aneuploidy – a castle built on sand. Trends Mol. Med. 2021; 27(8): 731-42. https://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2020.11.009.
53. *Li P., Xu Y., Wei Y., Yang Y.* Self-correction for human parsing. IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell. 2020; Dec 24: PP. https://dx.doi.org/10.1109/TPAMI.2020.3048039.
54. *Gleicher N., Metzger J., Croft G., Kushnir V.A., Albertini D.F., Barad D.H.* A single trophectoderm biopsy at blastocyst stage is mathematically unable to determine embryo ploidy accurately enough for clinical use. Reprod. Biol. Endocrinol. 2017; 15(1): 33. https://dx.doi.org/10.1186/s12958-017-0251-8.

Поступила 31.05.2021
Принята в печать 02.09.2021
Received 31.05.2021
Accepted 02.09.2021

Сведения об авторах:
Савостина Гузель Венеровна, аспирант, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Министерства здравоохранения Российской Федерации, +7(925)633-35-16, Savostina2324@gmail.com, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Перминова Светлана Григорьевна, д.м.н., доцент, в.н.с. отделения НКО ВРТ им. Ф. Паулсена, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Министерства здравоохранения Российской Федерации, perisvet@list.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Екимов Алексей Николаевич, врач-лабораторный генетик, руководитель группы преимплантационного генетического скрининга лаборатории молекулярно-генетических методов, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Министерства здравоохранения Российской Федерации, a_ekimov@oparina4.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Веюкова Мария Александровна, к.б.н., заведующая эмбриологической лабораторией НКО ВРТ им. Ф. Паулсена Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Министерства здравоохранения Российской Федерации, veymary@gmail.com, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:
Guzel V. Savostina, graduate student, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, +7(925)633-35-16, savostina2324@gmail.com, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparin str., 4.
Svetlana G. Perminova, MD, PhD, Leading Researcher of Reproductology Department, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, perisvet@list.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparin str., 4.
Alexey N. Ekimov, doctor-laboratory geneticist, Head of the Group of preimplantation genetic screening of the Laboratory of Molecular Genetic Methods, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, a_ekimov@oparina4.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparin str., 4.
Maria A. Veyukova, MD, PhD, Leading Embriologist of Reproductology Department, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, veymary@gmail.com 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparin str., 4.

©Коллектив авторов, 2021

Н.В. БАШМАКОВА[1], И.Г. ПОЛЯКОВА[2], Э.Э. СЫМАНЮК[2], А.Ю. ХРАМЦОВА[1]

КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ ДОНОРОВ ГАМЕТ, ЭМБРИОНОВ И СУРРОГАТНЫХ МАТЕРЕЙ: ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ ИХ РЕШЕНИЯ В МИРОВОЙ ПРАКТИКЕ

[1]ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Екатеринбург, Россия
[2]ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия

Донорство в репродукции сегодня – один из методов успешного решения проблемы бесплодия и зачастую единственный шанс для многих стать родителями. Процедуры вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) имеют не только медицинские аспекты; особую роль в них играют как психологическое состояние всех участников, так и осознание ими социальных и юридических последствий ВРТ. В данной статье анализируется мировая практика консультирования доноров в репродукции. Мы рассматриваем, как регламентируется законодательно или рекомендуется в документах ответственных организаций необходимость обеспечения консультирования доноров, а также формулируются цели и объем консультационных услуг. Консультирование доноров в сфере репродукции различается в разных странах и в зависимости от репродуктивного материала. Но существуют и общие тенденции. В ходе большинства консультаций с донорами обсуждаются их мотивы, последствия донорства, как физические, так и психологические, ожидания в будущем и правовые вопросы, что крайне актуально для подписания информированного согласия. Особое внимание уделено последствиям донорства для нынешней или будущей семьи донора, обсуждению ожиданий и требований в отношении обмена информацией между всеми заинтересованными сторонами.

Заключение: *Своевременное информационное, юридическое и психологическое консультирование доноров является залогом осознанного подписания донором информированного согласия и способно снять многие проблемы до начала процедуры донации. Осознанное решение стать донором в репродукции, высокий уровень мотивации, готовность к сотрудничеству с врачом и реципиентом, стабильное психологическое состояние, поддерживаемое психологом на протяжении всего процесса, являются факторами благоприятного прогноза эффективности ВРТ.*

Ключевые слова: *бесплодие, донорство, вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ), консультирование доноров, донорство в репродукции.*

Вклад авторов: Башмакова Н.В., Сыманюк Э.Э. – концепция и дизайн исследования, редактирование; Полякова И.Г., Храмцова А.Ю. – сбор и обработка материала; Полякова И.Г. – написание текста.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование: Исследование не имеет финансовой поддержки.

Для цитирования: Башмакова Н.В., Полякова И.Г., Сыманюк Э.Э., Храмцова А.Ю. Консультирование доноров гамет, эмбрионов и суррогатных матерей: проблемы и пути их решения в мировой практике. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 50-55
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.50-55

©A group of authors, 2021

N.V. BASHMAKOVA[1], I.G. POLYAKOVA[2], E.E. SYMANIUK[2], A.YU. KHRAMTSOVA[1]

CONSULTING GAMETE AND EMBRYO DONORS AND SURROGATE MOTHERS: PROBLEMS AND THEIR SOLUTION WAYS IN WORLD PRACTICE

[1]Ural Research Institute for Maternal and Infant Care, Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russia
[2]Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin, Yekaterinburg, Russia

Today, reproductive donation is one of the successful methods to solve infertility problems and is frequently the only chance for many people to become parents. The assisted reproductive technology (ART) procedures have not only medical aspects; a special role in them is played by both the mental state of all participants and their awareness about the social and legal consequences of ART. This paper analyzes the world practice of consulting reproductive donors. The authors consider how the need for advice given to donors is legislatively regulated or recommended in the documents of the responsible organizations, as well as how the goals and scope of consulting services are defined. Reproductive donor counseling varies from country to country and according to the reproductive material. But there are general trends. Most of the consultations with donors discuss their motives, the consequences of donation, both physical and psychological ones, future expectations, and legal issues, which is extremely important for signing their informed consents. Particular attention is paid to the consequences

of donation for the current or future family of the donor, discussion of expectations and requirements for the exchange of information between all the parties concerned.

Conclusion: *Timely information, legal, and psychological consultations to donors are a guarantee of their conscious signing of informed consent form and can dismantle many problems before donation. The favorable prognostic factors for effective ART are a conscious decision to become a reproductive donor, a high level of motivation, a willingness to cooperate with a physician and a recipient, and the stable mental state supported by a psychologist throughout the entire process.*

Keywords: *infertility, donation, assisted reproductive technologies (ART), donor counseling, reproductive donation.*

Authors' contributions: Bashmakova N.V., Symaniuk E.E. – concept and design of the investigation; Polyakova I.G., Khramtsova A.Yu. – material collection and processing; Polyakova I.G. – writing the text.
Conflicts of interest: The authors declare that there are no conflicts of interest.
Funding: The investigation has not been sponsored.

For citation: Bashmakova N.V., Polyakova I.G., Symaniuk E.E., Khramtsova A.Yu. Consulting gamete and embryo donors and surrogate mothers: problems and their solution ways in world practice. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 50-55 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.50-55

В мире постепенно развивается полноценная индустрия репродуктивной медицины. Донорство в репродукции сегодня – один из методов успешного решения проблемы бесплодия и зачастую единственный шанс для многих стать родителями. Вероятность рождения живого ребенка путем экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) у женщин после 40 лет с донорским ооцитом в 5 раз выше, чем с собственной яйцеклеткой, после 44 лет эта вероятность увеличивается вдвое [1]. По результатам исследований, в Соединенных Штатах при использовании донорской яйцеклетки беременность наступает более чем в 50% случаев, а количество рождений живых детей близко к этому уровню [2]. В России на основании отчетов Российской ассоциации репродукции человека (РАРЧ) можно сделать вывод о том, что порядка 12% циклов ЭКО ежегодно проводится с использованием донорского материала. Бесплодие может быть связано с разными факторами, но один из существенных трендов, которые влияют на социально-демографическую ситуацию, задан тем, что деторождение в развитых странах все чаще откладывается на более поздний возраст.

Однако процедуры вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) имеют не только медицинские и медико-технологические аспекты. Особую роль в них играет психологическое состояние участников – доноров, потенциальных родителей, медиков, поскольку программы ВРТ сопряжены с высокой психологической нагрузкой. Знание своих прав и обязанностей со стороны участников ВРТ, ответственное отношение к принятию решений, к реализации необходимых процедур, деликатное взаимодействие со всеми вовлеченными сторонами требуют психологического и информационного сопровождения процедур ВРТ. Поэтому, учитывая возможные последствия процедуры донации для психического и физического здоровья доноров, а также для их ближайшего окружения мы обратимся к рассмотрению складывающихся практик психологического, правового и информационного консультирования потенциальных доноров.

На сегодняшний день очень невелико число исследований, посвященных эмпирическому изучению эффективности консультирования при процедурах ВРТ. Однако имеющиеся исследования подтверждают, что «родители всех типов семьи в изученной группе высоко оценили наличие консультирования и поддержки со стороны опытных профессионалов как до, так и после рождения, а также на последующих стадиях родительства. Психосоциальное консультирование должно, очевидно, предоставляться отдельно от психосоциального скрининга при отборе для лечения бесплодия» [3]. Более того, та же группа авторов, занимающихся этой проблемой в системе здравоохранения Швеции, подчеркивают, что «необходимо изучить, как можно предотвратить существенные расхождения в практике консультирования...» [4].

В мировой практике консультирование доноров гамет, эмбрионов и суррогатных матерей имеет своей целью помочь всем участникам лучше понять ситуацию, в которой они оказались, причины и последствия принятых решений и развить компетенции для решения вопросов, связанных с репродуктивным донорством [5, 6]. Международная организация консультирования по вопросам бесплодия декларирует общие этические принципы предоставления психологических консультаций не только для тех, кому был поставлен диагноз «бесплодие», но и для доноров [7]. Исследователи [8] также настоятельно рекомендуют, чтобы все доноры прошли собеседование с психологом перед началом процедур донорства, и отмечают важность проведения консультирования доноров гамет при прохождении цикла [9].

Правовые нормы, касающиеся предоставления консультационных услуг донорам гамет, эмбрионов и суррогатным матерям, разнятся в каждой стране. Есть страны, которые законодательно закрепили консультирование доноров в репродукции. Например, Комитет по правовым и конституционным вопросам Австралийского Сената [10] декларирует обязательное консультирование как доноров, так и реципиентов. Фактически доноры должны встретиться с консультантом перед любой процедурой донорства [11]. В Австралии обычные вопросы, задаваемые донора-

ми, включают возможные долгосрочные последствия донорства, психологические, этические и юридические проблемы, связанные с участием третьей стороны в репродукции [9].

То же самое можно сказать и о Северной Америке. Канадский закон о вспомогательной репродукции человека предусматривает, что доноры должны «иметь соответствующие консультационные услуги, чтобы они могли дать полное и осознанное согласие» [12]. В Соединенных Штатах существует комитет по этике и практическим рекомендациям, который устанавливает требования к информированию и консультированию доноров и суррогатных матерей. Роль консультанта для доноров включает психологическую поддержку, оценку готовности к донорству и решение этических вопросов, а психологическая диагностика в большей степени предназначена для реципиентов [13]. Согласно установкам Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (ESHRE) [14], цель консультирования доноров заключается в понимании того, что для них самих означает передача гамет реципиентам.

Европейские страны пока сохраняют приоритет национального законодательства. Например, консультирование является обязательным в Хорватии и Нидерландах [15], в то время как в Великобритании эти услуги лишь могут быть потенциально доступны [16]. Закон Соединенного Королевства об оплодотворении человека и эмбриологии [17] предусматривает, что тем, кто вовлечен в процесс лечения бесплодия, включая доноров гамет или эмбрионов, должна быть предоставлена «подходящая возможность» получить «надлежащее» консультирование [7]. Однако существуют некоторые минимальные требования, установленные Европейским обществом репродукции человека и эмбриологии [14]. Например, консультирование и психологическая поддержка должны быть доступны как отечественным, так и иностранным пациентам-донорам на понятном им языке [18].

В каждом типе донорства имеются свои особенности консультационных услуг. Далее мы рассмотрим то, как регламентируется законодательно или рекомендуется в документах ответственных организаций необходимость обеспечения консультирования, а также формулируются цели и объем консультационных услуг. В нашем обзоре мы будем опираться на имеющуюся литературу, которая охватывает разные географические регионы мира. Это позволит нам картографировать современную ситуацию с консультированием доноров в репродукции, а также суррогатных матерей.

Донорство спермы

Консультирование настоятельно рекомендуется проводить в рамках процедур донорства спермы [19, 20]. Целью консультирования доноров спермы является оценка их пригодности с точки зрения психической стабильности, личностных качеств и мотивации [21, 17]. Однако эта практика различается в зависимости от конкретного региона мира. Например, в Европе в рекомендациях [14] речь идет о том, что доноры должны получить консультацию перед подписанием информированного согласия. В процессе консультации также обсуждается влияние донорства на судьбу значимых для донора людей (супруги и детей). Консультирование законодательно закреплено в Нидерландах, где установлены протоколы проведения психосоциального консультирования и тестирования психического здоровья потенциальных доноров, их отношения к друзьям и семье, предполагаемым реципиентам и будущим детям, а также их мотивации и ожиданий [22]. То же самое верно и для Непала, где собеседования включают такие темы, как религия [15].

Важность консультирования доноров спермы связана также с тем, что психосоциальное консультирование позволяет обсудить «эмоциональные последствия» донорства [22]. Например, голландские доноры хотели бы получить психологическую поддержку в случае, если ребенок, зачатый от их донорского материала, захочет контакта с биологическим отцом. Большое значение в консультировании имеют возможности обсудить целый ряд тем, начиная с личных – мотивация доноров, их собственное психическое здоровье, информирование значимых людей, контакт с будущими детьми – и заканчивая юридическими аспектами, включающими правовые последствия донорства, установление отцовства и т.д. [22].

Донорство ооцитов

В отличие от доноров спермы, доноры яйцеклеток проходят ряд медицинских процедур, таких как гормональная стимуляция яичников и трансвагинальная пункция фолликулов яичников. Данная ситуация, безусловно, требует психологической диагностики потенциальных доноров [23, 24].

Протоколы консультирования по донорству яйцеклеток в разных странах вариабельны. В Новой Зеландии и Ирландии доноры в обязательном порядке проходят индивидуальное и совместное с партнером консультирование в соответствии с рекомендациями, установленными Консультативным комитетом по ВРТ [15, 25]. Также правила ESHRE предусматривают обязательное консультирование доноров яйцеклеток для научных исследований [26]. Исследователи [27] показывают целесообразность создания консультативных подразделений во всех центрах донорства ооцитов и предоставления донорам возможности сделать осознанный выбор, учитывающий все риски как для соматического, так и для психического благополучия. Однако существуют страны, такие как Индия, где нет гарантированного консультирования доноров ооцитов, которыми обычно являются экономически неблагополучные молодые женщины [28].

Донорство эмбрионов

Специфика донорства эмбрионов заключается в том, что согласие на донорство дают оба партнера. Консультирование перед донорством может использоваться для достижения наилучшего «соответствия» между донорами и реципиентами [29].

Кроме того, консультации считаются важными, поскольку решение потенциальных доноров эмбрионов может измениться, как только они станут родителями [30].

Что касается медицинских стандартов, то Американское общество репродуктивной медицины (ASRM) [31] настоятельно рекомендует провести консультации перед криоконсервацией эмбрионов. В Австралии и Новой Зеландии существует обязательное консультирование перед донорством эмбрионов [11]. Кроме того, практика консультирования в Австралии главной целью ставит благополучие детей, зачатых от донорских эмбрионов. Поэтому консультантам настоятельно рекомендуется говорить об условиях анонимности при донорстве эмбрионов, а также об открытости в отношении генетического родства [30]. Впечатления доноров эмбрионов от консультирования различны. Несколько исследований, посвященных потенциальным донорам эмбрионов, показывают, что большинство из них не обращаются за консультационными услугами при принятии своего решения [32, 30]. Другое исследование показало, что только половина потенциальных доноров эмбрионов считают психологический скрининг и консультирование доноров очень разумными [33]. Кроме того, потенциальные доноры не всегда чувствуют себя комфортно, делясь такой личной информацией, как физические характеристики, история болезней в семье, интересы и другие персональные данные.

Суррогатное материнство

В идеале основная цель консультирования суррогатных матерей состоит в том, чтобы уменьшить их тревогу и обеспечить принятие обоснованных решений, а также снять возможные проблемы на ранней стадии суррогатного материнства до того, как возникнет какая-либо дилемма [34]. Например, ESHRE обязывает консультантов по суррогатному материнству предоставлять всем вовлеченным сторонам подробную информацию о проблемах, связанных с суррогатным материнством, а также о законодательстве рассматриваемой страны [35].

Хотя суррогатным матерям рекомендуется получить профессиональную консультацию до, во время и после беременности [36, 34], большинство исследований показывает, что женщинам не предоставляется необходимых психологических и юридических консультаций. Например, система консультирования суррогатных матерей в Иране не предоставляет необходимой информации для суррогатных матерей [37]. Еще один пример – это Индия. Роль консультанта здесь зачастую состоит в том, чтобы служить охранником и обеспечить наблюдение за беременными женщинами с целью убедиться, что все предписания выполняются, и клиенты не будут обмануты [28]. Кроме того, суррогатные матери не всегда обращаются за консультациями, даже если эти услуги предоставляются [38]. Австралийская и новозеландская Ассоциация консультантов по вопросам бесплодия [39] рекомендует антикризисное консультирование доноров, особенно суррогатных матерей, имеющих в итоге протокола отрицательный результат, а также их партнеров.

Вне зависимости от репродуктивного материала сами доноры по-разному относятся к консультированию. В Австралии некоторые доноры в процессе консультирования хотят сохранять анонимность [40]. Во многих случаях в качестве консультантов могут выступать врачи. При трансграничном донорстве врач, как ожидается, будет консультировать донора, «чтобы убедиться, что они (доноры) знают, что произойдет, какие вопросы они должны задать и т. д.» [41].

Необходимо отметить, что количество научной литературы по данной теме ограничено, и большая ее часть относится к рубежу 2000-х гг. В исследованиях, посвященных консультированию по вопросам репродукции, особенно в странах, где консультирование является обязательным, в основном рассматривалось консультирование по вопросам бесплодия для реципиентов. Там, где делается какая-либо ссылка на консультирование доноров, обычно законодательно закреплено консультирование всех участников процесса, включая реципиентов, доноров и детей, зачатых от доноров [29]. Большинство исследований посвящено сравнению юридических документов и различных форм консультирования [15, 16].

Заключение

Консультирование доноров в сфере репродукции реализуется в разных странах с существенной долей различий, но существуют и общие тенденции. В ходе большинства консультаций с донорами обсуждаются их мотивы, последствия донорства, как физические, так и психологические, ожидания в будущем и правовые вопросы. Особое внимание уделено последствиям донорства для нынешней или будущей семьи донора, что включает в себя обсуждение ожиданий и требований в отношении обмена информацией между всеми заинтересованными сторонами.

Безусловно, следует отметить роль консультационных услуг при подписании «информированного согласия» донора. Благодаря хорошей проработке и осознанному согласию на основе достоверной информации многие спорные вопросы и недопонимания могут быть сняты до вхождения в процедуру донорства.

В мировой практике профессиональные ассоциации поощряют расширение консультационных услуг в репродукции и узкую специализацию психологов: так, роль специалистов в области психического здоровья для доноров гамет и суррогатных матерей отличается от их роли для реципиентов.

Исследования имеют тенденцию анализировать практику консультирования по конкретным видам вспомогательной репродуктивной терапии. Научные работы по оценке репродуктивного консультирования направлены в основном на выработку предложений по улучшению консультирования по вопросам бесплодия, но не конкретно на консультирование доноров.

Значимым фактором успеха донорских программ является стабильное психологическое состояние и высокая мотивация всех участников процесса. Грамотное психологическое сопровождение доноров и суррогатных матерей на всех этапах ВРТ позволит повысить шансы на зачатие и рождение здорового ребенка.

На наш взгляд, необходимы дальнейшие исследования с точки зрения изучения опыта доноров в отношении полезности консультирования и оценки, а также выявления предикторов удовлетворенности. Особый интерес представляет выявление различий в потребностях доноров мужского и женского пола. Наконец, важно провести дополнительные исследования по изучению долгосрочных последствий такой практики консультирования.

Литература/References

1. *Hogan R.G., Wang A.Y., Li Z., Hammarberg K., Johnson L., Mol B.W., Sullivan E.A.* Having a baby in your 40s with assisted reproductive technology: The reproductive dilemma of autologous versus donor oocytes. Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol. 2020; 60(5): 797-803. https://dx.doi.org/10.1111/ajo.13179.
2. *Barri P.N., Coroleu B., Clua E., Tur R., Boada M., Rodriguez I.* Investigations into implantation failure in oocyte-donation recipients. Reprod. Biomed. Online. 2014; 28(1): 99-105. https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.08.012.
3. *Visser M., Gerrits T., Kop F., Van der Veen F., Mochtar M.* Exploring parents' feelings about counseling in donor sperm treatment. J. Psychosom. Obstet. Gynecol. 2016; 37(4): 156-63. https://dx.doi.org/10.1080/0167482X.2016.1195806.
4. *Visser M., Gerrits T., Van der Veen F., Mochtar M.* Counsellors' practices in donor sperm treatment. Hum. Fertil. 2019; 22(4): 255-65.https://dx.doi.org/10.1080/14647273.2018.1449970.
5. *Machin L.* A hierarchy of needs? Embryo donation, in vitro fertilisation and the provision of infertility counselling. Patient Educ. Couns. 2011; 85(2): 264-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.pec.2010.09.014.
6. *Mc Leod J.* An introduction to counselling. Maidenhead, Berkshire: Open University Press; 2013.
7. *Blyth E., Thorn P., Wischmann T.* CBRC and psychosocial counselling: assessing needs and developing an ethical framework for practice. Reprod. Biomed. Online. 2011; 23(5): 642-51. https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2011.07.009.
8. *Mahlstedt P.P., Greenfeld D.A.* Assisted reproductive technology with donor gametes: the need for patient preparation. Fertil. Steril. 1989; 52(6): 908-14. https://dx.doi.org/10.1016/s0015-0282(16)53150-1.
9. *Hammarberg K., Carmichael M., Tinney L., Mulder A.* Gamete donors' and recipients' evaluation of donor counselling: a prospective longitudinal cohort study. Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol. 2008; 48(6): 601-6. https://dx.doi.org/10.1111/j.1479-828X.2008.00925.x.
10. Australian Senate Legal and Constitutional Committee. 2011. Available at: https://www.aph.gov.au/parliamentary_business/committees/senate/legal_and_constitutional_affairs/completed_inquiries/2010-13
11. Fertility Society of Australia Reproductive Technology Accreditation Committee. Code of practice for assisted reproductive technology units. 2008. Available at: https://www.fertilitysociety.com.au/wp-content/uploads/20080924-rtac-cop-final.pdf
12. Supreme Court of Canada. Reference re assisted human reproduction act, 2010 SCC 61. Available at: https://scc-csc.lexum.com/scc-csc/scc-csc/en/item/7905/index.do:
13. *Braverman A.M.* Mental health counseling in third-party reproduction in the United States: evaluation, psychoeducation, or ethical gatekeeping? Fertil. Steril. 2015; 104(3): 501-6. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.06.023.
14. European Society of Human Reproduction and Embryology. Guidelines for counselling in infertility: special interest group 'Psychology and Counselling'. Grimberg, Belgium: ESHRE; 1999. Available at: https://www.eshre.eu/Specialty-groups/Special-Interest-Groups/Psychology-Counselling/Archive/Guidelines.aspx
15. *Jones H.W. Jr., Cooke I., Kempers R., Brinsden P., Saunders D.* International Federation of Fertility Societies Surveillance 2010: preface. Fertil. Steril. 2011; 95(2): 491. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.08.011.
16. *Blyth E.* Guidelines for infertility counselling in different countries: is there an emerging trend? Hum. Reprod. 2012; 27(7): 2046-57. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/des112.
17. Human Fertilisation and Embryology Authority. Code of ractice. 8th ed. 2009. Available at: https://www.hfea.gov.uk/media/2062/2017-10-02-code-of-practice-8th-edition-full-version-11th-revision-final-clean.pdf
18. *Shenfield F., Pennings G., De Mouzon J., Ferraretti A.P., Goossens V.* ESHRE Task Force 'Cross Border Reproductive Care' (CBRC). ESHRE's good practice guide for cross-border reproductive care for centers and practitioners. Hum. Reprod. 2011; 26(7): 1625-7. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/der090.
19. *Cousineau T.M., Domar A.D.* Psychological impact of infertility. Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2007; 21(2): 293-308. https://dx.doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2006.12.003.
20. *Pennings G., de Wert G., Shenfield F., Cohen J., Tarlatzis B., Devroey P.* ESHRE Task Force on Ethics and Law 13: the welfare of the child in medically assisted reproduction. Hum. Reprod. 2007; 22(10): 2585-8. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dem237.
21. Ethics Committee of American Society for Reproductive Medicine. Informing offspring of their conception by gamete or embryo donation: a committee opinion. Fertil. Steril. 2013; 100(1): 45-9. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.02.028.
22. *Visser M., Mochtar M.H., de Melker A.A., van der Veen F., Repping S., Gerrits T.* Psychosocial counselling of identifiable sperm donors. Hum. Reprod. 2016; 31(5): 1066-74. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dew037.
23. *Schover L.R., Collins R.L., Quigley M.M., Blankstein J., Kanoti G.* Psychological follow-up of women evaluated as oocyte donors. Hum. Reprod. 1991; 6(10): 1487-91. https://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a137295.
24. *Schenker J.G.* Ovum donation: ethical and legal aspects. J. Assist. Reprod. Genet. 1992; 9(5): 411-8. https://dx.doi.org/10.1007/BF01204043.
25. Advisory Committee on Assisted Reproductive Technology (ACART). Guidelines on embryo donation for reproductive purposes. 2008. Available at: https://www.acart.health.govt.nz/publications-and-resources/guidelines-and-advice-issued-ecart/guidelines-embryo-donation
26. *Pennings G., de Wert G., Shenfield F., Cohen J., Tarlatzis B., Devroey P.* ESHRE Task Force on Ethics and Law 12: oocyte donation for non-reproductive purposes. Hum. Reprod. 2007; 22(5): 1210-3. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dem025.
27. *Tulay P., Atılan O.* Oocyte donors' awareness on donation procedure and risks: A call for developing guidelines for health tourism in oocyte donation programmes. J. Turk. Ger. Gynecol. Assoc. 2019; 20(4): 236-42. https://dx.doi.org/10.4274/jtgga.galenos.2018.2018.0110.
28. *Pande A.* "It May Be Her Eggs But It's My Blood": Surrogates and everyday forms of kinship in India. Qual. Sociol. 2009; 32(4): 379-97. https://dx.doi.org/10.1007/s11133-009-9138-0.
29. *Goedeke S., Daniels K., Thorpe M.* Embryo donation and counselling for the welfare of donors, recipients, their families and children. Hum. Reprod. 2016; 31(2): 412-8. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dev304.
30. *de Lacey S.* Parent identity and 'virtual' children: why patients discard rather than donate unused embryos. Hum. Reprod. 2005; 20(6): 1661-9. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deh831.
31. American Society for Reproductive Medicine 58th Annual Meeting. October 12-17, 2002. Seattle, Washington, USA. Abstracts. Fertil. Steril. 2002; 78(3, Suppl. 1): S1-324.
32. *McMahon C.A., Gibson F.L., Leslie G.I., Saunders D.M., Porter K.A., Tennant C.C.* Embryo donation for medical research: attitudes and concerns of potential donors. Hum. Reprod. 2003; 18(4): 871-7. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deg167.

33. *Newton C.R., McDermid A., Tekpetey F., Tummon I.S.* Embryo donation: attitudes toward donation procedures and factors predicting willingness to donate. Hum. Reprod. 2003; 18(4): 878-84. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deg169.
34. *Edelmann R.J.* Surrogacy: the psychological issues. J. Reprod. Infant Psychol. 2004; 22(2): 123-36. https://dx.doi.org/10.1080/0264683042000205981.
35. *Appleton T.C.* Surrogacy. In: Boivin J.C., Kentenich H. eds. ESHRE monographs: Guidelines to counseling in infertility. Oxford: Oxford University Press; 2002: 37-8.
36. *Tehran H.A., Tashi S., Mehran N., Eskandari N., Tehrani T.D.* Emotional experiences in surrogate mothers: A qualitative study. Iran. J. Reprod. Med. 2014; 12(7): 471-80.
37. *Taebi M., Alavi N.M., Ahmadi S.M.* The experiences of surrogate mothers: A qualitative study. Nurs. Midwifery Stud. 2020; 9(1): 51-9. https://dx.doi.org/10.4103/nms.nms_19_19.
38. *van den Akker O.B.* Psychosocial aspects of surrogate motherhood. Hum. Reprod. Update. 2007; 13(1): 53-62. https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dml039.
39. Australian and New Zealand Infertility Counsellors Association. Guidelines for professional standards of practice in infertility counselling. 2003. Available at: https://www.fertilitysociety.com.au/wp-content/uploads/2018-ANZICA-Guidelines-for-Professional-Standards-1.pdf
40. *Hammarberg K., Johnson L., Bourne K., Fisher J., Kirkman M.* Proposed legislative change mandating retrospective release of identifying information: consultation with donors and Government response. Hum. Reprod. 2014; 29(2): 286-92. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/det434.
41. *Pennings G., de Wert G., Shenfield F., Cohen J., Tarlatzis B., Devroey P.* ESHRE task force on ethics and law 15: cross-border reproductive care. Hum. Reprod. 2008; 23(10): 2182-4. 10.1093/humrep/den184.

Поступила 08.06.2021
Принята в печать 09.07.2021
Received 08.06.2021
Accepted 09.07.2021

Сведения об авторах:
Башмакова Надежда Васильевна, д.м.н., профессор, главный акушер-гинеколог Уральского федерального округа, заведующая отделением вспомогательных репродуктивных технологий, главный научный сотрудник, НИИ ОММ Минздрава России, bashmakovanv@niiomm.ru, http://orcid.org/0000-0001-5746-316X, 620028, Россия, Екатеринбург, ул. Репина, д. 1.
Полякова Ирина Геннадьевна, н.с., Уральский межрегиональный институт общественных наук, УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, irinapolykova@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-9619-2152, 620002, Россия, Екатеринбург, пр-т Мира, д. 19.
Сыманюк Эльвира Эвальдовна, д.п.н., профессор, заведующая кафедрой общей психологии, УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, e.e.symaniuk@urfu.ru, http://orcid.org/0000-0002-7591-7230, 620002, Россия, Екатеринбург, пр-т Мира, д. 19.
Храмцова Александра Юрьевна, врач акушер-гинеколог, н.н.с., НИИ ОММ Минздрава России, aleksaxr@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4304-3516, 620028, Россия, Екатеринбург, ул. Репина, д. 1.
Автор, ответственный за переписку: Ирина Геннадьевна Полякова, irinapolykova@yandex.ru

Authors' information:
Nadezda V. Bashmakova, Dr. Med. Sci., Professor, Superintendent in Obstetrics and Gynecology at the Ural Federal District, Director of the Center for Assisted Reproductive Technologies, Chief Researcher, Ural Research Institute of Maternity and Child Care, Ministry of Health of Russia, bashmakovanv@niiomm.ru, http://orcid.org/0000-0001-5746-316X, 620028, Russia, Yekaterinburg, Repin str., 1.
Irina G. Polyakova, researcher, Ural Center for Advanced Studies, Ural Federal University, irinapolykova@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-9619-2152, 620002, Russia, Yekaterinburg, Mira Ave., 19.
Elvira E. Symaniuk, Dr. Sci. (Psychology), Professor, Head of the Department of Psychology, Ural Federal University, e.e.symaniuk@urfu.ru, http://orcid.org/0000-0002-7591-7230, 620002, Russia, Yekaterinburg, Mira Ave., 19.
Aleksandra Yu. Khramtsova, obstetrician-gynecologist, Junior Researcher, Ural Research Institute of Maternity and Child Care, Ministry of Health of Russia, aleksaxr@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4304-3516, 620028, Russia, Yekaterinburg, Repina str., 1.
Corresponding author: Irina G. Polyakova, irinapolykova@yandex.ru

©Коллектив авторов, 2021

Я.А. ГОХБЕРГ, А.В. ТИМОФЕЕВА, Е.А. КАЛИНИНА

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ РЕЦЕПТИВНОСТИ ЭНДОМЕТРИЯ В ПРОГРАММАХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

Несмотря на рост эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), частота успешных имплантаций эмбриона остается на низком уровне. Отсутствие имплантации может быть связано с нарушением рецептивности эндометрия в период «имплантационного окна». Для определения рецептивности эндометрия разработаны и используются различные методы диагностики: гистологический анализ, электронная микроскопия, иммуногистохимическое исследование, молекулярно-генетический анализ, однако многие из них зависят от сопутствующих факторов и имеют невысокую функциональную значимость в решении данной проблемы. В настоящее время продолжается поиск идеального маркера, позволяющего определить наилучший момент для переноса эмбриона в полость матки в цикле экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Применение омиксных технологий в исследовании культуральной среды эмбриона позволило прогнозировать не только качество, но и имплантационный потенциал самого эмбриона, а также оптимизировать выбор эмбрионов для переноса в полость матки. Однако для повышения результативности программ ВРТ целесообразным является не только изучение эмбрионального профиля, но и оценка рецептивности эндометрия.

***Заключение:** В связи с этим на основании проведенного анализа литературных источников было показано, что изучение профиля малых некодирующих РНК (мнкРНК) в образцах эндометрия является перспективным и актуальным анализом, который позволит персонифицировать подход в рамках проведения программ ВРТ.*

***Ключевые слова:** вспомогательные репродуктивные технологии, беременность, имплантация эмбрионов, культуральная среда эмбрионов, рецептивность эндометрия, бесплодие, малые некодирующие РНК, микроРНК, пивиРНК, омиксные технологии, miRNA, piRNA, тест ERA.*

Вклад авторов: Гохберг Я.А. – сбор и анализ литературных данных, обработка исходного материала и написание статьи; Тимофеева А.В., Калинина Е.А. – редактирование рукописи статьи и утверждение публикации.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.
Финансирование: Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Для цитирования: Гохберг Я.А., Тимофеева А.В., Калинина Е.А. Молекулярные маркеры рецептивности эндометрия в программах вспомогательных репродуктивных технологий. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 56-62
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.56-62

©A group of authors, 2021

YA.A. GOKHBERG, A.V. TIMOFEEVA, E.A. KALININA

MOLECULAR MARKERS FOR ENDOMETRIAL RECEPTIVITY IN ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY PROGRAMS

Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Despite the increasing effectiveness of assisted reproductive technology (ART) programs, the frequency of successful embryo implantations remains low. The lack of implantation may be associated with impaired endometrial receptivity during the implantation window. To determine the receptivity of the endometrium, various diagnostic methods, such as histological analysis, electron microscopy, immunohistochemical examination, and molecular genetic analysis, have been developed and used; however, many of them depend on contributing factors and are of ow functional significance in solving this problem. The search for an ideal marker is now ongoing to determine the best moment for embryo transfer into the uterine cavity for an in vitro fertilization (IVF) cycle. The use of omix technologies to study the embryo culture medium could predict not only the quality, but also implantation potential of the embryo itself, as well as optimize the selection of embryos for transfer to the uterine cavity. However, to enhance the effectiveness of ART programs, it is advisable not only to study the embryonic profile, but also to assess endometrial receptivity.

Conclusion: *In this connection, analyzing the literature sources has shown that the study of the small non-coding RNA (sncRNA) in the endometrial samples is a promising and relevant analysis that will be able to personalize the approach to implementing ART programs.*

Keywords: *assisted reproductive technologies, pregnancy, embryo implantation, embryo culture medium, endometrial receptivity, infertility, small non-coding RNA (sncRNA), miRNA, piRNA, omix technologies, ERA test.*

Authors' contributions: Gokhberg Ya.A. – literature data collection and analysis; processing of the source material and writing the article; Timofeeva A.V., Kalinina E.A. – editing the manuscript of the article and approval of the publication.
Conflicts of interest: The authors declare that there are no possible conflicts of interest.
Funding: The investigation has been conducted without additional funding from the third parties.

For citation: Gokhberg Ya.A., Timofeeva A.V., Kalinina E.A. Molecular markers for endometrial receptivity in assisted reproductive technology programs. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 56–62 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.56-62

Бесплодие у супружеской пары остается одной из важных медицинских и социальных проблем. На долю женского бесплодия в Российской Федерации приходится около 50%, мужского – 20–30%, сочетание женского и мужского фактора бесплодия встречается в 20% [1]. Несмотря на оптимизацию протоколов программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), их эффективность за последние годы значительно не меняется и остается на уровне 30–40% [2]. Поэтому актуальной является разработка новых методических подходов как для понимания причин бесплодия, так и для диагностических и прогностических целей.

Как известно, успех в программах ВРТ зависит от трех факторов: качества гамет, определяемого состоянием репродуктивной системы обоих партнеров, качества эмбриона, функциональной зрелости (рецептивности) эндометрия [3]. Эндометрий максимально восприимчив к имплантации эмбриона на стадии бластоцисты в период «имплантационного окна». Совокупность структурно-функциональных характеристик слизистой тела матки, обеспечивающих оптимальные условия для имплантации бластоцисты, определяют как рецептивность эндометрия. Имплантация зависит от сложной системы регуляции межмолекулярных и межклеточных взаимодействий, обеспечивающих «диалог» между эмбрионом и рецептивным эндометрием, а также дальнейшего проникновения эмбриона в децидуальный слой матки с последующей дифференцировкой клеток эмбрио- и трофобласта [4].

Одной из основных причин нарушения механизмов имплантации является смещение «имплантационного окна». У большинства женщин «имплантационное окно» охватывает 6–10-й день после пика лютеинизирующего гормона (ЛГ) в секреторную фазу менструального цикла. Однако в некоторых случаях «имплантационное окно» смещается в силу индивидуальных особенностей или под влиянием гормональной стимуляции [5]. При различных патологиях эндометрия наблюдается дисрегуляция его секреторной трансформации, происходит спад активности маточных желез, в частности, секрета эндометрия, что является причиной снижения рецептивности и, как следствие, нарушения взаимодействия эмбриона с материнским организмом в доимплантационный период [6].

Общеизвестными методами оценки рецептивности эндометрия являются: гистологический анализ [7], электронная микроскопия [8], иммуногистохимическое исследование [9], определение уровня простагландинов с помощью масс-спектрометрии [10], молекулярно-генетический анализ [11].

Данные методы являются крайне зависимыми от сопутствующих факторов, а молекулярные механизмы имплантации остаются в значительной степени неясными. Это дало стимул для дальнейших исследований и поиска нового маркера рецептивности эндометрия.

В настоящее время активно изучается роль омиксных высокопроизводительных технологий [12–16], в частности, малых некодирующих РНК (мнкРНК), среди которых наибольший интерес представляют микроРНК (miRNAs) и пивиРНК (piwiRNAs). МикроРНК представляют собой одноцепочечные молекулы РНК длиной от 22 до 24 нуклеотидов. Основная их функция заключается в регуляции экспрессии генов на посттранскрипционном уровне путем образования комплементарных/полукомплементарных структур с 3'-нетранслируемой областью (3'UTR) целевой матричной РНК (мРНК) в составе РНК-индуцированного комплекса сайленсинга (RISC), что приводит к эндонуклеазному расщеплению мРНК и/или блокированию синтеза белка при взаимодействии с факторами инициации трансляции [17, 18].

По данным анализа базы miRBase v22 (http://mirbase.org/) у людей идентифицировано 2654 микроРНК, которые играют важную роль во многих биологических процессах. Практически все клетки в организме способны секретировать микроРНК, и уровень их концентрации в биологической среде является отражением как физиологических, так и патологических состояний [19].

Менее изученными представителями класса мнкРНК с точки зрения выполняемой в клетке функции и участия в патологических процессах являются пивиРНК. ПивиРНК представляют собой одноцепочечные молекулы РНК длиной 24–31 нуклеотид, которые специфически связываются с белками piwi подсемейства Argonaute и выполняют в клетке две основные функции: поддержание стабильности генома путем ингибирования экспрес-

сии мобильных участков генома (транспозонов) и регуляция экспрессии кодирующих белок генов за счет РНК-интерференции подобно механизму действия микроРНК [20, 21].

В последние годы активно изучаются преимущества мнкРНК в качестве диагностических и прогностических биомаркеров исходов программ ВРТ в исследованиях имплантационного потенциала эмбриона и оценки рецептивности эндометрия [22–25].

Жизнеспособность эмбриона является одним из ключевых факторов, определяющих имплантацию. Оценка качества эмбрионов, согласно морфокинетическим критериям, включает в себя деление клеток, скорость развития эмбриона, форму бластомеров и степень их фрагментации. Секретируемые в среду культивирования мнкРНК в процессе имплантации эмбрионов могут быть использованы в качестве неинвазивных маркеров качества эмбрионов [26]. Так, Rosenbluth E. et al. [27] провели количественную оценку микроРНК в культуральной среде методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени и обнаружили специфичные для эмбриона miR-191 и miR-372. В случае анеуплоидии эмбрионов плохого качества уровень miR-191 в среде культивирования был резко повышен и ассоциирован с отрицательными исходами в программах ВРТ. Также была обнаружена корреляция уровня miR-372 с отрицательным исходом программы ВРТ, но связь с хромосомным набором и качеством эмбриона не была установлена. В свою очередь, Cuman C. et al. [28] показали, что уровень экспрессии микроРНК может быть связан как с имплантационным потенциалом самого эмбриона, так и с рецептивностью. Уровень miR-661 был повышен у эмбрионов с отсутствием имплантационного потенциала по сравнению с бластоцистами, способными к имплантации. Результаты исследования показали наличие транспорта miR-661 в комплексе с белком Argonaute 1 из среды культивирования бластоцисты внутрь клеток первичной культуры эндометрия. Повышенный уровень секреции miR-661 негативным образом влияет на адгезию клеток трофобласта к эпителию эндометрия, что приводит к нарушению имплантации эмбриона.

Возможность использования анализа уровня экспрессии микроРНК для оценки имплантационного потенциала эмбриона в среде культивирования была продемонстрирована Borges E. et al. [29]. По результатам тестирования семи микроРНК статистически значимые различия групп с отрицательным и положительным результатами ВРТ были выявлены по уровню экспрессии miR-142-3p (p<0,001). Авторы исследования приходят к выводу о том, что miR-142-3p может быть использована в качестве маркера имплантационного потенциала бластоцисты.

Несмотря на многочисленные исследования зарубежных коллег, роль пивиРНК в культуральной среде эмбрионов не была изучена. Исходя из этого в 2020 г. Timofeeva A. et al. [30] впервые опубликовали крупное исследование о роли ключевых молекул микроРНК и пивиРНК, которые участвуют в процессе формировании здорового эмбриона и его имплантационного потенциала. Было произведено глубокое секвенирование мнкРНК в образцах культуральной среды эмбрионов с последующей количественной ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени. Доказано, что уровни секреции таких микроРНК и пивиРНК, как hsa_piR_011291, hsa_piR_019122, hsa_piR_001311, hsa_piR_015026, hsa_piR_015462, hsa_piR_016735, hsa_piR_019675, hsa_piR_020381, hsa_piR_020485, hsa_piR_004880, hsa_piR_000807, hsa-let-7b-5p и hsa-let-7i-5p, являются отражением качества эмбрионов на стадии морулы. Дисбаланс регуляции уровня экспрессии данных молекул на стадии морулы приводит к образованию бластоцисты низкого качества или даже к остановке ее развития либо деградации. Повышение уровня экспрессии мнкРНК эмбрионом до определенных значений на стадии морулы является отражением качества материнско-зиготического перехода, который необходим для эмбриогенеза и наступления беременности.

Однако на успешное наступление беременности влияют не только качество и имплантационный потенциал самого эмбриона, но и рецептивность эндометрия [31]. В работе Viella F. et al. [32] оценивали роль экспрессии микроРНК в клетках эндометрия как посттранскрипционного регулятора имплантации эмбрионов. Для того чтобы определить рецептивность эндометрия и подходящий день для переноса эмбрионов, авторы сравнивали экспрессию микроРНК в разные фазы цикла. Полученные образцы были разделены на следующие группы: ранняя пролиферативная (РП; 6–8-й дни; n=4), поздняя пролиферативная (ПП; 9–14-й дни; n=4), ранняя секреторная (РС; 15–18-й дни; n=4), «имплантационное окно» (19–23-й дни; n=4) и поздняя секреторная (ПС; 24–28-й дни; n=4). Методом микроматричного анализа были идентифицированы микроРНК в маточном аспирате. Выявлена их дифференциальная экспрессия между фазами менструального цикла. Выраженные изменения уровня экспрессии микроРНК в маточном аспирате обнаружены как в секреторную фазу, так и в пролиферативную фазу менструального цикла относительно окна имплантации. Стоит отметить, что в пролиферативную фазу уровень экспрессии микроРНК был значительно снижен, а в секреторную фазу – повышен. Также наибольшие изменения в экспрессии были выявлены у hsa-miR-30d из семейства miR-30d в «имплантационное окно». Авторы продемонстрировали, что идентифицированная hsa-miR-30d в клетках эндометрия может быть рассмотрена в качестве одного из маркеров рецептивности эндометрия. Более того, при добавлении в культуральную среду miR-30d эмбрионы на этапе до имплантации экспрессируют молекулы адгезии, такие как интегрин бета 3 (ITGB3), интегрин альфа 7 (ITGA7) и кадгерин 5 (CDH5).

Ferlita A. et al. [33] аналогичным образом показали, что экспрессия miR-30d и miR-30b значительно повышена в рецептивном эндометрии (ЛГ+7), а уровень miR-494 снижен по сравнению с пререцептивным эндометрием (ЛГ+2).

В последние годы широко обсуждалась роль некоторых белков в процессе имплантации эмбрионов.

Так, например, апикальная поверхность эндометрия покрыта гликокаликсом, который содержит гликопротеиды. Наиболее значимым из семейства адгезивных молекул гликопротеидов является муцин1 (Muc1). Ранее считалось, что экспрессия Muc1 повышается в период «имплантационного окна», что благоприятно влияет на рецептивность эндометрия. Однако, по данным Inyawilert W. et al. [34], выработка Muc1 значительно снизилась во время окна имплантации и могла быть связана с негативной регуляцией miR-199a, let-7a и let-7b. Liang J. et al. [35] в своей работе описали влияние miR-192-5p на экспрессию Muc1 клетками эндометрия. Выяснилось, что высокая экспрессия данных молекул предотвращает адгезию трофобласта в эндометрий и наступление беременности в целом. Исходя из этого авторы отметили, что анализ уровня микроРНК и его локальное влияние на Muc1 могут стать ключевыми факторами в диагностике и лечении бесплодия.

Считается, что связывающий протеин-1 инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-1) продуцируется децидуальными стромальными клетками и стимулирует клеточную миграцию и адгезию в момент максимальной рецептивности эндометрия. Чрезмерное увеличение экспрессии miR-145 снижает уровень IGFBP-1 в эндометрии, тем самым ингибируя инвазию трофобласта [36]. Tochigi H. et al. [37] продемонстрировали, что экспрессия miR-542-3p снижает секрецию таких белков, как IGFBP1, WNT4 (Wnt Family Member 4) и PRL (Prolactin gene), которые играют непосредственную роль в процессе децидуализации стромы эндометрия. Аналогичные исследования проводились учеными разных стран, которые описывали негативное влияние молекулы miR-542-3p на рецептивность эндометрия [38, 39].

Немаловажную роль в процессах пролиферации клеток эндометрия и инвазии бластоцисты играют такие факторы, как интерлейкин (IL)-1β, сосудистый эндотелиальный ростовой фактор (VEGF), эпидермальный ростовой фактор (EGF), фактор роста фибробластов (FGF1), фактор ингибирования лейкемии (LIF) и т.д. Наиболее значимым фактором регуляции ангиогенеза и наиболее экспрессируемым в эндометрии человека является VEGF. Низкие уровни VEGF снижают маточный кровоток, что может приводить к развитию «тонкого» эндометрия, не способного к нидации эмбриона [40]. В одном из исследований было показано, что miR-184 увеличивает уровень экспрессии VEGF с помощью активации сигнальных путей RAS/RAF/MEK/ERK, что благоприятно сказывается на регуляции процесса васкуляризации ткани эндометрия и имплантации [41]. Также было отмечено, что miR-26a выполняют сложные и разнообразные функции путем воздействия на PTEN и косвенно регулируя сигнальный путь PI3K/AKT в клетках эндометрия, а также контролируют экспрессию остеопонтина (OPN), циклооксигеназы-2 (COX-2), пролактина (PRL) и VEGF в клетках эндометрия [42].

Стоит отметить, что среди активно изучаемых маркеров эндометриальной рецептивности LIF является одним из ключевых. LIF продуцируется эндометрием в течение всего менструального цикла, однако его уровень значительно выше в секреторную фазу цикла. Как известно, LIF запускает активацию сигнального пути STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3), который оказывает влияние на морфофункциональное состояние эндометрия и повышает его рецептивность. В свою очередь, бластоциста имеет на своей поверхности специфические LIF-рецепторы: LIF-R и gp130, что свидетельствует о возможном механизме взаимодействия эмбриона и эндометрия [43]. По результатам исследования Dong X. et al. [44], экспрессия miR-223-3p была выше у небеременных мышей по сравнению с беременными (1,09±0,20 против 0,41±0,11, $p<0,01$). Напротив, экспрессия LIF была ниже у небеременных мышей по сравнению с беременными мышами (1,04±0,34 против 6,03±0,42, $p<0,001$). Чтобы подтвердить, влияет ли miR-223-3p на образование пиноподий, ассоциированных с увеличением экспрессии LIF, была изучена апикальная поверхность эндометрия методом электронной микроскопии. Было показано, что экспрессия miR-223-3p влияет на имплантацию эмбрионов путем подавления экспрессии LIF и пиноподий в эндометрии у беременных мышей. Увеличение miR-223-3p во время окна имплантации может уменьшить шанс наступления беременности и привести к бесплодию. Поэтому MiR-223-3p может служить потенциальным маркером рецептивности эндометрия.

Кроме того, рецептивность эндометрия определяется активностью половых гормонов, которые могут связываться с рецепторами ткани эндометрия и изменять их морфофункциональные свойства в период «имплантационного окна». В связи с этим изучается роль половых гормонов, влияющих на уровень экспрессии микроРНК в эндометрии. К примеру, прогестерон индуцирует экспрессию miR-125b в клетках эндометрия. В то же время повышенная экспрессия miR-125b уменьшает активность матриксной металлопротеиназы 26 (MMP26), которая участвует в деградации внеклеточного матрикса, тем самым снижая частоту имплантации. Также прогестерон регулирует экспрессию факторов транскрипции генов *HOXA10* (Homeobox A10), *HOXA11* (Homeobox A11), которые значимо снижены среди женщин с жалобами на бесплодие, привычное невынашивание беременности и эндометриоз [45]. В работе Salmasi S. et al. [46] было показано, что стимуляция яичников и введение экзогенного прогестерона увеличивают плотность CD31-положительных клеток (эндотелиальных клеток) за счет активации белка VEGF, который, в свою очередь, является мощным ангиогенным белком, принимает участие в процессах неоваскуляризации, а при ингибировании его функции может привести к бесплодию.

Akbar R. et al. [47] изучили роль семейства miR-183, а именно miR-183-5p, miR-182-5p и miR-96-5p в имплантации эмбрионов. Продемонстрировано участие miR-183-5p в эстрогензависимой активации эндометриальных клеток, а ее ингибирование значительно снижало частоту имплантации эмбрионов и увеличивало экспрессию CTNNA2 (Catenin Alpha 2). Авторы пришли к выводу, что miR-183-5p и CTNNA2 могут быть потенциальными биомаркерами восприимчивости эндометрия и использованы в качестве диагностических и прогностических методов для успешной имплантации эмбрионов.

Сравнительный анализ уровней экспрессии miR-135b и HOXA10 был проведен в исследовании Riyanti A. et al. [48] методом ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени. Экспрессия miR-135b в ткани эндометрия у бесплодных пар оказалась выше в 1,81 раза по сравнению с контрольной группой (p<0,01), тогда как экспрессия HOXA10 была значительно ниже контрольных значений (p=0,047). Была обнаружена существенная отрицательная корреляция между уровнями экспрессии miR-135b и HOXA10 (p=0,021; r= -0,607).

Таким образом, на основании полученных данных целесообразным является изучение мнкРНК в образцах эндометрия и их транскрипционный профиль для определения рецептивности эндометрия.

Посредством детального молекулярного анализа был разработан тест ERA (Endometrial Receptivity Analysis) по оценке уровня экспрессии 238 генов, статистически значимо отличающий рецептивный эндометрий от пре- и пострецептивного эндометрия [49]. На данный момент он является единственным эффективным и внедренным тестом в клиническую практику. Для большинства пациентов тест ERA проводится в цикле заместительной гормональной терапии при помощи пайпель-биопсии на 5-й день после введения прогестерона (П+5), а также в естественном цикле спустя 7 дней с момента пика ЛГ (ЛГ+7). Результат теста показывает состояние эндометрия в день проведения биопсии и дает возможность принять решение об индивидуальном переносе эмбрионов pET (personalized embryo transfer) [50]. Hashimoto T. et al. [51] также доказали эффективность pET у женщин с повторными неудачными попытками переноса эмбрионов. Проведение теста ERA способствовало повышению частоты наступления клинической беременности у женщин с неправильно установленным окном имплантации в предыдущих попытках ЭКО, которая оказалась сравнимо больше при стандартном переносе эмбрионов (50% против 35% соответственно).

В крупном ретроспективном исследовании Patel J. et al. [52] были отобраны 248 пациенток для сравнительного анализа рецептивного и нерецептивного эндометрия. С помощью теста ERA рецептивный эндометрий был выявлен у 82,3% (204/248) пациенток, в то время как нерецептивный эндометрий – у 17,7% (44/248). Авторы считают, что pET с помощью теста ERA поможет определить «имплантационное окно» и улучшить исходы наступления беременности в циклах ВРТ.

Несмотря на большое количество исследований в области поиска потенциальных маркеров рецептивности эндометрия, однозначно идеального фактора, отражающего фертильность, на данный момент не верифицировано. Более того, существующие методы оценки рецептивности эндометрия основаны на инвазивных методах, таких как пайпель-биопсия. В связи с этим целесообразным и актуальным является дальнейший поиск оптимальной панели для неинвазивной диагностики состояния эндометрия и наиболее подходящего дня для переноса эмбрионов. Поэтому Li T. et al. [53] впервые выделили мнкРНК из внеклеточных везикул путем аспирации маточной жидкости у пациенток в естественном цикле и в цикле гормональной терапии. Были идентифицированы 11 микроРНК и 1 пивиРНК, которые могут положительно влиять на рецептивность эндометрия и имплантацию эмбрионов. Целью исследования Grasso A. et al. [54] было изучить и сравнить экспрессию микроРНК эндометрия в секреторную фазу менструального цикла в естественном цикле и цикле заместительной гормональной терапии. Аспирация 10–50 мкл секрета эндометрия проводилась у 40 женщин в естественном цикле ЛГ+0 (n=9), ЛГ+3 (n=9), ЛГ+5 (n=7) и ЛГ+7 (n=2) и в циклах заместительной гормональной терапии: П+0 (n=9), П+1 (n=8), П+3 (n=8) и П+5 (n=6). С помощью количественной ПЦР в реальном времени определяли экспрессию микроРНК в анализируемых группах. Найдены различия в уровне экспрессии hsa-miR-3656, hsa-miR-4516, hsa-miR-3648, hsa-miR-3960, и hsa-miR-5100 при сравнении ЛГ+0 и П+0; hsa-miR-3960 и hsa-miR-3648 при сравнении ЛГ+5 и П+3. Существенной разницы между естественным циклом и циклом с заместительной гормональной терапией по уровню экспрессии анализируемых микроРНК выявлено не было. При этом рецептивная фаза характеризовалась экспрессией hsa-mir-30d-5p и hsa-miR-30b-3p. В случае снижения уровня экспрессии hsa-mir-30d-5p не происходит адгезии бластоцисты к эндометрию и дальнейшей ее инвазии. Авторы пришли к выводу, что снижение уровня экспрессии miR-30b-3p в секрете эндометрия является прогностическим фактором отсутствия имплантации. Секреторная фаза менструального цикла в естественных циклах и в циклах заместительной гормональной терапии не отличается по профилю экспрессии микроРНК.

Заключение

Выявленные многогранные аспекты влияния мнкРНК на межклеточные взаимодействия, возможно, являются важными локальными регуляторными факторами имплантации. Проведенный анализ литературных данных продемонстрировал, что, помимо циклических изменений в морфологии эндометрия, существует очень сложная взаимосвязь между мнкРНК и их многочисленными генами-мишенями, кодирующими белки-маркеры рецептивности эндометрия и имплантационного потенциала эмбрионов.

Литература/References

1. *Корсак В.С., Смирнова А.А., Шурыгина О.В.* Регистр ВРТ Российской ассоциации репродукции человека. Отчет за 2017 год. Проблемы репродукции. 2019; 25(6): 9-21. [Korsak V.S., Smirnova A.A., Shurygina O.V. Register of ART of the Russian Association of Human Reproduction. Report for 2017. Problems of reproduction. 2019; 25(6): 9-21. (in Russian)]. https://doi.org/10.17116/repro2019250619.
2. *Gleicher N., Kushnir V.A., Barad D.H.* Worldwide decline of IVF birth rates and its probable causes. Hum. Reprod. Open. 2019; 2019(3): hoz017. https://dx.doi.org/10.1093/hropen/hoz017.
3. *Wang L., Lv S., Mao W., Pei M., Yang X.* Assessment of endometrial receptivity during implantation window in women with unexplained infertility. Gynecol. Endocrinol. 2020; 36(10): 917-21.https://dx.doi.org/10.1080/09513590.2020.1727433.
4. *Massimiani M., Lacconi V., La Civita F., Ticconi C., Rago R., Campagnolo L.* Molecular signaling regulating endometrium-blastocyst crosstalk. Int. J. Mol. Sci. 2019; 21(1): 23. https://dx.doi.org/10.3390/ijms21010023.

5. *Lessey B.A., Young S.L.* What exactly is endometrial receptivity? Fertil. Steril. 2019; 111(4): 611-7. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.02.009.
6. *Kelleher A.M., DeMayo F.J., Spencer T.E.* Uterine glands: developmental biology and functional roles in pregnancy. Endocr. Rev. 2019; 40(5): 1424-45. https://dx.doi.org/10.1210/er.2018-00281.
7. *Gnainsky Y., Granot I., Aldo P., Barash A., Or Y., Mor G.* et al. Biopsy-induced inflammatory conditions improve endometrial receptivity: the mechanism of action. Reproduction. 2015; 149(1): 75-85. https://dx.doi.org/10.1530/REP-14-0395.
8. *Melkozerova O.A., Bashmakova N.V., Malgina G.B., Bragina E.E., Michelson A.A., Chistyakova G.N.* Ultrastructural markers of tissue endometrial receptivity in patients with recurrent implantation failure. Gynecol. Endocrinol. 2019; 35(Suppl. 1): 45-8. https://dx.doi.org/10.1080/09513590.2019.1653562.
9. *Гохберг Я.А., Макарова Н.П., Бабаян А.А., Калинина Е.А.* Роль различных факторов воздействия на эндометрий в повышении эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий. Акушерство и гинекология. 2021; 1: 28-34. [Gokhberg Ya.A., Makarova N.P., Babayan A.A., Kalinina E.A. The role of various factors affecting the endometrium in enhancing the effectiveness of assisted reproductive technology programs. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 1: 28-34 (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.1.28-34.
10. *Keleş I.D., Ülgen E., Erkan M.B., Çelik S.E., Aydın Y., Önem A.N.* et al. Comparison of endometrial prostanoid profiles in three infertile subgroups: the missing part of receptivity? Fertil. Steril. 2020; 113(3): 670-8.e1. https://dx.doi.org/ 10.1016/j.fertnstert.2019.10.017.
11. *Кибанов М.В., Махмудова Г.М., Гохберг Я.А.* Поиск идеального маркера для оценки рецептивности эндометрия: от гистологии до современных молекулярно-генетических подходов. Альманах клинической медицины. 2019; 47(1): 12-25. [Kibanov M.V., Makhmudova G.M., Gokhberg Ya.A. In search for an ideal marker of endometrial receptivity: from histology to comprehensive molecular genetics-based approaches. Almanac of Clinical Medicine. 2019; 47(1): 12-25. (in Russian)]. https://doi.org/10.18786/2072-0505-2019-47-005.
12. *Timofeeva A.V., Chagovets V.V., Drapkina Y.S., Makarova N.P., Kalinina E.A., Sukhikh G.T.* Cell-free, embryo-specific sncRNA as a molecular biological bridge between patient fertility and IVF efficiency. Int. J. Mol. Sci. 2019; 20(12): 2912. https://dx.doi.org/10.3390/ijms20122912.
13. *Zmuidinaite R., Sharara F.I., Iles R.K.* Current advancements in noninvasive profiling of the embryo culture media secretome. Int. J. Mol. Sci. 2021; 22(5): 2513. https://dx.doi.org/10.3390/ijms22052513.
14. *Capra E., Lange-Consiglio A.* The biological function of extracellular vesicles during fertilization, early embryo-maternal crosstalk and their involvement in reproduction: review and overview. Biomolecules. 2020; 10(11): 1510. https://dx.doi.org/10.3390/biom10111510.
15. *Haraszti R.A., Didiot M.C., Sapp E., Leszyk J., Shaffer S.A., Rockwell H.E.* et al. High-resolution proteomic and lipidomic analysis of exosomes and microvesicles from different cell sources. J. Extracell. Vesicles. 2016; 5: 32570. https://dx.doi.org/10.3402/jev.v5.32570.
16. *Haouzi D., Entezami F., Torre A., Innocenti C., Antoine Y., Mauries C.* et al. Customized frozen embryo transfer after identification of the receptivity window with a transcriptomic approach improves the implantation and live birth rates in patients with repeated implantation failure. Reprod. Sci. 2021; 28(1): 69-78. https://dx.doi.org/10.1007/s43032-020-00252-0.
17. *Salas-Huetos A., James E.R., Aston K.I., Carrell D.T., Jenkins T.G., Yeste M.* The role of miRNAs in male human reproduction: a systematic review. Andrology. 2020; 8(1): 7-26. https://dx.doi.org/10.1111/andr.12714.
18. *Treiber T., Treiber N., Meister G.* Regulation of microRNA biogenesis and its crosstalk with other cellular pathways. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2019; 20(1): 5-20. https://dx.doi/10.1038/s41580-018-0059-1.
19. *Ha M., Kim V.N.* Regulation of microRNA biogenesis. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2014; 15(8): 509-24. https://dx.doi.org/10.1038/nrm3838.
20. *Iwasaki Y.W., Siomi M.C., Siomi H.* PIWI-interacting RNA: its biogenesis and functions. Annu. Rev. Biochem. 2015; 84: 405-33. https://dx.doi.org/ 10.1146/annurev-biochem-060614-034258.
21. *Hirakata S., Siomi M.C.* PiRNA biogenesis in the germline: from transcription of piRNA genomic sources to piRNA maturation. Biochim. Biophys. Acta. 2016; 1859(1): 82-92. https://dx.doi.org/10.1016/j.bbagrm.2015.09.002.
22. *Guo X., Li T.C., Chen X.* The endometrial proteomic profile around the time of embryo implantation. Biol. Reprod. 2021; 104(1): 11-26. https://dx.doi.org/ 10.1093/biolre/ioaa150.
23. *Hua R., Wang Y., Lian W., Li W., Xi Y., Xue S.* et al. Small RNA-seq analysis of extracellular vesicles from porcine uterine flushing fluids during peri-implantation. Gene. 2021; 766: 145117. https://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2020.145117.
24. *Homer H., Rice G.E., Salomon C.* Review: embryo- and endometrium-derived exosomes and their potential role in assisted reproductive treatments-liquid biopsies for endometrial receptivity. Placenta. 2017; 54: 89-94. https://dx.doi.org/ 10.1016/j.placenta.2016.12.011.
25. *Shi C., Shen H., Fan L.J., Guan J., Zheng X.B., Chen X.* et al. Endometrial microRNA signature during the window of implantation changed in patients with repeated implantation failure. Chin. Med. J. (Engl). 2017; 130(5): 566-73. https://dx.doi.org/10.4103/0366-6999.200550.
26. *Franasiak J.M., Forman E.J., Hong K.H., Werner M.D., Upham K.M., Treff N.R.* et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophectoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. Fertil. Steril. 2014; 101(3): 656-63.e1. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.11.004.
27. *Rosenbluth E.M., Shelton D.N., Wells L.M., Sparks A.E., Van Voorhis B.J.* Human embryos secrete microRNAs into culture media – a potential biomarker for implantation. Fertil. Steril. 2014; 101(5): 1493-500. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.01.058.
28. *Cuman C., Van Sinderen M., Gantier M.P., Rainczuk K., Sorby K., Rombauts L.* et al. Human blastocyst secreted microRNA regulate endometrial epithelial cell adhesion. EBioMedicine. 2015; 2(10): 1528-35. https://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.09.003.
29. *Borges E. Jr., Setti A.S., Braga D.P., Geraldo M.V., Figueira R.C., Iaconelli A. Jr.* MiR-142-3p as a biomarker of blastocyst implantation failure – a pilot study. JBRA Assist. Reprod. 2016; 20(4): 200-5. https://dx.doi.org/10.5935/1518-0557.20160039.
30. *Timofeeva A., Drapkina Y., Fedorov I., Chagovets V., Makarova N., Shamina M.* et al. Small noncoding RNA signatures for determining the developmental potential of an embryo at the morula stage. Int. J. Mol. Sci. 2020; 21(24): 9399. https://dx.doi.org/10.3390/ijms21249399.
31. *Драпкина Ю.С., Тимофеева А.В., Чаговец В.В., Кононихин А.С., Франкевич В.Е., Калинина Е.А.* Применение омиксных технологий в решении проблем репродуктивной медицины. Акушерство и гинекология. 2018; 9: 24-32. [Drapkina Yu.S., Timofeeva A.V., Chagovets V.V., Kononikhin A.S., Frankevich V.E., Kalinina E.A. Application of omix technologies in solving problems of reproductive medicine. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2018; 9: 24-32. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.9.24-32.
32. *Vilella F., Moreno-Moya J.M., Balaguer N., Grasso A., Herrero M., Martínez S.* et al. Hsa-miR-30d, secreted by the human endometrium, is taken up by the pre-implantation embryo and might modify its transcriptome. Development. 2015; 142(18): 3210-21. https://dx.doi.org/10.1242/dev.124289.
33. *Ferlita A., Battaglia R., Andronico F., Caruso S., Cianci A., Purrello M.* et al. Non-coding RNAs in endometrial physiopathology. Int. J. Mol. Sci. 2018; 19(7): 2120. https://dx.doi.org/10.3390/ijms19072120.
34. *Inyawilert W., Fu T.Y., Lin C.T., Tang P.C.* MicroRNA-199a mediates mucin 1 expression in mouse uterus during implantation. Reprod. Fertil. Dev. 2014; 26(5): 653-64. https://dx.doi.org/10.1071/RD12097.
35. *Liang J., Cao D., Zhang X., Liu L., Tan Q., Shi S.* et al. MiR-192-5p suppresses uterine receptivity formation through impeding epithelial transformation during embryo implantation. Theriogenology. 2020; 157: 360-71. https://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.08.009.

36. *Kang Y.J., Lees M., Matthews L.C., Kimber S.J., Forbes K., Aplin J.D.* MiR-145 suppresses embryo-epithelial juxtacrine communication at implantation by modulating maternal IGF1R. J. Cell Sci. 2015; 128(4): 804-14. https://dx.doi.org/10.1242/jcs.164004.

37. *Tochigi H., Kajihara T., Mizuno Y., Mizuno Y., Tamaru S., Kamei Y.* et al. Loss of miR-542-3p enhances IGFBP-1 expression in decidualizing human endometrial stromal cells. Sci. Rep. 2017; 7: 40001. https://dx.doi.org/10.1038/srep40001.

38. *Sultana S., Kajihara T., Mizuno Y., Sato T., Oguro T., Kimura M.* et al. Overexpression of microRNA-542-3p attenuates the differentiating capacity of endometriotic stromal cells. Reprod. Med. Biol. 2017; 16(2): 170-8. https://dx.doi.org/10.1002/rmb2.12028.

39. *Kimura M., Kajihara T., Mizuno Y., Sato T., Ishihara O.* Loss of high-mobility group N5 contributes to the promotion of human endometrial stromal cell decidualization. Reprod. Med. Biol. 2018; 17(4): 493-9. https://dx.doi.org/10.1002/rmb2.12226.

40. *Wang Y., Qin C., Witarsa F.* Clarifying configurations of reaction rate constant for first-order and Monod-type kinetics: a comparative manner and a pursuit of parametric definition. Waste Manag. 2018; 77: 22-9. https://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2018.04.040.

41. *Cui J., Liu X., Yang L., Che S., Guo H., Han J.* et al. MiR-184 combined with STC2 promotes endometrial epithelial cell apoptosis in dairy goats via RAS/RAF/MEK/ERK pathway. Genes (Basel). 2020; 11(9): 1052. https://dx.doi.org/10.3390/genes11091052.

42. *Zhang L., Liu X., Liu J., Ma X., Zhou Z., Song Y.* et al. MiR-26a promoted endometrial epithelium cells (EECs) proliferation and induced stromal cells (ESCs) apoptosis via the PTEN-PI3K/AKT pathway in dairy goats. J. Cell. Physiol. 2018; 233(6): 4688-4706. https://dx.doi.org/10.1002/jcp.26252.

43. *Коган Е.А., Калинина Е.А., Колотовкина А.В., Файзуллина Н.М., Адамян Л.В.* Морфологический и молекулярный субстрат нарушения рецептивности эндометрия у бесплодных пациенток с наружно-генитальным эндометриозом. Акушерство и гинекология. 2014; 8: 47-52. [Kogan E.A., Kalinina E.A., Kolotovkina A.V., Faizullina N.M., Adamyan L.V. Morphological and molecular substrate of impaired endometrial receptivity in infertile patients with external genital endometriosis. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2014; 8: 47-52. (in Russian)].

44. *Dong X., Sui C., Huang K., Wang L., Hu D., Xiong T.* et al. MicroRNA-223-3p suppresses leukemia inhibitory factor expression and pinopodes formation during embryo implantation in mice. Am. J. Transl. Res. 2016; 8(2): 1155-63.

45. *Chen C., Zhao Y., Yu Y., Li R., Qiao J.* MiR-125b regulates endometrial receptivity by targeting MMP26 in women undergoing IVF-ET with elevated progesterone on HCG priming day. Sci. Rep. 2016; 6: 25302. https://dx.doi.org/10.1038/srep25302.

46. *Salmasi S., Sharifi M., Rashidi B.* Evaluating the effect of ovarian stimulation and exogenous progesterone on CD31-positive cell density, VEGF protein, and miR-17-5p expression of endometrium immediately before implantation. Biomed. Pharmacother. 2021; 133: 110922. https://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110922.

47. *Akbar R., Ullah K., Rahman T.U., Cheng Y., Pang H.Y., Jin L.Y.* et al. MiR-183-5p regulates uterine receptivity and enhances embryo implantation. J. Mol. Endocrinol. 2020; 64(1): 43-52. https://dx.doi.org/10.1530/JME-19-0184.

48. *Riyanti A., Febri R.R., Zakirah S.C., Harzif A.K., Rajuddin R., Muharam R.* et al. Suppressing HOXA-10 gene expression by microRNA 135b during the window of implantation in infertile women. J. Reprod. Infertil. 2020; 21(3): 217-21.

49. *Tan J., Kan A., Hitkari J., Taylor B., Tallon N., Warraich G.* et al. The role of the endometrial receptivity array (ERA) in patients who have failed euploid embryo transfers. J. Assist. Reprod. Genet. 2018; 35(4): 683-92. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-017-1112-2.

50. *Eisman L.E., Pisarska M.D., Wertheimer S., Chan J.L., Akopians A.L., Surrey M.W.* et al. Clinical utility of the endometrial receptivity analysis in women with prior failed transfers. J. Assist. Reprod. Genet. 2021; 38(3): 645-50. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-020-02041-9.

51. *Hashimoto T., Koizumi M., Doshida M., Toya M., Sagara E., Oka N.* et al. Efficacy of the endometrial receptivity array for repeated implantation failure in Japan: a retrospective, two-centers study. Reprod. Med. Biol. 2017; 16(3): 290-6. https://dx.doi.org/10.1002/rmb2.12041.

52. *Patel J.A., Patel A.J., Banker J.M., Shah S.I., Banker M.R.* Personalized embryo transfer helps in improving In vitro fertilization/ICSI outcomes in patients with recurrent implantation failure. J. Hum. Reprod. Sci. 2019; 12(1): 59-66. https://dx.doi.org/10.4103/jhrs.JHRS_74_18.

53. *Ji T., Greenblatt E.M., Shin M.E., Brown T.J., Chan C.* Cargo small non-coding RNAs of extracellular vesicles isolated from uterine fluid associate with endometrial receptivity and implantation success. Fertil. Steril. 2021; 115(5): 1327-36. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.10.046.

54. *Grasso A., Navarro R., Balaguer N., Moreno I., Alama P., Jimenez J.* et al. Endometrial liquid biopsy provides a miRNA roadmap of the secretory phase of the human endometrium. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2020; 105(3): dgz146. https://dx.doi.org/10.1210/clinem/dgz146.

Поступила 28.06.2021
Принята в печать 12.07.2021
Received 28.06.2021
Accepted 12.07.2021

Сведения об авторах:

Гохберг Язль Александровна, аспирант отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова МЗ РФ, dr.yaelgokhberg@gmail.com, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Тимофеева Анжелика Владимировна, к.б.н, заведующая лабораторией прикладной транскриптомики отдела системной биологии в репродукции, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова МЗ РФ, avtimofeeva28@gmail.com, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Калинина Елена Анатольевна, д.м.н., профессор, заведующая отделением вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова МЗ РФ, e_kalinina@oparina4.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:

Yael A. Gokhberg, postgraduate student at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, dr.yaelgokhberg@gmail.com, 4 Oparin str., 117997, Moscow, Russia.

Angelika V. Timofeeva, M.D., Ph.D., Head of Laboratory of applied transcriptomics, V.I. Kulakov NMRC OG&P, Ministry of Health of the Russian Federation, avtimofeeva28@gmail.com, 4 Oparin str., 117997, Moscow, Russia.

Elena A. Kalinina, Dr. Med. Sci., Professor, Head of the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of the Russian Federation, e_kalinina@oparina4.ru, 4 Oparin str., 117997, Moscow, Russia.

Lactal gel* внесен в руководство 2018 года по лечению вагинальных выделений Международного союза по борьбе с ИППП (IUSTI)

IUSTI

INTERNATIONAL UNION AGAINST
SEXUALLY TRANSMITTED INFECTIONS

- **Создает оптимальные условия для восстановления ИНДИВИДУАЛЬНОЙ микробиоты[1]**
- **Доказано стимулирует рост лактобактерий и проявляет антимикробные свойства[1]**
- **Курс применения: по 1 тюбику 7 дней[2]**

Лактагель
Узнайте больше

ORION PHARMA

ООО «Орион Фарма»
119034, Москва, Сеченовский переулок, д. 6, стр. 3
Тел.: +7 495 363 50 71, факс: +7 495 363 50 74
www.orionpharma.ru

LAC-19
РУ № ФСЗ 2010/08335 от 15.06.2020
Реклама

* Лактагель — коммерческое название продукта, содержащего молочную кислоту и гликоген, производимого для России. В Швеции этот продукт продается под названием Лактал (Лактат гель).

1. О.В. Рыбальченко, с соавт., Экспериментальная модель коррекции микробиоты влагалища в условиях воспалительного процесса. АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ № 6 /2019
2. Инструкция по применению Лактагеля.

МАТЕРИАЛ ПРЕДНАЗНАЧЕН ДЛЯ СПЕЦИАЛИСТОВ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ, ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ НЕОБХОДИМО ОЗНАКОМИТЬСЯ С ПОЛНОЙ ИНСТРУКЦИЕЙ

©Коллектив авторов, 2021

Н.Д. МИХАЙЛОВА, Н.Г. МИШИЕВА, А.О. КИРИЛЛОВА, Б.А. МАРТАЗАНОВА, Л.Г. ДЖИНЧАРАДЗЕ

ДОЗРЕВАНИЕ ООЦИТОВ *IN VITRO*

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения России, Москва, Россия

In vitro maturation (IVM) – это вспомогательная репродуктивная технология (ВРТ), подразумевающая аспирацию незрелых ооцитов и их последующее созревание in vitro. Данная технология имеет особое значение для пациенток с синдромом поликистозных яичников, поскольку позволяет избежать развития такого грозного осложнения, как синдром гиперстимуляции яичников, а также для пациенток с синдромом резистентных яичников, невосприимчивых к стимуляции гонадотропинами, и пациенток с онкологическими заболеваниями за счет возможности полностью отказаться от какой-либо стимуляции. Тем не менее технология IVM уступает в эффективности классическому экстракорпоральному оплодотворению (ЭКО). Для повышения эффективности классической IVM была разработана инновационная эмбриологическая методика – двухступенчатая система созревания in vitro с капацитацией (CAPA-IVM), включающая подготовительный этап pre-IVM, который способствует приобретению компетентности ооцитами, и дальнейшее культивирование и дозревание ооцитов в среде IVM. Данная технология хорошо себя зарекомендовала, но имеет достаточно ограниченное применение и на данном этапе требует дальнейшего изучения.

***Заключение:** В представленном обзоре литературы отображены опыт и эффективность применения методик IVM и CAPA-IVM, в том числе в сравнении с классическим ЭКО, у различных категорий пациенток на основании отечественных и зарубежных публикаций системы Pubmed по данной теме. Вопрос выбора оптимальной тактики ведения таких пациенток также требует дальнейшего изучения.*

***Ключевые слова:** бесплодие, СПКЯ, IVM, CAPA-IVM, гинекология, ВРТ, ЭКО.*

Вклад авторов: Мишиева Н.Г., Кириллова А.О. – разработка и дизайн исследования; Михайлова Н.Д. – обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста рукописи; Кириллова А.О., Мартазанова Б.А., Джинчарадзе Л.Г. – редактирование.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.
Финансирование: Исследование проведено без спонсорской поддержки в рамках диссертационной работы Михайловой Н.Д.

Для цитирования: Михайлова Н.Д., Мишиева Н.Г., Кириллова А.О., Мартазанова Б.А., Джинчарадзе Л.Г. Дозревание ооцитов in vitro. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 64-70
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.64-70

©A group of authors, 2021

N.D. MIKHAILOVA, N.G. MISHIEVA, A.O. KIRILLOVA, B.A. MARTAZANOVA, L.G. DZHINCHARADE

IN VITRO OOCYTE MATURATION

Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

In vitro maturation (IVM) is an assisted reproductive technology (ART) that implies aspiration of immature oocytes and their subsequent in vitro maturation. This technology is of particular importance for patients with polycystic ovary syndrome, as it prevents a formidable complication, such as ovarian hyperstimulation syndrome, as well as for those with resistant syndrome of the ovaries that are unresponsive to gonadotropin stimulation, and for those with cancers due to the possibility to completely abandon any stimulation. Nevertheless, IVM ranks below classical in vitro fertilization (IVF) in efficiency. To enhance the latter of classical IVM, an innovative embryological procedure, a two-stage capacitation in vitro maturation (CAPA-IVM) system that includes a preparatory (pre-IVM) step, has been developed, which contributes to the acquisition of competence by oocytes, and their further cultivation and maturation in the IVM media. This technology has shown to be effective, but it has a rather limited application and at this stage requires further investigation.

***Conclusion:** This literature review describes the experience and efficiency of IVM and CAPA-IVM procedures including those in comparison with classical IVF in different categories of patients on the basis of Russian and international publications on this topic from the Pubmed system. The choice of the optimal treatment policy for such patients also requires further investigation.*

Keywords: *infertility, polycystic ovary syndrome, in vitro maturation, capacitation in vitro maturation, gynecology, assisted reproductive technology, in vitro fertilization.*

Authors' contributions: Mishieva N.G., Kirillova A.O. – development and design of the investigation; Mikhailova N.D. – review of publications on the topic of the article; analysis of the findings; writing the text of the manuscript; Kirillova A.O., Martazanova B.A., Dzhincharade L.G. – editing.
Conflicts of interest: The authors declare that there are no possible conflicts of interest.
Funding: The investigation has been conducted without sponsorship within the framework of N.L. Mikhailova's thesis research.

For citation: Mikhailova N.D., Mishieva N.G., Kirillova A.O., Martazanova B.A., Dzhincharade L.G. In vitro oocyte maturation. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 64-70 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.64-70

Дозревание ооцитов *in vitro* (in vitro maturation, IVM) – это альтернативная вспомогательная репродуктивная технология, подразумевающая аспирацию незрелых ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК) из антральных фолликулов и их последующее созревание *in vitro* [1, 2].

Созревание яйцеклетки начинается с возобновления мейоза *in vivo* в ответ на преовуляторный всплеск лютеинизирующего гормона (ЛГ) и представляет собой процесс развития ооцита со стадии зародышевых пузырьков GV (профазы I) начала первого мейотического деления (включающего последующие стадии метафазы I, анафазы I и телофазы I) до стадии метафазы II (MII) второго мейотического деления [3]. Созревание яйцеклетки также сопровождается подготовкой цитоплазмы к оплодотворению и раннему эмбриональному развитию.

Во время процедуры классического экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) пациенткам вводят триггер овуляции для индуцирования завершения мейоза ооцитов в фолликулах, чтобы извлечь зрелые ооциты на стадии MII через 35–36 ч после инъекции. Без введения триггера овуляции большая часть аспирированных ооцитов оставалась бы на стадии GV. Незрелые ооциты стадии GV могут созревать *in vitro*, когда их забирают из антральных фолликулов и культивируют в специальных средах для дозревания [4].

Созревание ооцитов *in vitro* было впервые описано еще в 1930-е гг. [1], а сама технология IVM для человеческих ооцитов была впервые представлена Р. Эдвардсом в 1965 г. [5]. Однако на практике данная методика продемонстрировала положительные результаты только в 1990-е гг.: в 1991 г. была зарегистрирована первая беременность после IVM [6], а в 1994-м – первый случай живорождения после применения IVM у пациенток с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ) [7].

Методика IVM в первую очередь актуальна именно для пациенток с СПКЯ, поскольку они очень чувствительны к стимуляции гонадотропинами и имеют высокие риски развития синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) в стандартных протоколах ЭКО [8]. Применение IVM у пациенток данной категории позволяет избежать рисков развития СГЯ за счет легкой короткой стимуляции непосредственно перед аспирацией, либо вообще без стимуляции [9]. Также для таких женщин характерно наличие большого количества антральных фолликулов и незрелых ооцитов [10]; результаты исследований позволяют думать о наличии положительной корреляции – чем большее число незрелых фолликулов удается аспирировать, тем выше частота достижения беременности при использовании IVM [11].

Однако методика IVM во многих странах до сих пор считается экспериментальной и не находит широкого рутинного применения в клинической практике. Также эффективность классических программ ЭКО по-прежнему остается более высокой по сравнению с IVM [9, 4,12].

Тем не менее методика IVM имеет множество преимуществ по сравнению с классическим ЭКО, таких как возможность избежать развития СГЯ, отсутствие необходимости использования гонадотропинов, более низкая стоимость и большее удобство для пациента [13]. Как уже было отмечено, внедрение IVM в клиническую практику имеет особое значение для пациенток с СПКЯ, а также с синдромом резистентных яичников и онкологическими заболеваниями.

Фолликулярный прайминг при IVM

В настоящее время существуют 3 метода фолликулярного прайминга перед аспирацией ооцитов для последующего IVM [14]:

1) минимальная стимуляция функции яичников низкими дозами фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в течение 3–6 дней без использования хорионического гонадотропина человека (ХГЧ);

2) однократная инъекция ХГЧ в дозировке 10 000 МЕ за 36 ч до пункции без предварительной стимуляции;

3) минимальная стимуляция функции яичников низкими дозами ФСГ в течение 3–6 дней с последующим праймингом ХГЧ в дозировке 10 000 МЕ за 36 ч до пункции.

Fadini R. et al. (2009) в своем исследовании сравнили все три метода, и наибольшую эффективность показала комбинация стимуляции ФСГ с последующим праймингом ХГЧ, в то время как только стимуляция ФСГ и только инъекция триггера ХГЧ не показали какого-либо достоверного положительного влияния на клинические исходы [15].

Результаты недавних исследований продемонстрировали относительно хорошие показатели живорождения в группах IVM при прайминге гонадотропинами [16, 17]. Тем не менее Lin Y. et al. (2020) представили данные, что применение триг-

гера ХГЧ не улучшает показатели беременности у пациенток с СПКЯ в программах IVM [18].

Также по результатам недавнего ретроспективного когортного исследования [19] с использованием агониста гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) в качестве триггера не было выявлено достоверных различий в показателях созревания ооцитов по сравнению с ХГЧ, что дает возможность и перспективу рассматривать применение агониста ГнРГ как потенциальную альтернативу ХГЧ.

Применение метода IVM при различных заболеваниях

Дозревание ооцитов in vitro при синдроме поликистозных яичников

Как уже было отмечено, несмотря на явные преимущества, применение методики IVM у пациенток с СПКЯ ограничено меньшей эффективностью этой технологии в сравнении с классическим ЭКО. Тем не менее продолжаются исследования в этой области.

Walls M.L. et al. в 2015 г. показали сравнимую эффективность по частоте наступления беременности после переноса криоконсервированного эмбриона для IVM и ЭКО (34 и 30% соответственно), несмотря на то, что процент живорождения был выше для группы ЭКО [20]. Результаты ретроспективного исследования Ho V.N.A. et al. (2018) [17] показали частоту живорождения 31,7% после первого переноса криоконсервированного эмбриона после применения IVM с ХГЧ-праймингом.

В 2019 г. Ho V.N.A. et al. провели ретроспективное когортное исследование среди женщин с бесплодием и большим числом антральных фолликулов (≥24), в котором сравнили применение классического ЭКО и методики IVM для лечения пациенток данной категории [9]. Первая группа пациенток, в которую вошли 608 человек, проходили лечение с использованием методики IVM и получали ФСГ в дозировке 100 МЕ в течение 3 дней с последующим введением триггера овуляции ХГЧ в дозировке 10 000 МЕ. Вторая группа, состоящая из 311 женщин, проходила лечение в протоколе ЭКО с антагонистами ГнРГ и последующим введением триггера ХГЧ в дозировке 6500 МЕ. Количество полученных зрелых ооцитов, полученных эмбрионов, эмбрионов хорошего качества и криоконсервированных эмбрионов было достоверно меньше в группе IVM по сравнению с группой ЭКО, что позволяет сделать вывод о большей эффективности ЭКО по сравнению с IVM. Но в то же время частота живорождения после первого переноса была 222/608 (36,5%) в группе IVM против 127/311 (40,8%) (ОШ 0,74; ДИ 95% 0,42–1,30) в группе ЭКО. Кумулятивная частота живорождения после одного законченного цикла была 239/608 (39,3%) в группе IVM против 155/311 (49,8%) в группе ЭКО (ОШ 0,52; ДИ 95% 0,30–0,89). Также было зарегистрировано 11 случаев СГЯ (3,5%) в группе ЭКО и ни одного случая в группе IVM, что выгодно отличает методику IVM и позволяет рекомендовать ее для пациенток с повышенным риском развития СГЯ.

Mostinckx L. et al. в 2019 г. провели ретроспективное обсервационное исследование, в котором сравнили показатели акушерских и неонатальных исходов после IVM и контролируемой овариальной стимуляции (КОС) у пациенток с СПКЯ (фенотипы A, C и D) [21]. В исследование были включены данные о 164 беременностях (>20 недель) после IVM и данные о 229 беременностях после КОС. Как показали результаты, значительных различий между исследуемыми группами не было выявлено, за исключением повышенного риска артериальной гипертензии в группе IVM по сравнению со стандартным ЭКО (29/164 (17,9%) против 22/229 (9,6%) соответственно, p=0,02), однако это требует дальнейших исследований.

Mackens S. et al. в 2020 г. представили результаты ретроспективного когортного исследования [22], в котором сравнили риски ранних потерь беременности для IVM и стандартного ЭКО/ИКСИ (интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида) и показали, что в группе IVM показатели ранних потерь беременности были достоверно выше после переноса свежего эмбриона по сравнению с группой ЭКО/ИКСИ (57/122 (46,7%) против 53/305 (17,4%) соответственно, p<0,001). Но в то же время эти показатели существенно не отличались в случае переноса криоконсервированного эмбриона в данных группах (63/207 (30,4%) против 60/166 (36,1%) соответственно, p=0,24).

Таким образом, результаты недавних исследований отмечают наличие сильных сторон у методики IVM в проекции применения у женщин с СПКЯ, что в первую очередь требует дальнейшего развития и исследования самой этой технологии для повышения ее эффективности.

Дозревание ооцитов in vitro при синдроме резистентных яичников

Синдром резистентных яичников – это редкое эндокринное заболевание, обусловленное гипергонадотропным гипогонадизмом, для которого характерны нормальный женский кариотип 46, XX, наличие вторичных половых признаков, повышенные уровни ФСГ и ЛГ и нормальный уровень антимюллерова гормона (АМГ), нормальное количество антральных фолликулов [23]. Пациентки с таким диагнозом отличаются невосприимчивостью к стимуляции гонадотропинами, поэтому классические протоколы ЭКО для них оказываются неэффективными. До недавнего времени единственным подходом в лечении бесплодия у данной группы пациенток было проведение программ ЭКО с донорскими ооцитами [24].

Galvão A. et al. [25] в 2018 г. представили результаты исследования эффективности применения методики IVM у пациенток с синдромом резистентных яичников (n=9, 24 цикла IVM) и у пациенток с повторяющимися неудачными попытками ЭКО (n=19, 25 циклов IVM). В первой группе было получено в среднем 11,5±10,4 ОКК и 3,4±3,1 зрелых ооцитов. Частота живорождения составила 16,7% на начальный цикл и 33,3% на одного пациента. В то же время во второй группе пациенток в среднем было получено 10,6±9,2 ОКК и 1,3±2,1 зрелых ооцитов. Оплодотворение произошло только в 4 циклах, был получен только один эмбрион хорошего качества, и не было зарегистрировано

ни одного случая живорождения. По результатам исследования были сделаны выводы о возможной эффективности IVM у пациенток с синдромом резистентных яичников и нецелесообразности применения данной методики у пациенток с блоком созревания ооцитов.

Flageole C. et al. [26] в 2019 г. представили клинический случай наступления беременности и последующего живорождения после IVM у 31-летней пациентки с синдромом резистентных яичников и большим количеством антральных фолликулов (n=19) с максимальным диаметром 18 мм на 5-й день менструального цикла, несмотря на хроническую ановуляцию. Первая программа ЭКО была проведена без стимуляции функции яичников, не было получено ни одной яйцеклетки. Во время второй программы ЭКО пациентка получала ФСГ (Менопур) с повышением дозы с 300 МЕ до 600 МЕ и 10 000 ХГЧ в качестве триггера овуляции перед пункцией. В итоге было аспирировано 6 ооцитов, из которых 4 дозрели в среде IVM и были оплодотворены. На 3-й день было получено 2 эмбриона надлежащего качества, один из которых был перенесен в полость матки.

Kornilov N.V. et al. [27] в 2021 г. сообщили о случае наступления беременности и последующего живорождения у 23-летней пациентки с синдромом резистентных яичников после IVM без стимуляции гонадотропинами и без использования ХГЧ в качестве триггера овуляции. У пациентки с большим числом антральных фолликулов (45) было аспирировано 15 незрелых ооцитов, 6 из них достигли метафазы II в среде культивирования IVM и были оплодотворены с помощью ИКСИ. Три эмбриона достигли стадии бластоцисты; затем два из них, лучшие по качеству, были подвергнуты преимплантационному генетическому тестированию на анеуплоидии, которое показало, что оба эмбриона эуплоидные. В дальнейшем был осуществлен перенос одного размороженного эмбриона, который привел к рождению здорового ребенка.

Учитывая тот факт, что синдром резистентных яичников является редким заболеванием, опыта применения методики IVM у пациенток с таким диагнозом пока очень мало, но те результаты, которые уже получены, позволяют говорить об эффективности и перспективности применения данной технологии у таких пациенток.

Дозревание ооцитов in vitro у пациенток с онкологическим заболеванием

Применение методики IVM также рассматривается, как один из перспективных методов сохранения генетического материала у женщин с онкологическими заболеваниями [28, 29].

В настоящее время также применяется новая методика сохранения фертильности у онкологических больных – созревание ооцитов, полученных из ткани яичника, *in vitro* (OTO-IVM). Частота дозревания ооцитов при применении данной технологии пока не очень высока; тем не менее, метод является перспективным для онкологических пациенток [30].

Первый случай беременности и живорождения после переноса криоконсервированного эмбриона, полученного в результате оплодотворения ооцитов, дозревших *in vitro*, у 21-летней пациентки с диагнозом «рак яичника (IIIC)» был зарегистрирован в 2014 г. [31]. В дальнейшем в мировой литературе было представлено еще несколько случаев живорождения после применения OTO-IVM [32, 33].

Также было показано, что успешное извлечение ОКК может быть осуществлено после удаления яичника во время кесарева сечения или плановой операции у пациенток с диагностированным во время беременности онкологическим заболеванием [34].

Segers I. et al. [35] в 2020 г. провели исследование, в котором показали перспективность OTO-IVM, особенно в сочетании с криоконсервацией ткани яичника (OTC).

Delattre S. et al. [36] в 2020 г. изучали комбинацию различных методов сохранения фертильности – стимуляция функции яичников, IVM и OTO-IVM. Выбор тактики лечения зависит от типа онкологического заболевания, срочности начала гонадотоксичной терапии и факторов риска развития преждевременной недостаточности яичников (возраст, вид химиотерапевтического лечения). Несмотря на то что методики OTO-IVM и OTC на данный момент кажутся многообещающими, требуются дальнейшие крупные исследования в этой области для подтверждения полученных результатов и уже имеющихся выводов.

Kirillova A. et al. [37] в 2020 г. опубликовали исследование, в котором производилась криоконсервация эуплоидных бластоцист, полученных в результате оплодотворения ооцитов, дозревших *in vitro*, у 30-летней пациентки с диагнозом «T1N1M0, HER2-позитивный люминальный рак молочной железы после левосторонней мастэктомии». Ультразвуковое исследование показало картину поликистозных яичников с большим количеством антральных фолликулов, равным 60. После заключения онколога был выбран метод односторонней овариэктомии для одновременного сохранения фрагментов коры и забора незрелых ооцитов из ткани яичника для их последующего созревания в пробирке. Всего было получено 33 ооцита, 12 из них были успешно оплодотворены, и в итоге образовались 3 бластоцисты. Генетическое исследование мутаций показало, что пациентка не является носителем. Предимплантационное генетическое тестирование показало, что все 3 бластоцисты являются эуплоидными и пригодными для переноса. Таким образом, результаты исследования позволяют сделать вывод о том, что ооциты ткани яичника, созревшие в пробирке, обладают потенциалом для образования эуплоидных бластоцист после ИКСИ, которые могут быть тестированы на наличие анеуплоидий и наследственных мутаций, а затем витрифицированы с целью сохранения фертильности у женщин с онкологическими заболеваниями.

На основании проанализированных данных можно заключить, что применение технологии IVM у пациенток с онкологическими заболеваниями является перспективным с точки зрения безопасности и требует дальнейших крупных исследований вопроса эффективности.

Инновационная методика с использованием двухступенчатой системы созревания *in vitro* с капацитацией (CAPA-IVM)

Для повышения эффективности классического IVM была разработана инновационная методика с использованием двухступенчатой системы созревания *in vitro* с капацитацией (CAPA-IVM). Данная система включает в себя 2 стадии: стадию pre-IVM, которая препятствует спонтанному возобновлению мейоза, сохраняет щелевые контакты в ОКК и способствует приобретению компетентности ооцитами, а также стадию IVM, которая индуцирует возобновление мейоза и созревание ооцитов. Для поддержания блока мейоза ооцитов после аспирации из антральных фолликулов, на стадии pre-IVM используется натрийуретический пептид С-типа, который является естественным фолликулярным фактором, поддерживающим блок мейоза ооцитов в профазе I мейоза (GV) в антральных фолликулах яичников до овуляции. Кроме того, натрийуретический пептид С-типа в настоящее время считается естественным ингибитором созревания ооцитов [38]. Натрийуретический пептид С-типа продуцируется клетками пристеночной гранулезы и секретируется в фолликулярную жидкость, где связывается с рецептором натрийуретического пептида 2 (NPR2), ген которого экспрессируется в клетках кумулюса, чтобы индуцировать продукцию цГМФ; цГМФ попадает в ооцит через щелевые контакты и ингибирует активность фосфодиэстеразы 3А, тем самым препятствуя деградации цАМФ и поддерживая блок мейоза в ооцитах.

Sánchez F. et al. [39] в 2017 г. представили исследование, результаты которого позволяют сделать вывод, что применение оптимизированной методики IVM, включающей подготовительный этап с натрийуретическим пептидом С-типа и дальнейшее созревание в присутствии ФСГ и амфирегулина у женщин с СПКЯ с 3-дневной стимуляцией Менопуром (225 МЕ-225 МЕ-150 МЕ) без введения триггера ХГЧ, позволяют улучшить компетентность ооцитов, полученных из маленьких (2–8 мм) антральных фолликулов. Частота созревания на ОКК повысилась до 70%, что достоверно выше, чем для стандартной методики IVM (49%; $p \leqslant 0{,}001$). Также, повысился процент ОКК, из которых были получены эмбрионы 3-го дня, пригодные к переносу/криоконсервации и бластоцисты хорошего качества (с 23 до 43%; $p \leqslant 0{,}001$ и с 8 до 18%; $p \leqslant 0{,}01$, соответственно).

Также Sánchez F. et al. [40] в 2019 г. опубликовали исследование, результаты которого показали, что использование системы CAPA-IVM привело к достоверному улучшению созревания ооцитов по сравнению со стандартным IVM (62% против 48% соответственно; $p=0{,}034$). Показатели эмбрионов хорошего качества на зрелый ооцит и на ОКК были достоверно выше для CAPA-IVM по сравнению со стандартным IVM (38% против 24%; $p=0{,}045$, 24% против 12%, $p=0{,}018$ соответственно). Также процент качественных эмбрионов 3-го дня на ОКК был достоверно выше в группе CAPA-IVM (9,1% против 3,9%, $p=0{,}028$), что привело к заметному увеличению среднего числа эмбрионов, пригодных к переносу на пациента в группе CAPA-IVM, в сравнении со стандартным IVM (4,2% против 2,2%; p=0,0002). Полученные результаты позволили утверждать, что использование методики CAPA-IVM приводит к значительным улучшениям показателей созревания ооцитов, а также эмбриологических исходов, в особенности для ооцитов, полученных из небольших антральных фолликулов.

Vuong L.N. et al. [41] в 2020 г. представили рандомизированное проспективное исследование, в котором оценивали эффективность двухступенчатой системы CAPA-IVM по сравнению со стандартной IVM у женщин с поликистозными яичниками. Результаты показали, что достоверно более высокий процент ооцитов достиг метафазы II через 30 ч после CAPA-IVM по сравнению со стандартной IVM (63,6 против 49,0 соответственно; $p<0{,}001$); количество эмбрионов хорошего качества на ОКК также было больше в группе CAPA-IVM (18,9 против 12,7; $p=0{,}11$). Частота наступления клинической беременности на перенос эмбриона была 63,2% в группе CAPA-IVM против 38,5% в группе стандартной IVM ($p=0{,}04$). Частота живорождения на перенос эмбриона статистически не отличалась для CAPA-IVM и стандартной IVM (50,0 против 33,3%; $p=0{,}17$). Не было зарегистрировано случаев пороков развития; вес детей при рождении был сопоставим для обеих групп. Результаты исследования свидетельствуют о том, что применение системы CAPA-IVM достоверно улучшило показатели созревания ооцитов и наступления клинической беременности по сравнению со стандартной IVM у пациенток с СПКЯ.

Kirillova A. et al. [42] в 2021 г. опубликовали исследование, в котором изучали потенциал развития компетентности ооцитов ткани яичника у пациенток с опухолями репродуктивной системы с использованием CAPA-IVM, в сравнении со стандартной IVM. В данное экспериментальное исследование были включены 10 пациенток со злокачественными новообразованиями органов репродуктивной системы, у которых было получено 210 ооцитов. После овариэктомии из ткани яичника извлекали незрелые ОКК, которые отдельно культивировали либо в двухступенчатой системе CAPA-IVM в течение 53 ч, либо в стандартной системе IVM в течение 48 ч. После IVM все ОКК были очищены, а зрелые ооциты либо витрифицированы ($n=5$), либо использованы для ИКСИ ($n=5$). Эмбрионы культивировали в течение 5–6 дней, а полученные бластоцисты витрифицировали. Как показали результаты, использование системы CAPA-IVM привело к большей частоте созревания ооцитов ткани яичника по сравнению со стандартной IVM (56% и 35% соответственно, $p=0{,}0045$), а также была отмечена тенденция к меньшей дегенерации после IVM. Только метод CAPA-IVM способствовал образованию бластоцист. На основании полученных результатов был сделан вывод, что применение системы CAPA-IVM улучшило компетентность ооцитов тканей яичника по сравнению со стандартной IVM, что позволяет предположить, что программы сохранения фертильности могут стать более эффективными с использованием системы IVM с капацитацией.

Заключение

На настоящий момент методика IVM хорошо изучена и имеет ограниченное применение для определенных групп пациенток, но не может составить конкуренцию классическому ЭКО, поскольку эффективность IVM остается более низкой.

Инновационная методика CAPA-IVM демонстрирует большую эффективность по сравнению со стандартным IVM и конкурентоспособность по отношению к классическому ЭКО/ИКСИ. Тем не менее данная методика еще недостаточно изучена и пока имеет ограниченное применение. На основании воодушевляющих результатов недавних исследований можно заключить, что методика CAPA-IVM имеет хорошие перспективы для развития, что требует дальнейших работ в этой области для последующего внедрения в широкую клиническую практику.

Литература/References

1. *Pincus G., Enzmann E.V.* The comparative behavior of mammalian eggs in vivo and in vitro: I. The activation of ovarian eggs. J. Exp. Med. 1935; 62(5): 665-75. https://dx.doi.org/10.1084/jem.62.5.665.
2. *De Vos M., Smitz J., Thompson J.G., Gilchrist R.B.* The definition of IVM is clear-variations need defining. Hum. Reprod. 2016; 31(11): 2411-5. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dew208.
3. *Cha K.Y., Chian R.C.* Maturation in vitro of immature human oocytes for clinical use. Hum. Reprod. Update. 1998; 4(2): 103-20. https://dx.doi.org/10.1093/humupd/4.2.103.
4. *Yang Z.Y., Chian R.C.* Development of in vitro maturation techniques for clinical applications. Fertil. Steril. 2017; 108(4): 577-84. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.08.020.
5. *Edwards R.G.* Maturation in vitro of human ovarian oocytes. Lancet. 1965; 2(7419): 926-9. https://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(65)92903-x.
6. *Cha K.Y., Koo J.J., Ko J.J., Choi D.H., Han S.Y., Yoon T.K.* Pregnancy after in vitro fertilization of human follicular oocytes collected from nonstimulated cycles, their culture in vitro and their transfer in a donor oocyte program. Fertil. Steril. 1991; 55(1): 109-13. https://dx.doi.org/10.1016/s0015-0282(16)54068-0.
7. *Trounson A., Wood C., Kausche A.* In vitro maturation and the fertilization and developmental competence of oocytes recovered from untreated polycystic ovarian patients. Fertil. Steril. 1994; 62(2): 353-62. https://dx.doi.org/10.1016/s0015-0282(16)56891-5.
8. *Child T.J., Phillips S.J., Abdul-Jalil A.K., Gulekli B., Tan S.L.* A comparison of in vitro maturation and *in vitro* fertilization for women with polycystic ovaries. Obstet. Gynecol. 2002; 100(4): 665-70. https://dx.doi.org/10.1016/s0029-7844(02)02193-2.
9. *Ho V.N.A., Braam S.C., Pham T.D., Mol B.W., Vuong L.N.* The effectiveness and safety of in vitro maturation of oocytes versus in vitro fertilization in women with a high antral follicle count. Hum. Reprod. 2019; 34(6): 1055-64. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dez060.
10. *Patel S.S., Carr B.R.* Oocyte quality in adult polycystic ovary syndrome. Semin. Reprod. Med. 2008; 26(2): 196-203. https://dx.doi.org/10.1055/s-2008-1042958.
11. *Siristatidis C., Sergentanis T.N., Vogiatzi P., Kanavidis P., Chrelias C., Papantoniou N.* et al. In vitro maturation in women with vs. without polycystic ovarian syndrome: a systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2015; 10(8): e0134696. https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0134696.
12. *Vuong L.N., Ho V.N.A., Ho T.M., Dang V.Q., Phung T.H., Giang N.H.* et al. In-vitro maturation of oocytes versus conventional IVF in women with infertility and a high antral follicle count: a randomized non-inferiority controlled trial. Hum. Reprod. 2020; 35(11): 2537-47. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deaa240.
13. *Wang P., Zhao J., Jin C., Yu R., Lin J., Zhu R.* et al. Comparision of in vitro maturation applied in PCOS and non-PCOS patients undergo stimulated and unstimulated protocols. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. 2014; 49(12): 903-8.
14. Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine, the Society of Reproductive Biologists and Technologists, and the Society for Assisted Reproductive Technology. In vitro maturation: a committee opinion. Fertil. Steril. 2021; 115(2): 298-304. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.11.018.
15. *Fadini R., Dal Canto M.B., Mignini Renzini M., Brambillasca F., Comi R., Fumagalli D.* et al. Effect of different gonadotrophin priming on IVM of oocytes from women with normal ovaries: a prospective randomized study. Reprod. Biomed. Online. 2009; 19(3): 343-51. https://dx.doi.org/10.1016/s1472-6483(10)60168-x.
16. *Tannus S., Hatirnaz S., Tan J., Ata B., Tan S., Hatirnaz E.* et al. Predictive factors for live birth after in vitro maturation of oocytes in women with polycystic ovary syndrome. Arch. Gynecol. Obstet. 2018; 297: 199-204. https://dx.doi.org/10.1007/s00404-017-4561-z.
17. *Ho V.N.A., Pham T.D., Le A.H., Ho T.M., Vuong L.N.* Live birth rate after human chorionic gonadotropin priming in vitro maturation in women with polycystic ovary syndrome. J. Ovarian Res. 2018; 11(1): 70. https://dx.doi.org/10.1186/s13048-018-0445-5.
18. *Lin Y., Zheng X., Ma C., Li X., Zhang X., Yang P.* et al. Human chorionic gonadotropin priming does not improve pregnancy outcomes of PCOS-IVM cycles. Front. Endocrinol. (Lausanne). 2020; 11: 279. https://dx.doi.org/10.3389/fendo.2020.00279.
19. *Klement A.H., Navve D., Ghetler Y., Wiser A., Shavit T., Weitzner O.* et al. Gonadotropin releasing hormone agonist triggering for in vitro maturation cycles. Hum. Fertil. (Camb). 2020; 1-11. https://dx.doi.org/10.1080/14647273.2020.1858511.
20. *Walls M.L., Hunter T., Ryan J.P., Keelan J.A., Nathan E., Hart R.J.* In vitro maturation as an alternative to standard in vitro fertilization for patients diagnosed with polycystic ovaries: a comparative analysis of fresh, frozen and cumulative cycle outcomes. Hum. Reprod. 2015; 30(1): 88-96. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deu248.
21. *Mostinckx L., Segers I., Belva F., Buyl R., Santos-Ribeiro S., Blockeel C.* et al. Obstetric and neonatal outcome of ART in patients with polycystic ovary syndrome: IVM of oocytes versus controlled ovarian stimulation. Hum. Reprod. 2019; 34(8): 1595-607. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dez086.
22. *Mackens S., Mostinckx L., Drakopoulos P., Segers., Santos-Ribeiro S., Popovic-Todorovic B.* et al. Early pregnancy loss in patients with polycystic ovary syndrome after IVM versus standard ovarian stimulation for IVF/ICSI. Hum. Reprod. 2020; 35(12): 2763-73. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deaa200.
23. *Яковлев П.П., Корнилов Р.Н., Павлова М.Н., Корнилов Н.В.* Синдром резистентных яичников и дозревание ооцитов в пробирке. Акушерство и гинекология. 2020; 11: 226-31. [Yakovlev P.P., Kornilov R.N., Pavlova M.N., Kornilov N.V. Resistant ovary syndrome and in vitro maturation of oocytes. Obstetrics and gynecology. 2020; 11: 226-31. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.11.226-231.
24. *Grynberg M., Peltoketo H., Christin-Maître S., Poulain M., Bouchard P., Fanchin R.* First birth achieved after in vitro maturation of oocytes from a woman endowed with multiple antral follicles unresponsive to follicle-stimulating hormone. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2013; 98(11): 4493-8. https://dx.doi.org/10.1210/jc.2013-1967.
25. *Galvão A., Segers I., Smitz J., Tournaye H., De Vos M.* In vitro maturation (IVM) of oocytes in patients with resistant ovary syndrome and in patients with repeated deficient oocyte maturation. J. Assist. Reprod. Genet. 2018; 35(12): 2161-71. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-018-1317-z.
26. *Flageole C., Toufaily C., Bernard D.J., Ates S., Blais V., Chénier S.* et al. Successful in vitro maturation of oocytes in a woman with gonadotropin-resistant ovary syndrome associated with a novel combination of FSH receptor gene variants: a case report. J. Assist. Reprod. Genet. 2019; 36(3): 425-32. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-018-1394-z.

27. *Kornilov N.V., Pavlova M.N., Yakovlev P.P.* The live birth in a woman with resistant ovary syndrome after in vitro oocyte maturation and preimplantation genetic testing for aneuploidy. J. Assist. Reprod. Genet. 2021; 38(6): 1303-9. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-021-02085-5.
28. *De Vos M., Smitz J., Woodruff T.K.* Fertility preservation in women with cancer. Lancet. 2014; 384(9950): 1302-10. https://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60834-5.
29. *Park C.W., Lee S.H., Yang K.M., Lee I.H., Lim K.T., Lee K.H.* et al. Cryopreservation of in vitro matured oocytes after ex vivo oocyte retrieval from gynecologic cancer patients undergoing radical surgery. Clin. Exp. Reprod. Med. 2016; 43(2): 119-25. https://dx.doi.org/10.5653/cerm.2016.43.2.119.
30. *Ковальская Е.В., Кириллова А.О., Бунятева Е.С., Хабас Г.Н., Камалетдинов Н.С., Назаренко Т.А., Абубакиров А.Н.* Эффективность дозревания ооцитов, полученных в ходе овариэктомии, у онкологических пациенток. Акушерство и гинекология. 2019; 9: 87-91. [Kovalskaya E.V., Kirillova A.O., Bunyaeva E.S., Khabas G.N., Kamaletdinov N.S., Nazarenko T.A., Abubakirov A.N. Efficiency of maturation of oocytes obtained from cancer patients during ovariectomy. Obstetrics and gynecology. 2019; 9: 87-91. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.9.87-91.
31. *Prasath E.B., Chan M.L., Wong W.H., Lim C.J., Tharmalingam M.D., Hendricks M.* et al. First pregnancy and live birth resulting from cryopreserved embryos obtained from in vitro matured oocytes after oophorectomy in an ovarian cancer patient. Hum. Reprod. 2014; 29(2): 276-8. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/det420.
32. *Segers I., Mateizel I., Van Moer E., Smitz J., Tournaye H., Verheyen G.* et al. In vitro maturation (IVM) of oocytes recovered from ovariectomy specimens in the laboratory: a promising "ex vivo" method of oocyte cryopreservation resulting in the first report of an ongoing pregnancy in Europe. J. Assist. Reprod. Genet. 2015; 32(8): 1221-31. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-015-0528-9.
33. *Uzelac P.S., Delaney A.A., Christensen G.L., Bohler H.C., Nakajima S.T.* Live birth following in vitro maturation of oocytes retrieved from extracorporeal ovarian tissue aspiration and embryo cryopreservation for 5 years. Fertil. Steril. 2015; 104(5): 1258-60. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.07.1148.
34. *Кириллова А.О., Бунятева Е.С., Ковальская Е.В., Камалетдинов Н.С., Хабас Г.Н., Фармаковская М.Л., Сироткина Е.А., Мишиева Н.Г., Назаренко Т.А., Абубакиров А.Н.* Сохранение фертильности у пациенток с диагностированным во время беременности онкологическим заболеванием. Акушерство и гинекология. 2020; 4: 59-64. [Kirillova A.O., Bunyaeva E.S., Koval'skaya E.V., Kamaletdinov N.S., Khabas G.N., Farmakovskaya M.D, Sirotkina E.A., Mishieva N.G., Nazarenko T.A., Abubakirov A.N. Fertility preservation in patients diagnosed with cancer during pregnancy. Obstetrics and gynecology. 2020; 4: 59-64. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.4.59-64.
35. *Segers I., Bardhi E., Mateizel I., Van Moer E., Schots R., Verheyen G.* et al. Live births following fertility preservation using in-vitro maturation of ovarian tissue oocytes. Hum. Reprod. 2020; 35(9): 2026-36. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deaa175.
36. *Delattre S., Segers I., Van Moer E., Drakopoulos P., Mateizel I., Enghels L.* et al. Combining fertility preservation procedures to spread the eggs across different baskets: a feasibility study. Hum. Reprod. 2020; 35(11): 2524-36. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deaa193.
37. *Kirillova A., Kovalskaya E., Brovkina O., Ekimov A., Bunyaeva E., Gordiev M.* et al. Cryopreservation of euploid blastocysts obtained after fertilization of in vitro matured ovarian tissue oocytes: a case report. J. Assist. Reprod. Genet. 2020; 37(4): 905-11. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-020-01729-2.
38. *Zhao Y., Liao X., Krysta A.E., Bertoldo M.J., Richani D., Gilchrist R.B.* Capacitation IVM improves cumulus function and oocyte quality in minimally stimulated mice. J. Assist. Reprod. Genet. 2020; 37(1): 77-88. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01610-x.
39. *Sánchez F., Lolicato F., Romero S., De Vos M., Van Ranst H., Verheyen G.* et al. An improved IVM method for cumulus-oocyte complexes from small follicles in polycystic ovary syndrome patients enhances oocyte competence and embryo yield. Hum. Reprod. 2017; 32(10): 2056-68. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dex262.
40. *Sanchez F., Le A.H., Ho V.N.A., Romero S., Van Ranst H., De Vos M.* et al. Biphasic in vitro maturation (CAPA-IVM) specifically improves the developmental capacity of oocytes from small antral follicles. J. Assist. Reprod. Genet. 2019; 36(10): 2135-44. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01551-5.
41. *Vuong L.N., Le A.H., Ho V.N.A., Pham T.D., Sanchez F., Romero S.* et al. Live births after oocyte in vitro maturation with a prematuration step in women with polycystic ovary syndrome. J. Assist. Reprod. Genet. 2020; 37(2): 347-57. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01677-6.
42. *Kirillova A., Bunyaeva E., Van Ranst H., Khabas G., Farmakovskaya M., Kamaletdinov N.* et al. Improved maturation competence of ovarian tissue oocytes using a biphasic in vitro maturation system for patients with gynecological malignancy: a study on sibling oocytes. J. Assist. Reprod. Genet. 2021; 38(6): 1331-40. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-021-02118-z.

Поступила 28.07.2021
Принята в печать 07.10.2021
Received 28.07.2021
Accepted 07.10.2021

Сведения об авторах:
Михайлова Нина Дмитриевна, аспирант 1-го гинекологического отделения, Национальный медицинский исследовательский центр им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(915)456-81-51, mihailnina@mail.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Мишиева Нана Годовна, д.м.н., в.н.с. 1-го гинекологического отделения, Национальный медицинский исследовательский центр им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(495)438-26-22, nondoc555@mail.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Кириллова Анастасия Олеговна, к.б.н., с.н.с. 1-го гинекологического отделения, Национальный медицинский исследовательский центр им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(495)531-44-44, a_kozyreva@oparina4.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Мартазанова Белла Арсамаковна, к.м.н., м.н.с. 1-го гинекологического отделения, Национальный медицинский исследовательский центр им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(967)123-88-24, bellamart88@mail.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Джинчарадзе Лана Гиглаевна, аспирант 1-го гинекологического отделения, Национальный медицинский исследовательский центр им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(926)073-77-73, lanachka@list.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:
Nina D. Mikhaylova, graduate student of 1st Gynecology Department, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, +7(915)456-81-51, mihailnina@mail.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Nana G. Mishieva, PhD, Senior Researcher of 1st Gynecology Department, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, +7(495)438-26-22, nondoc555@mail.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Anastasia O. Kirillova, PhD, Senior Researcher of 1st Gynecology Department, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, +7(495)531-44-44, a_kozyreva@oparina4.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Bella A. Martazanova, PhD, Junior Researcher of 1st Gynecology Department, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, +7(967)123-88-24, bellamart88@mail.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Lana G. Dzhincharadze, graduate student of 1st Gynecology Department, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, +7(926)073-77-73, lanachka@list.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.

©Коллектив авторов, 2021

Г.Е. ЧЕРНУХА[1], Г.И. ТАБЕЕВА[1], С.Д. РШТУНИ[1], Р.И. МАШАЕВА[1], В.Б. ЧЕРНЫХ[2], Л.А. МАРЧЕНКО[1]

ГЕНЫ, ВОВЛЕЧЕННЫЕ В РАЗВИТИЕ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ЯИЧНИКОВ

[1]ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия
[2]ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия

Преждевременная недостаточность яичников (ПНЯ) – клинический синдром, характеризующийся вторичной аменореей на фоне высокого уровня фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) у женщин в возрасте до 40 лет. Частота данной патологии прогрессивно возрастает и к настоящему времени составляет 3–4%. Преждевременное истощение овариального резерва может быть связано как с генетическими, так и со средовыми факторами или их сочетанием, в том числе с инфекционно-токсическим и аутоиммунным поражением яичников, а также наличием хромосомных аномалий, генных вариантов и эпигенетических факторов. В настоящем обзоре выделена панель наиболее значимых генов-кандидатов, принимающих участие в генезе развития ПНЯ: NANOS3, FIGLA, FOXO3, NR5A1, NOBOX, BMP15, GDF9, PGRMCI, PTEN, BRCA1, -2. Данные гены отвечают за ключевую роль в раннем фолликулогенезе, в том числе за формирование первичных фолликулов и зоны пеллюцида, их рост до ФСГ-зависимой стадии, ингибирование экспрессии м-РНК рецепторов ФСГ в гранулезных клетках, тем самым предотвращая преждевременную лютеинизацию фолликулов, а также за ранний стероидогенез и регуляцию процессов апоптоза в примордиальных фолликулах.

***Заключение:** Знание генов-кандидатов, лежащих в основе генеза формирования ПНЯ, и возможность в клинической практике проводить полноэкзомное секвенирование, будут иметь определенное значение не только для понимания физиологии яичников, но и для генетического консультирования с целью ранней (доклинической) диагностики ПНЯ.*

***Ключевые слова:** гены-кандидаты, секвенирование нового поколения, преждевременная недостаточность яичников.*

Вклад авторов: Машаева Р.И., Рштуни С.Д. – обзор литературы; Марченко Л.А., Рштуни С.Д., Машаева Р.И. – написание текста; Черных В.Б., Чернуха Г.Е., Табеева Г.И. – редактирование текста.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.
Финансирование: Статья написана в рамках госзадания «Разработка инновационных подходов к прогнозированию и доклинической диагностике преждевременной недостаточности яичников на основе выявления молекулярно-генетических и клинико-гормональных маркеров у представительниц российской популяции в различные возрастные периоды», № 121032500121-8, внутренний номер – 17-А21.

Для цитирования: Чернуха Г.Е., Табеева Г.И., Рштуни С.Д., Машаева Р.И., Черных В.Б., Марченко Л.А. Гены, вовлеченные в развитие преждевременной недостаточности яичников. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 71–80
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.71-80

©A group of authors, 2021

G.E. CHERNUKHA[1], G.I. TABEEVA[1], S.D. RSHTUNI[1], R.I. MASHAEVA[1], V.B. CHERNYKH[2], L.A. MARCHENKO[1]

GENES INVOLVED IN PREMATURE OVARIAN FAILURE

[1]Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia
[2]Academician N.P. Bochkov Research Center for Medical Genetics, Moscow, Russia

Premature ovarian failure (POF) is a clinical syndrome characterized by secondary amenorrhea in the presence of high FSH levels in women under the age of 40 years. The incidence of this pathology is progressively rising and currently amounting for 3–4%. Premature depletion of the ovarian reserve may be related to both genetic and environmental factors and their combination, including infectious, toxic, and autoimmune damage to the ovaries, as well as to chromosomal abnormalities, genetic variants, and epigenetic factors. This review identifies a panel of the most significant candidate genes involved in the genesis of POF, such as NANOS3, FIGLA, FOXO3, NR5A1, NOBOX, BMP15, GDF9, PGRMCI, PTEN, and BRCA1,2. These genes are responsible for a key role in early folliculogenesis, including for the formation of primary follicles and for the production of the zona pellucida, for their growth to the FSH-dependent stage, for the inhibition of FSH receptor mRNA expression in granulosa cells, thereby preventing the premature luteinization of follicles, as well as for early steroidogenesis and regulation of apoptotic processes in primordial follicles.

Conclusion: *Knowledge of candidate genes underlying the genesis of POF, as well as the possibility of performing whole exome sequencing in clinical practice will be of defined value not only in understanding the physiology of the ovaries, but also for genetic counseling to make an early (preclinical) diagnosis of POF.*

Keywords: *candidate genes, next-generation sequencing, premature ovarian failure.*

Authors' contributions: Mashaeva R.I., Rshtuni S.D. – review of literature; Marchenko L.A., Rshtuni S.D., Mashaeva R.I. – writing the text; Chernykh V.B., Chernukha G.E., Tabeeva G.I. – editing the text.
Conflicts of interest: The authors declare that there are no conflicts of interest.
Funding: The article has been written within the framework of the state assignment "Elaboration of innovative approaches to the prediction and preclinical diagnosis of premature ovarian failure, by identifying molecular genetic and clinical hormonal markers in the female representatives of the Russian population in different age periods", No. 121032500121-8, Internal No. 17-A21.

For citation: Chernukha G.E., Tabeeva G.I., Rshtuni S.D., Mashaeva R.I., Chernykh V.B., Marchenko L.A. Genes involved in premature ovarian failure. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 71-80 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.71-80

Согласно определению Европейского общества репродукции человека (ESHRE), преждевременная недостаточность яичников (ПНЯ) – клинический синдром, ассоциированный с вторичной аменореей в сочетании с высоким уровнем ФСГ (более 25 мМЕ) у женщин в возрасте до 40 лет [1].

В исследовании Study of Women's Health Across the Nation (SWAN) от 2003 г., частота ПНЯ среди представительниц европеоидной расы составляет 1%, афроамериканок – 1,4%, латиноамериканок – 1,4%, китаянок – 0,5% и японок – 0,1% [2]. По данным масштабного метаанализа 2019 г., распространенность ПНЯ прогрессивно возрастает и к настоящему времени достигла 3,7% среди европейской популяции женщин в возрасте до 40 лет [3]. Еще более выраженный рост ПНЯ отмечен в китайской популяции, на что указывает широкомасштабное исследование 2014 г., включающее 36 402 женщин в возрасте от 49 до 66 лет, в котором частота ПНЯ достигла 2,76% (т.е. увеличилась за последние 12 лет в 6 раз) [4].

Патогенетической основой развития ПНЯ является нефизиологическое по отношению к возрасту женщины снижение тотального овариального резерва, нарушение процессов рекрутирования фолликулов или их ускоренный апоптоз, а также развитие феномена преждевременной лютеинизации фолликулов [5, 6].

Преждевременному истощению овариального резерва могут способствовать хромосомные и генетические аномалии, эпигенетические причины, аутоиммунная патология, развивающаяся в рамках аутоиммунного полигландулярного синдрома преимущественно II типа, а также инфекционно-токсические заболевания [7].

В более ранних исследованиях генез ПНЯ основывался на выявлении только хромосомных аномалий на основе цитогенетического анализа. При использовании стандартного цитогенетического исследования метода Seabright (G-окраски) при ПНЯ наиболее часто встречались числовые нарушения в кариотипе, по типу X моно-, ди- и трисомии, а также различные варианты хромосомного мозаицизма и структурных нарушений (делеции, транслокации, инверсии). На долю вышеуказанных нарушений приходится от 10 до 15% в этиологической структуре ПНЯ, однако, по данным Жахур и соавт., этот показатель не превышает 7,7% [1, 8].

В настоящее время наравне с цитогенетическими методами используется технология сравнительной геномной гибридизации (Comparative Genomic Hybridization, CGH), которая применяется для анализа вариаций числа копий (CNV), затрагивающих Х-сцепленные гены, которые ассоциированы с несиндромальными формами ПНЯ. При синдромальных формах, как правило, CNV обнаруживают на аутосомах [9]. CGH позволяет выявить как числовые нарушения хромосом во всем геноме, так и их перестройки, а также характеризуется улучшенным разрешением на 5–10 мегабаз по сравнению с более традиционными методами цитогенетического анализа Гимза-бэнды и флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), которые ограничены разрешением используемого микроскопа.

Перед клиницистами встает правомерный вопрос: может ли CGH с высоким разрешением образцов ДНК улучшить диагностику ПНЯ на основе выявления новых генов-кандидатов и уточнить распространенность соматической хромосомной нестабильности среди женщин с идиопатической формой заболевания?

В исследовании Norling A et al., включающем 26 пациенток с ПНЯ, впервые при использовании метода CGH в одном случае был выявлен патогенный вариант гена *GDF9*, а также идентифицировано несколько новых генов-кандидатов – *DNAH6*, *TSPYL6*, *SMARCC1*, *CSPG5* и *ZFR2* [10]. В 2019 г. на основе использования вышеуказанной методики на когорте из 67 пациенток с ПНЯ было показано, что в 47,8% случаев выявлены как известные, так и вновь идентифицированные (TP63 и VLDLR) потенциально патогенные CNV, способствующие развитию ПНЯ [11].

Частота хромосомной нестабильности с использованием метода CGH при ПНЯ была изучена в исследовании Katari S. et al., при этом в 18% (3/16) случаев выявлены патогенные CNV. Хромосомные перестройки по типу дупликации 16p12.3 обнаружены в одном случае и в двух – делеция Xq28, что свидетельствует о недостаточной репарации ДНК [12].

Таким образом, в клинической цитогенетике, в рамках акушерской практики, метод CGH используется для преимплантационной генетической диагностики. Однако на основе вышеизложенно-

го метод может быть рекомендован гинекологам-эндокринологам для выявления этиологических причин, лежащих в основе преждевременного снижения овариального резерва.

Несмотря на современные диагностические возможности, в большинстве случаев точно выявить этиологию данного заболевания крайне сложно, в связи с чем, частота идиопатической формы в структуре ПНЯ до последнего времени составляла более 50% [5, 6].

На долю генетических причин, объясняющих первоначальное снижение тотального овариального резерва или ускоренный процесс атрезии примордиальных фолликулов, по данным зарубежных авторов, приходится 20–25%. Согласно данным российских авторов, ПНЯ в ряде случаев можно рассматривать как мультифакторную патологию, в генезе которой в 63% случаев выявляются сочетанные молекулярно-генетические и эпигенетические нарушения преимущественно на Х-хромосоме. К этим нарушениям относятся любые отклонения числа CGG повторов в гене *FMR1* по отношению к его нормальному диапазону (28–36), «укорочение» аллеля (менее 24 CAG повтора) в гене *AR*, неслучайная инактивация Х хромосомы [13].

В последние годы выявлено 70 и более генов-кандидатов, на основе которых пытаются объяснить сложный генез формирования ПНЯ. Согласно клиническому наблюдению Шамиловой Н.Н. за 200 пациентками с ПНЯ показано, что для них характерно своевременное менархе, отсутствие фенотипических стигм и регулярный ритм менструаций. До возраста 27–32 лет в 46,5% случаев спонтанно наступали беременности, заканчивающиеся живорождением в 33,6%, в результате чего некоторые врачи игнорируют генетические причины нарушений фолликулогенеза при преждевременном старении яичников [13]. Для разрешения этой дискуссии следует напомнить, что патологические варианты генов, выявляемые у пациенток с ПНЯ, как правило, гетерозиготные, в связи с чем их клинические симптомы могут появляться на второмтретьем десятилетии жизни.

В будущем в результате широкого внедрения секвенирования нового поколения (NGS) в корне изменится подход к понятию «идиопатическая форма ПНЯ» и станет возможной расшифровка ранее неизвестных патогенных вариантов в генах, отвечающих за различные этапы оо- и фолликулогенеза.

В последние годы в литературе представлен ряд крупных молекулярно-генетических исследований, на основании которых выделена панель наиболее значимых генов-кандидатов, принимающих участие в генезе развития ПНЯ: *NANOS3, FIGLA, FOXO3, NR5A1, NOBOX, BMP15, GDF9, PGRMC1, PTEN, BRCA1,2* (таблица) [14, 15]. Данные гены отвечают за ключевую роль в раннем фолликулогенезе, в том числе формирование первичных фолликулов и зоны пеллюцида, их рост до ФСГ-зависимой стадии, ингибирование экспрессии м-РНК-рецепторов ФСГ в гранулезных клетках, тем самым предотвращая преждевременную лютеинизацию фолликулов, а также за ранний стероидогенез и регуляцию процессов апоптоза в примордиальных фолликулах [16].

Ген *NANOS* – семейство генов, участвующее в формировании и развитии примордиальных фолликулов. Существует три гомолога этого гена: NANOS1 (10q26.11), NANOS2 (19q13.32) и NANOS3 (19p13.13) [17]. Ген *NANOS3* экспрессируется в яичниках и играет важную роль в образовании и поддержании герминативных стволовых клеток (оогоний), предотвращая их преждевременное вступление в дифференцировку, также отвечая за оогенез, и на этапе миграции зародышевых клеток блокирует процесс их апоптоза. В дальнейшем он участвует в пролиферации примордиальных фолликулов яичника. Поломки в данном гене способствуют бесконтрольному процессу апоптоза и гибели примордиальных фолликулов, приводя к преждевременному истощению фолликулярного пула в яичнике [18]. При ПНЯ у представительниц китайской и европейской популяции патогенный вариант гена *NANOS* выявлен в 2,4% случаев [1].

Ген *FIGLA* (специфичный для фолликулогенеза транскрипционный фактор), локализуется на коротком плече Х-хромосомы. Играет важную роль в образовании первичных фолликулов и координирует экспрессию генов зоны пеллюцида. Экспериментально доказано, что наличие мутации в гене *FIGLA* приводит к блокаде внутриутробного формирования примордиальных фолликулов и в последующем – к постнатальной быстрой потере тотального овариального резерва у мышей. Zhao H. et al. в 4 случаях у 100 китаянок с ПНЯ обнаружили 3 варианта миссенс-мутаций в данном гене (p.A4E у двух женщин, p.G6fsX66 и p.I40delN). Авторы пришли к заключению, что у пациенток со спорадическими формами ПНЯ одна из ведущих ролей (4%) принадлежит гену *FIGLA* [19]. В 2015 г. выявлен новый редкий вариант мутации Arg83Cys в изучаемом гене у представительниц индийской национальности (0,5%) [20].

Ген *FOXO3* картирован на хромосоме 6 в локусе q21. Транскрипционный фактор FOXO3 отвечает за регуляцию процессов рекрутирования фолликулов. Удаление *FOXO3* у мышей приводит к формированию ПНЯ из-за неконтролируемого ускоренного рекрутинга фолликулов [21]. В популяции французских и китайских женщин частота встречаемости патогенных вариантов гена *FOXO3* достигает 6 и 13,3% соответственно, приводя к ускоренной потере тотального овариального резерва. FOXO3 оказывает блокирующее влияние на продуцируемые ооцитом гены *GDF9, BMP15* и *FSHR* (ген рецептора к ФСГ), которые в свою очередь блокируют процесс рекрутинга, подавляя нормальную пролиферацию клеток гранулезы [21].

Ген *NR5A1* относится к подсемейству ядерных рецепторов 5, группа А, член 1 – данный ген кодирует ядерный рецептор, экспрессия которого может быть выявлена на ранней стадии развития эмбриона в бипотентных гонадах. Ген *NR5A1* кодирует ядерный рецептор, регулирующий транскрипцию множества генов, участвующих в стероидогене-

Таблица. Гены-кандидаты, участвующие в развитии ПНЯ

Ген	Локализация гена	Изученный полиморфизм	Частота встречаемости в различных популяциях	Степень ассоциации	Патогенетический эффект/механизм нарушения функции гена
NANOS3	19q13.12	SNP rs2016163 c.353 A>G	В китайской и европейской популяциях – 2,4%	$P<0,05$	Ускоренный апоптоз и гибель примордиальных фолликулов
FIGLA	2p13.3	Arg83Cys p.A4E, G6fsX66, p.I40delN	У представительниц индийской национальности – 0,5% В китайской популяции – 4%	$P=0,02$ $P<0,001$	Нарушение внутриутробного формирования примордиальных фолликулов
FOXO3	6q21	–	Во Франции – 6%; в китайской популяции – 13,3%	–	Нарушение трансформации первичных фолликулов в преантральные с исходом в фиброз
NR5A1/SF-1	9q33	c.938G>A, c.407C>T), c.574G>T, c.575C>T, c.593C>T	Когорта женщин из Голландии – 1,4%	–	Нарушение роста и созревания фолликулов
NOBOX	7q35	c.271G> T / p.G91W, c.349C> T / p.R117W, c.1025G> C / p.S342T и c.1048G> T / p.V350L rs757388, rs11769847, rs11979528, p.Arg355His, p.Arg360Gln	Когорта европейских женщин – 6,2% Когорта африканских женщин – 5,6%	$P<0,05$; $P<0,01$ $P<0,001$	Ускоренный постнатальный апоптоз ооцитов. Нарушение трансформации первичных фолликулов в преантральные с исходом в фиброз
BMP15	Xp11.2	p.Y235C, p.R68W, p.A180T, p.262insLeu c. 598C>T c. 985C>T c.788insTCT	Европейская популяция – 4,2% китайская популяция – 15%	$P<0,003$ –	Нарушение формирования первичных фолликулов и их роста
GDF9	5q31.1	p.K67E, p.V216M, p.S186Y, p.P103S и p.T238A	Когорта европейских и азиатских женщин – 1,4%	$P<0,001$	Дисрегуляция процессов роста и созревания фолликулов
PGRMCI	Xq22-q24	p.H165R, c.556C.T; p. P186S	Когорта женщин из Швеции – 4,5%	$P<0,01$	Нарушение активации микросомального цитохрома P450, что приводит к усиленному апоптозу фолликулов
FMR1	Xq27.8	Премутация гена	Когорта российской популяции женщин – 3,1%	OR=2,74	Нефизиологическая продукция белка гена FMR1, которая приводит к снижению пролиферативной способности фолликулов, блокаде их роста, созревания и развития
PTEN	10q23.3	rs1234219, rs1903858, rs2299939, rs35352882, rs17107001, rs2299941 и rs12572106	–	–	Нарушение трансформации первичных фолликулов в преантральные с исходом в фиброз
BRCA1	17q21	187delAG, 5385insC, 1623del15, 1675delA, 2953delGTAinsC, 3875del4, 4184del4	–	–	Ускоренное физиологическое истощение ооцитов во время внутриутробного периода
BRCA2	13q12.3	6174delT, 8525delC, 6056delC, 276del3ins10	–	–	Ускоренный постнатальный апоптоз ооцитов

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ: НОВОСТИ. МНЕНИЯ. ОБУЧЕНИЕ / ТОМ 11 / № 1 / 2023
ACTA OBSTETRICIA ET GYNECOLOGICA: NEWS. OPINIONS. TRAINING / VOL 11 / 2023

зе и мужской половой дифференциации. Таким образом, он регулирует продукцию АМГ, гонадотропинов, цитохрома 450, CYP11, а также генов, кодирующих стероидную гидроксилазу и ароматазу, и стероидогенного регуляторного белка (STAR). Инактивация данного гена у экспериментальных мышей приводит к гипоплазии яичников и бесплодию [16]. Полиморфизм *NR5A1* является патогенетической основой формирования ПНЯ, дисгенезии гонад и синдрома нечувствительности к андрогенам (тестикулярной феминизации), что подтверждено рядом клинических наблюдений [22]. В семьях у пациенток с ПНЯ идентифицировано 19 различных патогенных вариантов в данном гене [23]. Janse F. et al., обследовав когорту, включающую 356 голландских женщин с ПНЯ, в 1,4% случаев выявили различные патогенные варианты в гене *NR5A1* [24]. Таким образом, становится понятным, что мутантный белок данного гена приводит к изменению трансактивационной активности в промоторе гена, что, в свою очередь, нарушает рост и созревание фолликулов.

Ген *NOBOX* играет ведущую роль в формировании раннего фолликулогенеза и экспрессируется в ооците, кодируя ооцит-специфические факторы транскрипции. Данный ген впервые идентифицирован Suzumori N. et al. в 2002 г. [25]. Ген *NOBOX*, известен как первый аутосомный ген-кандидат, картированный на 7 хромосоме в локусе q35. Его дефицит у мышей нарушает ранний фолликулогенез, приводя к ускоренному постнатальному апоптозу ооцитов, блокируя трансформацию первичных фолликулов в преантральные, способствуя их фиброзированию с исходом в ПНЯ [26]. В 2007 г. Qin Y. et al. впервые описали патогенный вариант гена *NOBOX* у женщин с ПНЯ [27]. Ученые из Франции на широкомасштабной когорте европейских и африканских пациенток продемонстрировали частоту встречаемости спорадической формы ПНЯ в пределах 6,2 и 5,6% соответственно, в то время как у 200 представительниц китайской популяции с ПНЯ подобного патогенного варианта данного гена выявлено не было ни в одном случае [28, 29].

Для понимания генеза ПНЯ необходимо рассмотреть роль ооцит-специфического фактора, гена *BMP15* (костный морфогенетический белок 15), являющегося членом суперсемейства трансформирующего фактора роста (TGF)-β, который выполняет одну из ключевых ролей на ранних этапах фолликулогенеза. Ген фактора BMP15 картируется на Х-хромосоме в локусе Xp11.2 [30]. Среди его разнообразных функций следует упомянуть экспрессию ооцитом, необходимую для формирования первичных фолликулов и начала их роста. Впоследствии за счет ингибирования экспрессии мРНК рецепторов ФСГ в гранулезных клетках он блокирует позднюю ФСГ-зависимую стадию развития фолликулов и ФСГ-зависимую продукцию прогестерона, тем самым предотвращая преждевременную их лютеинизацию. Впервые роль BMP15 в генезе ПНЯ была доказана на основе выявленной миссенс-мутации p.Y235C у двух сестер с ПНЯ [31]. В дальнейшем различные патологические варианты этого гена были идентифицированы у представительниц европейской, индийской и китайской популяций с частотой от 4,2 до 15% [31–33]. В России был проведен анализ полиморфных вариантов данного гена в позициях: 202C> T (Arg68Trp, rs104894763), 538G> A (A180T, rs3897937) и 905G> A (rs104894767) у 101 пациентки с ПНЯ. Сравнение частоты встречаемости данных нуклеотидных замен у обследуемой когорты и 101 женщины со своевременной менопаузой не выявило достоверной разницы, что указывает на возможно незначимую роль данных полиморфизмов в генезе ПНЯ для россиянок [13].

Ген *GDF9* (фактор дифференцировки роста) экспрессируется также ооцитом, гомологичен гену *BMP15* и подобно ему является членом семейства генов *TGF*. Экспериментально доказано, что у нокаутных по гену GDF9 мышей в результате торможения пролиферации гранулезных клеток и потери чувствительности к ФСГ полностью блокируются процессы роста и созревания фолликулов. Таким образом, нормальное функционирование GDF9 имеет решающее значение в процессе селекции доминантного фолликула [34, 35]. Первые полномасштабные исследования по изучению полиморфизма гена *GDF9* (2005–2007), проведены на когорте европейских и азиатских женщин с ПНЯ (629 пациенток) – частота патогенных вариантов составила 1,4%. Полиморфизм гена, описанный в европейских и азиатских группах женщин, кроме представительниц Японии и Новой Зеландии, относятся к миссенс-мутациям и встречаются только в гетерозиготном состоянии с частотой до 4%, приводя к ПНЯ [34].

Ген *PGRMC1* (мембранный компонент рецептора прогестерона 1) впервые был описан в 1998 г. [36]. Белок этого гена экспрессируется во многих тканях женского организма, включая печень, надпочечники, матку, обеспечивая передачу сигналов прогестерона [36–38]. *PGRMC1* опосредует антиапоптотическое действие прогестерона на клетки гранулезы [38–40]. Mansouri M. et al. провели скрининг полиморфизма гена у 67 женщин с идиопатической формой ПНЯ, в ходе которого в 4,5% случаев был выявлен патогенный вариант гена (p.H165R), расположенный в домене цитохрома b5, который вызывает нарушение активации микросомального цитохрома P450, приводя к апоптозу фолликулов [38].

Ген *FMR1* (Fragile mental retardation) локализован на длинном плече Х-хромосомы в локусе Xq27.8 [41, 42]. В 5 нетранслируемой области 1-го экзона данного гена содержатся тринуклеотидные CGG повторы [43].

Нормальное количество повторов CGG в гене *FMR1* у представительниц российской популяции соответствует 28–36 [13]. Увеличение количества повторов от 54 до 199 известно как премутация гена [44]. При увеличении числа повторов более 200 формируется болезнь Мартина–Белла, которой подвержены только мальчики. Ген *FMR1* обладает плейотропным эффектом, являясь наиболее частой и хорошо изученной причиной ПНЯ, при этом

снижение тотального овариального резерва наблюдается не только в рамках премутации гена, но и при изменении числовых повторов как в сторону их увеличения, так и уменьшения по отношению к нормальному диапазону 28–36 [45, 46]. По международным данным, при спорадической форме ПНЯ премутация гена *FMR1* встречается от 0,8 до 7,5% случаев, при семейной форме – до 13% случаев. В работе Шамиловой Н.Н. премутация выявлена в 3,1% случаев, в то время как при семейных формах – в 7,9% случаев, а при спорадических – в 1,1% (1/91) [13].

На основании представленного выше материала становится понятным, что данные гены играют одну из ключевых ролей на этапе раннего фолликулогенеза, предотвращая преждевременную лютеинизацию фолликулов, а также они отвечают за ранний стероидогенез и регуляцию процессов апоптоза в примордиальных фолликулах [13]. По данным некоторых авторов, в генезе несиндромальной формы ПНЯ участвуют гены, картированные на Х-хромосоме – *BMP15, PGRMC1* и *FMR1*, в то время как при синдромальной форме – гены, преимущественно расположенные на аутосомах, – *GDF9, FIGLA, FSHR, NOBOX, NR5A1, NANOS3, STAG3, SYCE, MCM8,9* [14, 15].

Ни одному из выше представленных генов не принадлежит ведущая роль в генезе развития ПНЯ, что можно объяснить вариабельностью размера выборок и разнообразием этнических групп в проведенных исследованиях.

Помимо наиболее перспективных генов-кандидатов, полиморфизм которых приводят к преждевременному истощению овариального пула, особый интерес представляет обсуждение роли генов *PTEN* и *BRCA1,2*, обладающих плейотропными эффектами.

Гены *BRCA1* (17q21) и *BRCA2* (13q12.3) относятся к группе генов-супрессоров, вовлеченных в процесс гомологичной репарации двунитевых разрывов ДНК. На сегодняшний день известно, что полиморфизмы в генах *BRCA1* и *BRCA2* отвечают за развитие наследственных форм рака молочной железы, яичников, маточных труб, простаты и поджелудочной железы [47–48]. Учитывая, что *BRCA1* играет важную роль как в митотических, так и в мейотических процессах, физиологическое истощение ооцитов может протекать быстрее во внутриутробном периоде жизни плода в случае «поломки» гена *BRCA1* [49, 50]. Ген *BRCA1* экспрессируется в бластоцистах [51]. Концепция некоторых исследователей гласит, что ооциты с патологической функцией генов *BRCA* и последующим повреждением ДНК могут преждевременно гибнуть за счет ускоренного процесса апоптоза, что в свою очередь, приводит к раннему истощению фолликулярного овариального резерва [52, 53]. Другая теория состоит в том, что увеличение мутаций в примордиальных фолликулах препятствует нормальному созреванию ооцитов, что также впоследствии приводит к ускоренному их апоптозу [54]. Ряд исследований демонстрирует выраженное снижение уровня АМГ у носительниц патогенных вариантов гена *BRCA1* в сравнении с контрольной группой [55, 56]. Известно, что при наличии полиморфизма гена *BRCA1* в 30% случаев отмечено уменьшение числа CGG-повторов в гене FMR1 в сравнении с их нормативными показателями [57]. Существует несколько принципиально разноречивых мнений ученых относительно вклада данных генов в раннее истощение фолликулярного пула. В недавних исследованиях продемонстрировано, что патогенный вариант генов *BRCA*, особенно *BRCA1*, значительно уменьшают овариальный резерв яичников, что, в свою очередь, приводит к бесплодию [47, 52].

При обследовании 908 канадских женщин в возрасте от 18 до 87 лет, носительниц патологических вариантов генов *BRCA1* и *BRCA2*, были выделены 253 пациентки старше 45 лет (1-я группа). Контрольную группу составили 908 женщин без нарушений в генах *BRCA* аналогичного возраста, при этом респондентов после 45 лет было 216 (2-я группа). Проведенное анкетирование показало, что ранняя менопауза в 1-й группе выявлена в 22,1% (56 женщин), а ПНЯ – в 4,7% (12 женщин), в то время как во 2-й группе эти показатели составили 14,3% (31 женщина) и 1,4% (3 женщины) соответственно. Таким образом, при наличии полиморфизма в генах *BRCA1, -2* ранняя менопауза встречается в 1,5 раза чаще, ПНЯ – в 3,3 раза [53].

В доступной литературе нами не найдено исследований, в которых при ПНЯ анализировалась частота встречаемости патогенных вариантов BRCA1,2, в то время как в общей популяции среди европейских женщин это значение достигает 1 из 1000 случаев, однако в некоторых этнических группах эта цифра возрастает до 2,5% [58, 59].

Ген *PTEN* (гомолог фосфатазы и тензина), локализованный в локусе q23.3 хромосомы 10, играет одну из ведущих ролей в ранней активации первичных фолликулов, негативно регулируя AKT-сигнальный путь [60]. У мышей, нокаутных по гену *PTEN*, экспериментально доказано преждевременное истощение фолликулярного аппарата вследствие бесконтрольного рекрутинга фолликулов. В норме белок PTEN блокирует PI3K-AKT путь, удерживая первичные фолликулы в фазе режима «покоя» [61].

Становится понятным, что гены-кандидаты чаще демонстрируют не только экспрессию в яичниках, но и на системном уровне. При этом NOBOX и FIGLA регулируют функциональное состояние только яичников, в то время как PTEN играет жизненно важную роль в активации первичных фолликулов, одновременно, являясь основным регулятором пути PI3K, регулируя процессы пролиферации, миграции и метаболизма организма на клеточном уровне в целом [16].

В последние годы доказано, что, помимо генов, принимающих участие в фолликуло- и стероидогенезе, на преждевременное снижение овариального резерва оказывают влияние гены, вовлеченные в процессы мейоза и репарации ДНК, выявляемые на основе NGS-методики [15]. В физиологических условиях внутриутробно ооциты в примордиальных фолликулах длительно замирают в стадии профазы I мейотического деления. Экспериментально

доказано, что при отсутствии или патогенных вариантах генов, регулирующих механизмы мейотического деления, развивается ПНЯ [62, 63]. Гены *STAG3* и *SYCE1* необходимы для правильного формирования синаптонемного комплекса во время клеточного деления, и патогенные варианты этих генов приводят к бесплодию у людей и животных [63, 64]. Геликазы белков поддержания минихромосомы (MCM8 и MCM9) играют решающую роль на стадии гомологичной рекомбинации в процессе мейотического деления [65]. Гомозиготная мутация способствует развитию ПНЯ.

Таким образом, становится понятным, что ПНЯ – гетерогенное заболевание, и благодаря использованию NGS-технологий обнаружены различные дефекты в более чем 75 генах, участвующих в генезе преждевременного старения яичников [66]. В последние годы проводят полноэкзомное секвенирование (WES) геномной ДНК не только пациенток, но и их родителей с последующим совместным биоинформатическим анализом (семейные формы ПНЯ). В результате чего выявляется обширный список генетических отличий от нуклеотидной последовательности «референсного» генома, большая часть которых не имеет клинического значения. Проведение сравнения выявленных отличий у пациента и родителей позволяет обнаружить среди этого списка клинически значимые изменения в геноме пациента. Базы данных клинически значимых отклонений постоянно пополняются, и именно такие исследования во многом способствую этому процессу [67].

В настоящее время не существует достоверных биомаркеров для оценки овариального резерва. Ультразвуковой мониторинг и гормональный профиль (уровни ФСГ и АМГ в сыворотке крови) оценивают не тотальный, а функциональный резерв, то есть количество рекрутируемых в данном цикле примордиальных фолликулов [68].

Определенные надежды в плане предвидения ПНЯ возлагаются на определение miRNA (микросомальная рибонуклеиновая кислота) в сочетании с экзосомами, которые легко обнаруживаются в кровотоке, в связи с чем, этот метод в дальнейшем может быть использован в качестве биомаркера оценки овариального резерва и ранней диагностики ПНЯ [69]. Известно, что miRNA представляют собой семейство небольших некодирующих молекул РНК длиной 19–24 нуклеотидов, играющих важную регуляторную роль в экспрессии генов [69, 70]. Недавние открытия показывают, что miRNA являются важными регуляторами клеточной дифференцировки и вовлечены в процесс доимплантационного периода. Они поддерживают баланс между плюрипотентностью и дифференцировкой эмбриона и эмбриональных стволовых клеток. Снижение экспрессии miR-22-3p в плазме пациентов с ПНЯ коррелирует с объемом овариального пула. Авторы данного исследования также представили доказательство роли полиморфизма генов *miR-518* и *TGFBR2* в качестве новых предикторов риска развития ПНЯ и ранней менопаузы, а также возраста наступления естественного выключения функции яичников [71]. Взаимосвязь между miR-146 и miR-196a2 вовлечена в процесс формирования ПНЯ. Результаты микроматричного типирования продемонстрировали, что у пациенток с ПНЯ по сравнению с группой контроля 10 miRNA значительно активированы (miR202, miR146a, miR125b-2, miR139-3p, miR654-5p, miR27a, miR765, miR23a, miR342-3p, miR126), в то время как 2 miRNA (miR518, взаимодействие между miR146 и miR196a2) инактивированы. Среди активированных miRNAs обращает на себя внимание miR23a, играющая важную роль в процессе апоптоза в клетках гранулезы в яичниках посредством снижения экспрессии Х-связанного ингибитора апоптоза белка (XIAP). Кроме того, обнаружено, что miR-22-3p демонстрирует более низкий уровень экспрессии у женщин с повышенным уровнем ФСГ по сравнению с группой контроля [69].

Заключение

Знание генов-кандидатов, лежащих в основе генеза формирования ПНЯ, и возможность в клинической практике проводить полноэкзомное секвенирование будут иметь первостепенное значение не только для понимания физиологии яичников, но и для генетического консультирования с целью оценки репродуктивного прогноза в группах риска по развитию ПНЯ. Женщинам-носительницам патогенных вариантов генов-кандидатов по ПНЯ на доклиническом этапе необходимо регулярно мониторировать гормональные показатели овариального резерва с целью своевременного забора их генетического материала с последующей криоконсервацией яйцеклеток.

Литература/References

1. European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) Guideline Group on POI.; Webber L., Davies M., Anderson R., Bartlett J., Braat D., Cartwright B. et al. ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency. Hum. Reprod. 2016; 31(5): 926-37. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dew027.
2. *Luborsky J.L., Meyer P., Sowers M.F., Gold E.B., Santoro N.* Premature menopause in a multi-ethnic population study of the menopause transition. Hum. Reprod. 2003; 18(1): 199-206. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deg005.
3. *Golezar S., Ramezani Tehrani F., Khazaei S., Ebadi A., Keshavarz Z.* The global prevalence of primary ovarian insufficiency and early menopause: a meta-analysis. Climacteric. 2019; 22(4): 403-11. https://dx.doi.org/10.1080/13697137.2019.1574738.
4. *Wu X., Cai H., Kallianpur A., Li H., Yang G., Gao J.* et al. Impact of premature ovarian failure on mortality and morbidity among Chinese women. PLoS One. 2014; 9(3): e89597. https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0089597.
5. *Goswami D., Conway G.S.* Premature ovarian failure. Horm. Res. 2007; 68(4): 196-202. https://dx.doi.org/10.1159/000102537.
6. *Van Kasteren Y.M., Hundscheid R.D., Smits A.P., Cremers F.P., van Zonneveld P., Braat D.D.* Familial idiopathic premature ovarian failure: an overrated and underestimated genetic disease. Hum. Reprod. 1999; 14(10): 2455-9. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/14.10.2455.
7. *Mendoza N., Julià M.D., Galliano D., Coronado P., Díaz B., Fontes J.* et al. Spanish consensus on premature menopause. Maturitas. 2015; 80(2): 220-5. https://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2014.11.007.

8. *Жахур Н.А., Марченко Л.А., Бутарева Л.Б.* Преждевременная недостаточность функции яичников как результат анеуплоидии половых хромосом (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2010; 16(6): 30-8. [Zhakhur O.N., Marchenko L.A., Butareva L.B. Premature ovarian failure as a result of sex chromosome aneuploidy. Problems of reproduction. 2010; 16(6): 30-8 (in Russian)].
9. *Nelson L.M.* Clinical practice. Primary ovarian insufficiency. N. Engl. J. Med. 2009; 360(6): 606-14. https://dx.doi.org/10.1056/NEJMcp0808697.
10. *Norling A., Hirschberg A.L., Rodriguez-Wallberg K.A., Iwarsson E., Wedell A., Barbaro M.* Identification of a duplication within the GDF9 gene and novel candidate genes for primary ovarian insufficiency (POI) by a customized high-resolution array comparative genomic hybridization platform. Hum. Reprod. 2014; 29(8): 1818-27. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deu149.
11. *Bestetti I., Castronovo C., Sironi A., Cavalli C., Sala C., Rossetti R.* et al. High-resolution array-CGH analysis on 46,XX patients affected by early onset primary ovarian insufficiency discloses new genes involved in ovarian function. Hum. Reprod. 2019; 34(3): 574-83. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dey389.
12. *Katari S., Aurabi M., Kintigh A., Mann S., Yatsenko S.A., Sanfilippo J.S.* et al. Chromosomal instability in women with primary ovarian insufficiency. Hum. Reprod. 2018; 33(3): 531-8. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dey012.
13. *Шамилова Н.Н., Марченко Л.А., Долгушина Н.В., Кузнецова Е.Б., Залетаев Д.В.* Роль генетических и аутоиммунных нарушений в развитии преждевременной недостаточности яичников. Акушерство и гинекология. 2012; (4-2): 67-72. [Shamilova N.N., Marchenko L.A., Dolgushina N.V., Kuznetsova E.B., Zaletayev D.V. Role of genetic and autoimmune disorders in the development of premature ovarian failure. Obstetrics and Gynecology. 2012; (4-2): 67-72. (in Russian)].
14. *Rossetti R., Ferrari I., Bonomi M., Persani L.* Genetics of primary ovarian insufficiency. Clin. Genet. 2017; 91(2): 183-98. https://dx.doi.org/10.1111/cge.12921.
15. *França M.M., Mendonca B.B.* Genetics of primary ovarian insufficiency in the next-generation sequencing era. J. Endocr. Soc. 2019; 4(2): bvz037. https://dx.doi.org/10.1210/jendso/bvz037.
16. *Qin Y., Jiao X., Simpson J.L., Chen Z.J.* Genetics of primary ovarian insufficiency: new developments and opportunities. Hum. Reprod. Update. 2015; 21(6): 787-808. https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmv036.
17. *Qin Y., Zhao H., Kovanci E., Simpson J.L., Chen Z.J., Rajkovic A.* Mutation analysis of NANOS3 in 80 Chinese and 88 Caucasian women with premature ovarian failure. Fertil. Steril. 2007; 88(5): 1465-7. https://dx.doi.org/ 10.1016/j.fertnstert.2007.01.020.
18. *Santos M.G., Machado A.Z., Martins C.N., Domenice S., Costa E.M., Nishi M.Y.* et al. Homozygous inactivating mutation in NANOS3 in two sisters with primary ovarian insufficiency. Biomed. Res. Int. 2014; 2014: 787465. https://dx.doi.org/10.1155/2014/787465.
19. *Zhao H., Chen Z.J., Qin Y., Shi Y., Wang S., Choi Y.* et al. Transcription factor FIGLA is mutated in patients with premature ovarian failure. Am. J. Hum. Genet. 2008; 82(6): 1342-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2008.04.018.
20. *Tosh D., Rani H.S., Murty U.S., Deenadayal A., Grover P.* Mutational analysis of the FIGLA gene in women with idiopathic premature ovarian failure. Menopause. 2015; 22(5): 520-6. https://dx.doi.org/10.1097/GME.0000000000000340.
21. *Liu L., Rajareddy S., Reddy P., Du C., Jagarlamudi K., Shen Y.* et al. Infertility caused by retardation of follicular development in mice with oocyte-specific expression of Foxo3a. Development. 2007; 134(1): 199-209. https://dx.doi.org/10.1242/dev.02667.
22. *Philibert P., Leprieur E., Zenaty D., Thibaud E., Polak M., Frances A.M.* et al. Steroidogenic factor-1 (SF-1) gene mutation as a frequent cause of primary amenorrhea in 46,XY female adolescents with low testosterone concentration. Reprod. Biol. Endocrinol. 2010; 8: 28. https://dx.doi.org/10.1186/1477-7827-8-28.
23. *Lourenço D., Brauner R., Lin L., De Perdigo A., Weryha G., Muresan M.* et al. Mutations in NR5A1 associated with ovarian insufficiency. N. Engl. J. Med. 2009; 360(12): 1200-10. https://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa0806228.
24. *Janse F., de With L.M., Duran K.J., Kloosterman W.P., Goverde A.J., Lambalk C.B.* et al.; Dutch Primary Ovarian Insufficiency Consortium. Limited contribution of NR5A1 (SF-1) mutations in women with primary ovarian insufficiency (POI). Fertil. Steril. 2012; 97(1): 141-6.e2. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.10.032.
25. *Suzumori N., Yan C., Matzuk M.M., Rajkovic A.* Nobox is a homeobox-encoding gene preferentially expressed in primordial and growing oocytes. Mech. Dev. 2002; 111(1-2): 137-41. https://dx.doi.org/10.1016/s0925-4773(01)00620-7.
26. *Huntriss J., Hinkins M., Picton H.M.* cDNA cloning and expression of the human NOBOX gene in oocytes and ovarian follicles. Mol. Hum. Reprod. 2006; 12(5): 283-9. https://dx.doi.org/10.1093/molehr/gal035.
27. *Qin Y., Choi Y., Zhao H., Simpson J.L., Chen Z.J., Rajkovic A.* NOBOX homeobox mutation causes premature ovarian failure. Am. J. Hum. Genet. 2007; 81(3): 576-81. https://dx.doi.org/10.1086/519496.
28. *Qin Y., Shi Y., Zhao Y., Carson S.A., Simpson J.L., Chen Z.J.* Mutation analysis of NOBOX homeodomain in Chinese women with premature ovarian failure. Fertil. Steril. 2009; 91(4 Suppl.): 1507-9. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.08.020.
29. *Bouilly J., Bachelot A., Broutin I., Touraine P., Binart N.* Novel NOBOX loss-of-function mutations account for 6.2% of cases in a large primary ovarian insufficiency cohort. Hum. Mutat. 2011; 32(10): 1108-13. https://dx.doi.org/10.1002/humu.21543.
30. *Di Pasquale E., Beck-Peccoz P., Persani L.* Hypergonadotropic ovarian failure associated with an inherited mutation of human bone morphogenetic protein-15(BMP15) gene. Am. J. Hum. Genet. 2004; 75(1): 106-11. https://dx.doi.org/10.1086/422103.
31. *Di Pasquale E., Rossetti R., Marozzi A., Bodega B., Borgato S., Cavallo L.* et al. Identification of new variants of human BMP15 gene in a large cohort of women with premature ovarian failure. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2006; 91(5): 1976-9. https://dx.doi.org/10.1210/jc.2005-2650.
32. *Wang B., Wen Q., Ni F., Zhou S., Wang J., Cao Y.* et al. Analyses of growth differentiation factor 9 (GDF9) and bone morphogenetic protein 15 (BMP15) mutation in Chinese women with premature ovarian failure. Clin. Endocrinol. (Oxf). 2010; 72(1): 135-6. https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2265.2009.03613.x.
33. *Ledig S., Röpke A., Haeusler G., Hinney B., Wieacker P.* BMP15 mutations in XX gonadal dysgenesis and premature ovarian failure. Am. J. Obstet. Gynecol. 2008; 198(1): 84.e1-5. https://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2007.05.029.
34. *Persani L., Rossetti R., Cacciatore C., Fabre S.* Genetic defects of ovarianTGF-β-like factors and premature ovarian failure. J. Endocrinol. Invest. 2011; 34(3): 244-51. https://dx.doi.org/10.1007/BF03347073.
35. *Shimasaki S., Moore R.K., Otsuka F., Erickson G.F.* The bone morpho-genetic protein system in mammalian reproduction. Endocr. Rev. 2004; 25(1): 72-101. https://dx.doi.org/10.1210/er.2003-0007.
36. *Lösel R.M., Besong D., Peluso J.J., Wehling M.* Progesterone receptor membrane component 1 – many tasks for a versatile protein. Steroids. 2008; 73(9-10): 929-34. https://dx.doi.org/10.1016/j.steroids.2007.12.017.
37. *Cahill M.A.* Progesterone receptor membrane component 1: an integrative review. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 2007; 105(1-5): 16-36. https://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2007.02.002.
38. *Mansouri M.R., Schuster J., Badhai J., Stattin E.L., Losel R., Wehling M.* et al. Alterations in the expression, structure and function of progesterone receptor membrane component-1 (PGRMC1) in premature ovarian failure. Hum. Mol. Genet. 2008; 17(23): 3776-83. https://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddn274.
39. *Engmann L., Losel R., Wehling M., Peluso J.J.* Progesterone regulation of human granulosa/luteal cell viability by an RU486-independent mechanism. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2006; 91(12): 4962-8. https://dx.doi.org/10.1210/jc.2006-1128.
40. *Peluso J.J., Pappalardo A., Losel R., Wehling M.* Progesterone membrane receptor component 1 expression in the immature rat ovary and its role in mediating progesterone's antiapoptotic action. Endocrinology. 2006; 147(6): 3133-40. https://dx.doi.org/10.1210/en.2006-0114.
41. *Verkerk A.J.M., Pieretti M., Sutcliffe J.S., Fu Y.H., Kuhl D.P.A., Pizzuti A.* et al. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a

breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. Cell. 1991; 65(5): 905-14. https://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(91)90397-h.

42. *Yu S., Pritchard M., Kremer E., Lynch M., Nancarrow J., Baker E.* et al. Fragile X genotype characterized by an unstable region of DNA. Science. 1991; 252(5009): 1179-81. https://dx.doi.org/10.1126/science.252.5009.1179.

43. *Eichler E.E., Richards S., Gibbs R.A., Nelson D.L.* Fine structure of the human FMR1 gene. Hum. Mol. Genet. 1993; 2(8): 1147-53. https://dx.doi.org/10.1093/hmg/2.8.1147.

44. *Tassone F.* Newborn screening for fragile X syndrome. JAMA Neurol. 2014; 71(3): 355-9. https://dx.doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.4808.

45. *Марченко Л.А., Рштуни С.Д., Зарецкая М.В., Пихут П.П., Машаева Р.И.* Роль гена FMR1 в развитии репродуктивной и неврологической патологии. Акушерство и гинекология. 2018; 3: 22-8. [Marchenko L.A., Rshtuni S.D. The role of the FMR1 gene in the development of reproductive and neurological pathology. Obstetrics and gynecology. 2018; 3: 22-8. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.3.22-28.

46. *Allingham-Hawkins D.J., Babul-Hirji R., Chitayat D., Holden J.J., Yang K.T., Lee C.* et al. Fragile X premutation is a significant risk factor for premature ovarian failure: the International Collaborative POF in Fragile X study - preliminary data. Am. J. Med. Genet. 1999; 83(4): 322-5.

47. *Shapira M., Raanani H., Feldman B., Srebnik N., Dereck-Haim S., Manela D.* et al. BRCA mutation carriers show normal ovarian response in in vitro fertilization cycles. Fertil. Steril. 2015; 104(5): 1162-7. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.07.1162.

48. *Любченко Л.Н., Батенева Е.И.* Медико-генетическое консультирование и ДНК-диагностика при наследственной предрасположенности к раку молочной железы и раку яичников. Пособие для врачей. М.: ИГ РОНЦ; 2014. 63 с. [Lyubchenko L.N., Bateneva E.I. Medical genetic counseling and DNA diagnostics in case of hereditary predisposition to breast and ovarian cancer. A guide for doctors. M.: IG RONTs; 2014. 64 p. (in Russian)].

49. *Stolz A., Ertych N., Kienitz A., Vogel C., Schneider V., Fritz B.* et al. The CHK2-BRCA1 tumour suppressor pathway ensures chromosomal stability in human somatic cells. Nat. Cell Biol. 2010; 12(5): 492-9. https://dx.doi.org/10.1038/ncb2051.

50. *Xiong B., Li S., Ai J.S., Yin S., Ouyang Y.C., Sun S.C.* et al. BRCA1 is required for meiotic spindle assembly and spindle assembly checkpoint activation in mouse oocytes. Biol. Reprod. 2008; 79(4): 718-26. https://dx.doi.org/10.1095/biolreprod.108.069641.

51. *Pal T., Keefe D., Sun P., Narod S.A.*; Hereditary Breast Cancer Clinical Study Group. Fertility in women with BRCA mutations: a case-control study. Fertil. Steril. 2010; 93(6): 1805-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.12.052.

52. *Wang E.T., Pisarska M.D., Bresee C., Chen Y.D.I., Lester J., Afshar Y.* et al. BRCA1 germline mutations may be associated with reduced ovarian reserve. Fertil. Steril. 2014; 102(6): 1723-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.08.014.

53. *Finch A., Valentini A., Greenblatt E., Lynch H.T., Ghadirian P., Armel S.* et al. Frequency of premature menopause in women who carry a BRCA1 or BRCA2 mutation. Fertil. Steril. 2013; 99(6): 1724-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.01.109.

54. *Titus S., Li F., Stobezki R., Akula K., Unsal E., Jeong K.* et al. Impairment of BRCA1-related DNA double-strand break repair leads to ovarian aging in mice and humans. Sci. Transl. Med. 2013; 5(172): 172ra21. https://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.3004925.

55. *Rzepka-Gorska I., Tarnowski B., Chudecka-Glaz A., Gorski B., Zielinska D., Toloczko-Grabarek A.* Premature menopause in patients with BRCA1 gene mutation. Breast Cancer Res. Treat. 2006; 100(1): 59-63. https://dx.doi.org/10.1007/s10549-006-9220-1.

56. *Oktay K., Kim J.Y., Barad D., Babayev S.N.* Association of BRCA1 mutations with occult primary ovarian insufficiency: a possible explanation for the link between infertility and breast/ovarian cancer risks. J. Clin. Oncol. 2010; 28(2): 240-4. https://dx.doi.org/10.1200/JCO.2009.24.2057.

57. *Laitman Y., Ries-Levavi L., Berkensdadt M., Korach J., Perri T., Pras E.* et al. FMR1 CGG allele length in Israeli BRCA1/BRCA2 mutation carriers and the general population display distinct distribution patterns. Genet. Res. (Camb). 2014; 96: e11. https://dx.doi.org/10.1017/S0016672314000147.

58. *Ford D., Easton D.F., Peto J.* Estimates of the gene frequency of BRCA1 and its contribution to breast and ovarian cancer incidence. Am. J. Hum. Genet. 1995; 57(6): 1457-62.

59. *Warner E., Foulkes W., Goodwin P., Meschino W., Blondal J., Paterson C.* et al. Prevalence and penetrance of BRCA1 and BRCA2 gene mutations in unselected Ashkenazi Jewish women with breast cancer. J. Natl. Cancer Inst. 1999; 91(14): 1241-7. https://dx.doi.org/10.1093/jnci/91.14.1241.

60. *Reddy P., Liu L., Adhikari D., Jagarlamudi K., Rajareddy S., Shen Y.* et al. Oocyte-specific deletion of Pten causes premature activation of the primordial follicle pool. Science. 2008; 319(5863): 611-3. https://dx.doi.org/10.1126/science.1152257.

61. *Venturella R., De Vivo V., Carlea A., D'Alessandro P., D'Alessandro P., Saccone G.* et al. The genetics of non-syndromic primary ovarian insufficiency: a systematic review. Int. J. Fertil. Steril. 2019; 13(3): 161-8. https://dx.doi.org/10.22074/ijfs.2019.5599.

62. *Huhtaniemi I., Hovatta O., La Marca A., Livera G., Monniaux D., Persani L.* et al. Advances in the molecular pathophysiology, genetics, and treatment of primary ovarian insufficiency. Trends Endocrinol. Metab. 2018; 29(6): 400-19. https://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2018.03.010.

63. *Caburet S., Arboleda V.A., Llano E., Overbeek P.A., Barbero J.L., Oka K.* et al. Mutant cohesin in premature ovarian failure. N. Engl. J. Med. 2014; 370(10): 943-9. https://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1309635.

64. *de Vries L., Behar D.M., Smirin-Yosef P., Lagovsky I., Tzur S., Basel-Vanagaite L.* Exome sequencing reveals SYCE1 mutation associated with autosomal recessive primary ovarian insufficiency. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2014; 99(10): e2129-32. https://dx.doi.org/10.1210/jc.2014-1268.

65. *Lee K.Y., Im J.S., Shibata E., Park J., Handa N., Kowalczykowski S.C.* et al. MCM8-9 complex promotes resection of double-strand break ends by MRE11-RAD50-NBS1 complex. Nat. Commun. 2015; 6: 7744. https://dx.doi.org/10.1038/ncomms8744.

66. *Fonseca D.J., Patiño L.C., Suárez Y.C., de Jesús Rodríguez A., Mateus H.E., Jiménez K.M.* et al. Next generation sequencing in women affected by nonsyndromic premature ovarian failure displays new potential causative genes and mutations. Fertil. Steril. 2015; 104(1): 154-62.e2. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.04.016.

67. *Qin Y., Zhao H., Xu J., Shi Y., Li Z., Qiao J. et al.*; China POF Study Group. Association of 8q22.3 locus in Chinese Han with idiopathic premature ovarian failure (POF). Hum. Mol. Genet. 2012; 21(2): 430-6. https://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddr462.

68. *Марченко Л.А., Машаева Р.И.* Клинико-лабораторная оценка овариального резерва с позиции репродуктолога. Акушерство и гинекология. 2018; 8: 22-5. [Marchenko L.A., Mashaeva R.I. Clinical and laboratory assessment of the ovarian reserve from the position of a reproductologist. Obstetrics and Gynecology. 2018; 8: 22-5. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.8.22-25.

69. *Virant-Klun I., Ståhlberg A., Kubista M., Skutella T.* MicroRNAs: from female fertility, germ cells, and stem cells to cancer in humans. Stem Cells Int. 2016; 2016: 3984937. https://dx.doi.org/10.1155/2016/3984937.

70. *Bartel D.P.* MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. Cell. 2004; 116(2): 281-97. https://dx.doi.org/10.1016/s0092-8674(04)00045-5.

71. *Ma X., Chen Y., Zhao X., Chen J., Shen C., Yang S.* Association study of TGFBR2 and miR-518 gene polymorphisms with age at natural menopause, premature ovarian failure, and early menopause among Chinese Han women. Medicine (Baltimore). 2014; 93(20): e93. https://dx.doi.org/10.1097/md.0000000000000093.

Поступила 25.06.2021
Принята в печать 14.10.2021
Received 25.06.2021
Accepted 14.10.2021

Сведения об авторах:
Чернуха Галина Евгеньевна, д.м.н., профессор, отделение гинекологической эндокринологии, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова Минздрава России, g_chernukha@oparina4.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Табеева Гюзяль Искандеровна, с.н.с. отделения гинекологической эндокринологии, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(903)199-72-82, doctor.gtab@gmail.com, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Ритуни Сандра Джониевна, аспирант отделения гинекологической эндокринологии, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова Минздрава России, rshtunisandra@gmail.com, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Машаева Роза Истановна, аспирант отделения гинекологической эндокринологии, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова Минздрава России, mashaevarosa@gmail.com, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Черных Вячеслав Борисович, д.м.н., врач-генетик, заведующий Лабораторией генетики нарушений репродукции, Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова; доцент кафедры общей и медицинской генетики медико-биологического факультета, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, chernykh@med-gen.ru, https://orcid.org/0000-0003-2719-5031, 115522, Россия, Москва, ул. Москворечье, д. 1.
Марченко Лариса Андреевна, д.м.н., профессор, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова Минздрава России, +7(903)547-60-58, l_marchenko@yandex.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:
Galina E. Chernukha, Dr. Med. Sci., Professor, Department of Endocrinological Gynecology, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, g_chernukha@oparina4.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Gyuzyal I. Tabeeva, Senior Researcher of the Department of Gynecological Endocrinology, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, +7(903)199-72-82, doctor.gtab@gmail.com, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Sandra D. Rshtuni, postgraduate student, Department of Endocrinological Gynecology, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, rshtunisandra@gmail.com, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Roza I. Mashaeva, postgraduate student, Department of Endocrinological Gynecology, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, mashaevarosa@gmail.com, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Vyacheslav B. Chernykh, Dr. Med. Sci., Bochkov Research Centre for Medical Genetics, Pirogov Russian National Research Medical University, chernykh@med-gen.ru, https://orcid.org/0000-0003- 2719-503, 115522, Russia, Moscow, Moskvorechye str., 1.
Larisa A. Marchenko, Dr. Med. Sci., Professor, Department of Endocrinological Gynecology, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, l_marchenko@yandex.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.

©Коллектив авторов, 2021

С.К. ЗЫРЯНОВ[1,2], О.И. БУТРАНОВА[1], М.С. ЧЕНКУРОВ[1]

ХЛОРАМФЕНИКОЛ: НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ СТАРОГО ПРЕПАРАТА

[1]ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»
Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Москва, Российская Федерация
[2]ГБУЗ «Городская клиническая больница №24» Департамента здравоохранения города Москвы,
Москва, Российская Федерация

Одной из центральных проблем фармакотерапии инфекционных заболеваний является активный рост антибиотикорезистентности в отношении наиболее применяемых препаратов, приводящий к дефициту эффективных стратегий ведения пациентов. Возможной альтернативой в данной ситуации может служить оценка современных возможностей антибактериальных препаратов, чье применение в клинической практике было минимизировано в течение последних десятилетий. Примером такого препарата является хлорамфеникол, системное применение которого было резко ограничено начиная с 60-х гг. XX в. вследствие сообщений о токсических реакциях (апластическая анемия, синдром «серого ребенка»). Топический хлорамфеникол характеризуется незначительным уровнем системной абсорбции и отсутствием способности вызывать спектр побочных эффектов, типичных для системного применения. Высокий уровень антибактериальной активности хлорамфеникола в отношении широкого спектра грамотрицательных и грамположительных возбудителей (Morganella morganii, Empedobacter brevis, Burkholderia cepacia, Bacteroides spp., H. influenzae, Salmonella typhi, Staphylococcus aureus (включая MRSA), Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Gardnerella vaginalis, Mycoplasma pneumoniae, Mycoplasma hominis, Ureaplasma spp.), включая резистентные штаммы, позволяет применять данный препарат при разнообразном спектре инфекционных заболеваний. Механизм действия и строение, отличающие его от других классов антибактериальных средств, позволяют реализовывать эффективное воздействие в том числе на возбудителей, не содержащих в клеточной стенке пенициллинсвязывающих белков (микоплазмы). Согласно опубликованным данным, сравнительный анализ профиля безопасности хлорамфеникола при системном применении обнаружил отсутствие значимых отличий по отношению к представителям других групп антибактериальных препаратов, за исключением случаев анемии. Данные исследований по применению топической формы хлорамфеникола у беременных не выявили тератогенного потенциала препарата при его использовании в течение 2–3-го месяцев беременности.

***Заключение:** Совокупность данных, свидетельствующих о высокой активности хлорамфеникола в отношении широкого спектра возбудителей, о терапевтической эффективности и удовлетворительном профиле безопасности при местном применении в различных областях (клинические исследования в офтальмологии и гинекологии), указывает на возможность использования его интравагинальной формы в терапии бактериального вагиноза.*

***Ключевые слова:** хлорамфеникол, интравагинальное применение, бактериальный вагинит, вагиноз.*

Вклад авторов: Зырянов С.К. – редактирование материалов публикации; Бутранова О.И. – обзор литературных источников, написание материалов статьи; Ченкуров М.С. – обзор литературных источников.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование: Финансирование данной работы отсутствует.

Для цитирования: Зырянов С.К., Бутранова О.И., Ченкуров М.С. Хлорамфеникол: новые возможности старого препарата. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 81-94
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.81-94

©A group of authors, 2021

S.K. ZYRYANOV[1,2], O.I. BUTRANOVA[1], M.S. CHENKUROV[1]

CHLORAMPHENICOL: NEW POSSIBILITIES OF THE OLD DRUG

[1]Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University),
Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation
[2]City Clinical Hospital No. 24, Moscow Healthcare Department, Moscow, Russian Federation

One of the central problems of pharmacotherapy for infectious diseases is the active rise of antibiotic resistance to the most commonly used drugs, which leads to a shortage of effective patient management strategies. A possible alternative in this situation can be an evaluation of the modern abilities of antibacterial drugs, the use of which in clinical practice has been minimized over the past decades. An example of such a drug is chloramphenicol, the systemic application of which has been sharply limited since the 1960s because of reports on toxic reactions (aplastic anemia, gray baby syndrome). Topical chloramphenicol is characterized by the low level of systemic

absorption and by the absence of its ability to cause a range of side effects typical for systemic use. The high antibacterial activity of chloramphenicol against a wide range of gram-negative and gram-positive pathogens (Morganella morganii, Empedobacter brevis, Burkholderia cepacia, Bacteroides spp., H. influenzae, Salmonella typhi, Staphylococcus aureus (including MRSA), Streptococcus pneumonia, Streptococcus pyogenes, Gardnerella vaginalis, Mycoplasma pneumoniae, Mycoplasma hominis, and Ureaplasma spp.), including resistant strains, allows its use in a variety of infectious diseases. The mechanism of action and structure of the drug, which distinguish it from other classes of antibacterial agents, make it possible to produce an effective effect, including on pathogens that do not contain penicillin-binding proteins (mycoplasma) in the cell wall. According to the published data, a comparative analysis of the safety profile of systematically used chloramphenicol has revealed no significant differences in that of representatives of other groups of antibacterial drugs, with the exception of anemia cases. The studies on the application of topical chloramphenicol in pregnant women have not revealed its teratogenic potential of the drug when used during 2–3 months of pregnancy.

Conclusion: *The pooled data suggesting that chloramphenicol has high activity against a broad range of pathogens, therapeutic efficacy, and a satisfactory safety profile when applied topically in various fields (clinical studies in ophthalmology and gynecology) indicates that its intravaginal formulation can be used to treat bacterial vaginosis.*

Keywords: *chloramphenicol, intravaginal administration, bacterial vaginitis, vaginosis.*

Authors' contributions: Zyryanov S.K. – editing of publication materials; Butranova O.I. – review of literature sources, writing the article; Chenkurov M.S. – review of literature sources.
Conflicts of interest: The authors declare that there are no conflicts of interest.
Finding: There is no funding for this work.

For citation: Zyryanov S.K., Butranova O.I., Chenkurov M.S. Chloramphenicol: new possibilities of the old drug. Akusherstvo i Ginekologiya/ Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 81-94 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.81-94

Глобальный рост антибиотикорезистентности приводит к уменьшению доступного арсенала средств для терапии инфекционных заболеваний. Прежде всего снижается эффективность наиболее распространенных препаратов; скорость процесса коррелирует с уровнем потребления антибиотиков населением. По данным Robertson J. et al. (2021) [1], в 2018 г. общее потребление системных антибактериальных препаратов (ATC J01) варьировалось от 8,9 до 34,1 установленных суточных доз (defined daily doses, DDD) на 1000 человек в день, лидировала группа пенициллинов. В работе Klein E.Y. et al. (2020) осуществлен анализ глобального потребления антибактериальных препаратов в период 2000–2015 гг. с использованием классификации ВОЗ «AWaRe» (три группы антибактериальных препаратов: Access (доступные), Watch (поднадзорные), Reserve (резервные)). Результаты обнаружили максимальный рост потребления на душу населения антибиотиков группы Watch (на 90,9%; с 3,3 до 6,3 DDD на 1000 человек в день) в сравнении с ростом на 26,2% в группе Access (с 8,4 до 10,6 DDD на 1000 человек в день); средний мировой уровень потребления в 2015 г. составил 17,2 DDD на 1000 человек в день [2]. Пандемия COVID-19 в 2019 г. послужила пусковым фактором беспрецедентного роста потребления антибактериальных средств. Доля пациентов с COVID-19, получавших антибиотики, по данным метаанализа Langford B.J. et al. (2021), составила 74,6% (95% ДИ 68,3–80,0%), при этом бактериальная коинфекция была подтверждена всего у 8,6% [3]. Влияние пандемии на рост потребления наиболее распространенных антибактериальных препаратов было проанализировано в работе Al-Azzam S. et al. (2021). Максимальный рост потребления был обнаружен для антибиотиков группы линкозамидов – на 106%, макролидов – на 57% (азитромицина – на 74%), карбапенемов – на 52%, III поколения цефалоспоринов – на 19% [4]. Приведенные данные указывают на формирование базиса для драматического роста антибиотикорезистентности в отношении указанных групп препаратов, что свидетельствует о целесообразности поиска эффективных альтернатив. Число новых антибиотиков в ряду регистрируемых препаратов составляет минимальную долю (по данным FDA: 2018 г. – 8,4%; 2019 г. – 8,33%) [5], в связи с чем актуальной тенденцией является пересмотр параметров эффективности и безопасности ранее открытых антибактериальных средств, минимально использовавшихся в течение последних десятилетий в широкой клинической практике [6]. Хлорамфеникол, антибиотик широкого спектра действия, был впервые выделен в 1947 г. из культуры актиномицетов *Streptomyces venezuelae*, химический синтез был осуществлен в 1949 г. [7]. Впервые публикации, посвященные хлорамфениколу и его терапевтическим возможностям, появились в базе данных PubMed в 1948 г., число публикаций достигло пика (246) в 1952 г., что отражало активное применение дешевого и высокоэффективного антибиотика в мировой практике, второй пик публикационной активности наблюдался в 1960-е гг. (112 публикаций в 1966 г.) и был обусловлен возникновением сообщений о гематотоксическом и миелосупрессивном действии препарата, синдроме «серого ребенка» [8]. Активная дискуссия в отношении высоких рисков побочных эффектов привела к резкому ограничению системного применения хлорамфеникола. В настоящее время хлорамфеникол применяется преимущественно местно, системное введение используется в качестве резервной альтернативы при ведении пациентов с тяжелыми резистентными инфекциями, тем не менее, показательными

являются результаты национального опроса, включавшего стационары Израиля, по итогам которого 88,9% респондентов отметили, что применение хлорамфеникола оправдано в условиях высоких рисков антибиотикорезистентности [9]. Топический хлорамфеникол широко применяется в офтальмологии и оториноларингологии, стандартные лекарственные формы включают глазные капли, реже мази. Хлорамфеникол лидировал в группе антибактериальных препаратов для применения в офтальмологии по данным анализа числа регистрационных удостоверений, выданных Агентством по регулированию лекарственных средств и товаров медицинского назначения в Великобритании в период с 2001 по 2018 гг. (30 из 48) [10]. По данным Du H.C. et al. (2014), глазные капли и мази, содержащие хлорамфеникол, в 2007–2008 гг. составляли соответственно 68 и 48% от общего объема назначений данных лекарственных форм в офтальмологии [11]. Эффективное применение топического хлорамфеникола в офтальмологии и оториноларингологии предполагает возможность расширения показаний для местного применения данного препарата, в частности, в гинекологической сфере. Впервые системное применение хлорамфеникола в гинекологии было отмечено практически сразу после выхода препарата на рынок, в 50-х гг. XX в., что сопровождалось достаточно большим числом публикаций [12–15]. После возникновения сообщений о тяжелых побочных эффектах его системное применение в данной области было остановлено. В настоящее время возрождается интерес к интравагинальному пути введения хлорамфеникола, что требует полноценного обеспечения врачей информацией об эффективности и безопасности данного антибиотика.

Фармакодинамические характеристики хлорамфеникола

Хлорамфеникол является D-трео-изомером небольшой молекулы, состоящей из р-нитробензольного кольца, соединенного с дихлорацетильным хвостом через 2-амино-1,3-пропандиоловую группу. Бактериостатическая активность широкого спектра является результатом ингибирования синтеза белка на рибосомах, осуществляемого D-трео-изомером при взаимодействии с каталитическим центром пептидил-трансферазы [6, 16]. Дополнительные механизмы действия хлорамфеникола включают нарушение ряда функции рибосом, включая терминацию [17], точность трансляции [18] и биогенез 50S субъединиц [19], а также способность вызывать дефекты рибосомальной сборки путем ингибирования биосинтеза собственных белков рибосом [20]. Помимо антибактериальной активности хлорамфеникола, есть данные, свидетельствующие о его потенциальном противогрибковом действии. В работе Joseph M.R. et al. (2015) *in vitro* было продемонстрировано ингибирование грибкового роста в 73,3% случаев (всего исследовалось 30 штаммов грибов); для каспофунгина этот параметр составил 83,3%, для кетоконазола – 70% [21].

Фармакокинетические характеристики хлорамфеникола

Лекарственные формы хлорамфеникола для системного введения включают эфиры (сукцинат и пальмитат). Эфиры являются пролекарствами, превращающимися в активный хлорамфеникол путем гидролиза. Хлорамфеникол быстро и достаточно полно всасывается при приеме внутрь, создавая высокие концентрации во многих органах, тканях и жидкостях организма, включая спинномозговую жидкость и грудное молоко, проникает через плаценту. Период полувыведения составляет до 3,5 ч, препарат метаболизируется в печени путем глюкуронидации и выводится преимущественно почками [22]. При нарушении функции почек период полувыведения составляет 3–4 ч, при тяжелых нарушениях функции печени – 4,6–11,6 ч. Период полувыведения у детей в возрасте от 1 месяца до 16 лет составляет 3–6,5 ч, у детей в возрасте от 1 до 2 дней – 24 ч, характеризуется высокой вариабельностью [23]. Почечная экскреция хлорамфеникола составляет от 3 до 25%, хлорамфеникола сукцината – от 7 до 45% [24].

Спектр активности хлорамфеникола

Хлорамфеникол обладает широким спектром действия. Высокая эффективность хлорамфеникола в отношении полирезистентной грамотрицательной микрофлоры подтверждается результатами работы Sood S. et al. (2016) [25]. В исследование было включено 650 изолятов грамотрицательных бактерий, из них 75% – полирезистентные (устойчивость минимум к трем различным классам обычно используемых противомикробных препаратов (пенициллины, цефалоспорины, аминогликозиды, фторхинолоны, ингибиторзащищенные β-лактамы и карбапенемы)). В результате обнаружено, что 68% от общего числа изолятов полирезистентных грамотрицательных бактерий были чувствительны к хлорамфениколу. 100% чувствительность была отмечена для *Morganella morganii, Empedobacter brevis u Burkholderia cepacia.*

Параметры высокой активности хлорамфеникола в отношении *Bacteroides spp.* в сравнении с рядом других антибактериальных препаратов приведены в работе Cordero-Laurent E. et al. (2012). 93 из 100 проанализированных штаммов были устойчивы к одному или более из 12 антибиотиков. Резистентность к амоксициллину составила 91%, к тикарциллину и пиперациллину – около 70%. Согласно результатам исследования, все штаммы были чувствительны к хлорамфениколу, имипенему, также высокая активность была продемонстрирована для метронидазола [26].

Современные параметры чувствительности грамотрицательной микрофлоры по отношению к хлорамфениколу были продемонстрированы в исследовании ARMOR. Доля чувствительных штаммов *H. influenzae* составила 99,5% [27].

Профиль активности хлорамфеникола в отношении грамположительной микрофлоры также свидетельствует о высокой эффективности в отношении резистентных штаммов. Работа Croghan C.

et al. (2018) включает данные о чувствительности изолятов метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus* (MRSA), полученных от пациентов с офтальмологическими инфекциями (100 образцов мазков, содержащих MRSA, период получения образцов – с 03.02.2013 по 28.11.2015). Препаратами – лидерами по уровню чувствительности были ванкомицин (100%) и хлорамфеникол (99%) (табл. 1) [28].

В работе Fayyaz M. et al. (2013) оценивалась чувствительность *in vitro* 174 изолятов MRSA к хлорамфениколу. Обнаружено, что 75,86% изолятов были чувствительны к хлорамфениколу (минимальная подавляющая концентрация (МПК) ⩽8 мкг/мл), 38 (21,84%) были устойчивыми (МПК ⩾32 мкг/мл), 4 (2,30%) имели показатели МПК, свидетельствующие о промежуточном диапазоне (МПК ~16 мкг/мл) [29].

Также абсолютная эффективность хлорамфеникола в отношении MRSA была продемонстрирована в более ранней работе исследователей, анализировавших активность данного препарата против изолятов золотистого стафилококка, выделенного у пациентов с глазными инфекциями (n=548). 17 изолятов (3%) были MRSA-положительными и обнаружили полную чувствительность к хлорамфениколу; при этом все изоляты, полученные от пациентов старше 50 лет, были охарактеризованы, как резистентные по отношению к офлоксацину [30].

Согласно данным исследования ARMOR 2019 г. (антибиотикорезистентность среди возбудителей глазных инфекций, исследование включало 1695 изолятов *S. aureus*, 1475 изолятов коагулазонегативных стафилококков, 474 – *S. pneumoniae*, 586 – *H. influenzae* и 599 – *P. aeruginosa*), уровень резистентности *S. aureus* в отношении хлорамфеникола был минимальным – 6,1%, в то время как для азитромицина, ципрофлоксацина и метициллина показатели резистентности составили 60,6, 35,8 и 36,6% соответственно, для клиндамицина уровень резистентности составил 15,4% (табл. 2). Резистентность MRSA к хлорамфениколу составила всего 10,5%. Коагулазонегативные стафилококки были практически абсолютно чувствительны к хлорамфениколу (резистентность – 1,2%) (табл. 3).

Таблица 1. Параметры чувствительности MRSA к различным антибактериальным препаратам [28]

Препарат	Количество восприимчивых образцов / количество протестированных образцов	% MRSA-положительных глазных мазков, восприимчивых к отдельным антибиотикам
Ванкомицин	91/91	100
Хлорамфеникол	96/97	99
Гентамицин	89/99	90
Фузидиевая кислота	69/94	73
Ципрофлоксацин	31/87	36

Таблица 2. Профиль резистентности *S. aureus* в исследовании ARMOR (2019) [27]

Препарат	*S. aureus*											
	Все изоляты				MRSA				MSSA			
	N	%S	%R	$МПК_{90}$	*N*	%S	%R	$МПК_{90}$	*N*	%S	%R	$МПК_{90}$
Ванкомицин	1695	100	0	1	621	100	0	1	1,074	100	0	1
Безифлоксацин	1695	NA	NA	1	621	NA	NA	2	1,074	NA	NA	0,25
Моксифлоксацин	1695	66,4	33,6	4	621	27,2	72,8	16	1,074	89,0	11	1
Гатифлоксацин	1495	65,9	34,1	8	543	26,7	73,3	16	952	88,2	11,8	1
Ципрофлоксацин	1695	64,3	35,8	128	621	24,5	75,5	256	1,074	87,2	12,8	8
Левофлоксацин	1495	65,7	34,3	32	543	26,2	73,9	128	952	88,2	11,8	4
Офлоксацин	1495	65,2	34,9	>8	543	25,8	74,2	>8	952	87,6	12,4	8
Азитромицин	1695	39,4	60,6	>512	621	7,2	92,8	>512	1,074	58,0	42,0	>512
Хлорамфеникол	1495	93,9	6,1	8	543	89,5	10,5	16	952	96,4	3,6	8
Клиндамицин	1695	84,6	15,4	>2	621	69,7	30,3	>2	1,074	93,2	6,8	0,25
Метициллин	1695	63,4	36,6	>2	621	0	100	>4	1,074	100	0	0,5
Тетрациклин	419	95,7	4,3	0,5	103	90,3	9,7	4	316	97,5	2,5	0,5
Тобрамицин	1695	82,6	17,4	128	621	58,9	41,1	256	1,074	96,3	3,7	0,5
Триметоприм	1495	95,7	4,4	4	543	94,1	5,9	2	952	96,5	3,5	4

S – чувствительные изоляты;
R – резистентные изоляты;
MSSA – метициллин-чувствительный *Staphylococcus aureus*;
MRSA – метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus*;
$МПК_{90}$ – минимальная подавляющая концентрация антибиотика для 90% бактерий;
NA – нет данных.

Среди изолятов пневмококка резистентность к хлорамфениколу составила всего 2,5% [27].

Согласно данным Mendes C.M.F. et al. (2001), хлорамфеникол обладал достаточно высокой активностью в отношении β-гемолитического стрептококка: среди изолятов, выделенных из дыхательных путей (n=67), 92% были чувствительны, среди изолятов, выделенных с кожных покровов (n=48), – 88%. Анализ *S. pneumoniae* (n=26, изоляты из дыхательных путей) обнаружил 100% чувствительность к хлорамфениколу и 92% – к клиндамицину [31].

По данным исследования ПеГАС (2014–2017), уровень резистентности *S. pyogenes* (792 изолятов, 14 российских городов) к хлорамфениколу составил 6,1%, к тетрациклину – 17,2%, уровень резистентности к 14- и 15-членным макролидам варьировался от 12,1 до 17,2% [32].

Интересны результаты оценки динамики показателей чувствительности микрофлоры, типичной для офтальмологических инфекций, полученные за 15-летний период. В опубликованной в 2004 г. работе Chalita M.R. et al. оценивалась активность антибиотиков против *Staphylococcus aureus*, коагулазонегативных стафилококков, *Streptococcus spp.* и *Pseudomonas spp.*, полученных из образцов конъюнктивы (n=4585) и роговицы (n=3779) от пациентов, наблюдавшихся в Федеральном университете Сан-Паулу в период с 1985 по 2000 гг. Хлорамфеникол имел высокую активность против *S. aureus* (чувствительность 85% для изолятов из роговицы и 92% – из конъюнктивы), динамика чувствительности коагулазонегативных стафилококков обнаружила рост с 87 до 88,5%, аналогично в случае *Streptococcus spp.* – рост с 95 до 96% [33].

В лечении ряда инфекционных заболеваний, в особенности при поражении слизистых оболочек, большое значение приобретает способность антибактериального препарата преодолевать и разрушать биопленки. В исследовании Liaqat I. et al. (2009) изучались *in vitro* способность к образованию биопленок изолятов *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Achromobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae* и *Bacillus pumilus* и эффективность воздействия антибиотиков. Все протестированные в исследовании изоляты имели высокую способность к образованию биопленок. Сравнение эффективности воздействия хлорамфеникола и тетрациклина обнаружило значительное сокращение образования биопленок в случае первого препарата (p<0,01) [34].

Способность хлорамфеникола нарушать биопленки в случае офтальмологических инфекций была продемонстрирована в исследовании Drago L. et al. (2019). Результаты показали, что хлорамфеникол имел большую активность, чем тобрамицин, в отношении грамположительных бактерий; его применение способствовало предотвращению образования бактериальных биопленок. Хлорамфеникол имел большую активность против *S. aureus* по сравнению с тобрамицином и меньшую против *P. aeruginosa*, тем не менее, хлорамфеникол мог значительно снижать бактериальную адгезию *P. aeruginosa* [35].

Традиционно сохраняется высокая чувствительность хлорамфеникола в отношении такого специфического возбудителя, как сальмонелла. Patil N. et al. (2019) анализировали 251 изолят

Таблица 3. Профиль резистентности коагулазонегативных стафилококков в исследовании ARMOR (2019) [27]

Препарат	Коагулазонегативные стафилококки											
	Все изоляты				Метициллин-резистентные				Метициллин-чувствительные			
	N	%S	%R	$МПК_{90}$	*N*	%S	%R	$МПК_{90}$	*N*	%S	%R	$МПК_{90}$
Ванкомицин	1475	100	0	2	717	100	0	2	758	100	0	2
Безифлоксацин	1475	NA	NA	2	717	NA	NA	4	758	NA	NA	0,25
Моксифлоксацин	1475	68,9	31,1	16	717	48,5	51,5	32	758	88,1	1,9	1
Гатифлоксацин	1331	66,9	33,1	16	641	44,2	55,9	32	690	88,1	11,9	1
Ципрофлоксацин	1475	65,1	34,9	64	717	42,0	58,0	64	758	86,9	13,1	4
Левофлоксацин	1331	66,6	33,4	128	641	43,4	56,6	128	690	88,1	11,9	4
Офлоксацин	1331	66,2	33,8	>8	641	43,1	56,9	16	690	87,7	12,3	8
Азитромицин	1475	38,8	61,2	>512	717	21,8	78,2	>512	758	54,9	45,1	>512
Хлорамфеникол	1331	98,8	1,2	8	641	98,4	1,6	8	690	99,1	0,9	4
Клиндамицин	1,475	73,9	26,1	>2	717	63,9	36,1	>16	758	83,4	16,6	2
Метициллин	1,445	51,4	48,6	>2	717	0	100	>2	758	100	0	0,25
Тетрациклин	381	86,1	13,9	>16	176	82,4	17,6	>16	205	89,3	10,7	8
Тобрамицин	1,475	83,1	17,0	8	717	72,3	27,8	32	758	93,3	6,7	4
Триметоприм	1,331	72,1	28,0	>128	641	58,4	41,7	256	690	84,8	15,2	128

Примечание: NA – нет данных.

Salmonella (192 (76,5%) – *S. typhi*, 59 (23,5%) – *S. paratyphi A*). 94,4% (237/251) изолятов были чувствительны к хлорамфениколу и только 3,6% (9/251) – к офлоксацину. Средняя величина минимальной подавляющей концентрации для хлорамфеникола составила 3,89±6,94 мкг/мл [36]. По данным отечественной работы, где анализировались параметры антибиотикорезистентности *S. typhi* (299 изолятов, период 2005–2018 гг., территория Российской Федерации), было обнаружено, что доля чувствительных к хлорамфениколу изолятов составила 97,3%, при этом чувствительность к фторхинолонам составила всего 10,4% [37].

Эффективность хлорамфеникола в отношении такого микроорганизма, как *Gardnerella vaginalis*, являющегося одним из доминирующих возбудителей бактериального вагиноза, лежит в основе возможности его местного применения в гинекологии. В работе Kharsany A.B. et al. (1993) была продемонстрирована чувствительность 93 штаммов *Gardnerella vaginalis* к 25 антибактериальным препаратам (определялась МПК). Результаты обнаружили, что все штаммы были чувствительны к пенициллину ($МПК_{90}$ – 0,5 мкг/мл), ампициллину ($МПК_{90}$ – 0,5 мкг/мл), эритромицину ($МПК_{90}$ – 0,06 мкг/мл), клиндамицину ($МПК_{90}$ – 0,03 мкг/мл), ванкомицину ($МПК_{90}$ – 0,5 мкг/мл) и хлорамфениколу ($МПК_{90}$ – 2,0 мкг/мл) (табл. 4) [38].

Более поздняя работа de Souza D.M.K. et al. (2016) продемонстрировала 100% уровень чувствительности изолятов *Gardnerella vaginalis* к хлорамфениколу. В исследование было включено 204 изолята *G. vaginalis*, полученных от 42 пациенток (37 – с бактериальным вагинозом, 5 – не с бактериальным вагинозом) [39]. Высокий уровень резистентности *Gardnerella vaginalis* к наиболее распространенным в клинической практике антибиотикам

Таблица 4. Чувствительность *Gardnerella vaginalis* к различным антибактериальным препаратам [38]

Препарат	МПК, мкг/мл		
	границы	50%	90%
Метронидазол	2,0–128,0	8,0	16,0
1-(2-гидроксиэтил)-2-гидроксиметил-1,5-нитроимидазол	0,25–16,0	1,0	4,0
Тинидазол	1,0–128,0	8,0	8,0
Пенициллин G	0,015–0,5	0,12	0,5
Ампициллин	0,03–1,0	0,5	0,5
Цефамандол	0,12–2,0	1,0	2,0
Цефокситин	0,06–4,0	1,0	1,0
Цефуроксим	0,06–4,0	1,0	4,0
Цефотаксим	0,25–4,0	2,0	2,0
Цефтриаксон	0,06–4,0	0,5	2,0
Азтреонам	4,0–32,0	32,0	32,0
Имипенем	0,06–1,0	0,25	1,0
Тетрациклин	2,0–128,0	64,0	64,0
Миноциклин	0,12–16,0	2,0	16,0
Эритромицин	0,007–0,06	0,03	0,06
Клиндамицин	0,007–0,03	0,01	0,03
Ванкомицин	0,12–0,5	0,25	0,5
LY146032 (циклический липопептид)	0,5–8,0	4,0	8,0
Хлорамфеникол	0,5–2,0	1,0	2,0
Амикацин	8,0–128,0	32,0	128,0
Рифампицин	0,5–0,5	1,0	2,0
Ципрофлоксацин	1,0–4,0	1,0	2,0
Сульфаметоксазол	128,0–128,0	>128,0	>128,0
Триметоприм	0,5–4,0	2,0	4,0
Ко-тримоксазол	4,0–64,0	64,0	64,0

был представлен вработе Ara N.N.R. et al. (2017), включившей в анализ 38 изолятов. Резистентность возбудителя отмечалась в отношении тетрациклина (81,58%), ко-тримоксазола (78,95%), ципрофлоксацина (68,42%), метронидазола (52,63%). При этом 73,68% изолятов продемонстрировали чувствительность к хлорамфениколу [40].

Таким образом, при сравнении результатов приведенных исследований можно сказать, что за 24 года показатели чувствительности *Gardnerella vaginalis* к хлорамфениколу не претерпели драматического снижения, в отличие от ряда других антибактериальных препаратов, что свидетельствует о возможности эффективного местного применения данного препарата в терапии бактериального вагиноза наряду с другими топическими антибактериальными препаратами, такими как клиндамицин.

Следующая значимая группа возбудителей бактериального вагиноза включает микоплазм и уреаплазм. В отношении данных возбудителей бета-лактамные антибиотики являются неэффективными, равно как и другие антибиотики, чей механизм действия включает в качестве мишени клеточную стенку. Микоплазма не имеет пептидогликана, вследствие чего устойчива к бета-лактамам, фосфомицину, гликопептидам, рифампину, полимиксинам, налидиксовой кислоте, сульфонамидам и триметоприму. В отношении хлорамфеникола исследования *in vitro* демонстрируют наличие активности против указанных возбудителей, что является дополнительным преимуществом местного применения данного препарата в гинекологии. В исследовании Wang N. (2020) была проведена оценка активности макролидов, фторхинолонов, тетрациклинов, хлорамфеникола и тиамфеникола в отношении изолятов *Mycoplasma pneumoniae* (n=110), *Mycoplasma hominis* (n=26) и *Ureaplasma spp.* (n=51). Результаты обнаружили высокий уровень резистентности *M. pneumoniae* (97,3%) к 14- и 15-членным макролидам; штаммов, устойчивых к тетрациклинам или хинолонам, не было выявлено. Значения $МПК_{90}$тестируемых макролидов: ацетилмидекамицин (1 мг/л) < джозамицин (4 мг/л) < мидекамицин (8 мг/л) < азитромицин (16 мг/л) < эритромицин (> 128 мг/л). $МПК_{90}$ для тиамфеникола и хлорамфеникола были одинаковыми (2 мг/л). 80,8% *M. hominis* 21 имели резистентность к фторхинолонам. МПК 14- и 15-членных макролидов были высокими в отношении всех изолятов (> 128 мг/л), для 16-членных макролидов величины МПК были значительно ниже (⩽4 мг/л). Хлорамфеникол в отношении *M. hominis* продемонстрировал более низкое значение $МПК_{90}$ (2 мг/л) в сравнении с тиамфениколом (4 мг/л). Все препараты тетрациклинового ряда обладали значительной активностью против *M. hominis*. Анализ *Ureaplasma spp.* обнаружил, что 13,7% изолятов были устойчивыми к хинолонам, всего 2,0% – к тетрациклину. Все изоляты были чувствительны к макролидам, значения $МПК_{90}$: ацетилмидекамицин (0,25 мг/л) < джозамицин (0,5 мг/л) = мидекамицин < азитромицин (1 мг/л) = эритромицин. Хлорамфеникол продемонстрировал более низкую величину $МПК_{90}$ (2 мг/л), чем тиамфеникол (4 мг/л). Результаты исследования обнаружили высокую активность *in vitro* для ацетилмидекамицина, хлорамфеникола и тиамфеникола [41].

Интересны данные о чувствительности микоплазм и уреаплазм, выделенных у беременных женщин, к такому распространенному антибиотику для местного применения в гинекологии, как клиндамицин. В исследовании Longdoh N. et al. (2018) изоляты *U. urealyticum* характеризовались абсолютной резистентностью к клиндамицину. Среди изолятов *Mycoplasma hominis* уровень чувствительности к клиндамицину составил 75%; абсолютная резистентность (100%) была отмечена в отношении макролидов (эритромицин, рокситромицин, кларитромицин), ципрофлоксацина и тетрациклина. В случае коинфекции *U. urealyticum* и *M. hominis* отмечалась устойчивость к клиндамицину, эритромицину, рокситромицину, ципрофлоксацину и кларитромицину [42].

Клиническая эффективность хлорамфеникола

Эффективность вагинального применения хлорамфеникола для терапии генитальных инфекций продемонстрирована в рамках исследования, оценивавшего клиническую эффективность комбинированного препарата, включавшего хлорамфеникол 200 мг. В исследование были включены 500 пациенток от 15 до 85 лет с генитальными инфекциями. Применение препарата привело к улучшению субъективной симптоматики у 98% пациенток, уменьшению лейкореи – у 95%. Излечение было достигнуто в большинстве случаев как острых, так и хронических цервико-вагинальных воспалительных состояний. Полученные результаты свидетельствовали об эффективности местного применения препарата при бактериальном вагините, трихомониазе и смешанном бактериально-микотическом вагините, при цервиците и воспалительных процессах в области малого таза [43].

Эффективность и безопасность применения топического хлорамфеникола как компонента комбинированного препарата Таржифорт (ОАО «Авексима», Россия) изучались в российском многоцентровом исследовании, включавшем 360 женщин в возрасте от 18 до 45 лет с диагнозом «острый вагинит», подтвержденным лабораторно [44]. Продолжительность терапии составила 10 дней. Результаты обнаружили, что эффективность российского препарата Таржифорт оказалась не ниже, чем у препарата Тержинан (Laboratoires Bouchara-Recordati, Франция). В частности, отсутствие боли отмечено как у 98,3% пациенток, получавших Таржифорт, так и пациенток, получавших Тержинан. Чувство жжения было устранено у 97,8% пациенток в обеих группах. Зуд более эффективно устранялся у пациенток, получавших Таржифорт (98,9% против 95,4%). Скорость исчезновения симптомов боли и жжения (4,3 и 4,8 дня) в группе Таржифорта статистически значимо превосходила таковую в группе Тержинана (5,6 и 5,8 дня).

Сравнительная эффективность клиндамицина и хлорамфеникола

Сравнение эффективности клиндамицина и хлорамфеникола было осуществлено в ряде клинических исследований, включавших системное назначение препаратов. Сравнительный анализ эффективности и безопасности системных клиндамицина и хлорамфеникола у пациенток с генитальным сепсисом или абсцессами малого таза (n=102, терапия – пенициллин или аналогичный антибиотик плюс аминогликозид, из них 53 дополнительно получили хлорамфеникол и 49 – клиндамицин) обнаружил аналогичные клинические результаты. У 8 (16%) из 49 пациенток, получавших клиндамицин, и у 3 (8%) из 52 пациенток, получавших хлорамфеникол, применение препарата было прекращено из-за побочных эффектов. По результатам исследования авторы сделали вывод об эквивалентной эффективности и безопасности клиндамицина и хлорамфеникола при терапии гинекологических инфекций [45].

Сравнительный анализ эффективности и безопасности хлорамфеникола, клиндамицина и тикарциллина представлен в работе Harding G.K. et al. (1980), демонстрирующей результаты проспективного рандомизированного сравнительного исследования, включавшего 175 пациенток с тяжелым смешанным аэробно-анаэробным интраабдоминальным или генитальным сепсисом. Было сформировано три группы терапии: хлорамфеникол+гентамицин, клиндамицин+гентамицин, тикарциллин+гентамицин. В случае внутрибрюшного сепсиса показатели излечения были следующими: 79% – для клиндамицина, 81% – для хлорамфеникола, 90% – для тикарциллина. В случае генитального сепсиса: 94% – для клиндамицина, 100% – для хлорамфеникола, 92% – для тикарциллина. Авторы сообщают об эквивалентной эффективности клиндамицина, хлорамфеникола и тикарциллина, использованных в комбинации с гентамицином, в терапии интраабдоминального или генитального сепсиса у женщин [46].

Оценка эффективности клиндамицина и хлорамфеникола с пенициллином в терапии пациенток с септическими абортами проводилась в рандомизированном двойном слепом исследовании, представленном Chow A.W. et al. (1977). Ответ на терапию клиндамицином или пенициллином с хлорамфениколом оценивали у 77 пациенток с септическими абортами. Индекс лихорадки и продолжительность госпитализации были одинаковыми для обеих групп терапии, серьезные осложнения значительно чаще отмечались в группе клиндамицина (p<0,05) [47].

Более полноценный анализ сравнительной эффективности комбинации хлорамфеникола с пенициллином с другими препаратами в терапии пациенток с септическими абортами представлен в систематическом обзоре, включавшем 3 рандомизированных клинических исследования (n=233). Результаты обзора свидетельствуют о том, что клиндамицин не имел существенных отличий от комбинации хлорамфеникол+пенициллин в отношении снижении температуры у женщин (среднее различие – 12,30, 95% ДИ 25,12–0,52; женщин 77; 1 исследование). Не было различий в продолжительности госпитализации между исследуемыми методиками терапии. Средняя продолжительность пребывания в стационаре для женщин в каждой группе составила 5 дней (0,00; 95% ДИ 0,54–0,54; женщин 77; 1 исследование). В одном исследовании оценивалась эффективность комбинации хлорамфеникол+пенициллин в сравнении с цефалотином и канамицином до и после дилатации и кюретажа. Полученные данные свидетельствуют о том, что эффект пенициллина с хлорамфениколом в отношении лихорадки не отличался от эффекта цефалотина в комбинации с канамицином (2,30; 95% ДИ 17,31–12,71; женщин 56; 1 исследование). Не было значимых различий между пенициллином и хлорамфениколом по сравнению с цефалотином и канамицином по результатам УЗИ во время антибиотикотерапии (1,00; 95% ДИ 13,84–11,84; женщин 56; 1 исследование 1) [48].

Профиль токсических реакций

Широкий спектр антибактериального действия хлорамфеникола, активность в отношении резистентных штаммов возбудителей как грамположительной, так и грамотрицательной микрофлоры делают его привлекательной альтернативой многим распространенным в клинической практике препаратам. Основной преградой на пути применения хлорамфеникола являются сомнения в отношении профиля безопасности, что особенно важно в случае применения препарата в гинекологической практике. Данный раздел приводит имеющиеся в настоящее время результаты клинических исследований, демонстрирующие частоту и риск развития различных побочных эффектов хлорамфеникола при системном и местных путях введения.

Системный хлорамфеникол

Высокий уровень проникновения хлорамфеникола при системном введении в абсолютное большинство органов и тканей, включая костный и головной мозг, имеет в своей основе физико-химические характеристики молекулы: липофильность, низкое количество доноров OH и NH-связей (3), низкое число акцепторов N и OH-связей (7), молекулярная масса 323,14 Да [49]. Концентрация обычного хлорамфеникола в тканях мозга и спинномозговой жидкости ниже в сравнении с плазмой, но может значительно повышаться на фоне длительного использования, что может приводить к развитию таких токсических реакций, как митохондриальные невропатии [50].

В случае большинства инфекций наиболее желательными являются пиковые концентрации хлорамфеникола от 10 до 20 мкг/мл (минимальные концентрации от 5 до 12,5 мкг/мл). Терапевтические концентрации зависят от чувствительности конкретного микроорганизма, а также от типа и тяжести инфекции. Концентрационнозависимые токсические реакции отмечаются, как правило, на фоне поддержания стабильных пиковых концентраций в

сыворотке ⩾25 мкг/мл [51]. Перечень токсических реакций, характерных для системного введения хлорамфеникола, включает реакции гематотоксичности, нейротоксичности, гастротоксичности и гиперчувствительности [52].

Согласно современным представлениям, токсичность хлорамфеникола, прежде всего в отношении костного мозга, имеет в своей основе воздействие на митохондрии: способность обратимо ингибировать синтез митохондриального белка и фермент феррохелатазу, необходимую для образования протогема. Гематотоксичность может быть минимизирована на фоне поддержания концентрации хлорамфеникола на уровне 15–25 мг/л [53]. Среди всех гематотоксических реакций наибольшую опасность представляет апластическая анемия. Частота ее развития составляет менее 0,01% [53], наиболее сильное цито- и генотоксическое действие (разрыв цепочек ДНК) оказывает такой метаболит, как нитрозохлорамфеникол [54]. Анализ влияния приема хлорамфеникола и воздействия других факторов на риск развития апластической анемии в популяции стран Латинской Америки продемонстрировал следующие результаты. Общая заболеваемость составила 1,6 случая на 1 млн в год. У лиц, использовавших хлорамфеникол в предыдущем году, скорректированное отношение рисков развития апластической анемии составило 8,7 (ДИ 0,87–87,93), при этом у лиц, получавших азитромицин, данный параметр был равен 11,02 (ДИ: 1,14–108,02), что свидетельствует о сравнительно низких показателях риска применения хлорамфеникола в отношении развития апластической анемии [55].

Следующий значимый побочный эффект – синдром «серого ребенка». Его возникновение у новорожденных обусловлено отсутствием реакции глюкуронидации (детоксикация фазы II) и недостаточной функциональной емкостью почек для выведения неконъюгированных лекарств, в итоге накопленные токсичные метаболиты хлорамфеникола вызывают синдром, характеризующийся гипотонией, цианозом, гипотермией, сердечно-сосудистым коллапсом, пепельно-серым цветом кожи и рвотой. Синдром «серого ребенка» проявляется, как правило, при приеме хлорамфеникола в дозах более 200 мг/сут [56].

Приведенный перечень побочных эффектов хлорамфеникола является достаточно серьезным. Тем не менее объективный сравнительный анализ различных антибиотиков, включая хлорамфеникол, свидетельствует об отсутствии статистически достоверной разницы в частоте развития побочных эффектов (ОР 0,80; 95% ДИ 0,62–1,02). Результаты получены в рамках систематического обзора и метаанализа 66 рандомизированных клинических исследований [57]. Единственная позиция, характеризовавшаяся значительно большим риском в случае приема хлорамфеникола, принадлежала анемии (ОР 2,80; 95% ДИ 1,65–4,75). В отношении нейтропении различий между хлорамфениколом и другими антибиотиками отмечено не было (ОР 1,36; 95% ДИ 0,88–2,11). Частота возникновения кожной сыпи также не имела отличий (ОР 0,85; 95% ДИ 0,57–1,26). Интересно отметить, что желудочно-кишечные побочные эффекты были значительно менее характерны для хлорамфеникола в сравнении с другими препаратами (ОР 0,67; 95% ДИ 0,46–0,99).

Указанные особенности токсического действия хлорамфеникола предполагают его невозможность применения при беременности. Тем не менее опубликованы данные, свидетельствующие о минимальных рисках системного применения хлорамфеникола при беременности. Масштабное исследование Czeizel A.E. et al. (2000) представляло парный анализ случаев с врожденными аномалиями и подобранным контролем, выполненный на основе базы данных (Венгрия) за период 1980–1996 гг. (из 38 151 беременных женщин, родивших детей без каких-либо дефектов (контрольная группа), 51 (0,13%) получала хлорамфеникол *per os*, из 22 865 беременных женщин, чьи новорожденные или плоды имели врожденные аномалии, 52 (0,23%) получали *per os* хлорамфеникол во время беременности). Анализ пары «случай–контроль» не выявил тератогенного потенциала хлорамфеникола при применении в течение 2–3-го месяцев беременности в различных группах врожденных аномалий. Проведенный анализ случаев приема хлорамфеникола не выявил высоких отношений шансов ни для каких врожденных аномалий [58].

Топический хлорамфеникол

Местное применение хлорамфеникола активно используется в клинической практике в терапии офтальмологических, раневых и гинекологических инфекций. Применение хлорамфеникола в виде мази для лечения раневых инфекций характеризуется достаточно высоким профилем безопасности, что подтверждается данными систематического обзора Shen A.Y. et al. (2018), включившего данные MEDLINE, EMBASE и Cochrane Library. Результаты обзора позволили определить, что потенциальные побочные эффекты включали реакции замедленной гиперчувствительности и острый эзофагит, явлений апластической анемии не было отмечено [59].

Основной объем данных о безопасности топического хлорамфеникола получен в области офтальмологии. Во второй половине XX в. активно обсуждался вопрос системной токсичности при применении хлорамфеникола в форме глазных капель, прежде всего, возможность подавления функции костного мозга. В работе Walker S. et al. (1998) применялся метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (предел минимального обнаружения – 1 мг/л) для определения уровня хлорамфеникола в сыворотке у пациентов (n=40), получавших хлорамфеникол в форме глазных капель (средняя доза спустя 1 неделю лечения – 8,0 мг, 2 недели – 15,3 мг). Результаты обнаружили, что при данном пути введения хлорамфеникол не смог создать достаточных для обнаружения концентраций в крови пациентов, что подтверждает отсутствие риска ингибирования костного мозга при местном применении данного препарата [60]. Приведенные данные поддерживаются более позд-

ними исследованиями, в частности результатами рандомизированного двойного слепого плацебо контролируемого клинического исследования, в рамках которого 163 ребенка с конъюнктивитом получали хлорамфеникол в виде глазных капель и 163 – плацебо: распределение и характер побочных эффектов не имели значительных отличий между группами [61]. В работе McGhee C.N. et al., опубликованной в 1996 г., приведены данные о том, что в Великобритании в Комитет по безопасности лекарственных препаратов с 1966 г. поступило только 11 сообщений (нефатальных) о подозрении на гематологические проблемы, вызванные местным применением хлорамфеникола [62].

Наиболее грозное проявление гематотоксичности хлорамфеникола – апластическая анемия. Обсуждение риска возникновения данного побочного эффекта при местном использовании препарата в офтальмологии в 80-х гг. XX в. привело к публикации результатов масштабного проспективного исследования (случай–контроль, период 1980–1995 гг., 67,2 млн человеко-лет), обнаруживших, что частота апластической анемии среди людей, применявших хлорамфеникол (глазные капли и мази), составила 0,36 случая на 1 млн недель лечения против частоты 0,04 случая на 1 млн недель среди лиц, не использовавших препарат [63]. Анализ случаев идиосинкратических и дозозависимых гематотоксических реакций, включая апластическую анемию, был осуществлен в работе Walker S. et al. (1998). Результаты свидетельствовали об отсутствии связи приобретенной апластической анемии и топического хлорамфеникола (лекарственные формы в офтальмологии) [60].

Безопасность топического хлорамфеникола в офтальмологии у беременных подтверждается данными масштабного исследования Thomseth V. et al. (2015). Авторы провели общенациональное когортное исследование, включившее всех женщин, родивших живых детей в период с 1997 по 2011 гг. в Дании (n=966 372), из которых была отобрана популяция получавших, по крайней мере однократно, хлорамфеникол в форме глазных капель или глазной мази в течение первых 84 дней беременности. 6024 женщины подвергались воздействию местного хлорамфеникола в I триместре. Частота врожденных пороков развития составила 3,50% для детей женщин, получавших хлорамфеникол, и 3,49% для не подвергавшихся воздействию. В итоге был сделан вывод, что местное применение хлорамфеникола в I триместре беременности не имело связи с серьезными врожденными пороками развития (скорректированное отношение шансов 1,06; 95% ДИ: 0,91–1,22) или специфическими значительными пороками развития [64]. Подробные данные по влиянию хлорамфеникола на развитие отдельных пороков развития представлены в таблице 5.

Топическое применение хлорамфеникола в гинекологии характеризуется достаточно высоким профилем безопасности, что подтверждается данными исследований, включавшими в том числе беременных.

Оценка безопасности применения хлорамфеникола при интравагинальном введении у беременных была проведена Harauchi S. et al. (2017) [65]. Исследование включало 37 беременных женщин, получавших 100 мг трансвагинального хлорамфеникола 1 раз в день для терапии бактериального вагиноза. Концентрация хлорамфеникола в плазме варьировалась от 0,043 до 73,1 нг/мл (определение методом жидкостной хроматографии/тандемной масс-спектрометрии не ранее 2-го дня приема). По результатам анализа не было обнаружено корреляции между концентрацией хлорамфеникола в плазме женщин и фоновыми состояниями (число предыдущих родов, гестационный возраст при приеме препарата, клинические и лабораторные параметры), а также параметрами здоровья новорожденного (масса тела при рождении, балл по шкале Апгар, гестационный возраст во время рождения) [65].

Обсуждение

Большинство режимов ведения пациенток с бактериальными вагинитами включают в качестве препаратов выбора клиндамицин и метронидазол [66, 67]. Активность хлорамфеникола в отношении грамотрицательной и грамположительной микрофлоры не уступает указанным препаратам; в случае ряда резистентных возбудителей (MRSA) было отмечено превосходство хлорамфеникола [27]. Широкий спектр действия, низкие показатели резистентности разнообразной микрофлоры в отношении хлорамфеникола предполагают клиническую выгоду его применения. Сравнительный профиль безопасности хлорамфеникола свидетельствует о среднем риске побочных эффектов, сопоставимом в большинстве случаев с таковым для наиболее применяемых системных антибиотиков [57].

Анализируя побочные эффекты клиндамицина и метронидазола, можно отметить, что случаи их системного применения также включают гематологическую сферу: в случае клиндамицина возможно возникновение эозинофилии у 0,1–1% пациентов [68], а также DRESS-синдрома [69–71]; в случае метронидазола – у 0,1–1% пациентов может развиваться лейкопения, у 0,01–0,1% – нейтропения, тромбоцитопения, панцитопения, агранулоцитоз [72]. Результаты исследования Soule A.F. et al. (2018) свидетельствуют о развитии лейкопении у 41,2% пациентов, принимавших метронидазол каждые 8 ч [73]. При применении системного хлорамфеникола наиболее значимым побочным эффектом со стороны гематологической сферы является апластическая анемия, возникающая менее чем у 0,01% пациентов [52]. При топическом (интравагинальном) применении риск возникновения системных побочных эффектов зависит от величины системной абсорбции лекарственного препарата. В случае интравагинального введения клиндамицина и метронидазола ни гематотоксические, ни нейротоксические реакции (характерные для их системного применения) не встречаются в широкой клинической практике, несмотря на достаточно высокий уровень системной абсорбции данных антибиотиков. Интравагинальное применение клиндамицина приводит к системной

Таблица 5. Отношения шансов для основных врожденных пороков развития детей женщин, подвергшихся воздействию хлорамфеникола в течение I триместра беременности [64]

Тип аномалии	Новорожденные/плоды с диагностированными серьезными пороками развития		Отношение шансов, ОШ (ДИ 95%)	
	хлорамфеникол, *n*=6024	нет воздействия, *n*=960 348	нескорректированное	скорректированное
Врожденные аномалии нервной системы	9 (0,15%)	1474 (0,15%)	0,97 (0,51–1,88)	1,16 (0,60–2,24)
Дефекты нервной трубки	1 (0,02%)	393 (0,04%)	0,41 (0,06–2,89)	0,46 (0,07–3,30)
Врожденные аномалии глаз	6 (0,10%)	1163 (0,12%)	0,82 (0,37–1,84)	0,63 (0,24–1,68)
Врожденные аномалии уха, лица и шеи	0 (0,0%)	294 (0,03%)	Не значимо	Не значимо
Врожденные аномалии сердца	67 (1,11%)	9109 (0,95%)	1,18 (0,92–1,50)	1,24 (0,96–1,61)
Орофациальные расщелины	10 (0,17%)	1821 (0,19%)	0.88 (0,47–1,63)	0,88 (0,46–1,69)
Врожденные аномалии органов пищеварения	13 (0,22%)	1973 (0,21%)	1,05 (0,61–1,82)	1,07 (0,59–1,93)
Врожденные аномалии внутренней мочевыделительной системы	11 (0,18%)	2921 (0,30%)	0,60 (0,33–1,09)	0,64 (0,34–1,18)
Врожденные аномалии наружных половых органов	18 (0,30%)	2844 (0,30%)	1,01 (0,63–1,61)	1,10 (0,69–1,78)
Врожденные пороки развития конечностей	55 (0,91%)	9551 (0,99%)	0,92 (0,70–1,20)	1,00 (0,76–1,32)
Врожденные пороки развития опорно-двигательного аппарата	12 (0,20%)	1540 (0,16%)	1,24 (0,70–2,20)	1,39 (0,77–2,52)
Хромосомные аномалии	16 (0,27%)	1375 (0,14%)	1,86 (1,13–3,04)	1,63 (0,94–2,82)
Тератогенные синдромы с пороками развития	0 (0,0%)	86 (0,01%)	Не значимо	Не значимо
Генетические синдромы и микроделеции	7 (0,12%)	802 (0,08%)	1,39 (0,66–2,93)	1,61 (0,76–3,39)
Другие пороки развития	9 (0,15%)	1425 (0,15%)	1,01 (0,52–1,94)	1,05 (0,52–2,10)
Врожденные аномалии органов дыхания	6 (0,10%)	1229 (0,13%)	0,78 (0,35–1,74)	0,95 (0,43–2,12)
Дефекты брюшной стенки	2 (0,03%)	290 (0,03%)	1,10 (0,27–4,42)	0,78 (0,11–5,56)
Все основные врожденные аномалии	211 (3,50%)	33476 (3,49%)	1,01 (0,88–1,15)	1,06 (0,91–1,22)

абсорбции до 4,7% в случае крема [74], 30% – в случае овули [75]. Побочные эффекты при применении интравагинального клиндамицина развиваются у 12% [76]. Интравагинальное применение метронидазола характеризуется уровнем системной биодоступности, равным в среднем 20% [77]. Результаты анализа системной биодоступности вводимого интравагинально хлорамфеникола обнаружили значение, близкое к нулевому [65]. Незначительное содержание хлорамфеникола в плазме (0,043–73,1 нг/мл), обнаруженное в данном исследовании [65], указывает на огромное окно между концентрацией, характерной для интравагинального применения, и концентрацией, способной привести к развитию токсических реакций (⩾25 мкг/мл) [51].

Выводы

Опубликованные данные эффективности хлорамфеникола в отношении широкого спектра возбудителей наряду с фармакокинетическими характеристиками, демонстрирующими абсолютно незначительный уровень системной абсорбции препарата при интравагинальном пути введения, делают возможным его применение в лечении бактериальных вагинитов, что расширяет арсенал доступных врачам-гинекологам фармакотерапевтических инструментов.

Лекарственным препаратом для топической терапии неспецифических вагинитов является Таржифорт: комплексное лекарственное средство, содержащее, кроме хлорамфеникола, также метронидазол, натамицин и гидрокортизон. Данные о практически нулевой системной биодоступности хлорамфеникола позволяют клиницисту обоснованно назначать Таржифорт как для лечения вагинитов различной этиологии, так и для профилактики инфекционно-воспалительных осложнений при гинекологических манипуляциях.

Литература/Referenses

1. *Robertson J., Vlahović-Palčevski V., Iwamoto K., Högberg L.D., Godman B., Monnet D.L.* et al. Variations in the consumption of antimicrobial medicines in the European Region, 2014–2018: findings and implications from ESAC-Net and WHO Europe. Front. Pharmacol. 2021; 12: 639207. https://dx.doi.org/10.3389/fphar.2021.639207.
2. *Klein E.Y., Milkowska-Shibata M., Tseng K.K., Sharland M., Gandra S., Pulcini C., Laxminarayan R.* Assessment of WHO antibiotic consumption and

access targets in 76 countries, 2000-15: an analysis of pharmaceutical sales data. Lancet Infect. Dis. 2021; 21(1): 107-15. https://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30332-7.

3. *Langford B.J., So M., Raybardhan S., Leung V., Soucy J.R., Westwood D.* et al. Antibiotic prescribing in patients with COVID-19: rapid review and meta-analysis. Clin. Microbiol. Infect. 2021; 27(4): 520-31. https://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2020.12.018.
4. *Al-Azzam S., Mhaidat N.M., Banat H.A., Alfaour M., Ahmad D.S., Muller A.* et al. An assessment of the impact of coronavirus disease (COVID-19) pandemic on national antimicrobial consumption in Jordan. Antibiotics (Basel). 2021; 10(6): 690. https://dx.doi.org/10.3390/antibiotics10060690.
5. *Andrei S., Droc G., Stefan G.* FDA approved antibacterial drugs: 2018-2019. Discoveries (Craiova). 2019; 7(4): e102. https://dx.doi.org/10.15190/d.2019.15.
6. *Kostopoulou O.N., Magoulas G.E., Papadopoulos G.E., Mouzaki A., Dinos G.P., Papaioannou D., Kalpaxis D.L.* Synthesis and evaluation of chloramphenicol homodimers: molecular target, antimicrobial activity, and toxicity against human cells. PLoS One. 2015; 10(8): e0134526. https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0134526
7. *Aronoff D.M.* Mildred rebstock: profile of the medicinal chemist who synthesized chloramphenicol. Antimicrob. Agents Chemother. 2019; 63(6): e00648-19. https://dx.doi.org/10.1128/AAC.00648-19.
8. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=%22Chloramphenicol%2Ftherapeutic%20use%22%5BMAJR%5D&timeline=expanded
9. *Nizan O., Kennes Y., Colodner R., Saliba W., Edelstein I H., Raz R., Chazan B.* Chloramphenicol use and susceptibility patterns in Israel: a national survey. Isr. Med. Assoc. J. 2015; 17(1): 27-31.
10. *Morgan-Warren P.J., Moraryi J.B.* Trends in licence approvals for ophthalmic medicines in the United Kingdom. Eye (London). 2020; 34(10): 1856-65. https://dx.doi.org/10.1038/s41433-019-0758-7.
11. *Du H.C., John D.N., Walker R.* An investigation of prescription and over-the-counter supply of ophthalmic chloramphenicol in Wales in the 5 years following reclassification. Int. J. Pharm. Pract. 2014; 22(1): 20-7. https://dx.doi.org/10.1111/ijpp.12033.
12. *Giarusso A.* Indications for chloramphenicol in gynecology. Minerva Ginecol. 1952; 4(14): 90-1.
13. *Costa J.E., Guglielmone P.L.* Chloramphenicol; its vaginal use in gynecological infections. Obstet. Ginecol. Lat. Am. 1954; 12(11-12): 565-70. (Spanish)
14. *Antonelli A.* Chloramphenicol & tetracycline in gynecological infections. Dia Med. 1959; 31(19): 488-9. (Spanish).
15. *Schuppius A.* Chloramphenicol therapy in gynecology. Ther. Ggw. 1958; 97(11): 445-7. (German).
16. *Dinos G.P., Athanassopoulos C.M., Missiri D.A., Giannopoulou P.C., Vlachogiannis I.A., Papadopoulos G.E.* et al. Chloramphenicol derivatives as antibacterial and anticancer agents: historic problems and current solutions. Antibiotics (Basel). 2016; 5(2): 20. https://dx.doi.org/10.3390/antibiotics5020020.
17. *Polacek N., Gomez M.J., Ito K., Xiong L., Nakamura Y., Mankin A.* The critical role of the universally conserved A2602 of 23S ribosomal RNA in the release of the nascent peptide during translation termination. Mol. Cell. 2003; 11(1): 103-12. https://dx.doi.org/10.1016/s1097-2765(02)00825-0.
18. *Thompson J., O'Connor M., Mills J.A., Dahlberg A.E.* The protein synthesis inhibitors, oxazolidinones and chloramphenicol, cause extensive translational inaccuracy in vivo. J. Mol. Biol. 2002; 322(2): 273-9. https://dx.doi.org/10.1016/s0022-2836(02)00784-2.
19. *Champney W.S.* The other target for ribosomal antibiotics: inhibition of bacterial ribosomal subunit formation. Infect. Disord. Drug Targets. 2006; 6(4): 377-90. https://dx.doi.org/10.2174/187152606779025842.
20. *Sittak T., Peil L., Xiong L., Mankin A., Remme J., Tenson T.* Erythromycin- and chloramphenicol-induced ribosomal assembly defects are secondary effects of protein synthesis inhibition. Antimicrob. Agents Chemother. 2009; 53(2): 563-71. https://dx.doi.org/10.1128/AAC.00870-08.
21. *Joseph M.R., Al-Hakami A.M., Assiry M.M., Jamil A.S., Assiry A.M., Shaker M.A., Hamid M.E.* In vitro anti-yeast activity of chloramphenicol: A preliminary report. J. Mycol. Med. 2015; 25(1): 17-22. https://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.10.019.
22. *Ambrose P.J.* Clinical pharmacokinetics of chloramphenicol and chloramphenicol succinate. Clin. Pharmacokinet. 1984; 9(3): 222-38. https://dx.doi.org/10.2165/00003088-198409030-00004.
23. https://go.drugbank.com/drugs/DB00446.
24. *Nahata M.C., Powell D.A.* Bioavailability and clearance of chloramphenicol after intravenous chloramphenicol succinate. Clin. Pharmacol. Ther. 1981; 30(3): 368-72. https://dx.doi.org/10.1038/clpt.1981.174.
25. *Sood S.* Chloramphenicol – a potent armament against multi-drug resistant (MDR) gram negative bacilli? J. Clin. Diagn. Res. 2016; 10(2): DC01-3. https://dx.doi.org/10.7860/JCDR/2016/14989.7167.
26. *Cordero-Laurent E., Rodríguez C., Rodríguez-Cavallini E., Gamboa-Coronado M.M., Quesada-Gómez C.* Resistance of bacteroides isolates recovered among clinical samples from a major Costa Rican hospital between 2000 and 2008 to ß-lactams, clindamycin, metronidazole, and chloramphenicol. Rev. Esp. Quimioter. 2012; 25(4): 261-5.
27. *Thomas R.K., Melton R., Asbell P.A.* Antibiotic resistance among ocular pathogens: current trends from the ARMOR surveillance study (2009-2016). Clin. Optom. (Auckl). 2019; 11: 15-26. https://dx.doi.org/10.2147/OPTO.S189115.
28. *Croghan C., Lockington D.* Management of MRSA-positive eye swabs and the potential advantages of chloramphenicol availability in the United Kingdom. Eye (Lond). 2018; 32(1): 157-9. https://dx.doi.org/10.1038/eye.2017.257.
29. *Fayyaz M., Ali Mirza I., Ahmed Z., Kepa M., Kubina R., Kabała-Dzik A.* et al. In vitro susceptibility of chloramphenicol against methicillin-resistant staphylococcus aureus. J. Coll. Physicians Surg. Paki. 2013; 23(9): 637-40.
30. *Shanmuganathan V.A., Armstrong M., Buller A., Tullo A.B.* External ocular infections due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Eye (Lond). 2005; 19(3): 284-91. https://dx.doi.org/10.1038/sj.eye.6701465.
31. *Mendes C.M.F., Sinto S.I., Oplustil C.P.;* ResistNet Brazil Group. *In vitro* susceptibility of gram-positive cocci isolated from skin and respiratory tract to azithromycin and twelve other antimicrobial agents. Braz. J. Infect. Dis. 2001; 5(5): 269-76. https://dx.doi.org/10.1590/S1413-86702001000500005.
32. *Иванчик Н.В., Сухорукова М.В., Чагарян А.Н., Дехнич А.В., Козлов Р.С.* и др. Антибиотикорезистентность клинических штаммов Streptococcus pyogenes в России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «ПеГАС 2014–2017». Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020; 22(1): 40-5. [Ivanchik N.V., Sukhorukova M.V., Chagaryan A.N., Dekhnich A.V., Kozlov R.S. et al. Antimicrobial resistance of clinical Streptococcus pyogenes isolates in Russia: the results of multicenter epidemiological study «PEHASus 2014–2017». Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2020; 22 (1): 40-5. doi:10.36488/cmac.2020.1.40-45.
33. *Chalita M.R., Höfling-Lima A.L., Paranhos A. Jr, Schor P., Belfort R. Jr.* Shifting trends in in vitro antibiotic susceptibilities for common ocular isolates during a period of 15 years. Am. J. Ophthalmol. 2004; 137(1): 43-51. https://dx.doi.org/10.1016/s0002-9394(03)00905-x.
34. *Liaqat I., Sumbal F., Sabri A.N.* Tetracycline and chloramphenicol efficiency against selected biofilm forming bacteria. Curr. Microbiol. 2009; 59(2): 212-20. https://dx.doi.org/10.1007/s00284-009-9424-9.
35. *Drago L.* Chloramphenicol resurrected: A journey from antibiotic resistance in eye infections to biofilm and ocular microbiota. Microorganisms. 2019; 7(9): 278. https://dx.doi.org/10.3390/microorganisms7090278.
36. *Patil N., Male P.* Sensitivity pattern of salmonella typhi and paratyphi a isolates to chloramphenicol and other anti-typhoid drugs: An in Vitro Study. Infect. Drug Resist. 2019; 12: 3217-25. https://dx.doi.org/10.2147/IDR.S204618.
37. *Егорова С.А., Кулешов К.В., Кафтырева Л.А., Матвеева З.Н.* Чувствительность к антибиотикам, механизмы резистентности и филогенетическая структура популяции S. Typhi, выделенных в 2005–2018 гг. в Российской Федерации. Инфекция и иммунитет. 2020; 10(1): 99-110. [Egorova S.A., Kuleshov K.V., Kaftyreva L.A., Matveeva Z.N. The antimicrobial susceptibility, resistance mechanisms and phylogenetic structure

of S. Typhi isolated in 2005–2018 in the Russian Federation. Russian Journal of Infection and Immunity. 2020; 10(1): 99-110. (in Rossian))]. https://dx.doi.org/10.15789/10.15789/2220-7619-ASM-1171.

38. *Kharsany A.B., Hoosen A.A., Van den Ende J.* Antimicrobial susceptibilities of Gardnerella vaginalis. Antimicrob. Agents Chemother. 1993; 37(12): 2733-5. https://dx.doi.org/10.1128/aac.37.12.2733.

39. *de Souza D.M.K., Diniz C.G., Filho D.S.C., Andrade de Oliveira L.M., Coelho D.M., Talha L.S.* et al. Antimicrobial susceptibility and vaginolysin in Gardnerella vaginalis from healthy and bacterial vaginosis diagnosed women. J. Infect. Dev. Ctries. 2016; 10(9): 913-9. https://dx.doi.org/10.3855/jidc.7161.

40. *Ara N.N.R., Husain A., Akter N., Ahmed S.* Detection and antibiotic sensitivity pattern of Gardnerella vaginalis isolated from bacterial vaginosis patients attending Chittagong Medical College Hospital. Chatt. Maa Shi. Hosp. Med. Coll. J. 2017; 16(1): 48-53. https://dx.doi.org/10.3329/cmoshmcj.v16i1.34987.

41. *Wang N., Zhou Y., Zhang H., Liu Y.* In vitro activities of acetylmidecamycin and other antimicrobials against human macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae isolates. J. Antimicrob. Chemother. 2020; 75(6): 1513-7. https://dx.doi.org/10.1093/jac/dkaa027.

42. *Longdoh N., Gregory H.-E., Djeumako W., Nguedia A., Francois-Xavier M.-K., Tebit K.* The occurrence and antimicrobial susceptibility patterns of mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in Pregnant Women in Three District Hospitals in Douala, Cameroon. J. Adv. Med. Med. Res. 2018; 27(11): 1-11. https://dx.doi.org/10.9734/JAMMR/2018/43356.

43. *Zanoschi C., Anton C., Anton E., Costăchescu G., Teleman S., Costăchescu G.* et al. Cervugid ovules in cervico-vaginal infections and cervix uteri precancerous conditions treatment. Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi. 2004; 108(3): 628-34.

44. *Аполихина И.А., Саидова А.С., Куликов И.А., Баранов И.И.* Применение нового комбинированного препарата для местного применения (метронидазол + хлорамфеникол + натамицин + гидрокортизона ацетат) для лечения вагинитов различной этиологии. Акушерство и гинекология. 2020; 7: 143-50. [Apolikhina I.A., Saidova A.S., Kulikov I.A., Baranov I.I. The use of a new topical combination drug (metronidazole + chloramphenicol + natamycin + hydrocortisone acetate) for the treatment of vaginitides of various etiologies. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2020; 7: 143-50. (in Russian). https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.7.143-150.

45. *Ledger W.J., Gee C.L., Lewis W.P., Bobitt J.R.* Comparison of clindamycin and chloramphenicol in treatment of serious infections of the female genital tract. J. Infect. Dis. 1977; 135(Suppl.): S30-4. https://dx.doi.org/10.1093/infdis/135.supplement.s30.

46. *Harding G.K., Buckwold F.J., Ronald A.R., Marrie T.J., Brunton S., Koss J.C.* et al. Prospective, randomized comparative study of clindamycin, chloramphenicol, and ticarcillin, each in combination with gentamicin, in therapy for intraabdominal and female genital tract sepsis. J. Infect. Dis. 1980; 142(3): 384-93. https://dx.doi.org/10.1093/infdis/142.3.384.

47. *Chow A.W., Marshall J.R., Guze L.B.* A double-blind comparison of clindamycin with penicillin plus chloramphenicol in treatment of septic abortion. J. Infect. Dis. 1977; 135(Suppl.): S35-9. https://dx.doi.org/10.1093/infdis/135.supplement.s35.

48. *Udoh A., Effa E.E., Oduwole O., Okusanya B.O., Okafo O.* Antibiotics for treating septic abortion. Cochrane Database Syst. Rev. 2016; (7): CD011528. https://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD011528.pub2.

49. *Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Adv. Drug Deliv. Rev. 2001; 46(1-3): 3-26. https://dx.doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0.

50. *Wang M.Y., Sadum A.A.* Drug-related mitochondrial optic neuropathies. J. Neuroophthalmol. 2013; 33(2): 172-8. https://dx.doi.org/10.1097/WNO.0b013e3182901969.

51. *Dajani A.S., Kauffman R.E.* The renaissance of chloramphenicol. Pediatr. Clin. North Am. 1981; 28(1): 195-202. https://dx.doi.org/10.1016/s0031-3955(16)33970-0.

52. https://www.drugs.com/sfx/chloramphenicol-side-effects.html#refs

53. *Wiest D.B., Cochran J.B., Tecklenburg F.W.* Chloramphenicol toxicity revisited: a 12-year-old patient with a brain abscess. J. Pediatr. Pharmacol. Ther. 2012; 17(2): 182-8. https://dx.doi.org/10.5863/1551-6776-17.2.182.

54. *Ohnishi S., Murata M., Ida N., Oikawa S., Kawanishi S.* Oxidative DNA damage induced by metabolites of chloramphenicol, an antibiotic drug. Free Radic. Res. 2015; 49(9): 1165-72. https://dx.doi.org/10.3109/10715762.2015.1050963.

55. *Maluf E., Hamerschlak N., Cavalcanti A.B., Júnior A.A., Eluf-Neto J., Falcão R.P.* et al. Incidence and risk factors of aplastic anemia in Latin American countries: the LATIN case-control study. Haematologica. 2009; 94(9): 1220-6. https://dx.doi.org/10.3324/haematol.2008.002642.

56. *Cummings E.D., Kong E.L., Edens M.A.* Gray Baby Syndrome. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan. Available at: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448133/

57. *Eliakim-Raz N., Lador A., Leibovici-Weissman Y., Elbaz M., Paul M., Leibovici L.* Efficacy and safety of chloramphenicol: joining the revival of old antibiotics? Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. J. Antimicrob. Chemother. 2015; 70(4): 979-96. https://dx.doi.org/10.1093/jac/dku530.

58. *Czeizel A.E., Rockenbauer M., Sørensen H.T., Olsen J.* A population-based case-control teratologic study of oral chloramphenicol treatment during pregnancy. Eur. J. Epidemiol. 2000; 16(4): 323-7. https://dx.doi.org/10.1023/a:1007623408010.

59. *Shen A.Y., Haddad E.J., Hunter-Smith D.J., Rozen W.M.* Efficacy and adverse effects of topical chloramphenicol ointment use for surgical wounds: a systematic review. A.N.Z. J. Surg. 2018; 88(12): 1243-6. https://dx.doi.org/10.1111/ans.14465.

60. *Walker S., Diaper C.J., Bowman R., Sweeney G., Seal D.V., Kirkness C.M.* Lack of evidence for systemic toxicity following topical chloramphenicol use. Eye (Lond). 1998; 12(Pt. 5): 875-9. https://dx.doi.org/10.1038/eye.1998.221.

61. *Rose P.W., Harnden A., Brueggemann A.B., Perera R., Sheikh A., Crook D., Mant D.* Chloramphenicol treatment for acute infective conjunctivitis in children in primary care: a randomised double-blind placebo-controlled trial. Lancet. 2005; 366(9479): 37-43. https://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66709-8.

62. *McGhee C.N., Anastas C.N.* Widespread ocular use of topical chloramphenicol: is there justifiable concern regarding idiosyncratic aplastic anaemia? Br. J. Ophthalmol. 1996; 80(2): 182-4. https://dx.doi.org/10.1136/bjo.80.2.182.

63. *Laporte J.R., Vidal X., Ballarín E., Ibáñez L.* Possible association between ocular chloramphenicol and aplastic anaemia--the absolute risk is very low. Br. J. Clin. Pharmacol. 1998; 46(2): 181-4. https://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2125.1998.00773.x.

64. *Thomseth V., Cejvanovic V., Jimenez-Solem E., Petersen K.M., Poulsen H.E., Andersen J.T.* Exposure to topical chloramphenicol during pregnancy and the risk of congenital malformations: a Danish nationwide cohort study. Acta Ophthalmol. 2015; 93(7): 651-3. https://dx.doi.org/10.1111/aos.12737.

65. *Harauchi S., Osawa T., Kubono N., Itoh H., Naito T., Kawakami J.* Transfer of vaginal chloramphenicol to circulating blood in pregnant women and its relationship with their maternal background and neonatal health. J. Infect. Chemother. 2017; 23(7): 446-51. https://dx.doi.org/10.1016/j.jiac.2017.03.015.

66. *Muzny C.A., Kardas P.* A narrative review of current challenges in the diagnosis and management of bacterial vaginosis. Sex. Transm. Dis. 2020; 47(7): 441-6. https://dx.doi.org/10.1097/OLQ.0000000000001178.

67. *Пустотина О.А.* Бактериальный вагиноз: патогенез, диагностика, лечение и профилактика. Акушерство и гинекология. 2018; 3: 150-6. [Pustotina O.A. Bacterial vaginosis: pathogenesis, diagnosis, treatment, and prevention. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2018; (3): 150-6. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.3.150-156.

68. https://www.drugs.com/sfx/clindamycin-side-effects.html#professional

69. *Quidley A.M., Bookstaver P.B., Gainey A.B., Gainey M.D.* Fatal clindamycin-induced drug rash with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS) syndrome. Pharmacotherapy. 2012; 32(12): e387-92. https://dx.doi.org/10.1002/phar.1142.

70. *Tian D., Mohan R.J., Stallings G.* Drug rash with eosinophilia and systemic symptoms syndrome associated with clindamycin. Am. J. Med. 2010; 123(11): e7-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2010.04.004.
71. *Karakayalı B., Yazar A.S., Çakir D., Cetemen A., Kariminikoo M., Deliloglu B.* et al. Drug reaction with Eosinophilia and systemic symptoms (DRESS) syndrome associated with cefotaxime and clindamycin use in a 6 year-old boy: a case report. Pan. Afr. Med. J. 2017; 28: 218. https://dx.doi.org/10.11604/pamj.2017.28.218.10828.
72. https://www.drugs.com/sfx/metronidazole-side-effects.html#professional
73. *Soule A.F., Green S.B., Blanchette L.M.* Clinical efficacy of 12-h metronidazole dosing regimens in patients with anaerobic or mixed anaerobic infections. Ther. Adv. Infect. Dis. 2018; 5(3): 57-62. https://dx.doi.org/10.1177/2049936118766462.
74. *Borin M.T., Powley G.W., Tackwell K.R., Batts D.H.* Absorption of clindamycin after intravaginal application of clindamycin phosphate 2% cream. J. Antimicrob. Chemother. 1995; 35(6): 833-41. https://dx.doi.org/10.1093/jac/35.6.833.
75. *Borin M.T., Ryan K.K., Hopkins N.K.* Systemic absorption of clindamycin after intravaginal administration of clindamycin phosphate ovule or cream. J. Clin. Pharmacol. 1999; 39(8): 805-10. https://dx.doi.org/10.1177/00912709922008461.
76. *Fischbach F., Petersen E.E., Weissenbacher E.R., Martius J., Hosmann J., Mayer H.* Efficacy of clindamycin vaginal cream versus oral metronidazole in the treatment of bacterial vaginosis. Obstet. Gynecol. 1993; 82(3): 405-10.
77. *Alper M.M., Barwin B.N., McLean W.M., McGilveray I.J., Sved S.* Systemic absorption of metronidazole by the vaginal route. Obstet. Gynecol. 1985; 65(6): 781-4.

Поступила 01.11.2021
Принята в печать 09.11.2021
Received 01.11.2021
Accepted 09.11.2021

Сведения об авторах:
Зырянов Сергей Кенсаринович, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и клинической фармакологии, Российский университет дружбы народов, 117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.; заместитель главного врача, ГКБ №24 ДЗМ, 127015, Россия, Москва, ул. Писцовая, д. 10, +7(495)787-38-03, zyryanov_sk@rudn.university, http://orcid.org/0000-0002-6348-6867
Бутранова Ольга Игоревна, к.м.н., доцент кафедры общей и клинической фармакологии Медицинского института, Российский университет дружбы народов, 117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6, +7(903)376-71-40, butranova-oi@rudn.ru, http://orcid.org/0000-0001-7729-2169
Ченкуров Михаил Станиславович, аспирант кафедры общей и клинической фармакологии Медицинского института, Российский университет дружбы народов, 117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6, mishach06@hotmail.com, http://orcid.org/0000-0002-8739-2363

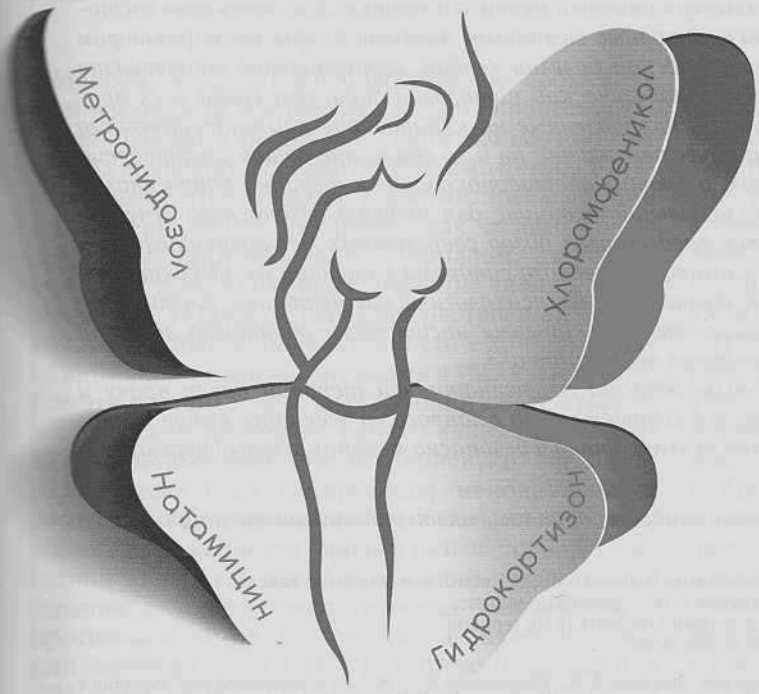
Authors' information:
Sergey K. Zyryanov, Dr. Med. Sci., Professor, Head of the Department of General and Clinical Pharmacology, RUDN University, 117198, Russia, Moscow, Miklukho-Maklay str., 6; Deputy Chief Physician, City Clinical Hospital No. 24 of the Moscow Healthcare Department, 127015, Russia, Moscow, Pistsovaya str., 10, +7(495)787-38-03, zyryanov_sk@rudn.university, http://orcid.org/0000-0002-6348-6867
Olga I. Butranova, PhD, Associate Professor of the Department of General and Clinical Pharmacology of the Medical Institute, RUDN University, 117198, Russia, Moscow, Miklukho-Maklay str., 6, +7(903)376-71-40, butranova-oi@rudn.ru, http://orcid.org/0000-0001-7729-2169
Mikhail S. Chenkurov, graduate student of the Department of General and Clinical Pharmacology of the Medical Institute, RUDN University, 117198, Russia, Moscow, Miklukho-Maklay str., 6, mishach06@hotmail.com, http://orcid.org/0000-0002-8739-2363

ТАРЖИФОРТ®

ОРИГИНАЛЬНАЯ КОМБИНАЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ВАГИНИТОВ[1]

ШИРОКИЙ СПЕКТР ЛЕЧЕНИЯ В ОДНО НАЗНАЧЕНИЕ

④ *вещества*



⑦ *действий*

- **ЭТИО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ**
  1. АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ
  2. ПРОТИВОПРОТОЗОЙНОЕ
  3. ПРОТИВОГРИБКОВОЕ
- **ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ** (СИМПТОМАТИЧЕСКОЕ)
  4. ОБЕЗБОЛИВАЮЩЕЕ
  5. АНТИЭКССУДАТИВНОЕ
  6. ПРОТИВООТЕЧНОЕ
  7. ПРОТИВОЗУДНОЕ

Препарат для эмпирической терапии вагинитов, вызванных различной и/или смешанной флорой.

Препарат с более быстрым эффектом нивелирования клинических симптомов – боль и жжение – относительно препарата сравнения (на 1 сутки быстрее)[2].

Оптимальная основа для суппозиториев – СУППОЦИР АМ – способствует равномерному распределению действующих веществ по поверхности слизистой оболочки, повышает комфорт для пациенток[3].

1. Инструкция по медицинскому применению, (ТАРЖИФОРТ®, суппозитории вагинальные, ЛП-006231 от 02.06.2020); 2. Аполихина И.А., Саидова А.С., Куликов И.А. и соавт. Применение нового комбинированного препарата для местного применения (метронидазол + хлорамфеникол + натамицин + гидрокортизона ацетат) для лечения вагинитов различной этиологии. Акушерство и гинекология, 2020, 7, 143.
3. Боровиков И.О., Куценко И.И., Рубинина Э.Р. и соавт. Преконцепционная подготовка пациенток со смешанным вагинальным дисбиозом. РМЖ. Мать и дитя., 2019, 2, 113.

avexima ОАО «Авексима», 125284, г. Москва, Ленинградский пр., дом 31 А, стр. 1, тел. +7 (495) 258-45-28 Реклама

ТОЛЬКО ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ РАБОТНИКОВ

©Коллектив авторов, 2021

Е.Н. АНДРЕЕВА, Ю.С. АБСАТАРОВА

МЕСТО АЛЬТЕРНАТИВНОЙ ТЕРАПИИ В АЛГОРИТМАХ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОК С КЛИМАКТЕРИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ С ПОЗИЦИИ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация

Многие женщины страдают от различных проявлений климактерического синдрома. Несмотря на то что менопаузальная гормональная терапия является золотым стандартом в купировании приливов, до 80% больных использовали хотя бы один альтернативный метод в попытке облегчить свое состояние. На сегодняшний день известно, что вазомоторные симптомы являются серьезным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний: ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии и гиперлипидемии. Смертность именно от кардиологической патологии лидирует среди всех причин у женщин, поэтому лечебные мероприятия, направленные на купирование климактерического синдрома, становятся борьбой не только за качество жизни, но и за снижение общей смертности. Данная тема особенно актуальна для больных, имеющих противопоказания к терапии эстрогенами, что заставляет врачей обращаться к доказательной медицине для подбора безопасного лечения, адекватного тяжести проявлений. В статье представлен обзор современных медикаментозных и немедикаментозных методик купирования климактерического синдрома с оценкой их эффективности и безопасности: физические упражнения, диетотерапия, психологические методики, растительные препараты, аминокислоты, антидепрессанты (селективные ингибиторы обратного захвата серотонина), габапентин, антагонисты рецептора нейрокинина-3.

***Заключение:** Таким образом, современные возможности альтернативной терапии дают врачу и пациентке достаточно широкий и адекватный в соответствии с запросами женщины выбор лекарственных препаратов, чтобы пациентка прошла комфортно и безопасно менопаузальный переход без потери качества жизни.*

***Ключевые слова:** менопауза, климактерический синдром, приливы, альтернативная терапия, бета-аланин.*

Вклад авторов: Андреева Е.Н., Абсатарова Ю.С. – концепция и дизайн исследования, написание текста; Абсатарова Ю.С. – сбор и обработка материала; Андреева Е.Н. – редактирование.
Конфликт интересов: Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование: Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Для цитирования: Андреева Е.Н., Абсатарова Ю.С. Место альтернативной терапии в алгоритмах ведения пациенток с климактерическим синдромом с позиции персонализированной медицины. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 96-102
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.96-102

©A group of authors, 2021

E.N. ANDREEVA, YU.S. ABSATAROVA

THE PLACE OF ALTERNATIVE THERAPY IN THE ALGORITHMS FOR MANAGING PATIENTS WITH CLIMACTERIC SYNDROME IN THE CONTEXT OF PERSONALIZED MEDICINE

National Medical Research Center of Endocrinology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Many women experience various climacteric manifestations. Despite the fact that menopausal hormone therapy is the gold standard for relieving hot flushes, as many as 80% of patients have used at least one alternative method in an effort to alleviate their condition. It is today known that vasomotor symptoms are a serious risk factor for cardiovascular diseases, such as coronary heart disease, hypertension, and hyperlipidemia. It is the cardiovascular mortality that holds the lead in women; therefore, therapeutic measures aimed at relieving menopausal syndrome become not only the struggle for their quality of life, but also for a reduction in all-cause mortality. This topic is especially relevant for patients with contraindications to estrogen therapy, which forces physicians to look at evidence-based medicine for a safe treatment that is adequate to the severity of manifestations. The paper provides an overview of the current drug and non-drug methods that can relieve climacteric syndrome, by evaluating their efficiency and safety: exercises, diet therapy, psychological procedures, herbal remedies, amino acids, antidepressants (selective serotonin reuptake inhibitors), gabapentin, and neurokinin-3 receptor antagonists.

Conclusion: *Thus, the modern possibilities of alternative therapy allow a physician and a patient to sufficiently widely and adequately choose drugs on the requests of a woman so that she can go through the menopausal transition comfortably and safely, by maintain her quality of life.*

Keywords: *menopause, climacteric syndrome, hot flushes, alternative therapy, beta-alanine.*

Authors' contributions: Andreeva E.N., Absatarova Yu.S. – concept and design of the investigation, writing the text; Absatarova Yu.S. – material collection and processing; Andreeva E.N. – editing.
Conflicts of interest: The authors declare that there are no conflicts of interest.
Funding: The investigation has not been sponsored.

For citation: Andreeva E.N., Absatarova Yu.S. The place of alternative therapy in the algorithms for managing patients with climacteric syndrome in the context of personalized medicine. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 96-102 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.96-102

Менопауза – это физиологическое событие в жизни женщины и естественная часть процесса старения. Только у небольшой части пациенток этот период проходит абсолютно бессимптомно, большинство же сталкиваются с такими проявлениями климактерического синдрома, как вазомоторные симптомы, генитоуринарный синдром, диспареуния, сухость во влагалище, снижение либидо, нарушение сна, усталость, перепады настроения, беспокойство, головные боли, трудности с концентрацией внимания, миалгия, артралгия и увеличение веса. Все эти жалобы побуждают женщин обращаться за медицинской помощью, однако ввиду процветающей гормонофобии многие пациентки ищут альтернативные пути купирования менопаузальных симптомов. Для врача крайне важными являются оценка выраженности проявлений и подбор адекватной степени тяжести и наиболее эффективной терапии с учетом сопутствующих заболеваний и противопоказаний к лечению, а также пожеланий самой женщины [1–3]. Данные исследования WHI (2002) о повышенном онкориске и риске сердечно-сосудистых заболеваний при использовании менопаузальной гормональной терапии (МГТ) [4] дали мощный толчок для изучения эффективности альтернативных препаратов в лечении климактерического синдрома, поэтому пациентки, которые не могут или не хотят принимать эстрогены, получили большой выбор негормональных методов [5].

Климактерический синдром может длиться годами, при этом до 85% женщин испытывают по крайней мере один прилив в день [6], а сами менопаузальные симптомы существенно ухудшают качество жизни [7]. Известно, что вазомоторные проявления могут начаться еще до момента установления менопаузы и продолжаться в течение 4–10 лет, в 10% случаев – до 15 лет, в то время как пик приходится на последнюю менструацию [8]. В крупном метаанализе данных 19 667 женщин (2015) обнаружена взаимосвязь вазомоторных симптомов и сердечно-сосудистых заболеваний. Авторами было продемонстрировано, что участницы с приливами имели значительно более высокие уровни систолического и диастолического артериального давления, а также повышенный риск развития артериальной гипертензии по сравнению с пациентками без приливов [9]. Аналогичные риски были зафиксированы у больных, страдающих «ночными потами», при этом у данной категории оказалась значимо выражена гиперлипидемия – еще один предиктор развития кардиологической патологии. Учитывая лидирующую позицию последней в качестве причин смертности женщин во всем мире, задачей врачей является проведение профилактических и лечебных мероприятий с целью улучшения сердечно-сосудистого профиля и устранения проявлений климактерического синдрома [10].

Интересным прогностическим маркером развития тяжелых вазомоторных симптомов может стать возраст менархе. В объединенном анализе 6 когортных исследований, куда включили данные 18 555 женщин из Великобритании, США и Австралии, было зарегистрировано, что раннее менархе (≤11 лет) повышало вероятность высокой частоты ночных и дневных приливов по сравнению с возрастом менархе в 14 лет и старше [11]. При этом связь была сильнее у пациенток с избыточным весом или ожирением по сравнению с участницами с нормальным индексом массы тела (ИМТ).

В значительной степени менять течение менопаузального перехода может трудовая деятельность, что особенно выражено среди социально незащищенных слоев общества. Многие женщины вынуждены приниматься за низкоквалифицированную, неофициальную работу, вместе с тем любой вид труда помогает справиться с социальными и эмоциональными проблемами климактерия [12]. Работницы, занятые в сфере «случайных», непостоянных заработков, предъявляют в большей степени жалобы на скелетно-мышечные боли как на основной климактерический симптом (а не приливы) и отмечают высокий уровень беспокойства в связи с низким уровнем жизни, здоровья и дискриминацией по возрасту. Все это сказывалось на производительности и в некоторых случаях заставляло женщин уходить или менять работу [13]. В то же время пациентки из социально незащищенного слоя общества отмечали, что им легче справиться с психологическими расстройствами, сопровождающими «климакс», чем с болевым синдромом [14]. В эпоху COVID-19 с его разрушительными экономическими и медицинскими последствиями уязвимые группы женщин, имеющие нестабильную работу, могут столкнуться с усилением выраженности соматических и психологических менопаузальных симптомов, а эстрогендефицитное состояние

делает их более подверженными инфицированию новой коронавирусной инфекцией [15].

Для облегчения состояния женщин и повышения качества жизни разработаны альтернативные методы купирования климактерического синдрома. Их эффективность по сравнению с золотым стандартом – МГТ может быть немного ниже, но безопасность для некоторых категорий пациенток (например, после перенесенного рака молочной железы) не вызывает сомнений. К альтернативным вариантам лечения вазомоторных симптомов относят: физические упражнения, диетотерапию, психологические методики, растительные препараты, аминокислоты, антидепрессанты (селективные ингибиторы обратного захвата серотонина), габапентин, антагонисты рецептора нейрокинина-3. Исследования показывают, что 80% женщин попробовали по меньшей мере один негормональный метод лечения в течение 6-летнего периода менопаузы [16].

Физические упражнения положительно влияют на здоровье пациенток в период менопаузы [17], что может быть использовано в профилактике ряда хронических заболеваний [18]. Систематический обзор 28 рандомизированных клинических исследований с участием 2646 женщин в ранней постменопаузе показал, что наряду с диетой для снижения веса тренировки помогают сохранять нормальный индекс массы тела и минеральную плотность костей, а также увеличивают мышечную силу [19]. В недавнем метаанализе были представлены доказательства положительного влияния физических упражнений на соматические и психологические аспекты качества жизни у женщин с менопаузальными симптомами, однако не был зарегистрирован эффект физических упражнений на общие и социальные показатели. Самыми распространенными вмешательствами среди участниц с вазомоторными проявлениями и нарушениями мочеиспускания оказались тренировки мышц тазового дна и йога. И хотя эти виды нагрузок значительно улучшили физические показатели, их влияние на общие, психологические, сексуальные и вазомоторные симптомы не было значимым [20]. Были получены убедительные доказательства положительного влияния упражнений на уровень окситоцина, кортизола и эстрогена – гормонов, влияющих на сексуальную функцию и оргазм, однако связь между тренировками и сексуальной дисфункцией оказалась слабой [21].

Различные психологические методики применяют для уменьшения частоты и тяжести приливов: когнитивно-поведенческая терапия и когнитивная терапия, основанная на осознанности. Их используют как самостоятельное лечение, так и в комплексе с МГТ, когда не удается полностью купировать вазомоторные симптомы. Возможный механизм действия этих вмешательств заключается в том, что они снижают стресс, который усиливает выраженность приливов, а также уменьшают тревожность, связанную с климактерическим синдромом [22]. В одном из недавних метаанализов, куда включили 12 рандомизированных контролируемых исследований, было зарегистрировано уменьшение выраженности приливов в краткосрочной (<20 недель) и среднесрочной (≥20 недель) перспективе с помощью вышеуказанных методик, в том числе у пациенток после перенесенного рака молочной железы [23].

Одним из медикаментозных альтернативных методов лечения климактерического синдрома является терапия селективными ингибиторами обратного захвата серотонина (СИОЗС). Прямым показанием для их назначения являются депрессивные расстройства, однако эти препараты, в том числе, уменьшают выраженность менопаузальных симптомов. В ходе метаанализа 11 рандомизированных контролируемых исследований (2069 женщин в пери- и постменопаузе, период наблюдения 1–9 месяцев, средний возраст 36–76 лет, среднее время с момента последней менструации – 2,3–6,6 года) авторами было обнаружено, что использование СИОЗС (эсциталопрам, циталопрам и флуоксетин) связано со статистически значимым уменьшением количества приливов после 8-недельного курса по сравнению с плацебо [23]. Частота побочных эффектов (тошнота, сухость во рту, утомляемость, снижение либидо, потоотделение, головокружение и сыпь) в основной группе была сопоставима с контрольной. Сравнительный анализ продемонстрировал преимущества эсциталопрама по сравнению с другими СИОЗС с точки зрения эффективности. Стоит отметить, что до сих пор не стандартизированы длительность и дозы препаратов у пациенток с климактерическим синдромом.

Габапентин и прегабалин рассматривают как еще один альтернативный вариант купирования приливов, хотя официально они не зарегистрированы в России по этому показанию. Эти препараты представляют собой структурные аналоги нейромедиатора гамма-аминомасляной кислоты. Механизм воздействия на вазомоторные симптомы все еще неясен, возможно, данные вещества снижают адренергическую гиперактивность и влияют на зону терморегуляции в гипоталамусе. Результаты метаанализа 7 рандомизированных контролируемых исследований, в которых сравнили монотерапию габапентином и плацебо, показали, что в основной группе значительно снизились частота и продолжительность приливов, однако побочные эффекты встречались чаще [24]. Shan D. et al. в своем метаанализе 19 рандомизированных контролируемых исследований и 2 рандомизированных перекрестных исследований с участием 3519 женщин также отмечают, что габапентин снижал частоту приливов по сравнению с плацебо, в том числе у пациенток после лечения рака молочной железы, однако усиливал головокружение и сонливость. Обращает на себя внимание тот факт, что по эффективности габапентин и антидепрессанты оказались сопоставимы, хотя они «проигрывали» МГТ [25]. Габапентин может иметь преимущества у пациенток, у которых есть противопоказания к гормональной терапии, однако вопрос о дозировке остается открытым ввиду недостаточной его изученности. Доказательства эффективности прегабалина пока ограничены, и требуются дальнейшие исследования.

Растительные препараты чрезвычайно популярны среди женщин, страдающих климактерическим

синдромом, благодаря отсутствию гормонального компонента и «натуральному» составу. На рынке представлен широкий спектр лекарственных веществ и биологически активных добавок на основе изофлавонов и экстрактов сои, красного клевера и цимицифуги. Они обладают слабым эстрогеноподобным эффектом и могут оказывать положительное влияние на менопаузальные симптомы [26]. Накоплено множество данных, которые были представлены в метаанализе Franco O. и соавт., куда включили 62 работы с участием 6653 женщин и оценили эффект растительных препаратов на приливы, ночную потливость и сухость влагалища. Авторы сделали выводы, что использование фитоэстрогенов уменьшало количество ежедневных вазомоторных симптомов и в некоторой степени сухость влагалища, однако не влияло на выраженность ночной потливости, хотя многие исследования оказались низкого качества с высоким риском систематической ошибки (74% работ) [27].

В работе Dizavandi F. et al., куда были включены 2 систематических обзора и 11 рандомизированных клинических исследований, проанализировали эффект фитоэстрогенов на проявления генитоуринарного синдрома. Например, изофлавоны повышали степень созревания влагалищного эпителия и уменьшали его атрофию у женщин в постменопаузе (результат подтвердили, в том числе, для местных форм). Аналогичная эффективность была обнаружена у Pueraria mirifica и крема с конъюгированным эстрогеном в отношении сухости (p=0,277), болезненности (p=0,124) и раздражения (p=0,469), а также выделений (p=0,225) и диспареунии (p=0,089). Однако последний был более эффективным по сравнению с Pueraria mirifica (p>0,005) в отношении улучшения индекса созревания эпителия. Применение 5% вагинального крема с фенхелем и плацебо-геля показало значительную разницу в количестве поверхностных (p<0,01), парабазальных (p<0,01) и промежуточных клеток (p<0,01) эпителия [28].

В отношении безопасности длительного приема фитоэстрогенов данные противоречивы. Метаанализ 174 рандомизированных контролируемых исследований с участием 9626 пациенток показал, что фитоэстрогены обладают благоприятным профилем побочных эффектов [29]. По данным Unfer V. et al., длительное использование соевых фитоэстрогенов, более 5 лет, было связано с повышенным риском гиперплазии эндометрия [30], однако новый метаанализ обнаружил слабую обратную связь между высоким потреблением изофлавонов и бобовых и риском рака эндометрия [31].

Еще одним методом лечения проявлений климактерического синдрома является использование аминокислоты β-аланина. Известно, что она синтезируется в организме, при этом ее амидная группа, присоединяясь к атому Cβ, препятствует включению в состав белка. Механизм действия препарата на основе β-аланина осуществляется двумя путями. На первом этапе (быстрый механизм) блокируются гистаминовые рецепторы Н3, что приводит к стабилизации мембран мастоцитов и подавлению выброса гистамина и брадикинина, обладающих вазодилататорным эффектом. Одновременно активируются рецепторы глицина в гипоталамическом центре терморегуляции, при этом воздействие β-аланина более продолжительно по сравнению с глицином, таким образом, купируется прилив за счет нормализации вазомоторики и терморегуляции [32]. На втором этапе (медленный механизм) в процессе метаболизма этой аминокислоты образуются карнозин и пантотеновая кислота, которые принимают участие в синтезе АТФ и модулируют энергетический обмен клетки, что в дальнейшем приводит к сокращению частоты приливов [33]. β-Аланин назначают как в монотерапии вазомоторных симптомов, так и в комплексной – в дополнение к МГТ для усиления эффекта.

История β-аланина насчитывает уже более 50 лет, когда были получены первые данные о его эффективности [34]. Положительный эффект и безопасность β-аланина были доказаны в российской популяции. В проспективном несравнительном исследовании с участием 36 женщин 40–57 лет в случае легкой формы климактерического синдрома у 48% пациенток приливы купировались или становились «слабыми» уже через 10 мин после приема β-аланина по данным дневников самоконтроля. В группе средней степени климактерического синдрома половина участниц отмечали улучшение самочувствия в течение первых минут приема препарата, 42% пациенток – через 30 минут. В ходе ультразвукового исследования органов малого таза и молочных желез не было зафиксировано признаков отрицательного влияния на толщину эндометрия и изменений структуры молочной железы [35].

Евтушенко И.Д. и соавт. оценили эффект от применения β-аланина в когорте пациенток после хирургической менопаузы [36]. В рандомизированном контролируемом исследовании приняли участие 59 пациенток в возрасте старше 45 лет. 38 женщин основной группы получали терапию в течение 1 месяца с последующим профилактическим применением препарата в течение 10 дней каждый месяц 2 месяца подряд. Через 3 месяца лечения было зарегистрировано снижение международного менопаузального индекса (ММИ) с 19,3±2,4 до 9,1±1,5 (p≤0,001), при этом в большей степени β-аланин оказывал влияние на нейровегетативные симптомы, нежели психоэмоциональные. Более выраженное снижение ММИ отмечалось по мере увеличения продолжительности терапии: к концу 1-го месяца – на 26% (p=0,045), к концу 2-го – на 45% (p=0,004) и к концу 3-го – на 55% (p=0,001), что говорит о нарастании эффекта от приема препарата со временем.

Особую группу пациенток представляют больные сахарным диабетом (СД), так как во многих случаях они имеют противопоказания к применению МГТ. Эффективность лечения β-аланином была оценена среди этой категории женщин в проспективном несравнительном исследовании с участием 66 больных с СД 1 типа и 80 пациенток с СД 2 типа с ИМТ ⩾40 кг/м^2, имеющих климактерический синдром различной степени выраженности согласно индексу Куппермана [37]. Через 1 месяц лечения у

40% женщин 1-й группы и у 50% 2-й группы было достигнуто купирование вазомоторных симптомов, а через 3 месяца терапии – у 60 и 70% участниц соответственно. Побочных эффектов не было зарегистрировано ни в одной группе. По данным биохимического анализа крови и коагулограммы не было выявлено статистически значимых отклонений, что особенно важно у пациенток с СД, имеющих обычно на момент окончания менструаций целый спектр сопутствующих метаболических нарушений.

Продолжается разработка новых методов лечения приливов с оценкой их эффективности и безопасности, одним из таких препаратов может стать антагонист рецептора нейрокинина-3 NK3 (действующее вещество фезолинетант) [38]. На сегодняшний день известно 3 основных нейрокинина млекопитающих – это вещество Р, нейрокинин А и нейрокинин В (NKB). Эти нейропептиды являются эндогенными лигандами нейрокининовых рецепторов NK1, NK2 и NK3 соответственно. Последний экспрессируется на нейронах Kisspeptin/Neurokinin B/Dynorphin («KNDy»-нейроны), которые служат генераторами импульсов гонадотропин-рилизинг-гормона и контролируют терморегуляцию, циркадианные ритмы и сон [39]. Дефицит эстрогенов в период менопаузы нарушает передачу сигналов нейронов KNDy, что приводит к их гиперактивации и, впоследствии, к неправильной работе терморегуляторного центра, что, в свою очередь, запускает потоотделение, расширение кожных сосудов и собственно прилив [40].

Антагонисты рецептора нейрокинина-3 были первоначально разработаны для лечения когнитивных расстройств, таких как шизофрения, однако клинические испытания не показали значимого эффекта [41]. Фезолинетант в доклинических исследованиях препятствовал повышению температуры тела по сравнению с контрольной группой, получавшей плацебо. В настоящее время проводится III фаза испытаний [42].

Заключение

Таким образом, современные возможности альтернативной терапии дают врачу и пациентке достаточно широкий и адекватный в соответствии с запросами женщины выбор лекарственных препаратов. Особенно актуальным данный вид лечения климактерического синдрома становится при наличии противопоказаний к МГТ. Безопасный и индивидуальный подход – главные принципы персонализированной медицины, а понимание высокого качества жизни, которое является основной целью медицинской помощи, позволит облегчить симптомы и обеспечить профилактику отдаленных последствий менопаузального перехода.

Литература/References

1. *Кузнецова И.В., Бурчаков Д.И.* Комплементарная и альтернативная терапия менопаузальных симптомов. Акушерство и гинекология. 2017; 11: 168-75. [Kuznetsova I.V., Burchakov D.I. Complementary and alternative therapy for menopausal symptoms. Obstetrics and Gynecology. 2017; 11: 168-75. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.11.168-175.
2. *Schneider H.P.G., Birkhäuser M.* Quality of life in climacteric women. Climacteric. 2017; 20(3): 187-94. https://dx.doi.org/10.1080/13697137.2017.1279599.
3. *Sourouni M., Zangger M., Honermann L., Foth D., Stute P.* Assessment of the climacteric syndrome: a narrative review. Arch. Gynecol. Obstet. 2021; 304(4): 855-62. https://dx.doi.org/10.1007/s00404-021-06139-y.
4. *Rossouw J.E., Anderson G.L., Prentice R.L., LaCroix A.Z., Kooperberg C., Stefanick M.L.* et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. JAMA. 2002; 288(3): 321-33. https://dx.doi.org/10.1001/jama.288.3.321.
5. *Mintziori G., Lambrinoudaki I., Goulis D.G., Ceausu I., Depypere H., Erel C.T.* et al. EMAS position statement: non-hormonal management of menopausal vasomotor symptoms. Maturitas. 2015; 81(3): 410-3. https://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2015.04.009.
6. ACOG Practice Bulletin No. 141: management of menopausal symptoms. Obstet. Gynecol. 2014; 123(1): 202-16. https://dx.doi.org/10.1097/01.AOG.0000441353.20693.78.
7. *Avis N.E., Colvin A., Bromberger J.T., Hess R., Matthews K.A., Ory M.* et al. Change in health-related quality of life over the menopausal transition in a multiethnic cohort of middle-aged women: Study of Women's Health Across the Nation. Menopause. 2009; 16(5): 860-9. https://dx.doi.org/10.1097/gme.0b013e3181a3cdaf.
8. US Preventive Services Task Force: Grossman D.C., Curry S.J., Owens D.K., Barry M.J., Davidson K.W., Doubeni. C.A. et al. Hormone therapy for the primary prevention of chronic conditions in postmenopausal women: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. JAMA. 2017; 318(22): 2224-33. https://dx.doi.org/10.1001/jama.2017.18261.
9. *Franco O.H., Muka T., Colpani V., Kunutsor S., Chowdhury S., Chowdhury R.* et al. Vasomotor symptoms in women and cardiovascular risk markers: systematic review and meta-analysis. Maturitas. 2015; 81(3): 353-61. https://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2015.04.016.
10. *Muka T., Oliver-Williams C., Colpani V., Kunutsor S., Chowdhury S., Chowdhury R.* et al. Association of vasomotor and other menopausal symptoms with risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2016; 11(6): e0157417. https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0157417.
11. *Chung H.F., Zhu D., Dobson A.J., Kuh D., Gold E.B., Crawford S.L.* et al. Age at menarche and risk of vasomotor menopausal symptoms: a pooled analysis of six studies. BJOG. 2021; 128(3): 603-13. https://dx.doi.org/10.1111/1471-0528.16393.
12. *Yoeli H., Macnaughton J., McLusky S.* Menopausal symptoms and work: a narrative review of women's experiences in casual, informal, or precarious jobs. Maturitas. 2021; 150: 14-21. https://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2021.05.007.
13. *Delanoë D., Hajri S., Bachelot A., Mahfoudh Draoui D., Hassoun D., Marsicano E.* et al. Class, gender and culture in the experience of menopause. A comparative survey in Tunisia and France. Soc. Sci. Med. 2012; 75(2): 401-9. https://dx.doi.org/ 10.1016/j.socscimed.2012.02.051.
14. *Audet M., Dumas A., Binette R., Dionne I.J.* Women, weight, poverty and menopause: understanding health practices in a context of chronic disease prevention. Sociol. Health Illn. 2017; 39(8): 1412-26. https://dx.doi.org/10.1111/1467-9566.12593.
15. *Ding T., Zhang J., Wang T., Cui P., Chen Z., Jiang J.* et al. Potential influence of menstrual status and sex hormones on female severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection: a cross-sectional multicenter study in Wuhan, China. Clin. Infect. Dis. 2021; 72(9): e240-e248. https://dx.doi.org/10.1093/cid/ciaa1022.
16. *Bair Y.A., Gold E.B., Zhang G., Rasor N., Utts J., Upchurch D.M.* et al. Use of complementary and alternative medicine during the menopause transition: longitudinal results from the Study of Women's Health Across the Nation. Menopause. 2008; 15(1): 32-43. https://dx.doi.org/10.1097/gme.0b013e31813429d6.

17. *Sternfeld B., Dugan S.* Physical activity and health during the menopausal transition. Obstet. Gynecol. Clin. North Am. 2011; 38(3): 537-66. https://dx.doi.org/10.1016/j.ogc.2011.05.008.
18. *Warburton D.E.R., Bredin S.S.D.* Health benefits of physical activity: a systematic review of current systematic reviews. Curr. Opin. Cardiol. 2017; 32(5): 541-56. https://dx.doi.org/10.1097/HCO.0000000000000437.
19. *Asikainen T.M., Kukkonen-Harjula K., Miilunpalo S.* Exercise for health for early postmenopausal women: a systematic review of randomised controlled trials. Sports Med. 2004; 34(11): 753-78. https://dx.doi.org/10.2165/00007256-200434110-00004.
20. *Nguyen T.M., Do T.T.T., Tran T.N., Kim J.H.* Exercise and quality of life in women with menopausal symptoms: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Int. J. Environ. Res. Public Health. 2020; 17(19): 7049. https://dx.doi.org/10.3390/ijerph17197049.
21. *Carcelen-Fraile M.D.C., Aibar-Almazan A., Martinez-Amat A., Cruz-Diaz D., Diaz-Mohedo E., Redecillas-Peiro M.T.* et al. Effects of physical exercise on sexual function and quality of sexual life related to menopausal symptoms in peri- and postmenopausal women: a systematic review. Int. J. Environ. Res. Public Health. 2020; 17(8): 2680. https://dx.doi.org/10.3390/ijerph17082680.
22. *van Driel C.M., Stuursma A., Schroevers M.J., Mourits M.J., de Bock G.H.* Mindfulness, cognitive behavioural and behaviour-based therapy for natural and treatment-induced menopausal symptoms: a systematic review and meta-analysis. BJOG. 2019; 126(3): 330-9. https://dx.doi.org/10.1111/1471-0528.15153.
23. *Shams T., Firwana B., Habib F., Alshahrani A., Alnouh B., Murad M.H.* et al. SSRIs for hot flashes: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. J. Gen. Intern. Med. 2014; 29(1): 204-13. https://dx.doi.org/10.1007/s11606-013-2535-9.
24. *Yoon S.H., Lee J.Y., Lee C., Lee H., Kim S.N.* Gabapentin for the treatment of hot flushes in menopause: a meta-analysis. Menopause. 2020; 27(4): 485-93. https://dx.doi.org/10.1097/GME.0000000000001491.
25. *Shan D., Zou L., Liu X., Shen Y., Cai Y., Zhang J.* Efficacy and safety of gabapentin and pregabalin in patients with vasomotor symptoms: a systematic review and meta-analysis. Am. J. Obstet. Gynecol. 2020; 222(6): 564-579.e12. https://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2019.12.011.
26. *Кузнецова И.В.* Применение фитоэстрогенов для улучшения качества жизни и сохранения здоровья женщин в периодах менопаузального перехода и постменопаузы. Акушерство и гинекология. 2020; 10: 182-8. [Kuznetsova I.V. The use of phytoestrogens to improve quality of life and to preserve health in women during the menopausal transition and postmenopause. Obstetrics and Gynecology. 2020; 10: 182-8. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.10.182-188.
27. *Franco O.H., Chowdhury R., Troup J., Voortman T., Kunutsor S., Kavousi M.* et al. Use of plant-based therapies and menopausal symptoms: a systematic review and meta-analysis. JAMA. 2016; 315(23): 2554-63. https://dx.doi.org/10.1001/jama.2016.8012.
28. *Dizavandi F.R., Ghazanfarpour M., Roozbeh N., Kargarfard L., Khadivzadeh T., Dashti S.* An overview of the phytoestrogen effect on vaginal health and dyspareunia in peri- and post-menopausal women. Post Reprod. Health. 2019; 25(1): 11-20. https://dx.doi.org/10.1177/2053369118823365.
29. *Tempfer C.B., Froese G., Heinze G., Bentz E.K., Hefler L.A., Huber J.C.* Side effects of phytoestrogens: a meta-analysis of randomized trials. Am. J. Med. 2009; 122(10): 939-46.e9. https://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2009.04.018.
30. *Unfer V., Casini M.L., Costabile L., Mignosa M., Gerli S., Di Renzo G.C.* Endometrial effects of long-term treatment with phytoestrogens: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. Fertil. Steril. 2004; 82(1): 145-8, quiz 265. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.11.041.
31. *Zhong X.S., Ge J., Chen S.W., Xiong Y.Q., Ma S.J., Chen Q.* Association between dietary isoflavones in soy and legumes and endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. J. Acad. Nutr. Diet. 2018; 118(4): 637-51. https://dx.doi.org/10.1016/j.jand.2016.09.036.
32. *Торшин И.Ю., Громова О.А., Лиманова О.А.* «Быстрый эффект» клималанина (β-аланина) при приливах: сравнительное исследование взаимодействий бета-аланина, таурина и глицина с глициновыми рецепторами. Гинекология. 2012; 14(2): 65-9. [Torshin I.Y., Gromova O.A., Limanova O.A. Rapid effect of beta-alanine in the therapy of hot flashes: a comparative biophysical modeling of interactions beta-alanine, taurine and glycine with the glycine receptors. Gynecology. 2012; 14(2): 65-9. (in Russian)].
33. *Громова О.А., Торшин И.Ю., Лиманова О.А., Никонов А.А.* Патофизиология вегетативно-сосудистых пароксизмов (приливы) у женщин в период менопаузы и механизм действия β-аланина. Новая клинико-фармакологическая концепция. Гинекология. 2010; 12(2): 29-36. [Gromova O.A., Torshin I.Y., Limanova O.A., Nikonov A.A. Pathophysiology of vegetative-vascular paroxysms (hot flashes) in menopausal women and the mechanism of action of β-alanine. A new clinical and pharmacological concept. Gynecology. 2010; 12(2): 29-36. (in Russian)].
34. *Юренева С.В., Моисеев С.В.* Негормональные методы лечения вазомоторных симптомов менопаузы с позиции медицины, основанной на доказательствах. Клиническая фармакология и терапия. 2010; 19(2): 69-74. [Yureneva S., Moisseyev S. Evidence-based nonhormonal treatment of menopausal vasomotor symptoms. Clinical pharmacology and therapy. 2010; 19(2): 69-74. (in Russian)].
35. *Зароченцева Н.В., Джиджихия Л.К.* Возможности применения клималанина при вазомоторных пароксизмах у женщин в климактерическом периоде. Российский вестник акушера-гинеколога. 2012; 12(3): 92-7. [Zarochentseva N.V., Dzhidzhikhiia L.K. Possibilities of using klimalanin in menopausal women with vasomotor paroxysms. Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist. 2012; 12(3): 92-7. (in Russian)].
36. *Евтушенко И.Д., Петров И.А., Петрова М.С., Ткачев В.Н., Кислях С.В.* Применение β-аланина для терапии дефицита эстрогенов при хирургической менопаузе. Акушерство и гинекология. 2014; 4: 93-5. [Evtushenko I.D., Petrov I.A., Petrova M.S., Tkachev V.N., Kislyak S.V. Use of β-alanine for therapy for estrogen deficiency in surgical menopause. Obstetrics and Gynecology. 2014; 4: 93-5. (in Russian)].
37. *Григорян О.Р., Андреева Е.Н.* Альтернативные и дополнительные методы терапии в климактерии у женщин с сахарным диабетом 1-го и 2-го типов. Проблемы репродукции. 2013; 1: 87-90. [Grigorian O.R., Andreeva E.N. The alternative and additional methods of therapy in climacteric patients with menopause and diabetes mellitus type 1 and 2. Russian Journal of Human Reproduction. 2013; 1: 87-90. (in Russian)].
38. *Depypere H., Lademacher C., Siddiqui E., Fraser G.L.* Fezolinetant in the treatment of vasomotor symptoms associated with menopause. Expert Opin. Investig. Drugs. 2021; 30(7): 681-94. https://dx.doi.org/10.1080/13543784.2021.1893305.
39. *Jayasena C.N., Comninos A.N., Stefanopoulou E., Buckley A., Narayanaswamy S., Izzi-Engbeaya C.* et al. Neurokinin B administration induces hot flushes in women. Sci. Rep. 2015; 5: 8466. https://dx.doi.org/10.1038/srep08466.
40. *Rance N.E., Dacks P.A., Mittelman-Smith M.A., Romanovsky A.A., Krajewski-Hall S.J.* Modulation of body temperature and LH secretion by hypothalamic KNDy (kisspeptin, neurokinin B and dynorphin) neurons: a novel hypothesis on the mechanism of hot flushes. Front. Neuroendocrinol. 2013; 34(3): 211-27. https://dx.doi.org/10.1016/j.yfrne.2013.07.003.
41. *Dawson L.A., Porter R.A.* Progress in the development of neurokinin 3 modulators for the treatment of schizophrenia: molecule development and clinical progress. Future Med. Chem. 2013; 5(13): 1525-46. https://dx.doi.org/10.4155/fmc.13.122.
42. *Fraser G.L., Hoveyda H.R., Clarke I.J., Ramaswamy S., Plant T.M., Rose C.* et al. The NK3 receptor antagonist ESN364 interrupts pulsatile LH secretion and moderates levels of ovarian hormones throughout the menstrual cycle. Endocrinology. 2015; 156(11): 4214-25. https://dx.doi.org/10.1210/en.2015-1409.

Поступила 04.10.2021
Принята в печать 19.11.2021
Received 04.10.2021
Accepted 19.11.2021

Сведения об авторах:
Андреева Елена Николаевна, д.м.н., директор Института репродуктивной медицины, Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии Минздрава России; профессор, Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова Минздрава России, http://orcid.org/0000-0001-8425-0020, 117036, Россия, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11.
Абсатарова Юлия Сергеевна, к.м.н., с.н.с. отделения эндокринной гинекологии, Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии Минздрава России, +7(499)126-75-44, korsil2008@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-0696-5367, 117036, Россия, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11.

Authors' information:
Elena N. Andreeva, Dr. Med. Sci., Professor, Director of the Institute of Reproductive Medicine, National Medical Research Center of Endocrinology, Ministry of Health of the Russian Federation; Professor, A.I. Yevdokimov Moscow State Medical and Dental University, Ministry of Health of the Russian Federation, https://orcid.org/0000-0001-8425-0020, 117036, Russia, Moscow, Dmitry Ulyanov str. 11.
Yulia S. Absatarova, PhD, Senior Researcher of the Department of Endocrine Gynecology, National Medical Research Center of Endocrinology, Ministry of Health of the Russian Federation, +7(499)126-75-44, korsil2008@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-0696-5367, 117036, Russia, Moscow, Dmitry Ulyanov str. 11.

Негормональный лекарственный препарат

КЛИМАЛАНИН®

Бета-аланин 400 мг

ДЛЯ КУПИРОВАНИЯ ПРИЛИВОВ В ПЕРИОД МЕНОПАУЗЫ ЛЮБОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ[1]

- Снижает интенсивность и количество приливов[2]
- Не влияет на гормональный фон[2]
- Существенно улучшает качество жизни женщин[2]

В ВАШИХ СИЛАХ ЖИТЬ БЕЗ ПРИЛИВОВ

Больше информации на сайте:
www.klimalanin.ru

НОВИНКА! Большая упаковка 60 таб.
КУРСОВОЙ ПРИЕМ ПО ВЫГОДНОЙ ЦЕНЕ

КРАТКАЯ ИНСТРУКЦИЯ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА КЛИМАЛАНИН®.
Торговое наименование лекарственного препарата: Клималанин®. **Содержание действующего вещества в одной таблетке:** бета-аланин 400 мг. **Лекарственная форма, форма выпуска:** таблетки, № 30; таблетки, № 60. **Фармакотерапевтическая группа:** противоклимактерическое средство. **Показания для применения:** «приливы» в период менопаузы. **Противопоказания для применения:** повышенная чувствительность к компонентам препарата. Повышенная чувствительность или непереносимость глютена (в связи с наличием в составе препарата пшеничного крахмала). **Способ применения и дозы:** препарат применяют внутрь. 1-2 таблетки ежедневно. Доза может быть увеличена до 3-х таблеток в день. Длительность лечения – от 5-10 дней до исчезновения «приливов». При возобновлении симптомов следует провести повторный курс лечения. **Побочные эффекты:** очень редко: кожные аллергические реакции (зуд, сыпь). Очень редко: преходящие парестезии, как правило, в конечностях. **Взаимодействие с другими лекарственными средствами:** клинически значимых взаимодействий препарата с другими лекарственными средствами не выявлено. **Особые указания:** привыкания к препарату нет, курс лечения может быть назначен на протяжении всего периода вазомоторных клинических нарушений. **Условия отпуска:** отпускают без рецепта. **Наименование и адрес юридического лица, на имя которого выдано регистрационное удостоверение:** Лаборатории Бушара-Рекордати, 70, авеню дю Женераль де Голль, иммебль «Ле Вильсон», 92800 Пюто, Франция. **Производитель:** Лаборатории Бушара-Рекордати, Франция. **Регистрационное удостоверение:** ЛС-002630 от 26.10.2011, актуальная версия инструкции по медицинскому применению от 10.11.2020. **Полная информация о препарате представлена** в инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата Клималанин®, РУ: ЛС-002630 от 26.10.2011.

ПЕРЕД НАЗНАЧЕНИЕМ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ПОЛНЫМ ТЕКСТОМ ИНСТРУКЦИИ. МАТЕРИАЛ ПРЕДНАЗНАЧЕН ДЛЯ СПЕЦИАЛИСТОВ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

1. Овсянникова Т.В., Макаров И.О., Куликов И.А. Клиническая эффективность негормональных методов терапии у женщин в перименопаузе. Акушерство. Гинекология. Репродукция. 2013, Том 7, № 3.
2. Бриль Ю.А. Маркевич Н.Ю., Симановская Х.Ю. Негормональная терапия вазомоторных симптомов климактерия // StatusPraesens. Гинекология, акушерство, бесплодный брак. 2016. №4 (33), с. 95–101.
3. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Клималанин®, РУ № ЛС-002630 от 26.10.2011.

Организация, принимающая претензии:
ООО «Русфик» 123610, Россия, Москва, Краснопресненская наб., д. 12, под. 7, эт. 6, пом. IAЖ
тел.: +7 (495) 225-80-01, факс: +7 (495) 258-20-07
E-mail: info@rusfic.com; www.rusfic.ru

RECORDATI

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

©Коллектив авторов, 2021

Е.В. КУЛАКОВА, О.С. НЕПША, А.Н. ЕКИМОВ, Ю.С. ДРАПКИНА,
Н.П. МАКАРОВА, Л.К. ИБРАГИМОВА, А.П. СЫСОЕВА, Е.А. КАЛИНИНА

ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ ЭМБРИОНОВ В ПРОГРАММАХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ У ПАЦИЕНТОК С НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава, России, Москва, Россия

Согласно данным литературы, наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) приводит к снижению качества/количества ооцитов и эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Ооциты у пациенток с НГЭ могут быть хромосомно нестабильными, что может влиять на частоту анеуплоидий у эмбрионов.

***Цель:** Оценка частоты получения анеуплоидных эмбрионов у женщин с НГЭ по сравнению с соответствующей возрастной группой пациенток без НГЭ, проходивших лечение бесплодия в программах ВРТ.*

***Материалы и методы:** Группу женщин с НГЭ составили 113 пациенток, группу контроля – 211 женщин. Каждая группа была разделена на подгруппы в зависимости от возраста женщины (<35 лет, 35–37 лет, >37 лет). Оценка эмбриона на анеуплоидии проводилась после биопсии трофэктодермы с помощью методики высокопроизводительного секвенирования (NGS).*

***Результаты:** Не было получено статистически значимых различий по показателям эмбриологического этапа, частоты анеуплоидий и исходов программ ВРТ у пациентов с НГЭ и в группе сравнения при сопоставлении одинаковых по возрасту подгрупп.*

***Заключение:** Было показано отсутствие очевидного влияния НГЭ на эффективность программ ВРТ при переносе эуплоидных эмбрионов. Тем не менее потенциальное влияние НГЭ на количество извлеченных MII ооцитов, а также на частоту получения анеуплоидных эмбрионов нельзя игнорировать. Для более подробного изучения влияния стадии НГЭ на частоту анеуплоидии необходимы дополнительные проспективные исследования.*

***Ключевые слова:** анеуплоидии, ПГТ-А, ВРТ, имплантация эмбриона, эндометриоз, НГЭ, высокопроизводительное секвенирование следующего поколения, NGS.*

Вклад авторов: Кулакова Е.В. – редактирование рукописи статьи; Непша О.С., Драпкина Ю.С., Сысоева А.П., Ибрагимова Л.К. – сбор и анализ литературных данных, написание статьи; Екимов А.Н. – проведение преимплантационного генетического тестирования методом высокопроизводительного секвенирования (NGS); Макарова Н.П. – культивирование эмбрионов, проведение биопсии трофэктодермы эмбриона, криоконсервация эмбриона, редактирование и утверждение публикации; Калинина Е.А. – редактирование и утверждение публикации.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.
Финансирование. Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.
Согласие пациентов на публикацию: Пациенты подписали информированное согласие на публикацию своих данных.
Обмен исследовательскими данными: Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Кулакова Е.В., Непша О.С., Екимов А.Н., Драпкина Ю.С., Макарова Н.П., Ибрагимова Л.К., Сысоева А.П., Калинина Е.А. Реимплантационное генетическое тестирование эмбрионов в программах вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с наружным генитальным эндометриозом. Акушерство и гинекология. 2021; 11:
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.

©A group of authors, 2021

E.V. KULAKOVA, O.S. NEPSHA, A.N. EKIMOV, YU.S. DRAPKINA,
N.P. MAKAROVA, L.K. IBRAGIMOVA, A.P. SYSOEVA, E.A. KALININA

PREIMPLANTATION GENETIC TESTING OF EMBRYOS IN ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY PROGRAMS IN PATIENTS WITH EXTERNAL GENITAL ENDOMETRIOSIS

Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

According to published data, external genital endometriosis (EGE) leads to decline of oocyte quality/quantity and the effectiveness of ART programs. In patients with EGE, oocytes may be chromosomally unstable. This may affect the incidence of embryonic aneuploidy.

Aim: *To assess the incidence of aneuploid embryos in women with EGE versus women of appropriate age without EGE, who underwent fertility treatment with ART programs.*

Materials and methods: *The group of women with EGE included 113 women, and the control group included 211 women. The group of women with endometriosis consisted of 113 patients, the control group comprised 211 women. Each group was divided into three subgroups depending on the age (<35 years, 35–37 years, >37 years). To assess whether an embryo was aneuploid, high-resolution next-generation sequencing (NGS) was performed after trophectoderm.*

Results: *There were no statistically significant differences in embryonic parameters, aneuploidy rates in embryos, and the outcomes of ART programs in patients with EGE versus the control when comparing the subgroups of appropriate age.*

Conclusion: *It was shown, that there is no obvious impact of EGE on the effectiveness of ART programs after embryo transfer. However, a potential effect of endometriosis on the number of removed MII oocytes, as well as the rate of aneuploid embryos cannot be ignored. For detailed study of the effect of EGE on the incidence of aneuploidy further prospective research is necessary.*

Keywords: *aneuploidy, PGT-A, ART, embryo implantation, endometriosis, next generation sequencing, NGS.*

Authors' contributions: Kulakova E.V. – editing the text of the article; Nepsha O.S., Drapkina Yu.S., Sysoeva A.P., Ibragimova L.K. – collection and analysis of published data, writing the text of the article; Ekimov A.N. – preimplantation genetic testing for aneuploidy with next generation sequencing (NGS); Makarova N.P. – embryo culture, trophectoderm biopsy, embryo cryopreservation, editing and approval of the article for publication; Kalinina E.A. – editing and approval of the article for publication.

Conflicts of interest: The authors declare that they have no conflicts of interest.

Funding: The study was carried out without attraction of a third-party funding.

Patient Consent for Publication: All patients provided informed consent for the publication of their data.

Authors' Data Sharing Statement: The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Kulakova E.V., Nepsha O.S., Ekimov A.N., Drapkina Yu.S., Makarova N.P., Ibragimova L.K., Sysoeva A.P., Kalinina E.A. Preimplantation genetic testing of embryos in assisted reproductive technology programs in patients with external genital endometriosis Akusherstvo i Gynecologia/ Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 104-112 (in Russian)

https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.104-112

Наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) – хроническое воспалительное заболевание, характеризующееся наличием клеток эктопического эндометрия за пределами полости матки. Среди фертильных женщин частота встречаемости данного заболевания составляет в среднем 10–15%, тогда как среди женщин, страдающих бесплодием, – около 30–50% [1].

Несмотря на значительные успехи в области вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), отсутствие наступления беременности у женщин с эндометриозом связано с активацией различных патогенетических механизмов, лежащих в основе бесплодия при НГЭ. У пациенток с эндометриоидными кистами наблюдается истощение пула примордиальных фолликулов в коре яичников, снижение ответа на стимуляцию функции яичников, что приводит к уменьшению количества и качества зрелых ооцитов по сравнению с аналогичной возрастной группой без НГЭ. Известно также, что НГЭ ассоциирован с нарушением трансформации эндометрия в лютеиновую фазу естественного или стимулированного цикла, что может снижать шанс имплантации эмбриона и наступления беременности в программах ВРТ [2].

НГЭ сопровождается местной воспалительной реакцией с активацией макрофагов, выбросом цитокинов и простагландинов, высвобождением активных форм кислорода (АФК), мобилизацией антиоксидантного ответа, формированием локального окислительно-восстановительного дисбаланса с последующим повреждением липидов, белков и нуклеиновых кислот [3]. Воздействие такой «токсичной среды» влияет и на качество гамет, и на сам процесс оплодотворения, снижая шансы не только на естественное зачатие, но и оказывая отрицательное влияние на качество эмбрионов и их способность к развитию в программах ВРТ [4]. Обсуждается роль АФК в нарушении образования веретен деления во время мейоза: полное созревание ядра зависит от формирования нормальных веретен деления, управляющих сегрегацией хромосом [5, 6]. Мейотические ошибки, имеющие материнское происхождение, являются основной причиной хромосомных анеуплоидий. Данные ошибки возникают на разных стадиях оогенеза, прежде всего, когда гомологичные хромосомы или сестринские хроматиды не подвергаются расхождению, что приводит к несбалансированному распределению генетического материала [6]. В связи с этим ооциты, полученные в результате стимуляции яичников женщин с НГЭ, могут быть хромосомно нестабильными, что может влиять на частоту анеуплоидий у эмбрионов в данной группе пациенток и приводить к ухудшению исходов программ ВРТ.

Анализ хромосомного статуса эмбриона с помощью преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А) направлен на оптимизацию выбора эмбрионов для переноса с целью повышения эффективности программ ВРТ [7]. В настоящее время одним из широко применяемых подходов для оценки хромосомного статуса эмбриона является высокопроизводительное секвенирование следующего поколения (NGS) [8].

Данные о влиянии НГЭ на генетический статус эмбрионов на сегодняшний день достаточно про-

тиворечивы. Однако результаты недавних исследований показали, что исходы программы ВРТ у пациенток с НГЭ и в контрольной группе женщин без НГЭ сопоставимы [9].

Цель настоящей работы заключалась в оценке частоты получения анеуплоидных эмбрионов у женщин с НГЭ по сравнению с соответствующей возрастной группой пациенток без НГЭ, проходивших лечение бесплодия в программах ВРТ.

Материалы и методы

Был выполнен ретроспективный анализ историй болезни, проанализированы и сопоставлены клинические данные 324 супружеских пар, обратившихся за лечением бесплодия в отделение ВРТ в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава РФ с января 2018 по декабрь 2020 гг. Группу женщин с НГЭ составили 113 пациенток. В группу сравнения вошли 211 пациенток без НГЭ. Каждая группа была разделена на три подгруппы в зависимости от возраста женщины (<35 лет, 35–37 лет, >37 лет) для того, чтобы минимизировать влияние возрастного фактора на результаты исследования.

Диагноз НГЭ был поставлен на основании ультразвукового исследования органов малого таза (УЗИ ОМТ) либо на основании данных лапароскопии с гистологическим подтверждением. В исследование были включены женщины с НГЭ I и II степени тяжести. В группу сравнения вошли пациентки с трубно-перитонеальным фактором, бедным ответом, низким овариальным резервом, супружеские пары с идиопатическим бесплодием, а также пары с мужским фактором (МФ) бесплодия. Супружеские пары с тяжелым МФ бесплодия (отсутствие сперматозоидов в эякуляте, выраженная олигозооспермия (количество сперматозоидов <5 млн/мл), проведение аспирации сперматозоидов из яичка) были исключены из исследования ввиду возможной связи тяжелых форм патозооспермии с повышенным уровнем анеуплоидий в гаметах и получаемых эмбрионах в программах ВРТ [10]. Программы ВРТ с использованием донорских клеток были исключены из исследования.

Параметры спермограммы оценивали в ходе предварительного обследования супружеской пары перед программой ВРТ и в день трансвагинальной пункции яичников (ТВП). Сбор материала производился в стерильный контейнер после полового воздержания (3–5 дней). Сперматозоиды для ИКСИ были обработаны с помощью центрифугирования в градиенте плотности с последующей отмывкой в буфере. Идентификацию ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК) и оценку степени зрелости ооцитов проводили под стереомикроскопом на нагретой поверхности стерильного ламинарного бокса. ОКК отмывали от фолликулярной жидкости и крови и помещали в стерильные планшеты (Nunc, Дания) с культуральной средой Continuous Single Culture (CSCM, Irvine Sc., USA) на 2–3 ч с целью предварительной инкубации при температуре +37,0°С и атмосфере с 6% CO_2. Денудирование ооцитов проводилось в растворе гиалуронидазы в течение 20 с (Irvine Sc., USA). Далее ОКК отмывали в среде CSCM (Irvine Sc., USA) и возвращали в лунки. После проведения оплодотворения методом ИКСИ ооциты переносили в среду CSCM (Irvine Sc., USA) для дальнейшего культивирования. Оценку наступления стадии двух пронуклеусов проводили через 14–16 ч после оплодотворения. В случае отсутствия 2 пронуклеусов оплодотворение считали несостоявшимся. Все этапы культивирования проводили в мультигазовых инкубаторах COOK (Ирландия) в каплях по 25 мкл под маслом (Irvine Sc., USA). Среду CSCM (Irvine Sc., USA) не меняли в течение всего процесса культивирования. Бластоцисты, подходящие для генетического анализа, были оценены по классификации, принятой Стамбульским консенсусом по оценке качества эмбрионов в модификации, и соответствовали степени 3BB и выше [11]. Биопсия клеток трофэктодермы осуществлялась на 5 или 6-е сутки культивирования эмбрионов с последующей криоконсервацией биопсированных эмбрионов. Полученные клетки трофэктодермы переносили в пробирки типа Эппендорф, содержащие лизирующий буфер, для проведения молекулярно-генетической диагностики. Процедура ПГТ-А состояла из нескольких этапов: на первом этапе была проведена полногеномная амплификация и подготовка библиотеки для нанесения на чип. Для создания библиотеки к фрагментам ДНК присоединялись специальные молекулярные метки-баркоды, уникальные для каждого образца в постановке. Далее было выполнено ионное полупроводниковое секвенирование с последующим биоинформатическим анализом результатов и подготовкой заключения. В анализ были включены программы ВРТ, включающие перенос одного эуплоидного эмбриона в криопротоколе. Клиническая беременность регистрировалась через 21 день после переноса эмбриона при визуализации плодного яйца в полости матки с помощью УЗИ ОМТ.

Все пациенты прошли комплексное обследование перед проведением программы ВРТ, включающее оценку уровня фолликулостимулирующего гормона, уровень антимюллерова гормона (АМГ), а также УЗИ ОМТ для подсчета количества антральных фолликулов на 2–3-й день менструального цикла. Программа ВРТ проводилась согласно стандартной общепринятой методике и соответствовала рекомендациям, представленным в утвержденных клинических протоколах по ВРТ, у всех участников настоящего исследования [12]. Все пациенты, включенные в исследование, подписали информированное добровольное согласие, одобренное этическим комитетом, и согласие на обработку своих персональных данных. Начало стимуляции функции яичников приходилось на 2–3-й день менструального цикла по стандартному протоколу с использованием антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона (ант-ГнРГ) и рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона или менопау-

зального гонадотропина человека. Для предотвращения преждевременного пика лютеинизирующего гормона при достижении фолликулом диаметра 14 мм назначался препарат ант-ГнРГ в дозе 0,25 мг/сут. Для финального созревания ооцитов по достижении диаметра фолликулов ⩾17 мм назначался человеческий хорионический гонадотропин в дозе 10 000 МЕ в качестве триггера овуляции. В случае риска развития синдрома гиперстимуляции яичников в качестве триггера финального созревания ооцитов был назначен трипторелин в дозе 0,2 мг. В условиях операционной под внутривенной анестезией через 35 ч после введения триггера овуляции была выполнена ТВП с забором фолликулярной жидкости и последующей оценкой качества ооцитов. Полученные эмбрионы были витрифицированы до получения результатов ПГТ-А согласно инструкции производителя культуральных сред для витрификации и разморозки эмбрионов (Kitazato, Япония) [13]. После получения результатов биопсии у пациенток осуществлялась подготовка эндометрия к переносу криоконсервированных эмбрионов с использованием циклической гормональной терапии (эстрадиола валерат в дозе 8 мг/сут с 4–5-го дня менструального цикла, микронизированный прогестерон 400–600 мг/сут с 15–16-го дня менструального цикла). Перенос эмбриона осуществлялся на 20–21-й день менструального цикла, размораживание эмбрионов проводилась согласно инструкции производителя культуральных сред для витрификации и разморозки эмбрионов (Kitazato, Япония) [13].

Статистический анализ

Статистическая обработка данных выполнялась с помощью таблиц Microsoft Excel и статистической программы SPSS Statistics 22 (США.) Для анализа количественных данных в группах определялся вид распределения данных (тест Колмогорова–Смирнова, графический анализ данных). Статистический анализ проводили с помощью χ^2-теста для сравнения категориальных данных и теста Манна–Уитни при парном сравнении в случае, когда распределение не соответствовало закону нормального распределения. При распределении признаков, отличающемся от нормального, их описывали в виде медианы (Me) и квартилей Q1 и Q3 в формате Me (Q1;Q3). Величину порогового уровня значимости p принимали равной 0,05.

Результаты

Сравнение одновозрастных групп пациенток позволило получить наиболее объективную оценку влияния НГЭ на частоту анеуплоидий и этапы программ ВРТ.

В ходе сравнительного анализа двух групп было показано, что среднее количество ОКК, полученных в день ТВП, число зрелых ооцитов и число нормально оплодотворенных ооцитов (зигот 2PN2PB) в группе женщин с НГЭ было статистически значимо выше, чем аналогичные показатели в группе сравнения, что обусловлено определенными критериями отбора: в группу сравнения вошли женщины, как с трубно-перитонеальным фактором бесплодия, так и пациентки с бедным ответом и низким уровнем АМГ. Стоит отметить, что в группе сравнения большую долю составили пациенты старшего репродуктивного возраста (>37 лет, n=103) (табл. 1).

В подгруппе женщин старше 37 лет группы сравнения статистически значимо чаще встречались пациентки более старшего возраста, по сравнению с аналогичной возрастной подгруппой женщин с НГЭ. Количество попыток программ ВРТ статистически значимо было больше у пациенток в группе без НГЭ, по сравнению с группой с НГЭ в подгруппе пациенток моложе 35 лет. Анализ показателей эякулята в день ТВП показал, что в подгруппе пациенток <35 лет у мужчин группы сравнения процент морфологически нормальных сперматозоидов был ниже (2% против 3%), чем аналогичный показатель среди партнеров женщин в группе с НГЭ (p=0,001),

Таблица 1. Характеристика анализируемых групп

Параметры	Группа сравнения, n=211	Исследуемая группа (НГЭ), n=113	Уровень значимости p (U-критерий Манна–Уитни)
Возраст женщины, лет	37 (33; 41,0)	33 (30,0; 35,0)	$0{,}0087\times10^{-12}$
Возраст мужчины, лет	38 (34,0; 44,0)	34 (32,0; 39,5)	$0{,}0093\times10^{-4}$
Попытка ВРТ	2 (1,0; 3,0)	2 (1,0; 2,0)	0,073
Общая концентрация сперматозоидов в 1 мл в день ТВП, млн	54 (28,0; 82,0)	62,5 (37,0; 82,0)	0,173
% прогрессивно подвижных сперматозоидов	49 (35,0; 62,0)	49,5 (40,3; 58,8)	0,927
% морфологически нормальных сперматозоидов	2 (1,0; 3,0)	2 (2,0; 3,0)	0,030
Количество ОКК	7 (4,0; 12,0)	10 (6,0; 15,5)	0,00027
Количество зрелых ооцитов MII	6 (3,0; 9,0)	7 (5,0; 12,0)	0,00039
Количество зигот 2PN2PB	5 (3,0; 8,0)	6 (4,0; 10,0)	0,002
Количество эуплоидных эмбрионов	1 (0; 2,0)	1 (0; 2,0)	0,030

*Данные представлены как медианы с интерквартильным размахом, тест Манна–Уитни.

что объясняется включением в данную группу супружеских пар с МФ бесплодия. В отношении других характеристик эякулята не было выявлено значимых различий. Сравнительный анализ эмбриологического этапа показал сходные параметры по количеству полученных ОКК и зрелых ооцитов, а также частоте оплодотворения между сопоставимыми по возрасту подгруппами женщин, как в группе с НГЭ, так и в группе без НГЭ (табл. 2).

При попарном сравнении других анализируемых характеристик между аналогичными по возрасту подгруппами в двух анализируемых группах не было выявлено статистически значимых различий ($p>0,05$).

Статистически значимых различий при сравнении анализируемых характеристик между двумя аналогичными по возрасту подгруппами двух анализируемых групп не было выявлено ($p>0,05$) (критерий χ^2).

Статистически значимых различий при сравнении анализируемых характеристик между двумя аналогичными по возрасту подгруппами двух анализируемых групп не было выявлено ($p>0,05$) (критерий χ^2).

Результаты ПГТ-А показали, что в группе женщин без НГЭ частота анеуплоидий составила 52,9% (283/535) против 47,8% (160/335) в группе с НГЭ, что не имело статистически значимой разницы (табл. 3). Аналогичные результаты были получены при сравнении одновозрастных подгрупп пациенток. Однако стоить отметить, что частота анеуплоидий среди пациенток с НГЭ в подгруппах <35 и 35–37 лет была выше, чем в аналогичных по возрасту подгруппах женщин группы сравнения: 42,4 и 61% против 31,8 и 47,2% соответственно, но не имела статистически значимых различий. Частота имплантации в группе с НГЭ состави-

Таблица 2. Клиническая характеристика и эмбриологические исходы в анализируемых группах, сопоставимых по возрасту

Параметры	Группа сравнения, n=211			Исследуемая группа (НГЭ), n=113		
Возраст, лет	<35	35–37	>37	<35	35–37	>37
Количество пациенток	62	46	103	79	23	11
Возраст женщины, лет	31 (30,0; 33,0)	36 (35,0; 37,0)	41 (40; 43) p=0,009*	31 (29; 33)	35 (35; 36)	39 (38,0; 42,0) p=0,009*
Возраст мужчины, лет	34 (32,0; 37,0)	37 (34,8; 41,3)	43 (38; 47)	33 (31; 37)	38 (34; 41)	43 (41,0; 54,0)
Попытка	2 (1; 3) p=0,025$^{\&}$	2 (1; 3)	2 (1; 3)	1 (1, 2) p=0,025$^{\&}$	2 (2; 3)	2 (1; 3)
Общая концентрация сперматозоидов в 1 мл в день ТВП (млн)	56 (26,3; 82,0)	56,5 (29,0; 78,0)	51 (24,0; 85,0)	60 (33; 85)	66,5 (38,8; 79,0)	63 (46; 81)
% прогрессивно подвижных сперматозоидов	48,5 (37,3; 64,0)	55,5 (37,5; 63,5)	47 (34,0; 61,0)	51 (41; 61)	46 (36,5; 57,5)	52 (46; 57)
% морфологически нормальных сперматозоидов	2 (1, 2) p=0,001^	2 (2, 3)	2 (1, 3)	3 (2, 3) p=0,001^	2 (1,8; 3,0)	2 (1; 3)
Количество ОКК	10,5 (7,8; 16,0)	7 (4,8, 12,0)	5 (2,0; 9,0)	12 (7; 17)	7 (6; 10)	4 (3; 8)
% зрелых ооцитов MII	77,78 (70,24; 96,25)	80 (74,1; 100)	90,91 (75; 100)	82,35 (71,4; 100)	77,78 (65,8; 85,71)	100 (100; 100)
% зигот 2PN2PB	90,0 (77,56; 100)	100 (83,33; 100)	100 (83,33; 100)	87,5 (80,0; 100)	100 (80; 100)	100 (72,6; 100)

Данные представлены как медианы с интерквантильным размахом, тест Манна–Уитни. Указанные значения p получены при сравнении соответствующих возрастных подгрупп в группах с НГЭ и без.
* p=0,009 при сравнении возраста пациенток в подгруппах >37 лет в группе без НГЭ и в группе с НГЭ; $^{\&}$ p=0,025 при сравнении количества попыток программ ВРТ в подгруппах пациенток <35 лет в группе без НГЭ и в группе с НГЭ; ^ p=0,001 при сравнении % морфологически нормальных сперматозоидов в подгруппах пациенток <35 лет в группе без НГЭ и в группе с НГЭ.
При попарном сравнении других анализируемых характеристик между аналогичными по возрасту подгруппами в двух анализируемых группах не было выявлено статистически значимых различий ($p>0,05$).

Таблица 3. Частота анеуплоидий в анализируемых группах, сопоставимых по возрасту

Параметры	Группа сравнения, n=211				Исследуемая группа (НГЭ), n=113			
Возраст женщины, лет	Все	<35	35–37	>37	Все	<35	35–37	>37
Общее число эмбрионов для ПГТ-А	535	192	125	218	335	250	59	26
Количество эуплоидных эмбрионов, n (%)	220 (41,1%)	113 (58,9 %)	59 (47,2%)	48 (22,0%)	155 (46,3%)	127 (50,8%)	20 (33,9%)	8 (30,8%)
Количество анеуплоидных эмбрионов, n (%)	283 (52,9%)	61 (31,8%)	59 (47,2%)	163 (74,8%)	160 (47,8%)	106 (42,4%)	36 (61,0%)	18 (69,2%)
Количество мозаичных эмбрионов, n (%)	32 (6,0%)	18 (9,4%)	7 (5,6%)	7 (3,2%)	20 (6,0%)	17 (6,8%)	3 (5,1%)	0 (0%)

Статистически значимых различий при сравнении анализируемых характеристик между двумя аналогичными по возрасту подгруппами двух анализируемых групп не было выявлено ($p>0,05$) (критерий χ^2).

Таблица 4. Клинические исходы программ ВРТ

Параметры	Группа сравнения			Исследуемая группа (НГЭ)		
Возраст женщины, лет	<35	35-37	>37	<35	35-37	>37
Число перенесенных эмбрионов	38	28	30	54	10	5
Частота клинической беременности	19 (50%)	13 (46,4%)	13 (43,3%)	28 (51,9%)	6 (60%)	0 (0%)
Частота живорождения	18 (47,4%)	13 (46,4%)	12 (40%)	25 (46,3%)	7 (70%)	0

Статистически значимых различий при сравнении анализируемых характеристик между двумя аналогичными по возрасту подгруппами двух анализируемых групп не было выявлено ($p>0,05$) (критерий χ^2).

ла 49,3% (34/69), что было сопоставимо с аналогичным показателем в группе сравнения – 46,9% (45/96). В группе с НГЭ было описано 2 случая неразвивающейся беременности и 1 случай внематочной беременности. В группе сравнения было 2 случая прерывания беременности. Частота живорождения в группе женщин с НГЭ составила 46,4%, в том числе одна двойня, а в группе сравнения данный показатель составил 44,8%, что также не имело статистически значимой разницы (табл. 4).

Обсуждение

Эффективность программ ВРТ у женщин с НГЭ ниже, по сравнению с пациентками без НГЭ. Наличие НГЭ в анамнезе отрицательно влияет на качество и/или количество ооцитов и ведет к нарушению децидуализации эндометрия [1]. Существует большое количество противоречивых данных о механизмах патогенетического влияния очагов эндометриоза на эндометрий и качества/количество ооцитов в программах ВРТ. Активно обсуждается вопрос изменения хромосомной стабильности ооцитов под воздействием АФК при НГЭ, что связано с нарушениями сборки веретен деления, неравномерным расхождением хромосом и образованием анеуплоидных гамет. Результаты экспериментальных работ на моделях животных показали, что при наличии эндометриоза воздействие перитонеальной и фолликулярной жидкости на ооциты ведет к нестабильности микротрубочек и веретена деления и к высокой частоте мейотических аномалий в ооцитах [14]. Однако в работе Barcelos et al. не было обнаружено различий в аномалиях веретена деления в процессе *in vitro* дозревания незрелых ооцитов, полученных у пациенток с НГЭ и здоровых женщин [15]. В настоящей статье получены сопоставимые результаты по частоте анеуплоидий в соответствующих возрастных подгруппах (<35 лет, 35–37 лет, >38 лет) в группе сравнения и в группе с НГЭ (табл. 3). Но частота анеуплоидий в группе пациенток с НГЭ в подгруппах <35 и 35–37 лет была выше, чем в соответствующих подгруппах группы сравнения, что не имело статистически значимых различий, возможно, ввиду недостаточной выборки пациентов. Не было выявлено значимых отличий в отношении характеристик эмбриологического этапа при попарном сравнении одновозрастных групп пациенток.

Анализ результатов ПГТ-А 1880 эмбрионов, полученных от женщин с НГЭ, и 23054 эмбрионов контрольной группы в соответствующих возрастных подгруппах (<35 лет, 35–37 лет, 38–40 лет, 41–42 года, >42 лет) показал сопоставимую частоту анеуплоидий [16]. Аналогичные результаты были описаны коллективом авторов Vaiarelli et al., которые также не нашли значимых различий по частоте анеуплоидий и не обнаружили разницы в количестве полученных MII ооцитов, частоте оплодотворения и проценте криоконсервированных бластоцист [17]. Авторы исследований не отрицают потенциального влияния НГЭ на количество получаемых MII ооцитов в программах ВРТ, что подтверждается другими авторами, описавшими негативное влияние НГЭ на количество зрелых ооцитов [18].

Влияние НГЭ на рецептивность эндометрия является важным вопросом [1]. В ходе анализа исходов беременности и частоты живорождений после переноса эуплоидного эмбриона у женщин с НГЭ (250 эмбрионов) с двумя контрольными группами: пациенты, которым проводилась преимплантационная генетическая диагностика эмбрионов на генные и хромосомные патологии (225 эмбрионов), и супружеские пары с МФ бесплодия (1332 эмбриона) не было обнаружено различий у пациенток с НГЭ по сравнению с пациентами контрольных групп [19]. В нашем исследовании также не было выявлено значимых различий, ни по частоте наступления клинической беременности, ни по частоте живорождения, что согласуется с литературными данными [16,20]. В исследованиях с использованием донорских ооцитов у женщин с НГЭ не было обнаружено снижения рецептивности эндометрия при сравнении исходов программ ВРТ с группой контроля. Транскриптомный анализ 238 генов эндометрия у женщин с НГЭ в период имплантации не выявил каких-либо различий между женщинами с НГЭ и контрольной группой [21].

Неоднозначность получаемых данных в приведенных исследованиях может быть обусловлена разными критериями включения/исключения и недообследованностью когорты пациентов.

Неудачи программ ВРТ в группе женщин с НГЭ могут быть обусловлены морфофункциональными характеристиками получаемых ооцитов, на что может влиять степень тяжести эндометриоза (III–IV стадия) [22, 23]; цитоплазматические дефекты, например, нарушают скорость оплодотворения [24]. Было показано, что аномалии морфологии ооцитов чаще встречались среди пациенток с НГЭ, по сравнению с контрольной группой женщин с МФ бесплодия [25]. На качество ооцитов

влияют разнообразные факторы: в клетках кумулюса и клетках гранулезы пациенток с НГЭ повышен уровень апоптоза, что приводит к потере основной поддержки, которую кумулюсные клетки оказывают ооциту (гормоны, ряд ростовых факторов). Сравнение спектральных данных методами инфракрасной и рамановской микроскопии показало глубокое изменение в структуре белков, активацию механизмов окислительного стресса, нарушение регуляции метаболизма углеводов и модификацию метилирования ДНК в клетках гранулезы женщин с НГЭ [26]. В фолликулярной жидкости женщин с НГЭ в анамнезе было отмечено снижение молекул-антиоксидантов и повышение маркеров окислительного стресса, что ведет к преждевременному «старению» клеток гранулезы, которое сопровождается дисфункцией митохондрий и повышенным стрессом эндоплазматического ретикулума. Транскриптомный анализ профиля генов ооцитов пациенток с НГЭ яичников по сравнению с донорскими ооцитами показал изменение экспрессии групп генов, участвующих в регуляции процессов метилирования, функции митохондрий, клеточной активности и роста, метаболизма стероидов, реакции на окислительный стресс [27].

Результаты представленных исследований позволяют сделать вывод в пользу того, что качество ооцитов у женщин, страдающих НГЭ, снижается. Однако, судя по результатам других исследований, данные нарушения не оказывают явного и очевидного клинического влияния на исходы программ ВРТ. Анализ больших регистров по исходам программ ВРТ, включающий около 350 000 циклов, показал, что наличие НГЭ у женщин ассоциировано с более слабым ответом яичников на стимуляцию, однако частота имплантации остается сопоставимой с группами пациенток без НГЭ [28]. Результаты данного исследования и ряда других работ продемонстрировали, что у женщин с НГЭ частота анеуплоидии в программах ВРТ не отличается от пациенток без НГЭ во всех возрастных подгруппах. При НГЭ средней/тяжелой степени тяжести и агрессивном течении для повышения эффективности программы ВРТ рекомендовано проведение ПГТ-А [29]. Программа ВРТ с проведением ПГТ-А позволяет не только оптимизировать выбор наиболее перспективного эмбриона для переноса, но и минимизировать финансово-экономические и временные затраты супружеской пары, которые могут потребоваться для получения эуплоидного эмбриона в программе ВРТ без проведения ПГТ-А.

Заключение

В ходе проведения данного исследования было показано, что НГЭ статистически значимо не влияет на частоту анеуплоидий эмбрионов, полученных в результате лечения бесплодия. Тем не менее доля анеуплоидных эмбрионов у пациенток в группе с НГЭ была выше, чем в группе сравнения. Частота имплантации и частота живорождения были также сопоставимы с группой сравнения. Одним из основных прогностических факторов качества ооцитов, получаемых при ТВП, является возраст женщины. У пациенток с НГЭ, наиболее вероятно, неудачи программ ВРТ ассоциированы с малым количеством получаемых клеток и, возможно, изменением морфофункциональных характеристик ооцитов. Бедный ответ на стимуляцию функции яичников и низкий овариальный резерв у женщин, страдающих НГЭ, в ряде случаев может быть следствием оперативного лечения. Возможно, пациенткам с НГЭ стоит рекомендовать витрификацию ооцитов до проведения операции с целью сохранения фертильности и реализации репродуктивной функции. Дополнительные исследования с адекватным объемом выборки будут иметь решающее значение для дальнейшего подтверждения полученных результатов. Тем не менее стоит подчеркнуть, что ПГТ-А рекомендовано при агрессивном течении НГЭ (III–IV стадии распространения) для выбора эуплоидного эмбриона.

Литература/References

1. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Endometriosis and infertility: a committee opinion. Fertil. Steril. 2012; 98(3): 591-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.05.031.
2. *de Ziegler D., Pirtea P., Carbonnel M., Poulain M., Cicinelli E., Bulletti C.* et al. Assisted reproduction in endometriosis. Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. 2019; 33(1): 47-59. https://dx.doi.org/10.1016/j.beem.2018.10.001.
3. *Адамян Л.В., Сонова М.М., Арсланян К.Н., Логинова О.Н., Харченко Э.И.* Окислительный стресс и эндометриоз: обзор литературы. Лечащий врач. 2019; 12: 20-5. [Adamyan L.V., Sonova M.M., Arslanyan K.N., Loginova O.N., Kharchenko E.I. Oxidative stress and endometriosis: a literature review. Medical Journal Lechaschi Vrach. 2019; 12: 20-5. (in Russian)].
4. *Адамян Л.В., Манукян Л.М., Логинова О.Н., Арсланян К.Н., Зайратьянц В.О.* Роль матриксных металлопротеиназ в патогенезе эндометриоза (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2020; 26(2): 95-103. [Adamyan L.V., Manukyan L.M., Loginova O.N., Arslanyan K.N., Zayratyants V.O. The role of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of endometriosis (literature review). Problems of Reproduction. 2020; 26(2): 95-103. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.17116/repro20202602195.
5. *Mandelbaum J., Anastasiou O., Lévy R., Guérin J.F., de Larouzière V., Antoine J.M.* Effects of cryopreservation on the meiotic spindle of human oocytes. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2004; 113(Suppl. 1): S17-23. https://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2003.11.005.
6. *De Santis L., Cino I., Rabellotti E., Calzi F., Persico P., Borini A.* et al. Polar body morphology and spindle imaging as predictors of oocyte quality. Reprod. Biomed. Online. 2005; 11(1): 36-42. https://dx.doi.org/10.1016/s1472-6483(10)61296-5.
7. *Александрова Н.В., Шубина Е.С., Екимов А.Н., Кодылева Т.А., Мукосей И.С., Макарова Н.П., Кулакова Е.В., Левков Л.А., Барков И.Ю., Трофимов Д.Ю., Сухих Г.Т.* Сравнение результатов преимплантационного генетического скрининга, проведенного методами CGH и NGS. Молекулярная биология. 2017; 51(2): 308-13. [Aleksandrova N.V., Shubina E.S., Ekimov A.N., Kodyleva T.A., Mukosey I.S., Makarova N.P., Kulakova E.V., Levkov L.A., Barkov I.Y., Trofimov D.Y., Sukhikh G.T. Comparative results of preimplantation genetic screening by array comparative genomic hybridization and new-generation sequencing. Molecular Biology. 2017; 51(2): 269-73. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.7868/S0026898417010025.
8. *Rubio C., Rodrigo L., Garcia-Pascual C., Peinado V., Campos-Galindo I., Garcia-Herrero S.* et al. Clinical application of embryo aneuploidy testing by next-generation sequencing. Biol. Reprod. 2019; 101(6): 1083-90. https://dx.doi.org/10.1093/biolre/ioz019.

9. *Benaglia L., Candotti G., Papaleo E., Pagliardini L., Leonardi M., Reschini M.* et al. Pregnancy outcome in women with endometriosis achieving pregnancy with IVF. Hum. Reprod. 2016; 31(12): 2730-6. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dew210.
10. *Magli M.C., Gianaroli L., Ferraretti A.P., Gordts S., Fredericks V., Crippa A.* Paternal contribution to aneuploidy in preimplantation embryos. Reprod. Biomed. Online 2009; 18(4): 536-42. https://dx.doi.org/10.1016/s1472-6483(10)60131-9.
11. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. Hum. Reprod. 2011; 26(6): 1270-83. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/der037.
12. Письмо Министерства здравоохранения РФ от 15 февраля 2019 г. № 15-4/И/2-1218 О направлении клинических рекомендаций (протокола лечения) «Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению)». 4 апреля 2019 г. [Letter of the Ministry of Health of the Russian Federation dated February 15, 2019 No. 15-4/I/2-1218 On the direction of clinical recommendations (treatment protocol) "Female infertility (modern approaches to diagnosis and treatment)". April 4, 2019. (in Russian)].
13. *Parmegiani L., Beilby K.H., Arnone A., Bernardi S., Maccarini A.M., Nardi E.* et al. Testing the efficacy and efficiency of a single "universal warming protocol" for vitrified human embryos: prospective randomized controlled trial and retrospective longitudinal cohort study. J. Assist. Reprod Genet. 2018; 35(10): 1887-95. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-018-1276-4.
14. *Mansour G., Sharma R.K., Agarwal A., Falcone T.* Endometriosis-induced alterations in mouse metaphase II oocyte microtubules and chromosomal alignment: a possible cause of infertility. Fertil. Steril. 2010; 94(5): 1894-9. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.09.043.
15. *Barcelos I.D., Vieira R.C., Ferreira E.M., Martins W.P., Ferriani R.A., Navarro P.A.* Comparative analysis of the spindle and chromosome configurations of in vitro-matured oocytes from patients with endometriosis and from control subjects: a pilot study. Fertil. Steril. 2009; 92(5): 1749-52. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.05.006.
16. *Juneau C., Kraus E., Werner M., Franasiak J., Morin S., Patounakis G.* et al. Patients with endometriosis have aneuploidy rates equivalent to their age-matched peers in the in vitro fertilization population. Fertil. Steril. 2017; 108(2): 284-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.05.038.
17. *Vaiarelli A., Venturella R., Cimadomo D., Conforti A., Pedri S., Bitonti G.* et al. Endometriosis shows no impact on the euploid blastocyst rate per cohort of inseminated metaphase-II oocytes: a case-control study. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2021; 256: 205-10. https://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.11.024.
18. *Rossi A.C., Prefumo F.* The effects of surgery for endometriosis on pregnancy outcomes following in vitro fertilization and embryo transfer: a systematic review and meta-analysis. Arch. Gynecol. Obstet. 2016; 294(3): 647-55. https://dx.doi.org/10.1007/s00404-016-4136-4.
19. *Bishop L.A., Gunn J., Jahandideh S., Devine K., Decherney A.H., Hill M.J.* Endometriosis does not impact live-birth rates in frozen embryo transfers of euploid blastocysts. Fertil. Steril. 2021; 115(2): 416-22. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.07.050.
20. *Maggiore U.L.R., Gupta J.K., Ferrero S.* Treatment of endometrioma for improving fertility. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2017; 209: 81-5. https://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.02.035.
21. *Garcia-Velasco J.A., Fassbender A., Ruiz-Alonso M., Blesa D., D'Hooghe T., Simon C.* Is endometrial receptivity transcriptomics affected in women with endometriosis? A pilot study. Reprod. Biomed. Online. 2015; 31(5): 647-54. https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.07.014.
22. *Díaz I., Navarro J., Blasco L., Simón C., Pellicer A., Remohí J.* Impact of stage III-IV endometriosis on recipients of sibling oocytes: matched case-control study. Fertil. Steril. 2000; 74(1): 31-4. https://dx.doi.org/10.1016/s0015-0282(00)00570-7.
23. *Shebl O., Sifferlinger I., Habelsberger A., Oppelt P., Mayer R.B., Petek E.* et al. Oocyte competence in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection patients suffering from endometriosis and its possible association with subsequent treatment outcome: a matched case-control study. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 2017; 96(6): 736-44. https://dx.doi.org/10.1111/aogs.12941.
24. *Stilley J.A., Birt J.A., Sharpe-Timms K.L.* Cellular and molecular basis for endometriosis-associated infertility. Cell Tissue Res. 2012; 349(3): 849-62. https://dx.doi.org/10.1007/s00441-011-1309-0.
25. *Kasapoglu I., Kucpinar G., Saribal S., Turk P., Avci B., Uncu G.* Detrimental effects of endometriosis on oocyte morphology in intracytoplasmic sperm injection cycles: a retrospective cohort study. Gynecol. Endocrinol. 2018; 34(3): 206-11. https://dx.doi.org/10.1080/09513590.2017.1391203.
26. *Notarstefano V., Gioacchini G., Byrne H.J., Zacà C., Sereni E., Vaccari L.* et al. Vibrational characterization of granulosa cells from patients affected by unilateral ovarian endometriosis: new insights from infrared and Raman microspectroscopy. Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. 2019; 212: 206-14. https://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2018.12.054.
27. *Senapati S., Sammel M.D., Morse C., Barnhart K.T.* Impact of endometriosis on in vitro fertilization outcomes: an evaluation of the Society for Assisted Reproductive Technologies Database. Fertil. Steril. 2016; 106(1): 164-171.e1. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.03.037.
28. *Dviri M., Madjunkova S., Koziarz A., Antes R., Abramov R., Mashiach J.* et al. Is there a correlation between paternal age and aneuploidy rate? An analysis of 3,118 embryos derived from young egg donors. Fertil. Steril. 2020; 114(2): 293-300. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.03.034.
29. *Shafrir A.L., Farland L.V., Shah D.K., Harris H.R., Kvaskoff M., Zondervan K.* et al. Risk for and consequences of endometriosis: a critical epidemiologic review. Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2018; 51: 1-15. https://dx.doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2018.06.001.

Поступила 01.04.2021
Принята в печать 17.05.2021
Received 01.04.2021
Accepted 17.05.2021

Сведения об авторах:
Кулакова Елена Владимировна, к.н.н., с.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ, e_kulakova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-4433-4163, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Непша Оксана Сергеевна, к.б.н., научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ, o_nepsha@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-9988-2810, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Екимов Алексей Николаевич, врач-лабораторный генетик лаборатории молекулярно-генетических методов, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ, a_ekimov@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0001-5029-0462, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Драпкина Юлия Сергеевна, к.м.н., научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ, yu_drapkina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-0545-1607, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Макарова Наталья Петровна, д.б.н., в.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ, np_makarova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0003-8922-2878, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Ибрагимова Луиза Казбековна, аспирант отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ, ibragimova_luisa0693@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-3090-5922, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Сысоева Анастасия Павловна, эмбриолог отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ, sysoeva.a.p@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-6502-4498, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Калинина Елена Анатольевна, д.м.н., профессор, заведующая отделением вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ, e_kalinina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-8922-2878, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:
Elena V. Kulakova, PhD, Senior Researcher, Professor B.V. Leonov Department of IVF, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, e_kulakova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-4433-4163, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Oksana S. Nepsha, PhD (Bio), Researcher, Professor B.V. Leonov Department of IVF, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, o_nepsha@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-9988-2810, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Alexey N. Ekimov, genetic scientist, Laboratory of Molecular Genetic Methods, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, a_ekimov@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0001-5029-0462, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Yulia S. Drapkina, PhD, researcher, Professor B.V. Leonov Department of IVF, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, yu_drapkina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-0545-1607, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Natalya P. Makarova, Dr. Bio. Sci., Leading Researcher, Professor B.V. Leonov Department of IVF, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, np_makarova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0003-8922-2878, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Luiza K. Ibragimova, postgraduate student, Professor B.V. Leonov Department of IVF, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, ibragimova_luisa0693@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-3090-5922, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Anastasia P. Sysoeva, embryologist, Professor B.V. Leonov Department of IVF, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, sysoeva.a.p@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-6502-4498, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Elena A. Kalinina, Dr. Med. Sci., Professor, Head of Professor B.V. Leonov Department of IVF, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, e_kalinina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-8922-2878, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

Российское общество акушеров-гинекологов

ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России

ОБЩЕРОССИЙСКИЙ ПРОЕКТ

«РЕГИОНАЛЬНЫЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ ШКОЛЫ РОССИЙСКОГО ОБЩЕСТВА АКУШЕРОВ-ГИНЕКОЛОГОВ»

2021

ПЕНЗА
5 февраля

ТЮМЕНЬ
22 апреля

КРАСНОЯРСК
14-15 октября

НОВОСИБИРСК
18-19 февраля

САРАТОВ
26-27 апреля

СМОЛЕНСК+БРЯНСК
20 октября

ВОРОНЕЖ
1-2 марта

ТОМСК
20-21 мая

КРАСНОДАР
28-29 октября

ЯКУТСК
29 марта

ЧЕЛЯБИНСК
27-28 мая

КАЗАНЬ
8-9 ноября

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ
8-9 апреля

РОСТОВ-НА-ДОНУ
3-4 июня

АРХАНГЕЛЬСК
15 ноября

ВЛАДИКАВКАЗ
16 апреля

ВЛАДИВОСТОК
16-17 сентября

МОСКВА
2-3 декабря

Организационные вопросы:
Евгения Тен

Моб.: +7 (929) 675-29-94
E-mail: e.ten@ctogroup.ru

ЖДЕМ ВАС НА ШКОЛАХ РОАГ!
УЧАСТИЕ БЕСПЛАТНОЕ

WWW.ROAG-SCHOOL.RU

Проект «Школы РОАГ» всегда в тренде постдипломного образования, потому что именно мы его задаем

Реклама 16+

©Коллектив авторов, 2021

Л.К. ИБРАГИМОВА[1], В.Ю. СМОЛЬНИКОВА[1], Ч.М. ЭЛЬДАРОВ[1], М.Ю. БОБРОВ[1,2], Д.С. АГАДЖАНЯН[1], Е.А. РОМАНОВ[1], Е.А. КАЛИНИНА[1]

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛОМНОГО ПРОФИЛЯ ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ЖИДКОСТИ И СРЕД КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЭМБРИОНОВ ПАЦИЕНТОК С НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

[1] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия
[2] ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва, Россия

Цель: *Выявление специфических маркеров в профиле метаболитов фолликулярной жидкости (ФЖ) и сред культивирования эмбрионов пациенток с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) для оценки качества и имплантационного потенциала культивируемых эмбрионов человека.*

Материалы и методы: *В работе использовали образцы ФЖ и сред культивирования эмбрионов, полученных от пациенток с НГЭ и контрольной группы, проходящих программу ЭКО (ИКСИ) с проведением преимплантационного генетического тестирования методом сравнительной геномной гибридизации. Детекцию метаболитов в отработанных питательных средах отдельных эмбрионов проводили с использованием метода ВЭЖХ-МС в режиме детекции положительных ионов. После идентификации хроматографических пиков и выравнивания хроматограмм, а также для лучшей визуализации сравниваемых образцов по профилям метаболитов нами был проведен дискриминантный анализ методом частичных наименьших квадратов.*

Результаты: *Профилирование метаболитов позволило обнаружить различия между составами ФЖ и сред культивирования эмбрионов пациенток с НГЭ и контрольной группы. Сравнительный анализ метаболитов показал изменения в обмене липидов и снижение уровня антиоксидантов в группе пациенток с НГЭ. Можно сделать вывод, что регуляция обмена липидов, в особенности жирных кислот, выполняющих структурные, питательные и сигнальные функции, и оксидативный стресс играют важную роль в патогене НГЭ.*

Заключение: *Остается актуальным дальнейший анализ полученных данных и поиск маркеров, инициирующих характерные для НГЭ особенности эмбрионального развития.*

Ключевые слова: *бесплодие, эндометриоз, фолликулярная жидкость, среды культивирования эмбрионов, программы ВРТ, метаболомный профиль, метод ВЭЖХ-МС.*

Вклад авторов: Ибрагимова Л.К. – сбор материала, анализ клинических данных, пробоподготовка, написание текста; Смольникова В.Ю., Агаджанян Д.С., Калинина Е.А. – дизайн клинического исследования, отбор пациентов, редактирование статьи; Романова Е.А. – культивирование эмбрионов, сбор материала; Эльдаров Ч.М. – инструментальный (ВЭЖХ-МС) анализ, биоинформатическая обработка данных; Бобров М.Ю. – концепция исследования, обработка данных, написание и редактирование текста.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование: Исследование проведено без финансовой поддержки.
Согласие пациентов на публикацию: Все пациенты подписали информированное согласие на публикацию своих данных.
Обмен исследовательскими данными. Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Ибрагимова Л.К., Смольникова В.Ю., Эльдаров Ч.М., Бобров М.Ю., Агаджанян Д.С., Романов Е.А., Калинина Е.А. Особенности метаболомного профиля фолликулярной жидкости и сред культивирования эмбрионов пациенток с наружным генитальным эндометриозом. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 114–124
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.114-124

©A group of authors, 2021

L.K. IBRAGIMOVA[1], V.YU. SMOL'NIKOVA[1], CH.M. EL'DAROV[1], M.YU. BOBROV[1,2], D.S. AGADZHANYAN[1], E.A. ROMANOV[1], E.A. KALININA[1]

METABOLOMIC PROFILE OF FOLLICULAR FLUID AND EMBRYO CULTURE MEDIA IN PATIENTS WITH EXTRAGENITAL ENDOMETRIOSIS

[1]Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia
[2]Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Objective: *To identify specific markers in follicular fluid (FF) and embryo culture media to assess embryo quality and implantation potential in patients with extragenital endometriosis (EGE).*

Materials and methods: *We performed comparative genomic hybridization to analyze FF and embryo culture media samples from patients with EGE and control subjects undergoing the IVF (ICSI) with preimplantation genetic testing. Spent culture medium metabolites from individually cultured embryos were detected using the HPLC-MS in the positive ion detection mode. After identifying chromatographic peaks and aligning chromatograms, partial least squares discriminant analysis was performed to better visualize the metabolite profiles of the compared samples.*

Results: *Metabolite profiling revealed differences in FF and culture medium compo-sitions of patients with EGE and control subjects. Comparative analysis of metabolites showed changes in lipid metabolism and decreased antioxidant levels in patients with EGE. These findings suggest an essential role of oxidative stress and lipid metabolism regulation, especially fatty acids performing structural, nutritional, and signaling func-tions in EGE pathogenesis.*

Conclusion: *Further analysis of the study findings and the search for markers at-tributable to embryonic development features, characteristic of EGE, remain relevant.*

Keywords: *infertility, endometriosis, follicular fluid, embryo culture medium, ART program, metabolomic profile, HPLC-MS.*

Authors' contributions: Ibragimova L.K. – material collection and data analysis, sample preparation, manuscript drafting; Smol'nikova V.Yu., Agadzhanyan D.S., Kalinina E.A. – conception and design of the study, patient selection, manuscript editing; Romanova E.A. – embryo cultivation, material collection; El'darov Ch.M. – HPLC-MS analysis, bioinformatics data processing; Bobrov M.Yu. – conception of the study, data processing, manuscript drafting and editing.
Conflicts of interest: The authors have no conflicts of interest to declare.
Funding: There was no funding for this study.
Patient Consent for Publication: All patients provided informed consent for the publication of their data.
Authors' Data Sharing Statement: The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Ibragimova L.K., Smol'nikova V.Yu., El'darov Ch.M., Bobrov M.Yu., Agadzhanyan D.S., Romanov E.A., Kalinina E.A. Metabolomic profile of follicular fluid and embryo culture media in patients with extragenital endometriosis. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 114-124 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.114-124

Согласно последним данным, среди пар репродуктивного возраста распространенность бесплодия составляет 10–15% [1]. Множественные неудачные попытки забеременеть – глубокое психологическое и физическое испытание, которое несет за собой отрицательные последствия, формирующие душевные и личностные особенности такой категории пациентов [2]. В связи с высокой распространенностью Всемирная Организация Здравоохранения признала бесплодие социальным заболеванием, так как оно оказывает воздействие на семьи и общины [3]. Вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) являются зачастую единственной возможностью получения желанной беременности и рождения здорового ребенка. Несмотря на развитие методов ВРТ, эффективность программы экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) в среднем не превышает 40%, а частота родов живым плодом – 33,3% из расчета на один селективный перенос эмбриона в полость матки [4].

Бесплодие является многофакторной патологией, что требует персонифицировать подход к лечению каждой супружеской пары [5]. Одним из наиболее интересных и до сих пор неизученных до конца факторов является бесплодие, обусловленное наличием у пациентки наружного генитального эндометриоза (НГЭ). Актуальность данной проблемы объясняется высокой частотой встречаемости заболевания, наличием множественных нарушений репродуктивной функции при данной патологии, поздним и часто неэффективным использованием методов ВРТ [6, 7].

НГЭ – генетически детерминированный патологический процесс, характеризующийся наличием вне полости матки ткани, по морфологическим и функциональным свойствам подобной эндометрию [8, 9]. Важно отметить, что не все женщины с эндометриозом страдают бесплодием. Однако распространенность этого заболевания намного выше среди женщин, неспособных к самостоятельному зачатию (~30–50%), чем среди фертильного населения (10–15%) [10]. Негативное воздействие на фертильность связывают с возникновением местной воспалительной реакции с последующим повреждением липидов, белков и нуклеиновых кислот [11]. Такая «токсичная среда» влияет и на качество гамет, и на сам процесс оплодотворения, не только снижая шансы на естественное зачатие, но и оказывая отрицательное влияние на качество эмбрионов и их способность к развитию в программах ВРТ [12].

Становится очевидным, что необходимо изучать и внедрять новые неинвазивные методы исследования эмбриона, которые позволят увеличить частоту имплантации и наступления беременности при селективном переносе эмбриона в программах ВРТ.

Уникальными объектами для неинвазивного исследования являются среды культивирования эмбрионов различных стадий развития, а также фолликулярная жидкость (ФЖ), полученная в ходе трансвагинальной пункции яичников. Метаболомное профилирование ФЖ и сред культивирования может предоставить информацию об энергообмене, метаболической активности и состоянии сигнальных систем эмбриона. Оценка молекулярных составляющих сред культивирования является перспективным направлением для поиска маркеров успешной имплантации эмбриона

с последующим развитием клинической беременности и рождением здорового ребенка.

В современной метаболомике широко используется метод хроматографического разделения аналитов с последующей масс-спектрометрической детекцией (ВЭЖХ-МС).

В данном исследовании нами был проведен анализ профилей метаболитов ФЖ и сред культивирования, полученных от эмбрионов разных морфологических групп, которые, по данным преимплантационного генетического тестирования (ПГТ), являлись эуплоидными, от пациенток с НГЭ и пациенток контрольной группы. Целью исследования являлось выявление специфических маркеров в профиле метаболитов ФЖ и сред культивирования эмбрионов пациенток с НГЭ для оценки качества и имплантационного потенциала культивируемых эмбрионов человека.

Материалы и методы

В ходе одномоментного исследования в параллельных группах были получены образцы ФЖ и сред культивирования эмбрионов различного морфологического качества от пациенток с НГЭ, а также без эндометриоза, в качестве контрольной группы. В исследование вошла 31 пациентка в возрасте от 23 до 37 лет, проходящие программу ЭКО (ИКСИ) с использованием препаратов гонадотропинов с проведением ПГТ методом сравнительной геномной гибридизации.

Были отобраны ФЖ (72 образца) и среды культивирования эмбрионов (29 образцов), относящихся к группам «отличного» и «хорошего» морфологического качества, согласно классификации Гарднера [13, 14]. После получения данных ПГТ для сравнительного анализа результатов метаболического профиля были выбраны образцы, принадлежащие только эуплоидным эмбрионам группы НГЭ и группы контроля: 27 образцов ФЖ (21 – НГЭ, 6 – группа контроля) и 19 образцов сред культивирования (13 – НГЭ, 6 – группа контроля).

От всех пациенток получено информированное согласие на проведение исследования.

Исследование состава фолликулярной жидкости

Перед проведением ВЭЖХ-МС проводили экстракцию метаболитов добавлением к 100 мкл ФЖ 19 объемов экстракционной смеси метанола, хлороформа и метил-трет-бутилового эфира (в соотношении 4:3:3 по объему), после чего перемешивали в течение 20 минут и центрифугировали (13000 g) 15 минут. Супернатант переносили в чистые виалы и упаривали под струей азота, после чего сухой остаток растворяли в 45 мкл смеси ацетонитрила и изопропанола (1:1).

Для ВЭЖХ-МС-анализа к 45 мкл экстракта каждого образца добавляли 5 мкл внутреннего стандарта с конечной концентрацией 5 мкМ, разделение проб проводили на колонке Acquity UPLC BEH HILIC – 1,7 мкм, длина 15 см, внутренний диаметр 1 мм (Waters, USA) при помощи хроматографической системы Ultimate 3000 Nano LC System (Thermo Scientific, USA).

Элюирование компонентов образцов проводили методом хроматографии гидрофобных взаимодействий в изократическом растворе 5% подвижной фазы «В» (5 мкМ раствор ацетата аммония в воде) и 95% фазы «А» (100% ацетонитрил) в течение 15 минут, затем в градиенте 5–30% подвижной фазы «В» течение 10 минут при скорости потока 50 мкл/мин. Затем промывали 5 минут (95% фазы «В»), после чего в течение 1 минуты возвращалась исходная концентрация фазы «В» в 5% и колонка 3 минуты уравновешивалась. Общее время хроматографического анализа одного образца составило 34 минуты. Детекция метаболитов проводилась на гибридном квадрупольвремяпролетном масс-спектрометре Bruker MaXis Impact (Bruker Daltoniks, Germany) в двух измерениях на один образец. Масс-спектры получали при разрешении 50 000 в диапазоне 100–3000 m/z, в режиме положительно заряженных ионов.

Детектирование пиков, их группировка и коррекция времени удерживания проводилась с помощью программного пакета XCMS [15]. Детекция пиков была выполнена с помощью алгоритма Centwave [16] с параметрами: разброс m/z – 15 ppm; минимальная и максимальная ширина пика – 10 и 50 секунд соответственно. Группировка пиков по всем образцам была выполнена методом Peak Density [17] с параметрами по умолчанию.

Для первичной идентификации метаболитов с соответствующими молекулярными массами использовали базу данных HMDB (www.hmdb.ca).

Исследование эмбриональных питательных сред человека

Культивирование эмбрионов проводилось в индивидуальных каплях культуральных сред (Irvine CSC) одинакового объема (30 мкл). На 5-е сутки культивирования производилась морфологическая оценка полученных эмбрионов с последующим забором в равных объемах (20 мкл) отработанных культуральных сред, которые были промаркированы и заморожены (-80°С).

Перед проведением ВЭЖХ-МС проводили экстракцию метаболитов добавлением трех объемов метанола к одному объему инкубационной среды. После перемешивания преципитат осаждали центрифугированием при 14 000 g, супернатант использовали для анализа.

Для ВЭЖХ-МС-анализа отбирали 18 мкл экстракта каждого образца, добавляли 2 мкл внутреннего стандарта с конечной концентрацией 5 мкМ, разделение проб проводили на колонке Atlantis T3 – 3 мкм, длина 15 см, внутренний диаметр 1 мм (Waters, USA) при помощи хроматографической системы Ultimate 3000 Nano LC System (Thermo Scientific, USA).

Элюирование компонентов образцов проводили методом обращенно-фазной хроматографии в изократическом растворе 5% подвижной фазы «В» (0,1% раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле) и 95% фазы «А» (0,1% раствор муравьиной кислоты в воде) в течение 15 минут, затем в градиенте 5–95% подвижной фазы «В» в течение 10 минут при скорости потока 40 мкл/мин. Затем промывали 5 минут (95%

фазы «В»), после чего в течение 1 минуты возвращалась исходная концентрация фазы «В» в 5% и колонка 3 минуты уравновешивалась. Общее время хроматографии одного образца составило 34 минуты. Детекция метаболитов проводилась на гибридном квадруполь-времяпролетном масс-спектрометре Bruker MaXis Impact (Bruker Daltoniks, Germany) в двух измерениях на один образец. Масс-спектры получали при разрешении 50 000 в диапазоне 50–1500 m/z, в режиме положительно заряженных ионов.

Детектирование пиков, их группировка и коррекция времени удерживания проводились аналогично методике исследования ФЖ. Для первичной идентификации метаболитов также использовали базу данных HMDB.

Статистический анализ

При анализе как ФЖ, так и сред культивирования эмбрионов человека, для поиска и визуализации наибольших различий между образцами использовался метод многомерной статистики – дискриминантный анализ ортогональных частичных наименьших квадратов (OPLS-DA) [17]. Для проверки статистической значимости различия относительных концентраций (средних интегрированных площадей пика) между группами для конкретных метаболитов использовался t-критерий Стьюдента. Статистически значимыми считались те изменения, для которых значение *p* с учетом коррекции на множественную проверку гипотез (FDR) было меньше 0,05. Дополнительным критерием отбора для потенциальных биомаркеров являлась кратность изменений концентрации не менее чем в 2 раза между группами. Для функционального анализа масс-спектров использовался алгоритм mummichog [18]. Для оценки статистической значимости найденных метаболических путей применялся точный тест Фишера. Статистический анализ был выполнен на платформе Metaboanalyst v5.0 [19].

Результаты

Исследование фолликулярной жидкости

После начальной обработки масс-спектров было детектировано 3103 молекулярных иона. Методом многомерной статистики OPLS-DA была показана четкая кластеризация образцов на две области, соответствующие группам сравнения. Степень отличий при этом была ниже, чем при исследовании сред (7,7% изменений обусловлены первой главной компонентой против 15,7% в средах культивирования) (рис. 1). Подобный результат представляется закономерным, поскольку ФЖ в целом более гомеостатична и имеет ограниченный физиологический диапазон для возможных колебаний состава. Поиск компонентов ФЖ, статистически значимо различающихся в группах сравнения с кратностью изменений ⩾2, выявил 285 молекулярных ионов. Для идентификации данных молекулярных ионов был произведен поиск в базе данных химических структур метаболитов человека (HMDB), в результате которого был получен список потенциальных биомаркеров. В частности, было выявлено большое количество липидов различных классов (табл. 1.)

Для поиска вероятных метаболических путей, в которые вовлечены компоненты, обуславливающие различия между группами, был проведен функциональный анализ на основе тех молекулярных ионов, которые вносят вклад в дифференцировку групп по данным OPLS-DA. Выявленные метаболические пути показаны в таблице 2. Значение *p* соот-

Рис. 1. Кластеризация образцов ФЖ методом OPLS-DA. En – образцы ФЖ пациенток с эндометриозом, Norm – образцы пациенток без эндометриоза. Закрашенные области соответствуют статистически значимым областям

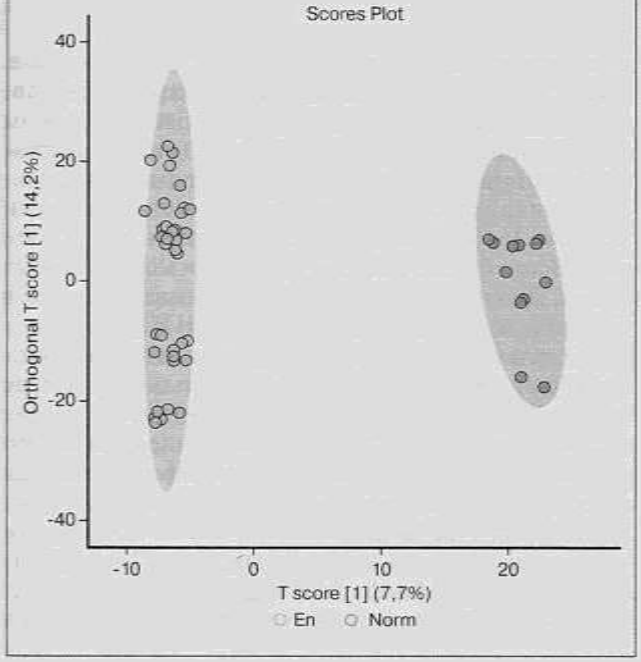


Рис. 2. Кластеризация образцов методом OPLS-DA. Es – образцы сред культивирования эмбрионов пациенток с эндометриозом, Norm – образцы сред культивирования эмбрионов пациенток без эндометриоза. Закрашенные области соответствуют статистически значимым областям. Можно видеть 2 четких кластера образцов в зависимости от патологии

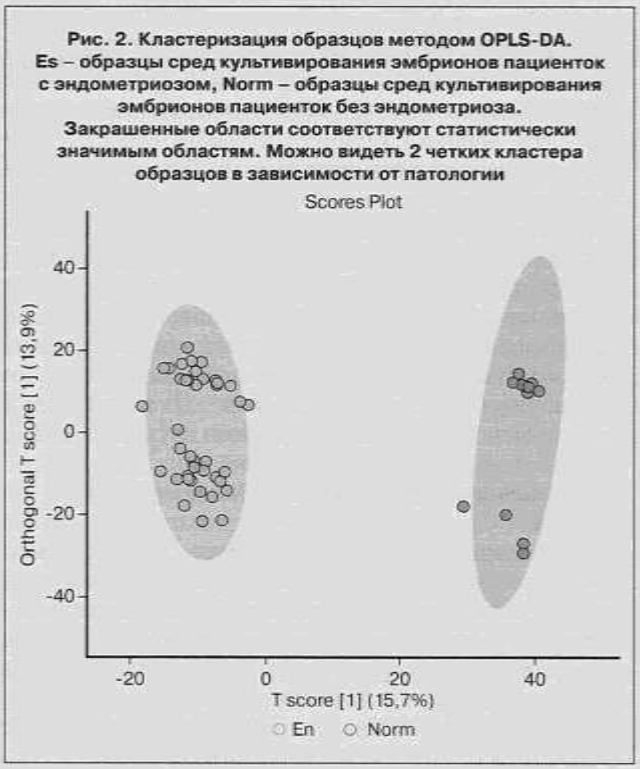


Таблица 1. Список молекулярных ионов, содержание которых изменяется в ФЖ пациенток с эндометриозом, и изменения являются статистически значимыми (FDR p<0,05)

m/z	Время удерживания	Название	Кратность изменений	Аддукт	FDR p-значение
149.04913	1.55	3-Amino-2-piperidone	-2.31	M+Cl	0,03
229.06543	5.71	3-Hydroxyphenyl-valeric acid	-4.52	M+Cl	<0,01
246.05578	1.56	3-Methoxytyrosine	-2.09	M+Cl	<0,01
250.12563	2.31	cyclic N-Acetylserotonin glucuronide	2.81	M-H	<0,01
251.09268	2.28	N-a-Acetyl-L-arginine	2.17	M+Cl	0,01
292.9828	6.95	6-Phosphonoglucono-D-lactone	-3.34	M+Cl	0,01
295.0695	9.36	Glutamylhydroxyproline	3.37	M+Cl	0,02
307.00129	6.5	(R)-5-Diphosphomevalonic acid	-2.95	M-H	0,02
397.21644	2.47	19,20-DiHDPA	-5.43	M+Cl	0,01
421.32544	4.53	Cholesterol	-2.38	M+Cl	0,01
447.30625	2.46	25-Hydroxyvitamin D2	-4.99	M+Cl	<0,01
479.28916	10.43	1-a,24R,25-Trihydroxyvitamin D2	2.02	M+Cl	0,02
481.27238	10.41	24-Oxo-1alpha,23,25-trihydroxyvitamin D3	2.56	M+Cl	0,01
528.26813	10.28	Cholesta-4,6-dien-3-one	2.09	M-H	<0,01
534.24251	5.04	LysoPE(0:0/20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z))	4.07	M+Cl	0,02
552.28537	10.23	LysoPC(18:3(6Z,9Z,12Z)/0:0)	2.58	M+Cl	0,02
563.50243	4.81	Fahfa(18:1(9z)/8-o-18:0)	-2.73	M-H	0,02
575.45714	4.55	CE(10:0)	-2.57	M+Cl	<0,01
822.58262	3.17	PC(18:0/18:1(11Z))	4.11	M+Cl	0,047
864.55954	8.78	PE-NMe2(22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z)/22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	2.28	M-H	<0,01
866.57207	8.79	PE-NMe2(22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z)/22:5(7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	2.11	M-H	0,01
948.27827	3.29	Lauroyl-CoA	2.54	M-H	0,03
990.76731	5.33	PC(24:0/24:1(15Z))	3.98	M+Cl	0,01

FDR p – значение p с учетом коррекции на проверку множественных гипотез (FDR).

ветствует вероятности случайным образом получить подобное пересечение набора наблюдаемых экспериментально метаболитов с метаболитами конкретного метаболического пути, согласно точному тесту Фишера. Среди выявленных путей преобладают пути, связанные с метаболизмом витаминов, липидов (глицерофосфолипидов и производных докозагексаеновой кислоты – нейропростанов), а также гликанов и гликолипидов (силовые кислоты). Из аминокислот представлен только метаболический путь тирозина.

Исследование эмбриональных питательных сред человека

После начальной обработки масс-спектров было детектировано 6923 молекулярных иона. Для первичной оценки распределения образцов и выявления выбросов был использован метод OPLS-DA, который выявил хорошую кластеризацию образцов в зависимости от наличия или отсутствия эндометриоза (рис. 2). Подобная картина свидетельствует о выраженных отличиях метаболомных профилей сред культивирования исследуемых групп эмбрионов. Для поиска потенциальных биомаркеров, обуславливающих наблюдаемые различия, были отобраны молекулярные ионы, концентрации (интегрированные площади соответствующего хроматографического пика) которых между группами статистически значимо (p<0,05) отличались в среднем в 2 и более раза. Всего было отобрано 1213 таких молекулярных ионов. Для идентификации был произведен поиск в базе данных метаболитов человека (HMDB).

В результате были отобраны потенциальные биомаркеры, представляющие наибольший интерес (табл. 3). Обращает на себя внимание отсутствие в списках различающихся масс аминокислот, что указывает на идентичный уровень их потребления из среды эмбрионами обеих групп. В то же время было выявлено большое количество липидов и их производных – жирные кислоты фосфатидилэтаноламины, фосфатидилсерин, моно-и диглицериды, а также ряд других биологически активных молекул.

Таблица 2. Список метаболических путей, наиболее точно соответствующих найденным в ФЖ потенциальным метаболитам, согласно модели MFN

Название	Метаболитов найдено	*p*-значение
Vitamin B_3 (nicotinate and nicotinamide) metabolism	1	0,02
Tyrosine metabolism	4	0,04
Sialic acid metabolism	3	0,09
C21-steroid hormone biosynthesis and metabolism	1	0,09
D4&E4-neuroprostanes formation	2	0,16
Vitamin B_1 (thiamin) metabolism	2	0,16
Glycerophospholipid metabolism	2	0,26
Squalene and cholesterol biosynthesis	2	0,65
Carnitine shuttle	3	0,65
Glycolysis and Gluconeogenesis	2	0,65

p-value (значение) – вероятность наблюдения подобных данных (списка метаболитов) при отсутствии какой либо взаимосвязанной метаболической активности (активного метаболического пути), полученная с помощью точного теста Фишера.

Статистически значимым считался уровень $p<0,05$ с учетом коррекции на проверку множественных гипотез (FDR). Кратность изменений рассчитана относительно контрольной группы. Идентификация молекулярных ионов проводилась при помощи базы данных метаболитов человека (HMDB).

Для поиска вероятных метаболических путей, в которые вовлечены метаболиты, обуславливающие различия между группами, был проведен функциональный анализ с использованием базы данных Metaboanalyst. Для функционального анализа отбирались молекулярные ионы, которые внесли наибольший вклад в различия между группами, согласно данным многомерной статистики OPLS-DA. Выявленные метаболические пути показаны в таблице 4. Значения *p* получены с помощью точного теста Фишера. В эмбриональных питательных средах было выявлено большее количество метаболитов, и, соответственно, метаболических путей, изменяющихся между группами. Так, результаты включали пути метаболизма аминокислот (метионина, цистеина, триптофана), сахаров и жирных кислот. Также выявлялись пути метаболизирования лекарственных средств и ксенобиотиков

Обсуждение

«Омиксные» технологии – сравнительно новые направления исследования, которые позволяют оценить функционирование клеточных структур на различных уровнях – от ДНК и генов до метаболитов. Изучением метаболитов занимается метаболомика, одним из основных методов которой является профилирование состава различных классов низкомолекулярных соединений в клетках и тканях, а также биологических жидкостях [20, 21]. Молекулярное профилирование позволяет выявлять соединения, которые являются участниками путей превращения основных биологически значимых органических молекул.

В последние годы данный подход применялся для поиска специфических молекулярных маркеров, которые позволили бы прояснить патогенез эндометриоза и лучше понять причины и механизмы возникновения ассоциированного с ним бесплодия. Однако изменения состава эндогенных метаболитов ФЖ и сред культивирования эмбрионов при эндометриозе остаются малоизученными [22].

Одним из наиболее универсальных методов профилирования, который широко используется в клинических лабораториях в течение последних 10–15 лет, является разделение метаболитов при помощи ВЭЖХ-МС [23]. Специфичность анализа с использованием ВЭЖХ-МС превосходит иммунологические методы и классическую высокоэффективную жидкостную хроматографию, позволяя разделять сложные многокомпонентные смеси и детектировать больший диапазон различных низкомолекулярных соединений. Данный метод зачастую требует минимальной пробоподготовки, что обеспечивает высокую производительность анализа.

В проведенном нами исследовании были использованы ФЖ, полученные в ходе трансвагинальной пункции яичников и отработанные культуральные среды эуплоидных эмбрионов 5-го дня культивирования, относящиеся к «отличной» и «хорошей» категории у пациенток, включенных в исследование и проходящих программу ЭКО/ИКСИ с ПГТ. В работу вошел только материал от эуплоидных эмбрионов, так как ранее в своем исследовании Зорина И.М. и соавт. не выявили достоверных различий между метаболомными профилями эуплоидных и анеуплоидных эмбрионов, что позволило нам исключить плоидность эмбриона как фактор нарушений метаболизма эмбриона [24].

В ходе исследования были выявлены достоверные различия профилей метаболитов ФЖ и сред культивирования эмбрионов в исследуемых группах пациентов. С использованием баз данных метаболитов человека (HMDB) нами была произведена первичная идентификация соединений, вносящих вклад

Таблица 3. Список молекулярных ионов, содержание которых изменяется в средах культивирования эмбрионов пациенток с эндометриозом

m/z	Время удерживания	Кратность изменений	Название	Аддукт	FDR *p*-значение
160.0734	25.41	-4.8	Tyramine	M+Na	<0,01
160.0977	13.04	4	N-Acetylvaline	M+H	<0,01
183.0881	3.98	5.3	Tryptamine	M+Na	0,02
198.0771	2.36	-8.6	L-Dopa	M+H	<0,01
201.0988	13.03	2.7	2'-Hydroxynicotine	M+Na	<0,01
219.1139	21.08	-7.8	N-Acetylserotonin	M+H	<0,01
297.2019	18.79	2.6	MG(0:0/i-12:0/0:0)	M+Na	0,01
303.2284	25.34	-6.8	Linoleic acid	M+Na	<0,01
311.1997	20.75	-3.8	Dehydroepiandrosterone	M+Na	<0,01
315.2688	28.06	-24	13-HDoHE	M+H	<0,01
327.2318	25.65	2.8	Arachidonic acid	M+Na	<0,01
331.2251	32.84	-6.6	Deoxycorticosterone	M+H	0,01
331.2642	28.54	-47.6	Docosapentaenoic acid (22n-6)	M+H	<0,01
357.2406	24.69	-8.1	14-HDoHE	M+H	<0,01
359.2568	22.8	2.7	Pregnanetriol	M+Na	<0,01
370.2708	22.34	-5.4	Anandamide	M+Na	<0,01
370.333	28.63	-36.9	N-stearoyl gaba	M+H	<0,01
371.1907	19.37	-3.6	5a-Dihydrotestosterone sulfate	M+H	<0,01
379.2596	27.68	4	Tetracosahexaenoic acid	M+Na	0,02
415.2827	22.18	-4.8	PE(24:0/24:0)	M+Na	<0,01
441.3334	25.45	-5.6	7-a,27-Dihydroxycholesterol	M+Na	<0,01
447.3135	22.74	-3.3	24-Oxo-1alpha,23,25-trihydroxyvitamin D3	M+H	<0,01
469.3649	32.12	-28.8	13'-OH-alpha-tocopherol	M+Na	<0,01
483.3454	29.92	-2.4	13'-Carboxy-alpha-tocopherol	M+Na	0,01
564.3089	22.3	-8.7	LysoPC(20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)/0:0)	M+Na	<0,01
643.5329	26.54	-8.2	DG(16:0/0:0/22:5n3)	M+H	<0,01
672.499	27.54	-6.4	PE(14:1(9Z)/P-18:1(11Z))	M+H	<0,01
698.5152	23.52	-17.5	PE(18:3(6Z,9Z,12Z)/P-16:0)	M+H	<0,01
699.5947	28.45	-11.8	DG(20:0/22:5(7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/0:0)	M+H	<0,01
700.5305	32.29	-49.6	PE(16:1(9Z)/P-18:1(11Z))	M+H	<0,01
702.5053	25.64	-24.6	PC(14:1(9Z)/16:1(9Z))	M+H	<0,01
728.5993	28.4	-20.7	Glucosylceramide (d18:1/18:0)	M+H	<0,01
760.5862	24.98	-2.6	PE-NMe(14:1(9Z)/22:0)	M+H	<0,01
774.5378	25.49	-5	PE(20:4(8Z,11Z,14Z,17Z)/P-18:0)	M+Na	0,02
778.4654	2.29	-21.8	PS(14:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))	M+Na	<0,01
833.6558	28.2	2.4	SM(d18:2(4E,14Z)/24:1(15Z))	M+Na	0,04
920.7057	28.04	2.2	PC(20:1(11Z)/24:1(15Z))	M+Na	0,02

Статистически значимым считался уровень $p<0,05$ с учетом коррекции на проверку множественных гипотез (FDR). Кратность изменений рассчитана относительно контрольной группы. Идентификация молекулярных ионов проводилась при помощи базы данных метаболитов человека (HMDB).

Таблица 4. Список метаболических путей, включающих потенциальные метаболиты, идентифицированные в средах культивирования эмбрионов исследуемых групп

Название пути	Метаболитов найдено	*p*-значение
C21-steroid hormone biosynthesis and metabolism	7	0,02
Drug metabolism – cytochrome P450	7	0,035
Starch and Sucrose metabolism	1	0,09
Methionine and cysteine metabolism	5	0,01
Arachidonic acid metabolism	4	0,11
Xenobiotics metabolism	2	0,11
Drug metabolism – other enzymes	3	0,14
Leukotriene metabolism	3	0,16
Tryptophan metabolism	7	0,17
De novo fatty acid biosynthesis	2	0,21
Fatty acid activation	2	0,21
Glycosphingolipid metabolism	3	0,21
Bile acid biosynthesis	3	0,21
Linoleate metabolism	3	0,23
Vitamin E metabolism	3	0,3
Fructose and mannose metabolism	2	0,33
Galactose metabolism	2	0,33
Hexose phosphorylation	2	0,33
Androgen and estrogen biosynthesis and metabolism	3	0,37

p-value (значение) – вероятность наблюдения подобного набора метаболитов в экспериментальных данных при отсутствии какой-либо взаимосвязанной метаболической активности (активного метаболического пути), полученная с помощью точного теста Фишера.

в установленные различия между группами [25]. Также был проведен анализ метаболических путей, в которых могут принимать участие потенциальные метаболиты.

Известно, что НГЭ развивается на фоне относительной и абсолютной гиперэстрогении и резистентности к прогестерону. У женщин с эндометриозом преобладают прогестероновые рецепторы типа А, укороченная форма которых действует как ингибитор прогестероновых рецепторов типа В, отвечающих за развитие противовоспалительного действия прогестерона [26].

По данным проведенного анализа были обнаружены признаки нарушения стероидогенеза у пациенток с НГЭ. Повышенный уровень холестерина в ФЖ, являющегося предшественником синтеза прогестерона, и снижение в средах культивирования уровней конечных метаболитов обмена прогестерона указывают на дефицит гормона.

Одним из побочных эффектов дефицита прогестерона является нарушение регуляции эндоканнабиноидной системы (ESC). ECS состоит из эндоканнабиноидов: анандамида (AEA) и 2-арахидоноилглицерина, их рецепторов и их регуляторных ферментов [27]. Эндоканнабиноиды представляют собой эндогенные липиды. Снижение уровня прогестерона приводит к потере экспрессии каннабиноидных рецепторов типа 1 (CB1-R) и снижению уровня эндоканнабиноидов [28]. В подтверждение этого нами выявлены сниженные уровни AEA в средах культивирования эмбрионов пациенток с НГЭ. AEA играет важную роль в фолликулогенезе, созревании преовуляторного фолликула, созревании ооцита и овуляции [29]. El-Talatini M.R. et al. в своем исследовании при проведении программ ЭКО/ИКСИ выявили, что при успешной имплантации и прогрессировании беременности наблюдались повышенные уровни AEA в плазме во время овуляции и его сниженные уровни при имплантации [30].

Также были выявлены изменения липидного обмена и метаболизма жирных кислот в ФЖ и средах культивирования пациенток с НГЭ. Липидам и жирным кислотам отводится важная роль в обмене веществ организма, так как они являются структурными компонентами, субстратами для энергетического обмена, а также предшественниками различных медиаторов. В ряде исследований была показано, что нарушения в обмене омега-3 и омега-6 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), а также их окисленных производных (оксилипинов) могут быть одним из патогенетических факторов развития эндометриоза [31]. Так, в работе

Hopeman M.M. et al. было установлено, что в плазме крови пациенток с НГЭ, прошедших лечение в рамках программ ЭКО/ИКСИ, был снижен уровень эйкозапентаеновой кислоты (омега-3), которая является субстратом для синтеза оксилипинов с низкой воспалительной активностью. Снижение уровня эйкозапентаеновой кислоты и других омега-3 ПНЖК может приводить к увеличению продукции оксилипинов из омега-6 ПНЖК, которые обладают выраженным воспалительным действием. Так, было показано, что при эндометриозе наблюдается повышенная продукция окисленного производного арахидоновой кислоты (омега-6) простагландина Е2, являющегося одним из ключевых факторов в развитии воспалительных реакций [32, 33]. В средах культивирования, полученных от пациенток с НГЭ, было зафиксировано повышение уровня арахидоновой кислоты, а также снижение уровня докозапентаеновой кислоты (омега-3) и окисленных производных докозагексаеновой кислоты (омега-3), что может свидетельствовать о нарушении баланса продукции медиаторов липидной природы. Различные оксилипины, помимо участия в воспалительных реакциях, обеспечивают аутокринную и паракринную регуляцию процессов жизнедеятельности клеток. Изменения баланса продукции оксилипинов эмбрионами может приводить к нарушению процессов межклеточных коммуникаций и снижению имплантационного потенциала.

Важным фактором, влияющим на качество гамет у супружеских пар с бесплодием, является окислительный стресс, развивающийся на фоне недостаточной активности систем антиоксидантной защиты [34]. Избыточная продукция активных форм кислорода также может оказывать токсическое действие на эмбрион, что может приводить к нарушениям развития и снижению способности к имплантации [35–37]. Согласно современным представлениям, окислительный стресс является одним из ключевых факторов в патогенезе эндометриоза. Дисбаланс в продукции активных форм кислорода стимулирует пролиферацию клеток эндометриоидных гетеротопий и формирование вокруг них провоспалительного окружения, что может быть одним из факторов снижения фертильности у больных эндометриозом уже при начальных стадиях заболевания [38].

В своем исследовании Halpern G. et al. обсуждают значение дефицита антиоксидантов на прогрессирование эндометриоза [39]. К важным компонентам антиоксидантной системы относят, в частности, витамин Е, индольные производные и витамин D, которые способны оказывать противовоспалительное и иммуномодулирующее действие [40]. Витамины группы D снижают синтез провоспалительных оксилипинов, подавляя экспрессию циклооксигеназы-2 [41]. Изменения метаболитов витаминов D и E были выявлены нами в ФЖ и средах культивирования эмбрионов в группе НГЭ.

Заключение

Таким образом, в результате проведенного нами исследования были показаны изменения в метаболоме ФЖ и сред культивирования эмбрионов пациенток с НГЭ. На основании полученных данных можно предположить, что наблюдаемое при эндометриозе изменение состава ФЖ может приводить к нарушениям гаметогенеза, а также влиять на процессы оплодотворения за счет формирования провоспалительного микроокружения и нарушения функции антиоксидантной защиты. Различия в составе питательных сред эмбрионов могут быть связаны с тем, что развитие яйцеклеток в провоспалительном микроокружении приводит к эпигенетическому перепрограммированию метаболических путей, которое также сохраняется и на ранних этапах эмбриогенеза. В совокупности данные факторы могут приводить к снижению фертильности у больных эндометриозом. Представляется перспективным продолжение исследований в данном направлении, поскольку понимание причин изменения метаболических процессов позволит найти точки приложения для улучшения эмбриологического этапа программ ВРТ у больных эндометриозом.

Литература/References

1. *Vander Borght M., Wyns C.* Fertility and infertility: definition and epidemiology. Clin. Biochem. 2018; 62: 2-10. https://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012.
2. *Рябова М.Г.* Индивидуально-психологические особенности женщин с различными типами нарушения репродуктивной функции. Вестник Тамбовского университета. Серия: Гуманитарные науки. 2013; 9: 190-8. [Ryabova M.G. Individual psychological characteristics of women with different types of reproductive disorders. Tambov University Reports. 2013; 9(125): 190-8. (in Russian)].
3. Всемирная организация здравоохранения. Информационные бюллетени. Бесплодие. 2020. Доступно по: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/infertility [World Health Organization. Newsletters. Infertility. 2020. https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/infertility]
4. *Gleicher N., Kushnir V.A., Barad D.H.* Worldwide decline of IVF birth rates and its probable causes. Hum. Reprod. Open. 2019; 2019(3): hoz017. https://dx.doi.org/10.1093/hropen/hoz017.
5. Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению). Клинические рекомендации (Протокол лечения). № 15-4/И/2-1913. 2019. 118с. [Female infertility (modern approaches to diagnosis and treatment). Clinical guidelines (Treatment protocol). 2019; 11-12. (in Russian)].
6. *Polat M., Yarali I., Boynukalin K., Yarali H.* In vitro fertilization for endometriosis-associated infertility. Womens Health (Lond.). 2015; 11(5): 633-41. https://dx.doi.org/10.2217/whe.15.50.
7. *Пономаренко И.В., Полоников А.В., Чурносов М.И.* Молекулярные механизмы и факторы риска развития эндометриоза. Акушерство и гинекология. 2019; 3: 26-31. [Ponomarenko I.V., Polonikov A.V., Churnosov M.I. Molecular mechanisms and risk factors for the development of endometriosis. Obstetrics and Gynecology. 2019; 3: 26-31. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.3.26-31.
8. *Vercellini P., Viganò P., Somigliana E., Fedele L.* Endometriosis: pathogenesis and treatment. Nat Rev Endocrinol. 2014; 10(5): 261-75. https://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2013.255.
9. *Адамян Л.В., Кулаков В.И., Андреева Е.Н.* Эндометриозы. Руководство для врачей. 2-е изд. М.: Медицина; 2006. 410с. [Adamyan L.V., Kulakov V.I., Andreeva E.N. Endometriosis: A Guide for Physicians. M.: Medicine. 2006; 411p. (in Russian)].
10. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Endometriosis and infertility: a committee opinion. Fertil. Steril. 2012; 98(3): 591-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.05.031.

11. *Адамян Л.В., Сонова М.М., Арсланян К.Н., Логинова О.Н., Харченко Э.Н.* Окислительный стресс и эндометриоз: обзор литературы. Лечащий врач. 2019; 12: 20-5. [Adamyan L.V., Sonova M.M., Arslanyan K.N., Loginova O.N., Kharchenko E.I. Oxidative stress and endometriosis: review of the literature. The Lechaschi Vrach Journal. 2019; 12: 20-5. (in Russian)].
12. *Li Y., Li R., Ouyang N., Dai K., Yuan P., Zheng L.* et al. Investigating the impact of local inflammation on granulosa cells and follicular development in women with ovarian endometriosis. Fertil. Steril. 2019; 112(5): 882-91. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.07.007.
13. *Gardner D.K., Schoolcraft W.B.* In Vitro Culture of Human Blastocyst. In: Jansen R. and Mortimer D., eds. Towards Reproductive Certainty: Infertility and Genetics Beyond. Parthenon Press, Carnforth. 1999: 377-88.
14. *Gardner D.K., Schoolcraft W.B.* Culture and transfer of human blastocysts. Curr Opin Obstet Gynecol. 1999; 11(3): 307-11. https://dx.doi.org/10.1097/00001703-199906000-00013.
15. *Smith C.A., Want E.J., O'Maille G., Abagyan R., Siuzdak G.* XCMS: processing mass spectrometry data for metabolite profiling using nonlinear peak alignment, matching, and identification. Anal. Chem. 2006; 78(3): 779-87. https://dx.doi.org/10.1021/ac051437y.
16. *Tautenhahn R., Böttcher C., Neumann S.* Highly sensitive feature detection for high resolution LC/MS. BMC Bioinformatics. 2008; 9: 504. https://dx.doi.org/10.1186/1471-2105-9-504.
17. *Bylesjo M., Rantalainen M., Cloarec O., Nicholson J.K., Holmes E., Trygg J.* OPLS discriminant analysis: combining the strengths of PLS-DA and SIMCA classification. J. Chemometr. 2006; 20(8-10): 341-51. https://dx.doi.org/10.1002/CEM.1006.
18. *Li S., Park Y., Duraisingham S., Strobel F.H., Khan N., Soltow Q.A.* et al. Predicting network activity from high throughput metabolomics. PLoS Comput. Biol. 2013; 9(7): e1003123. https://dx.doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003123.
19. *Pang Z., Chong J., Zhou G., de Lima Morais D.A., Chang L., Barrette M.* et al. MetaboAnalyst 5.0: narrowing the gap between raw spectra and functional insights. Nucleic Acids Res. 2021; 49(W1): W388-W396. https://dx.doi.org/10.1093/nar/gkab382.
20. *Podgorsky V.V.* Метаболомика: анализ биохимического ответа живых систем вчера, сегодня, завтра. Глава 1. 2019. 17с. https://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.22959.07840. [Metabolomics: Analyzing the Biochemical Response of Living Systems Yesterday, Today, Tomorrow. 2019. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.22959.07840.
21. *Jordan K.W., Nordenstam J., Lauwers G.Y., Rothenberger D.A., Alavi K., Garwood M.* et al. Metabolomic characterization of human rectal adenocarcinoma with intact tissue magnetic resonance spectroscopy. Dis. Colon Rectum. 2009; 52(3): 520-5. https://dx.doi.org/10.1007/DCR.0b013e31819c9a2c.
22. *Борисова А.В., Козаченко А.В., Стародубцева Н.Л., Бугрова А.Е., Франкевич В.Е., Адамян Л.В.* Диагностика наружного генитального эндометриоза с помощью методов масс-спектрометрии (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2015; 21(6): 67-76. [Borisova A.V., Kozachenko A.V., Starodubtseva N.L., Bugrova A.E., Frankevich V.E., Adamyan L.V. The diagnosis of endometriosis with the help of mass spectrometry (a review). Problems of Reproduction. 2015; 21(6): 67-76. (in Russian)]. https://doi.org/10.17116/repro201521659-68.
23. *Grebe S.K., Singh R.J.* LC-MS/MS in the clinical laboratory – where to from here? Clin. Biochem. Rev. 2011; 32(1): 5-31.
24. *Зорина И.М., Эльдаров Ч.М., Ярыгина С.А., Макарова Н.П., Трофимов Д.Ю., Смольникова В.Ю., Калинина Е.А., Бобров М.Ю.* Профилирование метаболитов в питательных средах пятидневных эмбрионов человека. Биомедицинская химия. 2017; 63(5): 385-91. [Zorina I.M., Eldarov C.M., Yarigina S.A., Makarova N.P., Trofimov D.Yu., Smolnikova V.Yu., Kalinina E.A., Bobrov M.Yu. Metabolomic profiling in culture media of day-5 human embryos. Biomedical chemistry. 2017; 63(5): 385-91 (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18097/PBMC20176305385.
25. *Wishart D.S., Feunang Y.D., Marcu A., Guo A.C., Liang K., Vázquez-Fresno R.* et al. HMDB 4.0: the human metabolome database for 2018. Nucleic Acids Res. 2018; 46(D1): D608-D617. https://dx.doi.org/10.1093/nar/gkx1089.
26. *Herington J.L., Bruner-Tran K.L., Lucas J.A., Osteen K.G.* Immune interactions in endometriosis. Expert Rev. Clin. Immunol. 2011; 7(5): 611-26. https://dx.doi.org/10.1586/eci.11.53.
27. *Sugiura T., Waku K.* Cannabinoid receptors and their endogenous ligands. J. Biochem. 2002; 132(1): 7-12. https://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a003200.
28. *Reuehr D., Glore D.R., Taylor H.S., Bruner-Tran K.L., Osteen K.G.* Progesterone-dependent regulation of endometrial cannabinoid receptor type 1 (CB1-R) expression is disrupted in women with endometriosis and in isolated stromal cells exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). Fertil. Steril. 2012; 98(4): 948-56.e1. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.06.009.
29. *Bouaziz J., Bar On A., Seidman D.S., Soriano D.* The clinical significance of endocannabinoids in endometriosis pain management. Cannabis Cannabinoid Res. 2017; 2(1): 72-80. https://dx.doi.org/10.1089/can.2016.0035.
30. *El-Talatini M.R., Taylor A.H., Konje J.C.* Fluctuation in anandamide levels from ovulation to early pregnancy in in-vitro fertilization-embryo transfer women, and its hormonal regulation. Hum. Reprod. 2009; 24(8): 1989-98. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dep065.
31. *Khanaki K., Nouri M., Ardekani A.M., Ghaxsemzadeh A., Shahnazi V., Sadeghi M.R.* et al. Evaluation of the relationship between endometriosis and omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids. Iran. Biomed. J. 2012; 16(1): 38-43. https://dx.doi.org/10.6091/ibj.1025.2012.
32. *Hopeman M.M., Riley J.K., Frolova A.I., Jiang H., Jungheim E.S.* Serum polyunsaturated fatty acids and endometriosis. Reprod. Sci. 2015; 22(9): 1083-7. https://dx.doi.org/10.1177/1933719114565030.
33. *Pereira F.E.X.G., das Chagas Medeiros F., Rocha H.A.L., da Silva K.S.* Effects of omega-6/3 and omega-9/6 nutraceuticals on pain and fertility in peritoneal endometriosis in rats. Acta Cir. Bras. 2019; 34(4): e201900405. https://dx.doi.org/10.1590/s0102-865020190040000005.
34. *Смольникова В.Ю., Агаджанян Д.С., Красный А.М.* Активные формы кислорода и компоненты системы антиоксидантной защиты как маркеры прогнозирования качества эмбрионов у супружеских пар с различными типами бесплодия. Акушерство и гинекология. 2020; 11: 55-60. [Smolnikova V.Yu., Agadzhanyan D.S., Krasnyi A.M. Reactive oxygen species and components of antioxidant defense system as embryo quality prediction markers in couples with various types of infertility. Obstetrics and Gynecology. 2020; 11: 55-60. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.11.55-60.
35. *Banwell K., Lane M., Russel D., Kind K., Thompson J.G.* Oxygen concentration during mouse oocyte in vitro maturation affects embryo and fetal development. Hum. Reprod. 2007; 22(10): 2768-75. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dem203.
36. *Lin X., Dai Y., Tong X., Xu W., Huang Q., Jin X.* et al. Excessive oxidative stress in cumulus granulosa cells induced cell senescence contributes to endometriosis-associated infertility. Redox Biol. 2020; 30: 101431. https://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2020.101431.
37. *Prieto L., Quesada J.F., Cambero O., Pacheco A., Pellicer A., Codoceo R.* et al. Analysis of follicular fluid and serum markers of oxidative stress in women with infertility related to endometriosis. Fertil. Steril. 2012; 98(1): 126-30. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.03.052.
38. *Anastasiu C.V., Moga M.A., Neculau A.E., Bălan A., Scârmeciu I., Dragomir R.M.* et al. Biomarkers for the noninvasive diagnosis of endometriosis: state of the art and future perspectives. Int. J. Mol. Sci. 2020; 21(5): 1750. https://dx.doi.org/10.3390/ijms21051750.
39. *Halpern G., Schor E., Kopelman A.* Nutritional aspects related to endometriosis. Rev. Assoc. Med. Bras. (1992). 2015; 61(6): 519-23. https://dx.doi.org/10.1590/1806-9282.61.06.519.
40. *Ярмолинская М.И., Денисова А.С., Голубова Г.Х., Беспалова О.Н., Траль Т.Г., Закураева К.А., Пынкова В.О.* Анализ экспрессии рецепторов витамина D

у больных наружным генитальным эндометриозом. Акушерство и гинекология. 2021; 3: 117-23. [Yarmolinskaya M.I., Denisova A.S., Tolibova G.Kh., Bespalova O.N., Tral T.G., Zakuraeva K.A., Pyankova V.O. Analysis of the expression of vitamin D receptors in patients with external genital endometriosis. Obstetrics and Gynecology. 2021; 3: 117-23. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.3.117-123.

41. *Бахарева И.В.* Витамин D и эндометриоз: в поиске новых возможностей. Российский вестник акушера-гинеколога. 2018; 18(4): 35-43. [Bakhareva I.V. Vitamin D and endometriosis: looking for new opportunities. Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist. 2018; 18(4): 35-43. (in Russian)]. https://doi.org/10.17116/rosakush201818435.

Поступила 17.08.2021
Принята в печать 13.10.2021
Received 17.08.2021
Accepted 13.10.2021

Сведения об авторах:
Ибрагимова Луиза Казбековна, аспирант отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России, +7(916)524-55-39, ibragimova_luisa0693@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-3090-5922, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Смольникова Вероника Юрьевна, д.м.н., в.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России, veronika.smolnikova@mail.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Эльдаров Чупалав Максудович, к.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярной патофизиологии, НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Бобров Михаил Юрьевич, к.х.н., руководитель лаборатории молекулярной патофизиологии, НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4; ИБХ им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, mbobr@mail.ru
Агаджанян Диана Сейрановна, аспирант отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России, agadzhanyan@inbox.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Романов Евгений Андреевич, клинический эмбриолог отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия, НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России, e_romanov@oparina4.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Калинина Елена Анатольевна, д.м.н., профессор, руководитель отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России, +7(495)438-13-41, e_kalinina@oparina4.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Автор, ответственный за переписку: Луиза Казбековна Ибрагимова, ibragimova_luisa0693@mail.ru

Authors' information:
Luiza K. Ibragimova, Post-Graduate Student at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, +7(916)524-55-39, ibragimova_luisa0693@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-3090-5922, 117997, Russia, Moscow, Academica Oparina str., 4.
Veronika Yu. Smol'nikova, Dr. Med. Sci., Leading Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, veronika.smolnikova@mail.ru, 117997, Russia, Moscow, Academica Oparina str., 4.
Chupalav M. El'darov, Ph.D. (Bio), Senior Researcher at the Laboratory of Molecular Pathophysiology, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, 117997, Russia, Moscow, Academica Oparina str., 4.
Mikhail Yu. Bobrov, Ph.D. (Chemistry), Head of the Laboratory of Molecular Pathophysiology, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, 117997, Russia, Moscow, Academica Oparina str., 4.; Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, 117997, Russia, Moscow, Miklukho-Maclay str., 16/10, mbobr@mail.ru
Diana S. Agadzhanyan, Post-graduate Student at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, agadzhanyan@inbox.ru, 117997, Russia, Moscow, Academica Oparina str., 4.
Evgeny A. Romanov, Embryologist at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, e_romanov@oparina4.ru, 117997, Russia, Moscow, Academica Oparina str., 4.
Elena A. Kalinina, Dr. Med. Sci., Professor, Head of the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, +7(495)438-13-41, e_kalinina@oparina4.ru, 117997, Russia, Moscow, Academica Oparina str., 4.
Corresponding author: Luiza K. Ibragimova, ibragimova_luisa0693@mail.ru

^Коллектив авторов, 2021

О.С. НЕПША, Е.В. КУЛАКОВА, А.Н. ЕКИМОВ, Ю.С. ДРАПКИНА,
Н.П. МАКАРОВА, Е.Е. КРАЕВАЯ, Е.А. КАЛИНИНА

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ЭМБРИОНОВ В КАЧЕСТВЕ ПРЕДИКТОРА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОГРАММ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

Согласно данным исследований, достаточный уровень митохондриальной ДНК (мтДНК) в клетках кумулюса и в ооцитах определяет повышенный потенциал женских половых клеток к оплодотворению и является важным фактором, способствующим доимплантационному развитию эмбриона. Результаты нескольких работ показали, что эуплоидные эмбрионы с меньшим количеством копий мтДНК с большей вероятностью приводят к наступлению беременности.

Цель: *Оценка уровня мтДНК в клетках трофэктодермы (ТЭ) при проведении преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А) в качестве маркера имплантационного потенциала эмбриона.*

Материалы и методы: *Проанализирован уровень мтДНК в клетках ТЭ у 244 эуплоидных эмбрионов после проведения ПГТ-А с помощью методики NGS.*

Результаты: *Анализ исходов переноса эуплоидных эмбрионов показал, что уровень мтДНК в клетках ТЭ бластоцисты не зависит от результата программы ВРТ. Взаимосвязи уровня мтДНК с полом эмбриона также обнаружено не было. Отмечена связь между степенью экспансии ранних бластоцист и уровнем мтДНК. Бластоцисты с ТЭ, соответствующей категории отличного качества А, имели более высокие значения мтДНК. Количество копий мтДНК было значительно ниже у эмбрионов, подвергнутых биопсии на 6-й день после оплодотворения, по сравнению с биопсированными эмбрионами на 5-е сутки культивирования. Уровень мтДНК в общем количестве клеток ТЭ эуплоидных эмбрионов показал статистически незначимую корреляцию с возрастом матери.*

Заключение: *Согласно результатам данного исследования, уровень мтДНК в клетках ТЭ не позволяет прогнозировать имплантационный потенциал эмбриона и эффективность программы ВРТ. Стоит подчеркнуть, что бластоцисты с повышенным уровнем мтДНК в клетках ТЭ приводили к рождению здоровых детей в программе ВРТ. Описанные результаты подтверждают, что количественный уровень мтДНК является одним из ключевых в отношении скорости развития бластоцисты и зависит от суток культивирования эмбриона.*

Ключевые слова: *мтДНК, NGS, ПГТ-А, ВРТ, имплантационный потенциал, эмбрион.*

Вклад авторов: Кулакова Е.В., Макарова Н.П. — редактирование рукописи статьи; Непша О.С., Драпкина Ю.С., Краевая Е.Е. — сбор и анализ литературных данных, написание статьи; Екимов А.Н. — проведение преимплантационного генетического тестирования методом высокопроизводительного секвенирования (NGS); Макарова Н.П. - культивирование эмбрионов, проведение биопсии трофэктодермы эмбриона, криоконсервация эмбриона, редактирование и утверждение публикации; Калинина Е.А. — редактирование и утверждение публикации. **Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов. **Финансирование:** Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц. **Согласие пациентов на публикацию:** Пациенты подписали информированное согласие на публикацию своих данных. **Обмен исследовательскими данными:** Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Непша О.С., Кулакова Е.В., Екимов А.Н., Драпкина Ю.С., Макарова Н.П., Краевая Е.Е., Калинина Е.А. Использование митохондриальной ДНК эмбрионов в качества предиктора эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий. Акушерство и гинекология. 2021; 11:125-134
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.ll.125-134

®A group of authors, 2021

O.S. NEPSHA, E.V. KULAKOVA, A.N. EKIMOV, YU.S. DRAPKINA,
N.P. MAKAROVA, E.E. KRAEVAYA, E.A. KALININA

VALUE OF EMBRYONIC MITOCHONDRIAL DNA IN PREDICTING THE EFFECTIVENESS OF ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES

Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Research evidence suggests that a sufficient level of mitochondrial DNA (mtDNA) in cumulus cells and oocytes is associated with the high potential offemale germ cells for fertilization and is an essential factor contributing to

the pre-implantation embryonic development. Several studies have shown that a reduced mtDNA copy number is associated with a higher pregnancy rate.

Objective: *To investigate if mtDNA content in trophectoderm (TE) cells during preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) could be a new marker for an embryo's implantation potential.*

Materials and methods: *The mtDNA content of trophectoderm cells was analyzed in 244 euploid embryos after OGT-A using the NGS technique.*

Results: *Analysis of euploid embryo transfer results showed that the mtDNA content in TE blastocyst cells was not associated with ART outcomes. Also, there was no association between the mtDNA level and embryo sex. A relationship was noted between the degree of early blastocyst expansion and mtDNA level. Blastocysts with TEs corresponding to excellent grade A had higher mtDNA content. The mtDNA copy number was significantly lower in embryos biopsied on day six after fertilization compared to biopsied embryos on day 5 of culture. The mtDNA content in all TE cells in euploid embryos was statistically insignificantly correlated with maternal age.*

Conclusion: *The study findings suggest that mtDNA content in TE cells is not predictive for the embryo implantation potential and ART effectiveness. It should be emphasized that blastocysts with an increased mtDNA levels in TE cells was associated with the birth of healthy children in the ART program. These results confirm that the quantitative mtDNA content is one of the critical factors associated with blastocyst development and depends on the day of embryo culture.*

Keywords: *mtDNA, NGS, PGT-A, ART, implantation potential, embryo.*

Authors' contributions: Kulakova E.V., Makarova N.P. – manuscript editing; Nepsha O.S., Drapkina Yu.S., Kraevaya E.E. – collection and review of the relevant literature; Ekimov A.N. – preimplantation genetic testing by next-generation sequencing; Makarova N.P. – embryo cultivation, embryo trophectoderm biopsy, embryo cryopreservation, editing and final approval of the manuscript; Kalinina E.A. – editing and final approval of the manuscript.

Conflicts of interest: The authors have no conflicts of interest to declare.

Funding: There was no funding for this study.

Patient Consent for Publication: All patients provided informed consent for the publication of their data.

Authors' Data Sharing Statement: The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Nepsha O.S., Kulakova E.V., Ekimov A.N., Drapkina Yu.S., Makarova N.P., Kraevaya E.E., Kalinina E.A. Value of embryonic mitochondrial DNA in predicting the effectiveness of assisted reproductive technologies. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 125-134 (in Russian)

https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.125-134

Одним из наиболее эффективных методов лечения бесплодия являются вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) [1]. Разработка новых модифицированных схем стимуляции и усовершенствование эмбриологического этапа позволили повысить результативность программ ВРТ; тем не менее, эффективность одной попытки не превышает 40%, а частота родов живым плодом составляет около 33,3% у пациенток до 37 лет [2]. Во многих исследованиях было показано, что для успешной имплантации необходим координированный «диалог» между рецептивным и восприимчивым эндометрием и качественным эмбрионом с максимальным имплантационным потенциалом. На сегодняшний день для оценки качества эмбриона и его имплантационной способности используются морфологические критерии, предложенные Gardner et al. [3], однако данный способ оценки остается субъективным, и не все эмбрионы «хорошего» или «отличного» морфологического качества успешно имплантируются [4]. Учитывая, что на сегодняшний день становится очевидным преимущество переноса одного эмбриона в полость матки, разработаны и предложены различные технологии, дополняющие выбор наиболее перспективного эмбриона [5]. Одной из широко применяемых методик, позволяющей оптимизировать селекцию эмбриона с высоким имплантационным потенциалом, является преимплантационное генетическое тестирование на анеуплоидии (ПГТ-А) [6]. Тем не менее, несмотря на неоспоримые преимущества ПГТ-А в отношении повышения эффективности программ ВРТ, частота наступления беременности в циклах ВРТ при переносе эуплоидной бластоцисты составляет около 45–50% [7]. Кроме этого, наступление клинической беременности в цикле переноса эуплоидного эмбриона не гарантирует рождение здорового ребенка и не исключает наличие сбалансированных хромосомных аберраций и точечных мутаций, которые, в известной мере, влияют на развитие врожденных пороков развития.

Отсутствие имплантации эмбриона в программах ВРТ может быть связано не только с качественными характеристиками эмбриона, но и также с различными «материнскими» факторами [8].

Научные исследования последних лет сделали серьезный прорыв в изучении и понимании процессов раннего эмбриогенеза и имплантации эмбриона на молекулярном уровне, а также в поиске дополнительных способов оценки качества эмбриона и его имплантационного потенциала. Один из перспективных методов селекции эмбрионов заключается в определении копийности митохондриальной ДНК (мтДНК) в трофэктодерме (ТЭ) бластоцист при проведении ПГТ-А. Результаты нескольких работ показали, что эуплоидные эмбрионы с меньшим количеством копий мтДНК с большей вероятностью приведут к наступлению беременности [9, 10].

Основная функция митохондрий заключается в регуляции таких важных клеточных процессов как производство основного источника химической

энергии аденозинтрифосфата (АТФ), регуляции процессов апоптоза, передачи сигналов кальция, управление активными формами кислорода, циклом образования пирувата и лимонной кислоты, синтезом гема и стероидов, а также передачей гормональных сигналов [11]. Митохондрии наследуются от матери [12], так как при оплодотворении митохондрии сперматозоидов разрушаются, и все митохондрии зиготы обеспечивает оплодотворенный ооцит. Отдельные органеллы могут содержать более одной копии митохондриального генома, а каждая клетка – множество митохондрий. Содержание мтДНК в различных клетках значительно варьирует: сперматозоиды содержат нескольких копий, а зрелые ооциты – около 100 000 митохондрий и от 50 000 до 550 000 копий мтДНК [13].

Учитывая, что биогенез митохондрий начинается во время имплантации эмбриона, а репликация мтДНК инициируется на стадии бластоцисты, достаточный уровень мтДНК в клетках кумулюса и в ооцитах как определяет повышенный потенциал женских половых клеток к оплодотворению, так и является одним из важных факторов, способствующих доимплантационному развитию эмбриона [14, 15]. Результаты нескольких исследований показали, что снижение содержания мтДНК в ооцитах связано с нарушением оплодотворения и дальнейшего развития эмбриона [16]. Cecchino G. et al. и Hashimoto S. et al. показали, что во время начальных митотических делений содержание мтДНК остается стабильным, так как митохондрии и мтДНК ооцита равномерно распределяются по полученным бластомерам в зависимости от их объема [17, 18]. У эмбриона на стадии бластоцисты содержание мтДНК в клетках ТЭ постепенно снижается в связи с более крупным размером клеток и большим числом клеточных делений.

Две независимые группы авторов в 2015 г. впервые предложили использовать количественное определение мтДНК в качестве биомаркера качества и имплантационного потенциала эмбриона [9, 10]. Ученые показали, что эуплоидные бластоцисты, которые не привели к наступлению беременности в программе ВРТ, имели более высокое содержание мтДНК в клетках ТЭ по сравнению с эмбрионами, которые успешно имплантировались. В исследованиях было получено пороговое значение копий мтДНК, и эмбрионы, имеющие повышенный уровень мтДНК, не приводили к наступлению беременности, в отличие от эмбрионов с более низким содержанием мтДНК. После публикации результатов количественное определение мтДНК у эмбрионов привлекло пристальное внимание ученых и послужило началом дополнительных исследований, результаты которых подтвердили исходные данные [19–21]. Тем не менее другие авторы получили противоречивые результаты, ставящие под сомнение возможность применения мтДНК в качестве маркера качества и имплантационного потенциала эмбриона [22–26].

Учитывая неоднозначные данные предыдущих результатов, цель нашего исследования заключалась в изучении количественной оценки мтДНК в клетках ТЭ в качестве маркера имплантационного потенциала эмбриона и анализе исходов программ ВРТ при переносе одной эуплоидной бластоцисты после проведения ПГТ-А.

Материалы и методы

На базе отделения ВРТ в лечении бесплодия им проф. Б.В. Леонова ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России был выполнен ретроспективный анализ исходов программ ВРТ 187 супружеских пар. Было проанализировано 244 эуплоидных немозаичных бластоцисты, полученных в результате проведения программы ВРТ с ПГТ-А. Все пары подписали добровольное информированное согласие. Были проанализированы исходы 218 селективных переносов эмбриона в криопротоколе; из них 21 пациентке выполнено 2 криопротокола, 2 пациенткам – 3 криопротокола, 1 пациентке – 4 криопротокола и у 166 пациенток был проведен 1 криопротокол.

У всех пациентов начало овариальной стимуляции приходилось на 2–5-й день менструации по протоколу с использованием антагонистов гонадотропин-рилизинг гормона и рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона или человеческого менопаузального гонадотропина. В качестве триггера финального созревания ооцитов использовался человеческий хорионический гонадотропин (ХГЧ) в дозе 6000–10 000 ЕД внутримышечно по достижении диаметра фолликулов ⩾17 мм. Через 36 ч после введения триггера производился забор ооцитов с помощью трансвагинальной пункции фолликулов с последующей оценкой качества полученного материала. Сразу же после аспирации фолликулярной жидкости производили идентификацию ооцит-кумулюсных комплексов и оценку степени зрелости ооцитов под стереомикроскопом на нагретой поверхности стерильного ламинарного бокса. Оплодотворение ооцитов проводилось методом ИКСИ, после чего оплодотворенные клетки были перенесены в культуральную среду CSCM (Irvine Sc., США) с целью дальнейшего культивирования. Оценку наступления стадии двух пронуклеусов (формирования зиготы) проводили через 14–16 ч после оплодотворения. Все этапы культивирования выполняли в мультигазовых инкубаторах COOK (Ирландия) в каплях по 25 мкл под маслом (Irvine Sc., США). Среду CSCM (Irvine Sc., США) не меняли в течение 5 суток культивирования. На 5-е или 6-е сутки после оплодотворения была проведена процедура биопсии ТЭ с последующей криоконсервацией биопсированных эмбрионов. Полученные клетки ТЭ были перенесены в пробирки типа Эппендорф, содержащие лизирующий буфер, для проведения ПГТ-А с помощью методики высокопроизводительного секвенирования. Процедура ПГТ-А состояла из нескольких этапов: на первом этапе была проведена полногеномная амплификация и подготовка библиотеки для нанесения на чип. Для создания библиотеки к фрагментам ДНК присоединялись специальные молекулярные

метки-баркоды, уникальные для каждого образца в постановке. Далее было выполнено ионное полупроводниковое секвенирование с последующим биоинформатическим анализом результатов и подготовкой заключения на основании полученных данных согласно стандартной методике ПГТ-А. Нормировка числа копий мтДНК осуществлялась на аутосомы согласно интерфейсу программного обеспечения производителя.

Через 1–2 менструальных цикла по результатам ПГТ-А производился перенос криоконсервированных/размороженных эуплоидных эмбрионов. Пациенткам назначалась циклическая гормональная терапия (с 4–5-го дня менструального цикла – эстрадиола валерат в дозе 6 мг/сут, с 15–16-го дня менструального цикла –микронизированный прогестерон 400–600 мг/сут вагинально) и осуществлялся ультразвуковой контроль динамики роста эндометрия на 9–10-й день менструального цикла и на 15–16-й день цикла для назначения гестагенов. Перенос эмбрионов в полость матки осуществлялся на 20–21-й день менструального цикла с помощью мягкого катетера Wallace (Германия) или Cook (Австралия). Предварительное размораживание эмбрионов и ведение посттрансферного периода осуществлялись согласно принятым в клинической практике протоколам.

В качестве основных клинических показателей исходов программ ВРТ оценивали частоту биохимической, внематочной и клинической беременности, выкидыша, имплантации, а также частоту живорождения. На 14-й день после переноса эмбриона пациентки сдавали кровь на содержание бета-субъединицы ХГЧ (β-ХГЧ) для диагностики беременности. Положительный результат соответствовал уровню β-ХГЧ более 35 МЕ/л. При положительном результате β-ХГЧ для диагностики клинической внутриматочной беременности на 21-й день после переноса эмбриона выполняли трансвагинальное ультразвуковое исследование. Полученные результаты были представлены в виде модели, в которой частота выкидыша, внематочной беременности и клинической беременности были объединены в одну группу «положительный результат имплантации», а отсутствие наступления беременности при переносе эуплоидного эмбриона, а также биохимическая беременность соответствовали группе «отрицательный результат имплантации».

Статистический анализ

Анализ результатов проводился с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics версии 23.0 (США), а также с помощью таблиц Microsoft Excel. Для анализа количественных данных в группах определялся вид распределения данных (тест Колмогорова–Смирнова, графический анализ данных). Статистический анализ проводили с помощью теста Манна–Уитни при парном сравнении в случае, когда распределение не соответствовало закону нормального распределения. Для описания категориальных бинарных данных использовали абсолютные числа N и процентные доли от общего числа пациенток в группе P в формате N (P%). Непрерывные переменные были представлены в виде среднего и стандартного отклонения или в виде медианы (Me) и межквартильных значений (Q1;Q3) на основе распределения выборки. Качество бластоцисты, тип анеуплоидии или условия культивирования соответствовали категориальным переменным. Оценка различий между днями проведения биопсии, полами эмбриона, исходами программ ВРТ (частотой имплантации и частой наступления клинической беременности) по уровню мтДНК была определена с помощью U-критерия Манна–Уитни из-за асимметричного распределения ответа. Для оценки корреляции между возрастом женщины и количеством мтДНК использовали корреляцию Пирсона. Зависимость степени экспансии бластоцисты (от 2 до 6) и количества копий мтДНК оценивали с помощью критерия Краскела–Уоллиса для нескольких независимых выборок. Величину порогового уровня значимости p принимали равной 0,05. Для более наглядного восприятия информации все значения мтДНК были умножены на 10,000.

Результаты

Количественная оценка мтДНК была выполнена на всех анализируемых 244 образцах. Распределение количества копий мтДНК в клетках ТЭ эуплоидных эмбрионов показало положительную асимметрию (1,508) и длительный эксцесс (3,568) (рис. 1). Согласно результату теста Колмогорова–Смирнова ($p<0,001$), распределение значений мтДНК значимо отличается от нормального. Медиана количества копий мтДНК и межквартильные интервалы составляли 15,40 (10,67;20,78), при этом стоит отметить большой разброс значений количества копий мтДНК: минимальное значение составило 2,06, максимальное – 60,70.

Количественная оценка мтДНК в зависимости от возраста матери

Материнский возраст выступал в качестве непрерывной переменной. Средний возраст женщин

Рис. 1. Распределение содержания мтДНК, оцененное с помощью методики NGS, в клетках ТЭ эуплоидных бластоцист человека

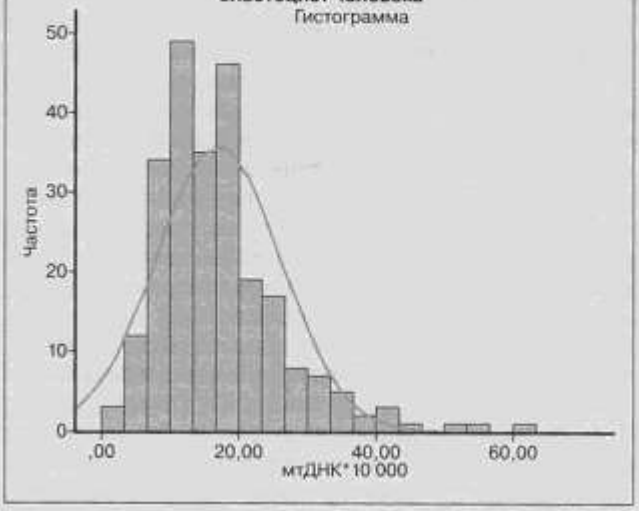


Рис. 2. Коробочный график кратности изменения мтДНК у эмбрионов в зависимости от суток культивирования

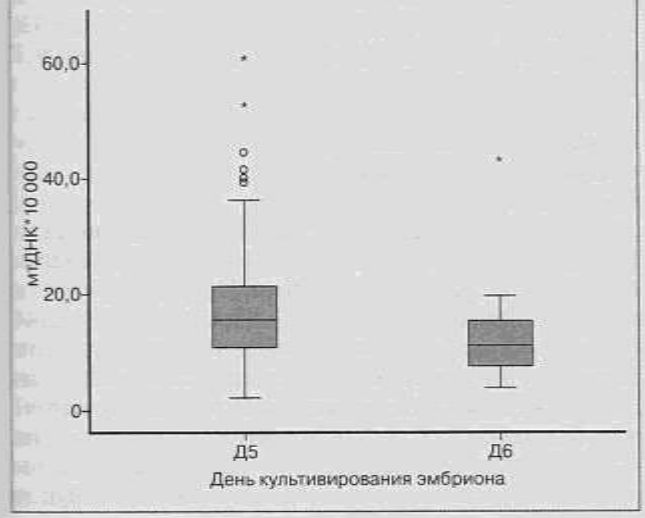
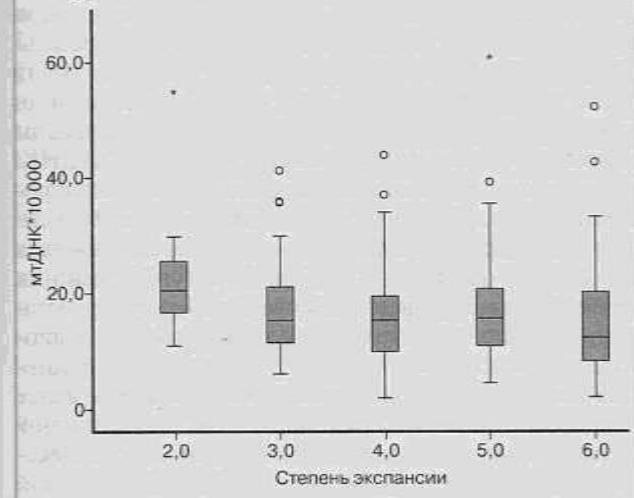


Рис. 3. Коробочный график кратности изменения уровня мтДНК в зависимости от степени экспансии бластоцист



на момент трансвагинальной пункции составил 34,07 (4,08) года (диапазон: 26,0–43,0 года). Мы проанализировали корреляцию между количественным определением мтДНК и возрастом матери с помощью параметрической ранговой корреляции Пирсона. Количественный уровень мтДНК в общем количестве клеток ТЭ эуплоидных эмбрионов показал статистически незначимую и очень слабую корреляцию с возрастом матери (коэффициент корреляции Пирсона r=-0,098; p=0,102).

Количественная оценка мтДНК и эмбриональные факторы

В настоящем исследовании были проанализированы ряд эмбриологических факторов, которые потенциально могут повлиять на содержание мтДНК в клетках эмбриона. При оценке эмбриологических факторов была изучена связь между количеством мтДНК и днем проведения биопсии. В данном исследовании у 215 эмбрионов (88%) биопсию проводили на 5-й день (Д5) культивирования, 29 (12%) эмбрионам биопсию выполнили на 6-й день (Д6) после оплодотворения. При проведении статистической обработки данных было показано, что эмбрионы Д5 культивирования имели более высокое количество мтДНК по сравнению с эмбрионами Д6: 15,70 (11,10; 21,80) VS 11,50 (7,53; 16,55) соответственно, p=0,001 (критерий Манна–Уитни) (рис. 2).

Для ПГТ-А проводили биопсию бластоцист хорошего и отличного качества, определяемого с помощью оценки степени экспансии бластоцисты (2–6 баллов), качества внутриклеточной массы (ВКМ) (А или В) и клеток ТЭ (А или В). Была обнаружена статистически незначимая связь степени экспансии бластоцисты и количества копий мтДНК (p=0,178). Стоит отметить, что была отмечена взаимосвязь между степенью экспансии ранних бластоцист (1–2 балла) и повышенным количественным уровнем копий мтДНК, а бластоцист, у которых экспансия соответствовала 6 баллам – с пониженным содержанием мтДНК. Уровень значимости составил 0,041 при попарном сравнении двух групп,

Рис. 4. Коробочный график кратности изменения уровня мтДНК в зависимости от качества ВКМ бластоцисты

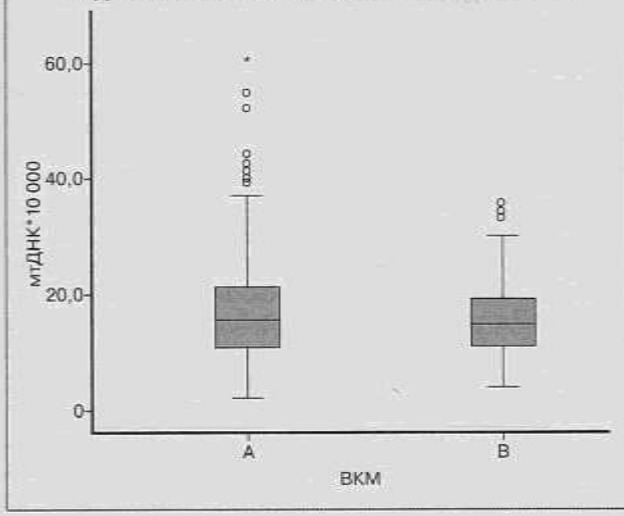
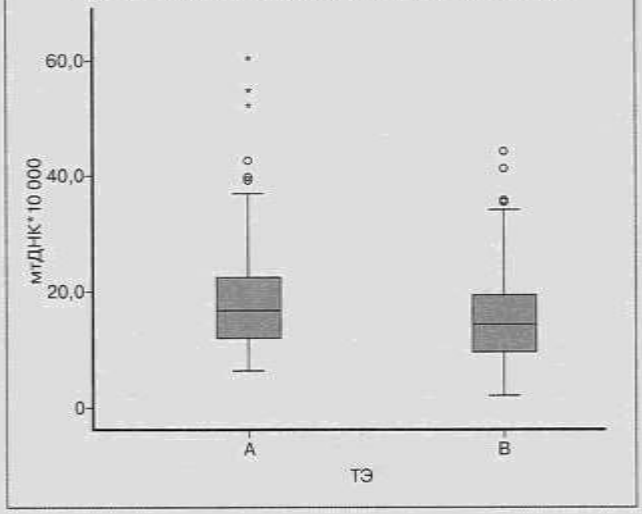


Рис. 5. Коробочный график кратности изменения уровня мтДНК в зависимости от качества ТЭ бластоцисты



используя критерий Манна–Уитни. Однако при введении поправки Бонферрони различия между двумя группами не были статистически значимыми (рис. 3). При этом качество ВКМ бластоцисты не было связано с количеством копий мтДНК. Количество бластоцист с качеством ВКМ, соответствующей степени А, составляло 179 (73,4%), Me 15,60 (10,60;22,10), степени В – 65 (26,6%), Me 14,70 (10,55;19,35), p=0,253 (рис. 4). Сравнение количества копий мтДНК в клетках ТЭ показало, что бластоцисты с ТЭ, соответствующей категории отличного качества А (100 бластоцист, 41%), имели более высокие значения мтДНК (Me 16,85 (12,12;22,25) по сравнению с эмбрионами, имеющие ТЭ хорошего качества В (144 бластоцист, 59%, Me 14,50 (9,72;19,60), p=0,007). Значение корреляции по Спирмену между качеством клеток ТЭ и количеством копий мтДНК составило -0,174 с уровнем значимости p=0,006 (рис. 5).

В исследовании было также оценено влияние пола эмбриона на количество мтДНК. Статистически значимых различий в отношении пола эмбриона и уровня мтДНК обнаружено не было. В исследование было включено 110 эмбрионов XY (45,1%) и 134 эмбриона XX (54,9%): Me 15,55 (10,60; 20,43) против 15,30 (10,83, 21,23) соответственно, p=0,917 (рис. 6).

Рис. 6. Коробочный график кратности изменения уровня мтДНК в зависимости от пола эмбриона

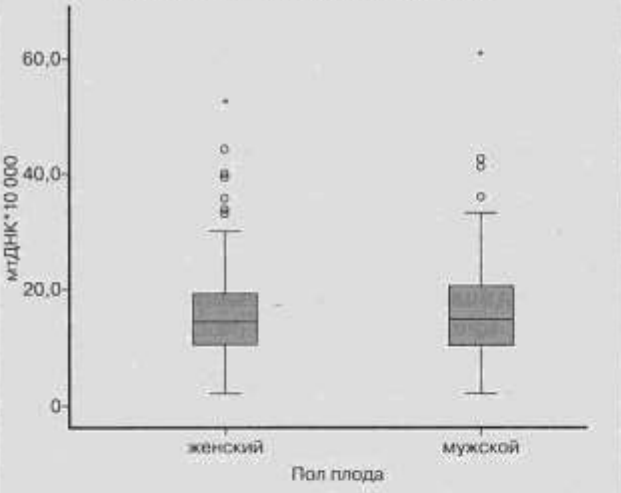
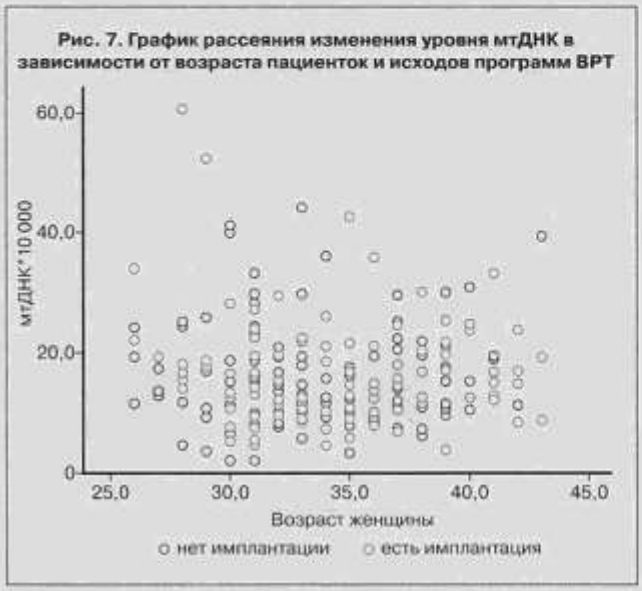


Рис. 7. График рассеяния изменения уровня мтДНК в зависимости от возраста пациенток и исходов программ ВРТ

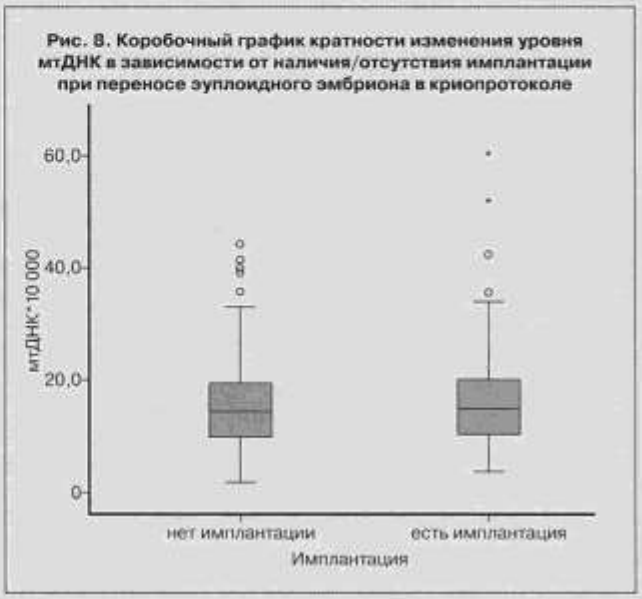


Оценка количественного уровня мтДНК в зависимости от исходов программы ВРТ

В данном исследовании средний возраст пациенток в группе с положительным результатом имплантации соответствовал 34,35 (4,31), а в группе с отрицательным результатом – 33,47 (3,91), p=0,144 (рис. 7). Группу с положительным результатом имплантации составили 102 пациентки (46,8%), из них у 1 женщины была диагностирована внематочная беременность, у 9 пациенток – выкидыш на 4–8-й неделе беременности, у 92 женщин – подтвержденная клиническая беременность. В группе с отрицательным результатом имплантации было 116 пациентов (53,2%), из них биохимическая беременность наступила у 5 женщин, отрицательный результат β-ХГЧ получен у 111 пациенток.

Значимой разницы в уровне мтДНК у пациенток в группе с положительным и отрицательным результатом имплантации получено не было: Me 15,15 (10,60;20,63) против 14,47 (10,23;19,68) соответственно, p=0,56 (рис. 8). В обеих группах были зафиксированы выбросы, соответствующие высокому уровню мтДНК. Информация по исходам беременности и живорождению была собрана от 72 пациенток из 92 женщин с подтвержденной клинической беременностью. На момент написания публикации у 16 женщин беременность развивается соответственно сроку гестации. Исходя из полученных данных, частота живорождения составила 35,6%. У 72 пациенток, родивших детей, 3 эмбриона имели уровень мтДНК выше 40 единиц, а в когорте пациенток с неудачной имплантацией был всего 1 эмбрион с количественным уровнем мтДНК, превышающий 40 копий на клетку.

Рис. 8. Коробочный график кратности изменения уровня мтДНК в зависимости от наличия/отсутствия имплантации при переносе эуплоидного эмбриона в криопротоколе



Обсуждение

Несмотря на то, что в настоящий момент предложено большое количество различных маркеров имплантационного потенциала и качества эмбриона, объяснить причину отсутствия имплантации перспективного эмбриона по данным морфологической оценки не всегда представляется возможным. В данном исследовании был проведен анализ уровня мтДНК у эмбрионов отличного/хорошего качества в зависимости от результата имплантации, качественных характеристик эмбриона, возраста матери, пола эмбриона и суток культивирования. Анализ результатов 218 программ ВРТ показал, что содержание мтДНК у эуплоидных бластоцист человека не зависит от репродуктивных исходов. Результаты предыдущих исследований, посвященных использованию мтДНК в качестве маркера имплантации, также показали противоречивые результаты [9, 10, 23, 24].

Результаты двух работ, опубликованных в 2015 г. [9, 10], продемонстрировали, что меньшее количество мтДНК в клетках ТЭ у эуплоидных эмбрионов служит маркером потенциально успешной имплантации бластоцисты в программе ВРТ. Diez-Juan A. et al. определили пороговое значение уровня мтДНК у эмбрионов, превышение которого никогда не приводило к наступлению беременности при переносе такого эмбриона [10]. Другой коллектив авторов разработал шкалу оценки потенциала эмбриона к имплантации в зависимости от количественного уровня мтДНК. В 2017 г. коллективы авторов в соавторстве с Fragouli E. опубликовали еще 2 работы [19, 20], в которых определили пороговый уровень отсечки мтДНК, превышение которого не приведет к беременности при переносе эуплоидного эмбриона.

Раннее развитие эмбриона зависит от серии координированных клеточных делений, регулируемых с помощью АТФ. Во время стадии бластоцисты производство АТФ повышается, чтобы обеспечить потребность клеток в энергии, необходимой для дальнейшей дифференциации и развития эмбриона, а также для поддержания процессов, необходимых для имплантации [9]. Повышение уровня мтДНК у нежизнеспособных эмбрионов наиболее вероятно связано с тем, что таким эмбрионам необходим дополнительный источник энергии в условиях клеточного стресса. В пользу гипотезы о повышении уровня мтДНК у эмбрионов, находящихся в условиях стресса, свидетельствует то, что у анеуплоидных эмбрионов содержание мтДНК гораздо выше по сравнению с эуплоидными [26, 27]. Существует теория «тихого эмбриона», согласно которой, жизнеспособный эмбрион имеет более низкий и «спокойный» метаболизм, в отличие от эмбрионов, находящихся в условиях клеточного стресса и обладающих сниженным потенциалом развития [9, 10, 26]. В качестве альтернативной гипотезы авторы предположили, что некоторые эмбрионы увеличивают уровень мтДНК для компенсации митохондриального дефицита, связанного с мутациями в митохондриальном геноме [20]. В своей работе Lledo B. et al. описали взаимосвязь мутаций митохондриального генома и повышенного уровня мтДНК, что приводило к снижению частоты имплантации эмбрионов, имеющих гетероплазмичные варианты мтДНК [21].

Результаты данного исследования не полностью согласуются с вышеописанными выводами зарубежных коллег. Согласно полученным данным, количественный уровень мтДНК не был связан с частотой имплантации в программе ВРТ. Кроме этого, в данном исследовании не было обнаружено порогового значения уровня мтДНК, выше или ниже которого не наступает беременность. Таким образом, результаты данного исследования согласуются с данными Victor A. et al. о том, что перенос эуплоидных эмбрионов с высоким количественным уровнем копий мтДНК может приводить к рождению здоровых детей [24, 25]. Согласно данным исследования Treff N.R. et al. [23], при переносе двух эуплоидных эмбрионов разного пола 69 пациенткам и успешной имплантации одного из эмбрионов не было обнаружено разницы в относительном количестве мтДНК у эмбрионов, которые привели к наступлению беременности и в группе эмбрионов с отрицательным результатом имплантации. Чтобы определить, является ли содержание мтДНК предиктором имплантационного потенциала эмбриона, был проанализирован уровень мтДНК у эмбрионов, полученных от одной супружеской пары. В исследование были включены пациентки, у которых в одном цикле при переносе эмбриона беременность не наступила, а в последующем цикле перенос размороженного эмбриона привел к наступлению беременности (39 женщин, 78 перенесенных эмбрионов). Изменений относительного уровня мтДНК у эмбрионов, полученных от одних родителей и обладающих разным имплантационным потенциалом, получено не было.

Результаты исследований не показали различий по количеству мтДНК у эмбрионов, полученных в группах женщин старшего репродуктивного возраста и более молодых пациенток [9, 25]. Статистически значимые изменения были обнаружены только при сравнении групп пациенток 21–22 лет и 42–48 лет, что можно объяснить выраженными дисфункциональными изменениями у эмбрионов, полученных от пациенток старшего репродуктивного возраста [19].

Результаты данного исследования показали, что количество копий мтДНК было значительно ниже у эмбрионов, подвергнутых биопсии на Д6, по сравнению с биопсированными эмбрионами на Д5, что согласуется с результатами других коллег [21, 23]. Таким образом, содержание митохондрий в клетке преимплантационного эмбриона зависит от числа клеточных делений, предшествовавших биопсии, и может отражать снижение относительного содержания мтДНК на клетку в результате деления клеток в растущей бластоцисте. Важно отметить, что по достижении стадии бластоцисты факторы репликации мтДНК (POLGA, POLGB и TFAM) активируются, что ведет к увеличению общего числа копий мтДНК [14]. Согласно Wu F.S.-Y. et al. [28],

основная причина культивирования эмбрионов до Д6 заключается в том, чтобы дать отстающим в развитии эмбрионам дополнительное время для развития. Следовательно, общая клеточная масса между бластоцистами Д5 и Д6 должна быть примерно аналогичной. Авторы предположили, что ооциты, из которых получены бластоцисты Д6, изначально содержали субоптимальное количество мтДНК, что привело к энергетическому дефициту и потребовало дополнительного времени для завершения процесса бластуляции. Для формирования полости бластоцисты необходимы высокие уровни АТФ, а морула, имеющая сниженную функцию митохондрий, не способна образовать бластоцель, что приводит к задержке ее развития [10, 28]. Таким образом, бластоцисты Д6 имеют замедленную метаболическую активность и развитие в результате внутреннего или внешнего стресса, заставляющего клетки увеличивать содержание мтДНК для компенсации энергетического дефицита.

В данном исследовании было обнаружено, что эмбрионы с отличным морфологическим качеством клеток ТЭ (А) и экспансирующиеся бластоцисты содержали большее количество копий мтДНК на клетку по сравнению с эмбрионами, обладающими ТЭ хорошего качества (В). В ряде исследований было показано, что эмбрионы с отличными морфологическими характеристиками содержат меньшее количество мтДНК [10, 22, 23]. Полученные данные подтверждают, что степень экспансии и митогенная активность бластоцисты влияют на содержание мтДНК.

Несовпадение результатов подобных исследований у разных авторов, возможно, связано с методическими особенностями определения содержания мтДНК в эмбрионах. Не исключено, что измерение с помощью высокопроизводительного секвенирования продуктов полногеномной амплификации, полученной с помощью полимеразной цепной реакции, может быть недостаточно точным для получения исчерпывающих результатов. Данные, полученные с помощью измерения содержания мтДНК с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием специфических флуоресцентных зондов ранее показали, что копийность мтДНК в ТЭ анеуплоидных бластоцист статистически выше, чем эуплоидных [29].

Заключение

Согласно результатам данного исследования, уровень мтДНК в клетках ТЭ не позволяет прогнозировать имплантационный потенциал эмбриона и эффективность программы ВРТ. Стоит подчеркнуть, что бластоцисты со значительно повышенным уровнем мтДНК в клетках ТЭ приводили к рождению здоровых детей в программе ВРТ. Более того, не рекомендовано использовать произвольное пороговое значение уровня мтДНК, так как в разных клиниках были получены разные точки отсечки количественного содержания мтДНК в клетках, превышение которого не приводило к наступлению беременности при переносе эуплоидного эмбриона в программе ВРТ. Описанные в данной работе результаты подтверждают, что в клетках бластоцисты на 5-е сутки после оплодотворения содержится значительно большее количество мтДНК, чем у бластоцист на 6-е сутки культивирования, а количественный уровень мтДНК является одним из ключевых в отношении скорости развития бластоцисты.

Для лучшего понимания роли мтДНК в процессах раннего эмбриогенеза и клинической ценности данного маркера необходимы дополнительные исследования, включающие оценку взаимосвязи морфологических характеристик эуплоидного эмбриона и количественного уровня мтДНК как в общей группе пациентов, так и в группе эмбрионов, полученных от одной супружеской пары. Кроме того, требуется оптимизация существующих или разработка новых, более точных методов исследования содержания мтДНК в эмбрионах.

Литература/References

1. World Health Organization. Sexual and reproductive health. 2020. Available at: https://www.who.int/reproductivehealth/topics/infertility/perspective/en/
2. SART: Society for Reproductive Technology. National Summary Report. Final National Summary Report for 2016. Available at: https://wwwsrtcorsonlinecom/rptCSR_PublicMultYearaspx?reportingYear=2016
3. *Gardner D.K., Schoolcraft W.B.* In vitro culture of human blastocysts. In: Jansen R., Mortimer D., eds. Towards reproductive certainty: fertility and genetics beyond. Parthenon Press, Carnforth; 1999: 378-88.
4. *Bromer J.G., Aua B., Seli M., Lockwood C.J., Seli E.* Preterm deliveries that result from multiple pregnancies associated with assisted reproductive technologies in the USA: a cost analysis. Curr. Opin. Obstet. Gynecol. 2011; 23(3): 168-73. https://dx.doi.org/10.1097/GCO.0b013e3283455lcd.
5. *Timofeeva A.V., Chagovets V.V., Drapkina Yu.S., Makarova N.P., Kalinina E.A., Sukhikh G.T.* Cell-free, embryo-specific sncRNA as a molecular biological bridge between patient fertility and IVF efficiency. Int. J. Mol. Sci. 2019; 20(12): 2912. https://dx.doi.org/10.3390/ijms20122912.
6. *Кулакова Е.В., Калинина Е.А., Трофимов Д.Ю., Макарова Н.П., Хечумян Л.Р., Дударова А.Х.* Вспомогательные репродуктивные технологии у супружеских пар с высоким риском генетических нарушений. Преимплантационный генетический скрининг. Акушерство и гинекология. 2017; 8: 21-7. [Kulakova E.V., Kalinina E.A., Trofimov D.Yu., Makarova N.P., Khechumyan L.R., Dudarova A.Kh. Assisted reproductive technologies in couples with a high risk of genetic disorders. Preimplantation genetic screening. Obstetrics and gynecology. 2017; 8: 21-7. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.8.21-7.
7. *Долгушина Н.В., Коротченко О.Е., Бейк Е.П., Абдурахманова Н.Ф., Ильина Е.О., Кулакова Е.В.* Клинико-экономический анализ эффективности преимплантационного генетического скрининга у пациенток позднего репродуктивного возраста. Акушерство и гинекология. 2017; 11: 56-61. [Dolgushina N.V., Korotchenko O.E., Beyk E.P., Abdurakhmanova N.F., Ilyina E.O., Kulakova E.V. Clinical and economic analysis of the effectiveness of preimplantation genetic screening in patients of advanced maternal age. Obstetrics and gynecology. 2017; 11: 56-61. (in Russian)]. https: // dx.doi.org/10.18565/aig.2017.11.56-61.
8. *Tarín J.J., García-Pérez M.A., Hamatani T., Cano A.* Infertility etiologies are genetically and clinically linked with other diseases in single meta-diseases. Reprod. Biol. Endocrinol. 2015; 13: 31. https://dx.doi.org/10.1186/s12958-015-0029-9.
9. *Fragouli E., Spath K., Alfarawati S., Kaper F., Craig A., Michel C.-E.* et al. Altered levels of mitochondrial DNA are associated with female age, aneuploidy,

and provide an independent measure of embryonic implantation potential. PLoS Genet. 2015; 11(6): e1005241. https://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1005241.

10. *Diez-Juan A., Rubio C., Marin C., Martinez S., Al-Asmar N., Riboldi M.* et al. Mitochondrial DNA content as a viability score in human euploid embryos: less is better. Fertil. Steril. 2015; 104(3): 534-41.e1. https://dx.doi.org/0.1016/j.fertnstert.2015.05.022.
11. *Harvey A.J.* Mitochondria in early development: linking the microenvironment, metabolism and the epigenome. Reproduction. 2019; 157(5): R159-R179. https://dx.doi.org/10.1530/REP-18-0431.
12. *Vaught R.C., Dowling D.K.* Maternal inheritance of mitochondria: implications for male fertility? Reproduction. 2018; 155(4): R159-R168. https://dx.doi.org/10.1530/REP-17-0600.
13. *Archer S.L.* Mitochondrial dynamics – mitochondrial fission and fusion in human diseases. N. Engl. J. Med. 2013; 369(23): 2236-51. https://dx.doi.org/10.1056/NEJMra1215233.
14. *Ciesielski G.L., Oliveira M.T., Kaguni L.S.* Animal mitochondrial DNA replication. Enzymes. 2016; 39: 255-92. https://dx.doi.org/10.1016/bs.enz.2016.03.006.
15. *Popov L.-D.* Mitochondrial biogenesis: an update. J. Cell. Mol. Med. 2020; 24(9): 4892-9. https://dx.doi.org/10.1111/jcmm.15194.
16. *Королькова А.И., Мишиева Н.Г., Мартазанова Б.А., Бурменская О.В., Веюкова М.А., Екимов А.Н., Трофимов Д.Ю., Абубакиров А.Н.* Значимость копийности митохондриальной ДНК в клетках кумулуса пациенток позднего репродуктивного возраста. Акушерство и гинекология. 2019; 10: 108-14. [Korolkova A.I., Mishieva N.G., Martazanova B.A., Burmenskaya O.V., Veyukova M.A., Ekimov A.N., Trofimov D.Yu., Abubakirov A.N. The significance of mitochondrial DNA copy number in cumulus cells in patients of advanced reproductive age. Obstetrics and gynecology. 2019; 10: 108-14. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.10.108-114.
17. *Cecchino G.N., Garcia-Velasco J.A.* Mitochondrial DNA copy number as a predictor of embryo viability. Fertil. Steril. 2018: 111(2): 205-11. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.11.021.
18. *Hashimoto S., Morimoto N., Yamanaka M., Matsumoto H., Yamochi T., Goto H.* et al. Quantitative and qualitative changes of mitochondria in human preimplantation embryos. J. Assist. Reprod. Genet. 2017; 34(5): 573-80. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-017-0886-6.
19. *Ravichandran K., McCaffrey C., Grifo J., Morales A., Perloe M., Munné S.* et al. Mitochondrial DNA quantification as a tool for embryo viability assessment: retrospective analysis of data from single euploid blastocyst transfers. Hum. Reprod. 2017; 32(6): 1282-92. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dex070.
20. *Fragouli E., McCaffrey C., Ravichandran K., Spath K., Grifo J.A., Munné S.* et al. Clinical implications of mitochondrial DNA quantification on pregnancy outcomes: a blinded prospective non-selection study. Hum. Reprod. 2017; 32(11): 2340-7. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dex292.
21. *Lledo B., Ortiz J.A., Morales R., Garcia-Hernandez E., Ten J., Bernabeu A.* et al. Comprehensive mitochondrial DNA analysis and IVF outcome. Hum. Reprod. Open. 2018; 2018(4): hoy023. https://dx.doi.org/10.1093/hropen/hoy023.
22. *Klimczak A.M., Pacheco L.E., Lewis K.E., Massahi N., Richards J.P., Kearns W.G.* et al. Embryonal mitochondrial DNA: relationship to embryo quality and transfer outcomes. J. Assist. Reprod. Genet. 2018; 35(5): 871-7. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-018-1147-z.
23. *Treff N.R., Zhan Y., Tao X., Olcha M., Han M., Rajchel J.* et al. Levels of trophectoderm mitochondrial DNA do not predict the reproductive potential of sibling embryos. Hum. Reprod. 2017; 32(4): 954-62. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dex034.
24. *Victor A., Griffin D., Dardner K.G., Brake A., Zouves C., Barnes F.* et al. Births from embryos with highly elevated levels of mitochondrial DNA. Reprod. Biomed. Online. 2019; 39(3): 403-12. https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2019.03.214.
25. *Victor A., Brake A.J., Tyndall J.C., Griffin D.K., Zouves C.G., Barnes F.L.* et al. Accurate quantitation of mitochondrial DNA reveals uniform levels in human blastocysts irrespective of ploidy, age, or implantation potential. Fertil. Steril. 2017; 107(1): 34-42.e3. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.09.028.
26. *Lee Y.-X., Chen C.-H., Lin S.-Y., Lin Y.-H., Tzeng C.-R.* Adjusted mitochondrial DNA quantification in human embryos may not be applicable as a biomarker of implantation potential. J. Assist. Reprod. Genet. 2019; 36(9): 1855-65. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01542-6.
27. *Shang W., Zhang Y., Shu M., Wang W., Ren L., Chen F.* et al. Comprehensive chromosomal and mitochondrial copy number profiling in human IVF embryos. Reprod. Biomed. Online. 2018; 36(1); 67-74. https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2017.10.110.
28. *Wu F.S.Y., Weng S.P., Shen M.S., Ma P.C., Wu P.K., Lee N.C.* Suboptimal trophectoderm mitochondrial DNA level is associated with delayed blastocyst development. J. Assist. Reprod. Genet. 2021; 38(3): 587-94. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-020-02045-5.
29. *Королькова А.И., Мишиева Н.Г., Мартазанова Б.А., Бурменская О.В., Екимов А.Н., Трофимов Д.Ю., Веюкова М.А., Кириллова А.О., Абубакиров А.Н.* Повышение эффективности программ ЭКО на основании определения копийности митохондриальной ДНК в трофэктодерме эмбрионов. Акушерство и гинекология. 2019; 3: 98-104. [Korolkova A.I., Mishieva N.G., Martazanova B.A., Burmenskaya O.V., Ekimov A.N., Trofimov D.Yu., Veyukova M.A, Kirillova A.O., Abubakirov A.N. Increasing the effectiveness of IVF programs by determining mitochondrial DNA copy number in embryonic trophectoderm. Obstetrics and gynecology. 2019; 3: 98-104. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.3.98-104.

Поступила 03.06.2021
Принята в печать 23.06.2021
Received 03.06.2021
Accepted 23.06.2021

Сведения об авторах:

Непша Оксана Сергеевна, к.б.н., научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ, o_nepsha@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-9988-2810, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Кулакова Елена Владимировна, к.м.н., с.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова МЗ РФ, e_kulakova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-4433-4163, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Екимов Алексей Николаевич, врач-лабораторный генетик лаборатории молекулярно-генетических методов, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ, a_ekimov@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0001-5029-0462, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Драпкина Юлия Сергеевна, к.м.н., научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова МЗ РФ, yu_drapkina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-0545-1607, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Макарова Наталья Петровна, д.б.н., в.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова МЗ РФ, np_makarova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0003-8922-2878, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Краевая Елизавета Евгеньевна, к.м.н., м.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова МЗ РФ, e_kraevaya@oparina4.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Калинина Елена Анатольевна, д.м.н, профессор, заведующая отделением вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова МЗ РФ, e_kalinina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-8922-2878, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:
Oksana S. Nepsha, Ph.D. (Biol. Sci.), Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, nepsha@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-9988-2810, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Elena V. Kulakova, Ph.D., Senior Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, e_kulakova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-4433-4163, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Alexey N. Ekimov, Clinical Geneticist at the Molecular Genetics Laboratory, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, a_ekimov@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0001-5029-0462, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Yulia S. Drapkina, Ph.D., Obstetrician-Gynecologist at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, yu_drapkina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-0545-1607, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Natalia P. Makarova, Dr. Biol. Sci., Senior Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, np_makarova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0003-8922-2878, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Elizaveta E. Kraevaya, Ph.D., Junior Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, e_kraevaya@oparina4.ru, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Elena A. Kalinina, Dr. Med. Sci., Professor, Head of the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, e_kalinina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-8922-2878, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

©Коллектив авторов, 2021

Е.В. МИТЮРИНА[1], С.Г. ПЕРМИНОВА[1], А.В. КРАВЧЕНКО[2],
Н.В. КОЗЫРИНА[2], М.А. ВЕЮКОВА[1], А.А. ГАПОНЕНКО[1]

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АНОМАЛИИ ООЦИТОВ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОК, ПОЛУЧАЮЩИХ АНТИРЕТРОВИРУСНУЮ ТЕРАПИЮ

[1] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия
[2] ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Цель: *Изучить распространенность дисморфизмов ооцитов у ВИЧ-инфицированных женщин, принимающих антиретровирусную терапию (АРТ).*

Материалы и методы: *В ретроспективное исследование включены 210 супружеских пар, обратившихся для проведения программы ЭКО. Основная группа – 113 пациенток с ВИЧ-инфекцией, контрольная – 97 женщин без ВИЧ-инфекции, которым выполнено 163 и 123 стимулированных цикла соответственно. Проведена морфологическая оценка 2321 зрелого ооцита (МII), из них 1228 получены в основной группе и 1093 – в группе контроля.*

Результаты: *Медиана возраста у пациенток с ВИЧ-инфекцией составляла 34 (31;37) года; длительность заболевания и продолжительность АРТ – 8 (5;11) и 3,6 (2;6) года соответственно. У 65 из 113 женщин (57,5%; 95% ДИ 47,8–66,4) была 3-я субклиническая стадия заболевания, у 43 (38,1%; 95% ДИ 29,2–47,8) – 4А стадия, у 2 (1,8%; 95% ДИ 0–4,4) – 4Б и у 3 (2,7%; 95% ДИ 0–6,2) – 4В стадия ВИЧ-инфекции. Медиана уровня $CD4^+$ лимфоцитов составила 582 (432;807) мкл в 1 кл., а значение иммунорегуляторного индекса (ИРИ) – 0,87. Все пациентки получали АРТ и имели неопределяемую вирусную нагрузку в крови перед проведением программы ЭКО. Распространенность различных видов дисморфизмов ооцитов у ВИЧ-инфицированных женщин была существенно выше, чем у пациенток контрольной группы, и составила 29,5% (362/1228) и 14,1% (154/1093) соответственно ($p<0,001$; ОШ 2,0; 95% ДИ 1,765–2,480). В структуре цитоплазматических аномалий строения ооцитов в обеих группах преобладала центральная гранулярность цитоплазмы. Частота выявления данного вида дисморфизма в основной группе составила 17,3% (213/1229), в группе контроля – 10% (109/1093), при этом различия были статистически значимы ($p<0,001$; ОШ 2,26; 95% ДИ 1,8–2,7). Распространенность экстрацитоплазматических аномалий строения ооцитов, а также сочетание форм у ВИЧ-инфицированных пациенток были сопоставимы с ВИЧ-серонегативным контролем.*

Заключение: *Более высокая распространенность дисморфизмов ооцитов у ВИЧ-инфицированных пациенток, принимающих АРТ, по сравнению со здоровыми женщинами свидетельствует об ухудшения морфологических характеристик ооцитов в данной группе больных.*

Ключевые слова: *морфология ооцитов, дисморфизмы ооцитов, качество ооцитов, ВИЧ, ЭКО, антиретровирусная терапия.*

Вклад авторов: Митюрина Е.В., Перминова С.Г. – концепция и дизайн исследования, написание текста; Митюрина Е.В., Гапоненко А.А., Веюкова М.А. – сбор и обработка материала; Митюрина Е.В. – статистическая обработка данных; Козырина Н.В., Кравченко А.В. – редактирование.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование: Работа выполнена без спонсорской поддержки.
Согласие пациентов на публикацию: Пациенты подписали информированное согласие на публикацию своих данных.
Обмен исследовательскими данными. Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Митюрина Е.В., Перминова С.Г., Кравченко А.В., Козырина Н.В., Веюкова М.А., Гапоненко А.А. Морфологические аномалии ооцитов у ВИЧ-инфицированных пациенток, получающих антиретровирусную терапию. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 135-142
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.135-142

©A group of authors, 2021

E.V. MITYURINA[1], S.G. PERMINOVA[1], A.V. KRAVCHENKO[2],
N.V. KOZYRINA[2], M.A. VEYUKOVA[1], A.A. GAPONENKO[1]

MORPHOLOGICAL ABNORMALITIES IN OOCYTES IN PATIENTS WITH HIV INFECTION RECEIVING ANTIRETROVIRAL THERAPY

[1]Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia
[2]Central Research Institute of Epidemiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor), Moscow, Russia

Aim: *To study the prevalence of oocyte dysmorphisms in HIV-infected women receiving antiretroviral therapy (ART).*
Materials and methods: *The retrospective study included 210 married couples who underwent IVF. The main group included 113 HIV-infected patients, and the control group included 97 women without HIV infection, who underwent 163 and 123 ovarian stimulation cycles, respectively. Morphological assessment of 2321 mature MII oocytes was performed, of them 1228 oocytes were obtained in the main group and 1093 in the control group..*
Results: *The median age of patients with HIV infection was 34 (31;37) years; duration of the diseases and Art WAS 8 (5;11) and 3.6 (2;6) years, respectively. 65 of 113 women (57.5%; 95% CI: 47.8–66.4) had subclinical stage 3 of the disease, 43 women (38.1%; 95% CI: 29.2–47.8) had stage 4A, 2 women (1.8%; 95% CI: 0–4.4) had stage 4B, and 3 women (2.7%; 95% CI: 0–6.2) had stage 3C of HIV infection (Russian HIV classification). The average CD4[+] lymphocytes count was 582 (432;807) cells/μl, and immunoregulatory index (IRI) was 0.87. All patients received ART and had had an undetectable viral load in the blood beforee IVF treatment. The prevalence of various types of oocyte dysmorphisms in HIV-infected women was significantly higher versus the women in the control group and was 29.5% (362/1228) and 14.1% (154/1093), respectively (p<0.001, RR 2.0; 95% CI: 1.765–2.480). Among ocyte cytoplasmic abnormalities in both groups, centrally located cytoplasmic granulation (CLCG) prevailed. Detection rate of this type of dysmorphisms was 17.3% (213/1229) in the main group, and 10% (109/1093) in the control group. The difference was statistically significant (p<0.001; RR 2.26; 95% CI: 1.8–2.7). The prevalence of extracytoplasmic abnormalities of oocytes, as well as combination of their types in HIV-infected patients was comparable with HIV-seronegative control.*
Conclusion: *The higher prevalence of oocyte dysmorphisms in HIV-infected patients who received ART versus healthy women, indicates deterioration of the morphological features of oocytes in this group of patients.*

Keywords: *oocyte morphology, oocyte dysmorphisms, oocyte quality, HIV, IVF, antiretroviral therapy.*

Authors' contribution: Mityurina E.V., Perminova S.G. – the concept and design of the study, writing the text of the article; Mityurina E.V., Gaponenko A.A., Veyukova M.A. – material collection and processing; Mityurina E.V. – statistical data processing; Kozyrina N.V., Kravchenko A.V. – editing the text of the article.
Conflicts of interest: The authors declare that they have no conflicts of interest.
Funding: The study was carried out without any sponsorship.
Patient Consent for Publication: All patients provided informed consent for the publication of their data.
Authors' Data Sharing Statement: The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Mityurina E.V., Perminova S.G., Kravchenko A.V., Kozyrina N.V., Veyukova M.A., Gaponenko A.A. Morphological abnormalities in oocytes in patients with HIV infection receiving antiretroviral therapy. Akusherstvo i Gynecologia/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 135-142 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.135-142

Ключевым фактором успеха в циклах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) является функциональная и морфологическая зрелость гамет. В экспериментах на животных было показано, что качество ооцита играет более важную роль, чем характеристики сперматозоида [1, 2]. Компетентность ооцитов, их способность к оплодотворению и дальнейшее раннее развитие эмбриона определяется синхронностью созревания ядра и цитоплазмы. Нарушение или асинхронность данного процесса может приводить к появлению тех или иных морфологических аномалий строения ооцитов, распространенность которых в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) достигает 50% [3]. Общепринято различать экстрацитоплазматические и цитоплазматические аномалии строения яйцеклеток, называемые дисморфизмами. К цитоплазматическим дисморфизмам ооцитов относятся центральная гранулярность цитоплазмы, вакуоли, аномальные агрегаты гладкого эндоплазматического ретикулума (ГЭР), а также темная или агомогенная цитоплазма. Ряд исследователей считают, что ооциты с данными видами дисморфизмов имеют низкую частоту оплодотворения, а эмбрионы, полученные из таких клеток, обладают низким потенциалом к имплантации и дальнейшему развитию [4–6]. Экстрацитоплазматические дисморфизмы – это изменение ширины и наличие гранулярности в перивителлиновом пространстве, изменение формы или толщины блестящей оболочки, а также аномалия

строения первого полярного тельца. Экспертами Стамбульского консенсуса по оценке ооцитов и эмбрионов было показано, что экстрацитоплазматические аномалии следует рассматривать как фенотипические отклонения (вариации), а некоторые из них – как индикатор старения ооцитов [7]. Остается спорным вопрос о негативном влиянии данных видов дисморфизмов на частоту оплодотворения и развитие эмбриона [4, 5, 8, 9].

В литературе обсуждается роль возраста женщины, а также некоторых гинекологических заболеваний и метаболических нарушений в появлении морфологических аномалий ооцитов [10]. Кроме этого, ряд исследователей в качестве фактора риска возникновения дисморфизмов рассматривают длительность овариальной стимуляции и суммарной дозы гонадотропинов [4, 11–13]. Однако не существует единой точки зрения относительно влияния перечисленных факторов на морфологию яйцеклеток. Следует сказать, что остаются неизученными морфологические характеристики ооцитов у пациенток, принимающих гонадотоксичные препараты. Так, среди хронических инфекционных заболеваний особое место занимает ВИЧ-инфекция. По данным объединенной программы ООН по ВИЧ/СПИД (ЮНЭЙДС), в 2020 г. в мире насчитывалось 38,0 (31,6–44,5) млн людей, живущих с ВИЧ, из них на конец июня 2020 г. 26,0 (25,1–26,2) млн. получали антиретровирусную терапию (АРТ). Следует сказать, что современная АРТ позволяет перевести заболевание в разряд хронической контролируемой патологии, сохранить качество и продолжительность жизни людям с ВИЧ-инфекцией [14]. Однако в литературе обсуждается негативное влияние на качество ооцитов как тяжелого иммунодефицита, связанного с ВИЧ-инфекцией, так и АРТ. В ряде работ было показано, что при использовании нуклеозидных и нуклеотидных ингибиторов обратной транскриптазы (НИОТ) в ооцитах и кумулюсных клетках у пациенток с ВИЧ-инфекцией наблюдается истощение митохондриальной ДНК (мтДНК), увеличение частоты ее мутаций [15–17]. Именно с этим авторы связывают снижение способности ооцитов к оплодотворению и низкую эффективность программы ЭКО в данной группе больных. Однако сведения об исследованиях по изучению морфологических характеристик ооцитов у ВИЧ-инфицированных женщин, принимающих АРТ, в научной литературе отсутствуют. Данный аспект представляет научный интерес в связи с увеличением числа женщин репродуктивного возраста, инфицированных ВИЧ и планирующих беременность с использованием ВРТ.

Цель исследования: изучить распространенность дисморфизмов ооцитов у ВИЧ-инфицированных женщин, принимающих АРТ.

Материалы и методы

В ретроспективное исследование включены 210 супружеских пар, обратившихся для проведения программы ЭКО. Основную группу составили 113 пациенток с ВИЧ-инфекцией, контрольную – 97 женщин без ВИЧ-инфекции, которым выполнено 163 и 123 стимулированных цикла соответственно. Проведена морфологическая оценка 2321 зрелых ооцитов (MII), из них 1228 – полученных в основной группе и 1093 – в группе контроля. Критерии включения в основную группу: ВИЧ-положительный статус у женщины, в контрольную – отсутствие ВИЧ-инфекции. Критерии невключения в обеих группах: наличие противопоказаний к проведению ВРТ (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 803н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению» от 31.07.20).

Стимуляцию суперовуляции проводили в протоколах с антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона (ант-ГнРГ) с использованием препаратов рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (рФСГ). При достижении фолликулами диаметра 14–15 мм для предотвращения паразитарного пика эндогенного лютеинизирующего гормона начиналось введение препарата ант-ГнРГ в дозе 0,25 мг/сут подкожно до дня введения триггера овуляции. В качестве триггера овуляции при визуализации 3 фолликула и более ⩾17 мм в диаметре использовали хорионический гонадотропин человека в дозе 10 000 МЕ или 0,2 мг агониста ГнРГ. Аспирацию ооцитов осуществляли через 35–36 часов после введения триггера овуляции. Далее в полученной фолликулярной жидкости проводили поиск ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК), которые затем в стерильных планшетах с культуральной средой для оплодотворения (G-IVF, VitroLife) помещали в инкубатор при температуре 37,2°С и CO_2 6,5%. Через 2–3 ч выполняли механическое и ферментативное удаление (денудирование) клеток кумулюса из ОКК. Затем проводилась процедура ИКСИ, во время которой оценивали степень зрелости клеток, их морфологические характеристики и выявление дисморфизмов. Центральную гранулярность определяли при наличии темной губчатой зернистой области в цитоплазме ооцита; вакуоли представляли собой цитоплазматические включения, содержащие жидкость и окруженные мембраной. Аномальные агрегаты ГЭР – это круглые полупрозрачные образования в центральной части ооцита. Темный цвет цитоплазмы – значительное изменение цвета всей цитоплазмы ооцита. К экстрацитоплазматическим дисморфизмам относили изменение ширины перивителлинового пространства и наличие в нем гранулярности, аномалии первого полярного тельца, а также деформацию или утолщение зоны пеллюцида ооцита.

Статистический анализ

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы IPM SPSS Statistics, версия 26. Результаты представлены в виде медианы и квартилей (Me (Q1;Q3)), а для оценки различий в группах применяли методы непараметрической статистики (тест Манна–Уитни). Для сравнения категориальных данных, а также для оценки значимых различий между ними использовали тест χ^2. Оценивали отношение шансов (ОШ) и 95% доверительный интервал (ДИ). Различия считали статистически значимыми при уровне достоверности $p<0,05$.

Результаты

Медиана возраста у пациенток с ВИЧ-инфекцией составляла 34 года (31;37 лет). Длительность заболевания и продолжительность АРТ – 8 (5;11) и 3,6 (2;6) года соответственно. У 65 из 113 женщин (57,5%; 95% ДИ 47,8–66,4) была 3-я субклиническая стадия заболевания, у 43 (38,1%; 95% ДИ 29,2–47,8) – 4А стадия, у 2 (1,8%; 95% ДИ 0–4,4) – 4Б и у 3 (2,7%; 95% ДИ 0–6,2) – 4В стадия ВИЧ-инфекции. На момент включения в исследование у всех женщин с 4-й стадией ВИЧ-инфекции имела место фаза ремиссии на фоне АРТ. Медиана уровня $CD4^+$лимфоцитов составила 582 (432;807) мкл в 1 кл., $CD8^+$лимфоцитов – 740 (611;982) мкл в 1 кл., а значение иммунорегуляторного индекса – 0,87. Все пациентки получали АРТ и имели неопределяемую вирусную нагрузку в крови перед проведением программы ЭКО. У каждой третьей женщины (30,1%; 95% ДИ 21,2–38,9) были выявлены антитела к гепатиту С. В таблице 1 представлена клиническая характеристика пациентов, включенных в данное исследование.

Таблица 1. Клиническая характеристика пациенток основной и контрольной групп

Показатели	ВИЧ «+» *n*=113	Контроль *n*=97	*p*	ОШ (95% ДИ)
Возраст, лет*	34 (31; 37)	33 (30;36)	0,079	–
Длительность бесплодия, лет*	5 (3; 9)	4 (2,5;6)	0,043	–
Индекс массы тела, кг/м²*	22,5 (20; 24,9)	22 (21;24,5)	0,875	–
АМГ, нг/мл*	1,58 (0,8; 3,1)	2,8(1,9;5,7)	<0,001	–
Трубно-перитонеальный фактор бесплодия	52,2% (59/113)	45,4% (44/97)	0,322	0,8 (0,656–1,1)
Мужской фактор	20,4% 23/113	28,9% 28/97	0,152	1,4 (0,877–2,292)
Сочетанный фактор	12,4% 14/113	16,5% 16/97	0,397	1,3 (0,685–2,586)
Бесплодие неясного генеза	4,4% 5/113	8,2% 8/97	0,252	1,8 (0,631–5,510)
Бесплодия нет	10,6% 12/113	–		–
Суммарная доза гонадотропинов, МЕ*	2250 (1875;2700)	1950 (1650;2250)	0,001	–
Длительность стимуляции, дни*	10 (9;10)	10 (9;10)	0,948	–
Получено ооцитов*	8 (4;14)	10 (7;15)	0,010	–
Ооцитов MII*	7 (3;10,5)	8 (6;12)	0,14	–

* показатели представлены в виде Me (Q1;Q3), где Me – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль.

Таблица 2. Морфологическая характеристика ооцитов

Характеристики ооцитов	ВИЧ «+» *n*=1228	Контроль *n*=1093	*p*	ОШ (95% ДИ)
Цитоплазматические дисморфизмы	26,3% 323/1228	11,7% 128/1093	<0,001	2,26 (1,8–2,7)
Центральная гранулярность	17,3% 213/1228	10% 109/1093	<0,001	1,7 (1,4–2,199)
Вакуоли	1,4% 17/1228	0,3% 3/1093	0,004	5,0 (1,482–17,164)
Аномальные агрегаты ГЭР	1,3% 16/1228	–		
Темная цитоплазма	1,1% 13/1228	0,5% 6/1093	0,174	1,9 (0,736–5,056)
Агомогенная цитоплазма	7% 86/1228	1,7% 19/1093	<0,001	4,0 (2,468–6,577)
Экстрацитоплазматические дисморфизмы:	9% 111/1228	7,7% 84/1093	0,241	1,1 (0,897–1,543)
Изменение ширины перивителлинового пространства	1,4% 17/1228	3% 32/1093	0,009	0,4 (0,263–0,844)
Гранулярность в перивителлиновом пространстве	6,2% 75/1228	3,4% 37/1093	0,002	1,7 (1,223–2,642)
Аномалии строения первого полярного тельца	0,9% 11/1228	0,3% 3/1093	0,054	3,2 (0,910–11,624)
Деформация зоны пеллюцида ооцита	0,7% 8/1228	0,9% 10/1093	0,465	0,7 (0,281–1,791)
Сочетание цито- и экстрацитоплазматических дисморфизмов	5,6% 69/1228	5,2% 57/1093	0,668	1,0 (0,766–1,516)

Пациентки обеих групп были сопоставимы по возрасту (34 (31;37) и 33 (30;36) года; p=0,079), индексу массы тела (22,5 (20;24,9) и 22 (21;24,5) кг/м^2; p=0,875) и факторам бесплодия, которое в исследуемых группах чаще было обусловлено трубно-перитонеальным генезом. Следует отметить, что у ВИЧ-инфицированных пациенток в сравнении с группой контроля наблюдались значимо более низкие уровни антимюллерова гормона (АМГ) (1,58 (0,8;3,1) и 2,8 (1,9;5,7) нг/мл соответственно; p=0,001). Как результат, при проведении овариальной стимуляции в основной группе пациенток была использована большая суммарная доза гонадотропинов (2250 (1875;2700) и 1950 (1650;2250) МЕ соответственно; p=0,001), получено существенно меньшее количество ооцитов (8 (4;14) и 10 (7;15) соответственно; p=0,010) (табл. 1). При этом длительность стимуляции (10 (9;10) и 10 (9;10) дней соответственно; p=0,948) и число зрелых ооцитов MII (7 (3;10,5) и 8 (6;12) соответственно; p=0,14) были сопоставимы между группами.

Далее проведена оценка морфологических характеристик зрелых ооцитов. Распространенность различных видов дисморфизмов ооцитов у ВИЧ-инфицированных женщин была существенно выше, чем у пациенток контрольной группы, и составила 29,5% (362/1228) и 14,1% (154/1093) соответственно (p<0,001; ОШ 2,092; 95% ДИ 1,765–2,480).

Как видно из представленных в таблице 2 данных, цитоплазматические аномалии строения ооцитов статистически значимо чаще встречались в основной группе исследования в сравнении с группой контроля (26,3 и 11,7% соответственно; p<0,001; ОШ 2,26; 95% ДИ 1,8–2,7). Наиболее распространенной формой цитоплазматических дисморфизмов ооцитов в исследуемой выборке была центральная гранулярность цитоплазмы. Частота выявления данной аномалии строения яйцеклеток в основной группе составила 17,3% (213/1229), в группе контроля – 10% (109/1093), при этом различия были статистически значимы (p<0,001; ОШ 2,26; 95% ДИ 1,8–2,7). В ооцитах ВИЧ-инфицированных пациенток существенно чаще, чем в группе контроля, наблюдались вакуоли (1,4 и 0,3% соответственно; p=0,004; ОШ 5,044; 95% ДИ 1,482–17,164) и агомогенная цитоплазма (7 и 1,7% соответственно; p<0,001; ОШ 4,029; 95% ДИ 2,468–6,577), а темная цитоплазма ооцитов встречалась одинаково часто в обеих группах (1,1 и 0,5% соответственно; p=0,174; ОШ 1,9; 95% ДИ 0,736–5,056). Обращает внимание, что аномальные агрегаты ГЭР определялись только в ооцитах ВИЧ-инфицированных женщин (1,3%, 16/1228).

Частота встречаемости экстрацитоплазматических аномалий строения ооцитов, а также сочетание форм у ВИЧ-инфицированных пациенток была сопоставима с ВИЧ-серонегативным контролем. При этом в основной группе исследования статистически значимо чаще наблюдалась гранулярность в перивителлиновом пространстве (6,2% (75/1228) и 3,4% (37/1093) соответственно; p=0,002; ОШ 1,798; 95% ДИ 1,223–2,642), а в группе контроля – изменение ширины перивителлинового пространства (1,4% (17/1228) и 3% (32/1093) соответственно; p=0,009; ОШ 0,471; 95% ДИ 0,263–0,844). Аномалии строения первого полярного тельца чаще встречались у пациенток с ВИЧ-инфекцией, однако статистическая значимость различий имела пограничное значение (0,9% (11/1228) и 0,3% (3/1093) соответственно; p=0,054; ОШ 3,2; 95% ДИ 0,910–11,624). Деформация зоны пеллюцида ооцита наблюдалась одинаково часто в обеих группах (0,7% (8/1228) и 0,9% (10/1093) соответственно; p=0,465; ОШ 0,7; 95% ДИ 0,281–1,791).

Обсуждение

Кумулятивное число ВИЧ-инфицированных в Российской Федерации достигло 1 492 998 человек (по состоянию на конец 2020 г.), из них 37,5% составляют женщины; АРТ получали 604 999 ВИЧ-позитивных [18]. Наиболее высокий уровень пораженности населения ВИЧ-инфекцией сохраняется в возрастной группе от 30 до 44 лет. Хотя среди российской когорты ВИЧ-позитивных преобладают мужчины, следует сказать, что у женщин риск инфицирования в 4–7 раз выше, что обусловлено анатомическими особенностями и длительным нахождением во влагалище семенной жидкости с высокой концентрацией вирусных частиц. Более того, риск инфицирования повышается при наличии инфекций, передающихся половым путем и язвенных поражений слизистой оболочки половых путей [19]. Использование высокоактивной АРТ позволяет женщинам с ВИЧ-инфекцией планировать беременность как самостоятельно, так и с использованием ВРТ. Однако в данной группе пациенток наблюдается снижение фертильности при любой стадии ВИЧ-инфекции, что объясняют высокой частотой встречаемости воспалительных заболеваний органов малого таза, а также негативным влиянием препаратов группы НИОТ на липидный обмен, резистентность к инсулину [20, 21]. Гонадотоксичный эффект АРТ обсуждаются и в контексте низкой эффективности программ ВРТ у женщин с ВИЧ-инфекцией [20, 21]. Однако, учитывая доказанную митохондриальную токсичность НИОТ, исследования в основном направлены на оценку копийности мтДНК гамет. Морфологические же характеристики ооцитов ВИЧ-инфицированных женщин в настоящее время не изучены.

Как было уже сказано, аномалии морфологии ооцитов встречаются более чем в половине циклов ВРТ, и при их наличии снижается частота наступления беременности [3]. В данной работе частота встречаемости различных дисморфизмов у пациенток с ВИЧ-инфекцией составила 29,5%, что было значимо выше по сравнению с ВИЧ-негативными женщинами (14,1%; p<0,001).

Пациентки с ВИЧ-инфекцией, включенные в настоящее исследование, были в репродуктивном возрасте (Me 34 года), имели средний «стаж» заболевания (Me 8 лет) и непродолжительный период использования АРТ (Me 3,6 года). Следует сказать, что при оценке силы взаимосвязи была выявле-

на обратная зависимость между частотой выявления морфологически аномальных ооцитов и длительностью АРТ (r=0,173; p<0,001). Более высокая частота встречаемости дисморфизмов у ВИЧ-инфицированных женщин, принимающих АРТ, по сравнению с ВИЧ-негативными пациентками свидетельствует об ухудшения морфологических характеристик ооцитов в данной группе больных.

При анализе клинико-лабораторных показателей обращает на себя внимание тот факт, что у женщин с ВИЧ-инфекцией наблюдались значимо более низкие уровни АМГ (1,58 и 2,8 нг/мл; p<0,001), хотя пациентки обеих групп были сопоставимы по возрасту (34 и 33 года; p=0,079). Полученные данные согласуются с результатами других исследователей. Так, Scherzer R. et al. (2015) было показано, что уровни АМГ среди ВИЧ-инфицированных пациенток были стабильно ниже во всех возрастных группах по сравнению с неинфицированными женщинами [22]. Следует отметить, что в ряде работ было показано, что концентрации сывороточного АМГ отражают морфологические характеристики ооцитов. Авторы объясняют это тем, что АМГ вырабатывается гранулезными клетками и циркулирует в фолликулярной жидкости, тем самым может оказывать влияние на качество ооцитов за счет своего ауто- и паракринного действия. Остается неясным, связана ли корреляция между значениями АМГ и наличием дисморфизмов ооцитов со снижением его секреции гранулезными клетками в ооцитах низкого качества или, напротив, с возможным негативным влиянием низких уровней гормона на качество ооцитов [23–25]. В контексте этих данных, более высокую частоту встречаемости дисморфизмов ооцитов у ВИЧ-инфицированных, в сравнении с неинфицированными пациентками можно объяснить низкими уровнями сывороточного АМГ (1,58 и 2,8 нг/мл; p⩽0,001).

При проведении овариальной стимуляции в основной группе исследования, по сравнению с контрольной, была использована значимо большая суммарная доза индуктора (Me 2250 и 1950 МЕ; p=0,001), получено существенно меньшее количество ооцитов (Me 8 и 10; p=0,010), что можно объяснить исходно более низкими показателями овариального резерва. Обращает на себя внимание прямая зависимость частоты обнаружения морфологических аномалий ооцитов и суммарной дозы гонадотропинов у ВИЧ-инфицированных женщин (r=0,222; p<0,001). В исследовании Figueira et al. (2010) суммарная доза рФСГ положительно коррелировала с появлением экстрацитоплазматических дисморфизмов, а именно с наличием гранулярности в перивителлиновом пространстве (r=0,125; p=0,018) [26].

В структуре цитоплазматических дисморфизмов ооцитов в обеих группах преобладала центральная гранулярность цитоплазмы (17,3 и 10%), существенно чаще у ВИЧ-инфицированных пациенток (p<0,001). По данным литературы, частота встречаемости данной аномалии ооцитов достигает 30–35% [27], а в качестве факторов риска возникновения обсуждается возраст женщины и различные протоколы овариальной стимуляции [5]. Влияние центральной гранулярности цитоплазмы на исходы циклов ЭКО остается спорным. Так, в исследовании Tulay P. et al. (2019) не было выявлено различий в частоте оплодотворения между ооцитами с нормальной цитоплазмой и ооцитами с центральной грануляцией цитоплазмы. Более того, частота дробления, бластуляции и доля анеуплоидных эмбрионов также была сопоставима между группами. Однако частота наступления клинической беременности была существенно ниже в группе пациенток с центральной грануляцией цитоплазмы ооцитов в сравнении с группой контроля. Авторы делают вывод, что эмбрионы, полученные из ооцитов с центральной грануляцией цитоплазмы, имеют меньший потенциал к имплантации [28]. Другие исследователи, напротив, низкую частоту наступления беременности в данной группе пациенток объясняют более высокой частотой анеуплоидий (52%) в бластомерах эмбрионов, полученных после оплодотворения ооцитов с центральной грануляцией цитоплазмы [27].

Вакуоли (1,4 и 0,3%; p=0,004) и темная цитоплазма (1,1 и 0,5%; p=0,174) встречались не столь часто как в основной, так и в контрольной группах. По данным других исследователей, распространенность вакуолизации ооцитов также невысока и составляет не более 3–4% [5]. Факторы риска возникновения данного дисморфизма неизвестны, а частота оплодотворения ооцитов с вакуолями зависит от их количества и размера. Существует мнение, что крупные вакуоли смещают веретено деления; как результат, нарушается архитектоника цитоплазмы, что препятствует нормальному движению пронуклеусов, а полученные при этом эмбрионы реже достигают стадии бластоцисты и имеют более низкий потенциал к имплантации [8]. Наличие темной цитоплазмы ооцита может быть связано с цитоплазматической незрелостью клетки и также увеличивает вероятность получения эмбрионов плохого качества [29].

В основной группе исследования по сравнению с контрольной существенно чаще наблюдалась агомогенная цитоплазма ооцитов (7 и 1,7%; p<0,001). Большинство исследователей полагают, что агомогенная цитоплазма имеет неизвестное биологическое значение, то есть остаются неясными ни генез, ни влияние данного дисморфизма ооцитов на исход циклов ЭКО [5, 7].

Интересным в данной работе является то, что аномальные агрегаты ГЭР встречались только в группе пациенток с ВИЧ-инфекцией (1,3%, 16/1228). Данная морфологическая аномалия ооцитов является наиболее серьезной с точки зрения отрицательных эмбриологических, клинических и неонатальных исходов. В этой связи экспертами Стамбульского консенсуса по оценке ооцитов и эмбрионов рекомендовано не использовать для оплодотворения яйцеклетки с аномальными агрегатами ГЭР [7]. Факторами риска появления данного дисморфизма являются овариальная стимуляция, длительность и доза вводимых гонадотропинов [30]. Поскольку в данной работе у женщин с

ВИЧ-инфекцией по сравнению с группой контроля была использована значимо большая суммарная доза индуктора (Me 2250 и 1950 МЕ; p=0,001), полагаем, что это один из факторов появления аномальных агрегатов ГЭР в данной группе пациенток.

Частота выявления экстрацитоплазматических дисморфизмов ооцитов была сопоставима между группами (9 и 7,7%; p=0,241). Полученные данные подтверждаются результатами других исследователей, в которых показано, что данные морфологические аномалии – это фенотипические отклонения, отражающие гетерогенность полученных ооцитов [7].

Заключение

Таким образом, у пациенток с ВИЧ-инфекцией, использующих АРТ, наблюдалось снижение уровня АМГ; как результат было получено меньшее количество ооцитов, морфологические характеристики которых были существенно хуже в сравнении с группой контроля. По этическим и нормативным причинам проведение подобных исследований у женщин с ВИЧ-инфекцией, не принимающих АРТ, в России невозможно; поэтому обоснованно предполагать наличие ведущей роли АРТ в развитии дисморфизмов ооцитов преждевременно. В то же время полученные данные позволяет рекомендовать пациенткам данной группы не откладывать планирование беременности и при достижении неопределяемой вирусной нагрузки в крови стремиться к реализации репродуктивной функции самостоятельно или с использованием ВРТ.

Литература/References

1. *Sirard M.-A., François R., Blondin P., Robert C.* Contribution of the oocyte to embryo quality. Theriogenology. 2006; 65(1): 126-36. https://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.020.
2. *De Sousa P.A., Caveney A., Westhusin M.E., Watson A.J.* Temporal patterns of embryonic gene expression and their dependence on oogenetic factors. Theriogenology. 1998; 49(1): 115-28. https://dx.doi.org/10.1016/s0093-691x(97)00406-8.
3. *Setti A.S., Figueira R.C.S., Braga D.P.A.F., Colturato S.S., Iaconelli A. Jr., Borges E. Jr.* Relationship between oocyte abnormal morphology and intracytoplasmic sperm injection outcomes: a meta-analysis. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2011; 159(2): 364-70. https://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2011.07.031.
4. *Горшкова А.Г., Долгушина Н.В., Макарова Н.П., Ковальская Е.В., Калинина Е.А.* Факторы риска развития дисморфизмов ооцитов в программах вспомогательных репродуктивных технологий. Акушерство и гинекология. 2015; 5: 66-73. [Gorshkova A.G., Dolgushina N.V., Makarova N.P., Kovalskaya E.V., Kalinina E.A. Risk factors for the development of oocyte dysmorphisms in programs of assisted reproductive technologies. Obstetrics and gynecology. 2015; 5: 66-73. (in Russian)].
5. *Rienzi L., Ubaldi F.M., Iacobelli M., Minasi M.G., Romano S., Ferrero S.* et al. Significance of metaphase II human oocyte morphology on ICSI outcome. Fertil. Steril. 2008; 90(5): 1692-700. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.09.024.
6. *Ubaldi F., Rienzi L.* Morphological selection of gametes. Placenta. 2008; 29(Suppl. B): 115-20. https://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2008.08.009.
7. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. Hum. Rep. 2011; 26(6): 1270-83. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/der037.
8. *Wilding M., Di Matteo L., D'Andretti S., Montanaro N., Capobianco C., Dale B.* An oocyte score for use in assisted reproduction. J. Assist. Reprod. Genet. 2007; 24(8): 350-8. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-007-9143-8.
9. *Balakier H., Sojeck A., Motamedi G., Bashar S., Mandel R., Librach C.* Is the zona pellucida thickness of human embryos influenced by women's age and hormonal levels ? Fertil. Steril. 2012; 98(1): 77-83. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.04.015.
10. *Setti A.S., Braga D.P.A.F., Figueira Rde C., Vingris L., Iaconelli A., Borges E. Jr.* Body mass index is negatively correlated with the response to controlled ovarian stimulation but does not influence oocyte morphology in ICSI cycles. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2012; 163(2): 175-9. https://dx.doi.org10.1016/j.ejogrb.2012.04.002.
11. *Cota A.M., Oliveira J.B., Petersen C.G., Mauri A.L., Massaro F.C., Silva L.F.* et al. GnRH agonist versus GnRH antagonist in assisted reproduction cycles : oocyte morphology. Reprod. Biol. Endocrinol. 2012; 10: 33. https://dx.doi.org/10.1186/1477-7827-10-33.
12. *Fancsovits P., Tóthné Z.G., Murber Á., Rigó J. Jr., Urbancsek J.* Importance of cytoplasmic granularity of human oocytes in in vitro fertilization treatments. Acta Biol. Hung. 2012; 63(2): 189-201. https://dx.doi.org/10.1556/ABiol.63.2012.2.3.
13. *Yoldemir T.* Does the duration of gonadotropin stimulation affect embryo quality on post-retrieval day 3? Gynecol. Endocrinol. 2011; 27(5): 324-30. https://dx.doi.org/10.3109/09513590.2010.491571.
14. UNAIDS. Global HIV and AIDS statistics - Fact sheet. Global HIV statistics. 2020. Available at: www.unaids.org
15. *López S., Coll O., Durban M., Hernández S., Vidal R., Suy A.* et al. Mitochondrial DNA depletion in oocytes of HIV-infected antiretroviral-treated infertile women. Antiv. Ther. 2008; 13(6): 833-8.
16. *Bostan A., Demeestere I., Vanderwinden J.-M., Devreker F., Englert Y.* Nucleoside analog stavudine depletes mitochondrial DNA with no organelle loss in mouse oocytes. Curr. HIV Res. 2010; 8(2): 127-33. https://dx.doi.org/10.2174/157016210790442678.
17. *Митюрина Е.В., Перминова С.Г., Селимова Ф.Н., Бурменская О.В., Козырина Н.В., Кравченко А.В.* Гонадотоксичные эффекты антиретровирусной терапии у ВИЧ-инфицированных женщин. Акушерство и гинекология. 2020; 4: 111-9. [Mityurina E.V., Perminova S.G., Selimova F.N., Burmenskaya O.V., Kozyrina N.V., Kravchenko A.V. Gonadotoxic effects of antiretroviral therapy in HIV-infected women. Obstetrics and Gynecology. 2020; 4: 111-9 (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.4.111-119.
18. Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом. Справка «ВИЧ-инфекция в Российской Федерации» на 31 декабря 2020 г. Доступно по VICH-infektsiya-v-Rossijskoj-Federatsii-na-31.12.2020-..pdf (www.hivrussia.info). [Federal Centre for AIDS Prevention and Control. Reference "HIV infection in the Russian Federation" as of December 31, 2020. (in Russian)]. Available at: VICH-infektsiya-v-Rossijskoj-Federatsii-na-31.12.2020-..pdf (www.hivrussia.info).
19. *Simon V., Ho D.D., Karim Q.A.* HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment. Lancet. 2006; 368(9534): 489-504. https://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69157-5.
20. *Savasi V., Ferrazzi E., Lanzani C., Oneta M., Parrilla B., Persico T.* Safety of sperm washing and ART outcome in 741 HIV-1-serodiscordant couples. Hum. Reprod. 2007; 22(3): 772-7. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/del422.
21. *Marques C., Guerreiro C., Soares S.R.* Lights and shadows about the effectiveness of IVF in HIV infected women: a systematic review. Infect. Dis. Obstet. Gynecol. 2015; 2015: 517208. https://dx.doi.org/10.1155/2015/517208.
22. *Scherzer R., Bacchetti P., Messerlian G., Goderre J., Maki P.M., Seifer D.B.* et al. Impact of CD4+ lymphocytes and HIV infection on Anti-Müllerian Hormone levels in a large cohort of HIV-infected and HIV-uninfected women. Am. J. Reprod. Immunol. 2015; 73(3): 273-84. https://dx.doi.org/10.1111/aji.12332.
23. *Ebner T., Sommergruber M., Moser M., Shebl O., Schreier-Lechner E., Tews G.* Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte

quality in stimulated cycles. Hum. Reprod. 2006; 21(8): 2022-6. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/del127.

24. *Azizi E., Naji M., Nazari L., Salehpour S., Karimi M., Borumandnia N.* et al. Serum anti-Müllerian hormone is associated with oocyte dysmorphisms and ICSI outcomes. Int. J. Gynaecol. Obstet. 2019; 147(2): 179-86. https://dx.doi.org/10.1002/ijgo.12941.

25. *Borges E., Braga D.P.A.F., Setti A., Figueira R.C., Iaconelli A. Jr.* The predictive value of serum concentrations of anti-Müllerian hormone for oocyte quality, fertilization, and implantation. JBRA Assist. Reprod. 2017; 21(3): 176-82. https://dx.doi.org/10.5935/1518-0557.20170035.

26. *Figueira R.C., Braga D.P.A.F., Semião-Francisco L., Madaschi C., Iaconelli A. Jr., Borges E. Jr.* Metaphase II human oocyte morphology: contributing factors and effects on fertilization potential and embryo developmental ability in ICSI cycles. Fertil. Steril. 2010; 94(3): 1115-7. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.11.039.

27. *Kahraman S., Yakin K., Dönmez E., Samli H., Bahçe M., Cengiz G.* et al. Relationship between granular cytoplasm of oocytes and pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection. Hum. Reprod. 2000; 15(11): 2390-3. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/15.11.2390.

28. *Tulay P., Arslan H., Buran A., Koprulu Y.* Assessment of successful pregnancy using granular oocytes in ICSI treatments. Zygote. 2019; 27(2): 97-100. https://dx.doi.org/10.1017/S096719941900008X.

29. *Ten J., Mendiola J., Vioque J., De Juan J., Bernabeu R.* Donor oocyte dysmorphisms and their influence on fertilization and embryo quality. Reprod. Biomed. Online. 2007; 14(1): 40-8. https://dx.doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60762-6.

30. *Shaw-Jackson C., Van Beirs N., Thomas A.-L., Rozenberg S., Autin C.* Can healthy babies originate from oocytes with smooth endoplasmic reticulum aggregates? A systematic mini-review. Hum. Reprod. 2014; 29(7): 1380-6. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deu101.

Поступила 28.05.2021
Принята в печать 15.06.2021
Received 28.05.2021
Accepted 15.06.2021

Сведения об авторах:
Митюрина Елена Викторовна, к.н.н., с.н.с. научно-клинического отделения вспомогательных репродуктивных технологий им. Фредерика Паулсена, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(964)796-74-65, mity-elena@yandex.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Перминова Светлана Григорьевна, д.н.н., в.н.с. научно-клинического отделения вспомогательных репродуктивных технологий им. Фредерика Паулсена, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(916)202-16-87, perisvet@list.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Кравченко Алексей Викторович, д.м.н., профессор, в.н.с. Федерального научно-методического центра по профилактике и борьбе со СПИДом, Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, +7(495)366-05-18, alexey-kravtchenko@yandex.ru, 111123, Россия, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а.
Козырина Надежда Владимировна, к.н.н., научный сотрудник, Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, +7(916)715-10-18, nad-kozyrina@yandex.ru, 111123, Россия, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а.
Вейкова Мария Александровна, к.б.н., научный сотрудник научно-клинического отделения вспомогательных репродуктивных технологий им. Фредерика Паулсена, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(977)053-44-44, veymary@gmail.com, 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Гапоненко Александра Александровна, аспирант, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(926)700-44-14, sasha.gap@mail.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:
Elena V. Mityurina, PhD, Senior Researcher, F. Paulsen Research and Clinical Department for Assisted Reproductive Technologies, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, +7(964)796-74-65, mity-elena@yandex.ru, 117997, Russia, Moscow, Academica Oparina str., 4.
Svetlana S. Perminova, Dr. Med. Sci., Leading Researcher, F. Paulsen Research and Clinical Department for Assisted Reproductive Technologies, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, +7(916)202-16-87, perisvet@list.ru, 117997, Russia, Moscow, Academica Oparina str., 4.
Alexey V. Kravchenko, Dr. Med. Sci., Professor, Leading Researcher, Central Research Institute of Epidemiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor), +7(495)366-05-18, alexey-kravtchenko@yandex.ru, 111123, Russia, Moscow, Novogireevskaya str., 3a.
Nadezhda V. Kozyrina, PhD, Researcher, Central Research Institute of Epidemiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor), +7(495)366-05-18, nad-kozyrina@yandex.ru, 111123, Russia, Moscow, Novogireevskaya str., 3a.
Maria A. Veyukova, PhD (Bio), Researcher of the F. Paulsen Research and Clinical Department for Assisted Reproductive Technologies, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, +7(977)053-44-44, veymary@gmail.com, 117997, Russia, Moscow, Academica Oparina str., 4.
Alexandra A. Gaponenko, post-graduate student, F. Paulsen Research and Clinical Department for Assisted Reproductive Technologies, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, +7(926)700-44-14, sasha.gap@mail.ru, 117997, Russia, Moscow, Academica Oparina str., 4.

©Коллектив авторов, 2021

М.А. ШАМИНА, А.В. ТИМОФЕЕВА, И.С. ФЕДОРОВ, Е.А. КАЛИНИНА

ОЦЕНКА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ пивиРНК hsa_piR_020497 В ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОК С РАЗЛИЧНЫМИ ИСХОДАМИ ПРОГРАММ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

Цель: *Определение взаимосвязи между морфологическими и молекулярно-биологическими критериями оценки качества ооцитов, полученных у обследуемых женщин в день проведения трансвагинальной пункции фолликулов.*

Материалы и методы: *Применен метод глубокого секвенирования с последующей его валидацией методом ОТ-ПЦР в реальном времени для идентификации спектра малых некодирующих РНК (мнкРНК), присутствующих в фолликулярной жидкости левого и правого яичников 25 пациенток, среди которых 3 пациентки вступили в программу ЭКО повторно после отрицательного результата селективного переноса эмбриона в полость матки и проведенной по этой причине прегравидарной подготовки (назначение мио-инозитола в сочетании с фолиевой кислотой, витамином D, а также омега-3).*

Результаты: *Из 86 пивиРНК и 79 микроРНК, идентифицированных методом глубокого секвенирования мнкРНК фолликулярной жидкости яичников пациенток, уровень экспрессии пивиРНК hsa_piR_020497 был статистически значимо (p=0,01) повышен в группе пациенток с положительным исходом ВРТ (n=14) относительно группы пациенток с отрицательным исходом ВРТ (n=8) по данным ОТ-ПЦР в реальном времени. В результате проведенной прегравидарной подготовки у всех трех пациенток было выявлено увеличение уровня экспрессии hsa_piR_020497 в фолликулярной жидкости в одном или двух яичниках до значений уровня экспрессии hsa_piR_020497, характерных для группы пациенток с наступившей беременностью. Белковые продукты потенциальных генов-мишеней hsa_piR_020497 участвуют в сигнальных путях, опосредованных рецептором к эпидермальному ростовому фактору (ErbB), митоген-активированной протеинкиназой (MAPK), трансформирующим ростовым фактором бета (TGFβ), инсулиноподобным ростовым фактором 1 (IGF1), фосфатидилинозитол-3-киназном пути, опосредованном действием Akt, в регуляции концентрации цитозольного кальция и метаболизме витаминов и кофакторов.*

Заключение: *Поскольку белковые продукты генов-мишеней hsa_piR_020497 участвуют в основных сигнальных путях, отвечающих за формирование фолликула и созревание яйцеклетки, актуальным является проведение дальнейших исследований на многочисленной выборке супружеских пар для определения влияния на исходы программ ЭКО.*

Ключевые слова: *ЭКО, бесплодие, фолликулярная жидкость, ооциты, беременность, метод глубокого секвенирования, количественная ОТ-ПЦР в реальном времени, малые некодирующие РНК, sncRNA, пивиРНК, piRNA, hsa_piR_020497, прегравидарная подготовка.*

Вклад авторов: Калинина Е.А., Тимофеева А.В. – концепция и дизайн исследования; Шамина М.А. – сбор материала и создание клинической базы образцов; Тимофеева А.В., Федоров И.С. – получение экспериментальных данных; Федоров И.С. – статистическая обработка данных; Тимофеева А.В., Шамина М.А. – написание текста; Калинина Е.А. – редактирование.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Согласие пациентов на публикацию: Пациенты подписали информированное согласие на публикацию своих данных.

Обмен исследовательскими данными: Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Шамина М.А., Тимофеева А.В., Федоров И.С., Калинина Е.А. Оценка уровня экспрессии пивиРНК hsa_piR_020497 в фолликулярной жидкости пациенток с различными исходами программ экстракорпорального оплодотворения. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 143-153

https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.143-153

© A group of authors, 2021

M.A. SHAMINA, A.V. TIMOFEEVA, I.S. FEDOROV, E.A. KALININA

ASSESSMENT OF THE EXPRESSION LEVEL OF hsa_piR_020497 piRNA IN THE FOLLICULAR FLUID OF PATIENTS WITH DIFFERENT *IN VITRO* FERTILIZATION OUTCOMES

Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Objective: *To determine the relationship between morphological and molecular biological criteria for assessing the quality of oocytes retrieved from the women on the day of transvaginal puncture of follicles.*

Materials and methods: *We used deep sequencing method with its subsequent validation by real-time RT-PCR to identify the spectrum of small non-coding RNAs (sncRNAs) present in the follicular fluid of the left and right ovaries of 25 patients; among them, three patients underwent IVF program again after a negative result of selective embryo transfer into the uterine cavity and preconception care (administration of myo-inositol in combination with folic acid, vitamin D and omega-3).*

Results: *We identified 86 piRNAs and 79 microRNAs by deep sequencing of sncRNA of the ovarian follicular fluid; expression level of hsa_pir_020497 piRNA was statistically significantly (p=0.01) higher in the group of patients with a positive ART treatment outcome (n=14) compared to the group of patients with a negative ART treatment outcome (n=8) according to real-time RT-PCR data. After preconception care, all three patients showed an increase in the expression level of hsa_piR_020497 in the follicular fluid in one or two ovaries to the expression level of hsa_piR_020497 which is characteristic of pregnant women. Protein products of potential target genes hsa_piR_020497 participate in signaling pathways mediated by the epidermal growth factor receptor (ErbB), mitogen-activated protein kinase (MAPK), transforming growth factor beta (TGFβ), insulin-like growth factor 1 (IGF-1), phosphatidylinositol-3-kinase/Akt pathway and in the regulation of cytosolic calcium and metabolism of vitamins and cofactors.*

Conclusion: *Since the protein products of the target genes hsa_piR_020497 are involved in the main signaling pathways responsible for follicle formation and egg maturation, it is relevant to conduct further studies on a large sample of couples to determine its impact on IVF outcomes.*

Keywords: *IVF, infertility, follicular fluid, oocytes, pregnancy, deep sequencing method, real-time quantitative RT-PCR, small non-coding RNA (sncRNA), piRNA, hsa_piR_020497, preconception care.*

Authors' contributions: Kalinina E.A., Timofeeva A.V. – developing the concept and design of the study; Shamina M.A. – collecting material and creating a clinical database of samples; Timofeeva A.V., Fedorov I.S. – obtaining experimental data; Fedorov I.S. – statistical data processing; Timofeeva A.V., Shamina M.A.– writing the text of the article; Kalinina E.A. – editing the text of the article.
Conflicts of interest: The authors declare that they have no competing interests.
Funding: The study was performed without any financial support.
Patient Consent for Publication: All patients provided informed consent for the publication of their data.
Authors' Data Sharing Statement: The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Shamina M.A., Timofeeva A.V., Fedorov I.S., Kalinina E.A. Assessment of the expression level of hsa_pir_020497 piRNA in the follicular fluid of patients with different in vitro fertilization outcomes. Akusherstvo i Ginekologiya / Obstetrics and gynecology. 2021; 11: 134-153 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.143-153

Одной из основных актуальных проблем современности во всех развитых странах является бесплодие. Несмотря на то что современная репродуктивная медицина с каждым годом помогает большинству бесплодных пар достичь наступления беременности, частота успешных программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) находится на достаточно низком уровне [1].

Причинами ненаступления беременности являются как мужские, так и женские факторы. Основным фактором, влияющим на возможность получения эмбриона «хорошего» качества, способного к имплантации и формированию здорового плода, являются компетентные женские и мужские гаметы. В то время как получение спермы пациентов для визуального определения ее качества является простым в техническом плане методом диагностики, определение качества ооцитов возможно только при проведении трансвагинальной пункции фолликулов (ТВП) в рамках программ ЭКО. В связи с тем, что проведение программ ЭКО связано с приемом гормональных препаратов, потенциальными интраоперационными и послеоперационными осложнениями, развитием синдрома гиперстимуляции яичников, в последние годы ученые занимаются поиском биомаркеров качества ооцитов, а также способов улучшения их качества.

Яйцеклетки формируются из примордиальных половых клеток в антенатальный период и их качество зависит от координированного взаимодействия с клетками гранулезы в постнатальный период посредством аутокринных, паракринных и эндокринных факторов [2]. Поэтому молекулярный состав фолликулярной жидкости (ФЖ) является отражением качества оогенеза в антенатальный и постнатальный периоды как было продемонстрировано в обзорной статье Qasemi M. и Amidi F. об использовании представителей класса малых некодирующих РНК – микроРНК – ФЖ в качестве биомаркеров возможных нарушений фолликулогенеза и оогенеза при синдроме поликистозных яичников, синдроме истощения яичников и эндометриозе [3].

Проведенными ранее исследованиями продемонстрировано, что мио-инозитол в сочетании с фолиевой кислотой, омега-3 и витамин D оказывают непосредственное влияние на метаболомный, липидомный, протеомный, транскриптомный профили фолликулярной жидкости, изменения которых были выявлены у женщин с пониженной фертильностью [4, 5]. Мио-инозитол является важным компонентом фолликулярного микроокружения и играет определяющую роль как в ядерном, так и в цитоплазматическом развитии ооцитов. Были проведены исследования, в которых было показано, что высокое содержание мио-инозитола в ФЖ пациенток во время проведения программ ЭКО коррелировало с высоким качеством ооцитов, в то время как его снижение –

с плохим качеством [6]. В связи с этим можно предположить, что добавление мио-инозитола в качестве подготовки к проведению программ ЭКО, а также при планировании самопроизвольной беременности сможет улучшить качество полученных ооцитов за счет уменьшения количества дегенерированных и незрелых ооцитов, при этом повышая качество полученных после оплодотворения эмбрионов.

В проведенных ранее исследованиях было доказано, что применение фолатов, а также омега-3 является важным аспектом для нормофизиологического развития плода. Недостаточность фолатов нарушает метилирование ДНК и приводит к функциональному дефициту омега-3 ПНЖК у беременной, а недостаточность омега-3 ПНЖК стимулирует нарушения обмена фолатов [7]. Дефицит фолатов также может приводить к нарушению процессов роста и развития клеток и, как следствие, к увеличению частоты пороков развития эмбриона [8]. В 2017 г. было опубликовано исследование, в котором показано, что применение миоинозитола в программах подготовки к ЭКО способно повысить шанс получения зрелых ооцитов за счет обеспечения полноценного мейоза, а также снизить гормональную нагрузку и повысить эффективность программы ЭКО [9]. В 2019 г. группа ученых изучала влияние назначения инозитола в сочетании с фолиевой кислотой в качестве прегравидарной подготовки на исходы программы ЭКО у пациенток со сниженным овариальным резервом. Было обнаружено, что у пациенток группы с прегравидарной подготовкой было получено большее количество зрелых ооцитов (5 (0–7) против 2 (0–5); p=0,049) и эмбрионов хорошего качества (42,2% против 30,1%; p=0,049), чем в группе без предварительного лечения, а также установлена большая частота наступления беременности на перенос эмбриона в полость матки (38,1% против 30,0%; p=0,041) [10].

Витамин D играет важную роль в правильном развитии и функционировании организма. Активация рецептора витамина D может прямо или опосредованно регулировать экспрессию очень большого числа генов [11]. В 2018 г. был опубликован систематический обзор, в котором было показано, что частота живорождения у женщин с недостаточным уровнем витамина D после проведения программы ЭКО была достоверно ниже, чем у женщин с достаточным уровнем витамина D (RR 0,74; 95% ДИ 0,58–0,90) [12]. Достоверный эффект от добавления витамина D пациенткам с диагностированным бесплодием еще недостаточно изучен, несмотря на то, что в некоторых исследованиях было показано увеличение частоты наступления клинической беременности, а также частоты живорождения у женщин с достаточным уровнем витамина D.

В связи с этим дальнейшие исследования эффективности применения вышеуказанных препаратов до вступления пациенток в программы ЭКО с целью улучшения результативности стимулированных циклов являются актуальными.

Материалы и методы

В отделение вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России обратились 52 супружеские пары с целью преодоления бесплодия. Среди данных супружеских пар были выделены 25 пар, где пациенткам был произведен селективный перенос 1 эмбриона в полость матки на 5-е сутки культивирования.

Супружеским парам, включенным в данное научное исследование, было проведено предварительное полное клинико-лабораторное обследование в соответствии с приказом Минздрава России №107н от 30.08.2012 г. «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению».

Стимуляция овуляции у обследуемых женщин проводилась по стандартному протоколу со 2–3-го дня менструального цикла с использованием антагониста гонадотропин-рилизинг-гормона (ант-ГнРГ) в комбинации с рекомбинантным фолликулостимулирующим гормоном (р-ФСГ). Для финального созревания ооцитов назначался хорионический гонадотропин человека (чХГ) в дозе 8000–10 000 МЕ/сут однократно внутримышечно в качестве триггера овуляции. Начиная со дня ТВП, производилась поддержка лютеиновой фазы цикла препаратами микронизированного прогестерона 300 мг/сутки интравагинально. Дозы вводимых препаратов, а также длительность стимулированного цикла статистически не отличались между исследуемыми пациентками (данные не приведены). Далее проводили ТВП с последующей морфологической оценкой зрелости полученных ооцитов. Производился раздельный сбор пула ФЖ из группы фолликулов правого и левого яичников, при этом кровь в полученной ФЖ отсутствовала. В день проведения ТВП супруги пациенток сдавали спермограмму с целью оценки качества спермы и выделения сперматозоидов, обладающих наибольшей оплодотворяющей способностью на основании их визуальной морфологической характеристики. Оплодотворение всех зрелых ооцитов осуществляли методом интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в ооцит (ИКСИ). Через 16–18 ч после оплодотворения проводили визуальную оценку формирования зиготы. Качество полученных эмбрионов оценивали на 4–5-е сутки культивирования на основании морфологических критериев оценки развития эмбрионов Gardner.

Молекулярно-биологические методы исследования

Из собранных образцов ФЖ была выделена РНК колоночным способом с использованием набора miRNeasy Serum/Plasma Kit (Qiagen), проанализирована методом глубокого секвенирования с использованием набора по синтезу кДНК-библиотек NEBNext Multiplex Small RNA Library Prep Set for Illumina (Set11, New England Biolab, Germany) на платформе NextSeq 500 platform (Illumina, USA), проанализирована методом количественной ОТ-ПЦР в реальном времени с использованием наборов miScript II RT Kit (Qiagen, Hilden, Germany) и miScript SYBR Green PCR Kit (Qiagen, Hilden, Germany) по протоколам, подробно описанным в ранее опубликованных работах Тимофеевой А.В. и др. [13, 14].

Относительный уровень экспрессии кДНК оценивали по кратности изменения (КИ) методом ΔΔCt. M0s1 / M0s2 = 2-ΔΔCt, где M0s1 и M0s2 – исходные количества кДНК в образцах s1 и s2, ΔΔCt=(Cts1-Ctnorm1)-(Cts2-Ctnorm2), Ct – значение цикла амплификации в точке пересечения кинетической кривой накопления продукта амплификации с линией порогового уровня флуоресценции, который определяется автоматически программным обеспечением амплификатора StepOnePlus; Cts1 и Cts2 – значения порогового цикла амплификации кДНК анализируемой hsa_piR_020497 в двух сравниваемых образцах s1 и s2; Ctnorm1 и Ctnorm2 – значения порогового цикла амплификации кДНК нормировочной эндогенной hsa_piR_016945 в двух сравниваемых образцах s1 и s2.

Статистический анализ

Для статистической обработки результатов использовали скрипты, написанные на языке R, и программу RStudio. Соответствие анализируемых параметров закону нормального распределения оценивали по значениям теста Шапиро–Уилка. Статистический анализ проводили с помощью теста Манна–Уитни, поскольку распределение признаков не соответствовало закону нормального распределения. Анализируемые данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала в формате Me (Q1;Q3). Величину порогового уровня значимости p принимали равной 0,05.

Результаты

Клинико-анамнестическая характеристика супружеских пар

При анализе клинико-лабораторных методов обследования 22 супружеских пар статистически значимых различий выявлено не было (данные не представлены). Средний возраст женщин, включенных в исследование, составил 31 год (23–35 лет). Средний возраст мужчин – 34 года (25–42 года). У 14 супружеских пар диагностировано вторичное бесплодие, в то время как у 8 пар в данном браке беременности в анамнезе отсутствовали. У 6 супружеских пар, включенных в исследование, отмечался сочетанный фактор бесплодия (диагностированный трубно-перитонеальный фактор в сочетании с мужским фактором). У 8 супружеских пар отмечался изолированный мужской фактор бесплодия, а у 6 супружеских пар – изолированный трубно-перитонеальный фактор. У 2 пациенток, включенных в исследование, в течение последнего года до проведения программы ЭКО проводилась ежемесячная фолликулометрия, по результатам которой выявлена хроническая ановуляция. В исследование были включены 7 женщин с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ), из них у 2 пациенток была диагностирована эндометриоидная киста яичника малых размеров, не требующая оперативного вмешательства. Средняя продолжительность бесплодия у супружеских пар, включенных в исследование, составила 4 года (1–7 лет). У 8 супружеских пар в анамнезе были попытки ЭКО, при этом в 4 случаях – 2 и более неудачных попыток. У 14 пациенток данная попытка ЭКО – первая. Гормональный статус пациенток оценивался на 3-й день менструального цикла, предшествующего стимуляции, и соответствовал нормативным значениям для данной возрастной группы и фазы менструального цикла. Средние значения гормонов в сыворотке крови составили: ФСГ 5,5 МЕ/л; ЛГ 6,3 МЕ/л; АМГ 2,8 нг/мл. Остальные показатели гормонального статуса также были в пределах нормативных значений. У 14 пациенток в результате проведения программы ЭКО и переноса эмбриона в полость матки наступила беременность, при этом у 11 пациенток исход программы ЭКО был отрицательным. Среди них, у 3 супружеских пар с отрицательным исходом программы ЭКО отсутствовали криоконсервированные эмбрионы после проведенной программы, в связи с чем им была назначена прегравидарная подготовка, после которой была проведена повторная программа ЭКО. В таблице 1 приведена клинико-анамнестическая характеристика этих супружеских пар.

Результативность программы ВРТ до и после прегравидарной подготовки

При оценке морфологического качества полученных ооцитов у пациентки из супружеской пары I были обнаружены цитоплазматические аномалии (гранулярность цитоплазмы, наличие вакуолей в цитоплазме), что свидетельствует об их низком качестве, также у ооцитов отмечалась темная цитоплазма, с чем некоторые авторы связывают низкое качество эмбрионов [15]. Диффузная периферическая грануляция ассоциируется с неравномерным формированием пронуклеусов. Наличие нескольких вакуолей или одной вакуоли размером более 14 мкм в диаметре является негативным прогностическим признаком, так как частота оплодотворения таких ооцитов существенно снижается [16]. Кроме того, при наличии в ооците вакуолей увеличивалась частота биохимической беременности с последующим снижением частоты клинической беременности. В связи с отсутствием эмбриона удовлетворительного качества, пригодного к переносу в полость матки, этап переноса эмбриона был отменен.

Пациенткам из супружеских пар II и III и под УЗ-контролем был произведен селективный перенос в матку 1 эмбриона на 5-е сутки развития. У пациентки из супружеской пары III тест на беременность на 14-й день после переноса эмбриона в полость матки был отрицательным. У пациентки из супружеской пары II на сроке беременности 8 недель при проведении УЗ-исследования была диагностирована неразвивающаяся беременность, в связи с чем была выполнена вакуум-аспирация плодного яйца. При проведении цитогенетического исследования определен кариотип абортуса – 46XX.

Учитывая неудовлетворительные исходы программы ЭКО у данных пациенток, им было назначено лечение с целью улучшения качества полученных ооцитов, последующего повышения качества полученных после оплодотворения эмбрионов и, соответственно, исходов программы ЭКО. Пациенткам были назначены следующие препараты: «Ультра Д» в дозировке 25 мкг (1000 МЕ) по 1 таб. 2 раза/

Таблица 1. Клинико-анамнестическая характеристика супружеских пар, включенных в исследование

Параметр	Супружеская пара I	Супружеская пара II	Супружеская пара III
Возраст пациентки, лет	33	35	32
Возраст супруга, лет	32	40	32
Длительность бесплодия, лет	5	2	8
Бесплодие	Первичное	Вторичное	Первичное
Фактор бесплодия	МФ	МФ; ТПФ	МФ
Попытки ЭКО в анамнезе	0	3	2
Беременности в анамнезе	0	2	0
Беременности после ЭКО	0	1	0
Гинекологические заболевания	НГЭ	НГЭ	НГЭ
ФСГ, мЕд/мл (2,0–10,0)	8,67	7,6	8,13
ЛГ, мЕд/мл (2,3–15,0)	5,75	6,7	7,43
АМГ, нг/мл (1,0–10,6)	4,78	1,58	2,57
% морфологически нормальных сперматозоидов (≥ 4)	3	3	3
% прогрессивно подвижных сперматозоидов (≥ 32)	76	62	70
Общая концентрация сперматозоидов в 1 мл эякулята (≥ 15)	59	87	98

сут; омега-3 в дозировке 600 мг по 1 таб. 1 р/сут; «Иноферт» (мио-инозитол 1000 мг, фолиевая кислота 0,1 мг) по 1 пакетику 2 р/сут.

Пациентка из супружеской пары I обратилась в отделение с целью проведения повторной программы ЭКО после 3 месяцев приема препаратов, пациентка из супружеской пары II – после 7 месяцев, а пациентка из супружеской пары III – после 4 месяцев терапии. Стимуляция овуляции у обследуемых женщин проводилась по протоколу, аналогичному предыдущему стимулированному циклу. Через 35–36 ч после введения триггера овуляции производилась ТВП фолликулов с последующим эмбриологическим этапом, в который входили: оценка степени зрелости ооцитов, а также их морфологических характеристик; оценка показателей спермограммы в день ТВП с отбором сперматозоидов; оплодотворение ооцитов и дальнейшее культивирование полученных эмбрионов.

У супружеских пар I и II на 5-е сутки после проведения ТВП фолликулов в асептических условиях под УЗ-контролем был произведен селективный перенос 1 эмбриона в полость матки. У супружеской пары III, учитывая данные анамнеза бесплодия, а также желание супружеской пары, был произведен перенос 2 эмбрионов в полость матки на 4-е сутки после проведения ТВП. У пациентки из супружеской пары II тест на беременность был отрицательным через 14 дней после проведения переноса эмбриона в полость матки. У пациентки из супружеской пары III на сроке беременности 10 недель при проведении УЗ-исследования была диагностирована неразвивающаяся беременность, в связи с чем было произведено инструментальное удаление плодного яйца с последующим выскабливанием полости матки. При проведении цитогенетического исследования определен кариотип абортуса – 46XX. У пациентки из супружеской пары I исход данного цикла ЭКО завершился своевременными самопроизвольными родами здоровым плодом.

Подробная характеристика эмбриологического этапа трех пациенток, включенных в исследование, указана в таблице 2.

Изменение уровня экспрессии hsa_piR_020497 в ФЖ яичников пациенток до и после прегравидарной подготовки

Для идентификации малых некодирующих РНК, дифференцирующих образцы ФЖ пациенток с различным исходом программы ВРТ, было выполнено глубокое секвенирование РНК образцов 6 пациенток – пяти пациенток с отрицательными исходами программы ВРТ (пациентки 1, 4, 5, 6, 7) и с положительным исходом программы ВРТ (пациентка 8). У пациенток с отрицательными исходами программы ВРТ было выявлено (табл. 3) либо низкое морфологическое качество ооцитов в сочетании с низким соотношением MII/ОКК и отсутствием формирования бластоцист к 5-м суткам после оплодотворения яйцеклетки (пациентки 1 и 4), либо нормальная морфология ооцитов в сочетании с соотношением MII/ОКК, равным 1, и отсутствием формирования бластоцисты (пациентка 5), либо нормальная морфология ооцитов в сочетании с соотношением MII/ОКК, равным 0,8, и превалированием формирования эмбрионов неудовлетворительного качества над бластоцистами к 5-му дню после оплодотворения (пациентка 7), либо нормальные морфологические показатели яйцеклеток и полученных эмбрионов (пациентка 6). ФЖ яич-

Таблица 2. Характеристика эмбриологического этапа супружеских пар, включенных в исследование до и после прегравидарной подготовки

Параметр		Супружеская пара I		Супружеская пара II		Супружеская пара III	
		до	после	до	после	до	после
Количество фолликулов в день проведения ТВП	Левый яичник	4	4	4	4	5	10
	Правый яичник	6	6	4	5	4	5
Количество полученных ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК)		7	9	6	5	7	15
Количество ооцитов MII		4	6	5	5	5	8
Количество MI ооцитов		1	0	0	0	1	1
Количество GV		2	3	1	0	0	5
Количество дегенеративных ооцитов		0	0	0	0	1	1
Количество 2PN		4	6	5	5	3	7
Количество бластоцист		0	3 (4AA, 3BB, 3AB)	1 (4AA)	1 (морула)	1 (4AA)	3 (морула, морула/2BB)
Количество криоконсервированных эмбрионов		0	2	0	0	0	1
Количество эмбрионов неудовлетворительного качества		4 (5в, 8в, 8в, 3с)	3 (8в, 10в, 8в)	4 (7с, 2CC, 8с, 4с)	4 (10с, 8с, 7с, 6с)	2 (3с, 6в)	4 (10с, 10а, 10а, 10с, 10с)
% морфологически нормальных сперматозоидов в день ТВП		2%	3%	2%	3%	3%	3%
% прогрессивно подвижных сперматозоидов в день ТВП		72%	66%	55%	77%	55%	63%
Общая концентрация сперматозоидов в 1 мл эякулята		68	41	69	141	120	61
Исход программы ЭКО		-	роды	н/б	-	-	н/б

Таблица 3. Данные глубокого секвенирования ФЖ обоих яичников пациенток с различным качеством яйцеклеток, эмбрионов и результатом программы ВРТ

	Пациентка 1	Пациентка 4	Пациентка 5	Пациентка 6	Пациентка 7	Пациентка 8
hsa_piR_020497 (число прочтения, данные NGS)	138	290	324	325	300	964
hsa_piR_016945 (число прочтения, данные NGS)	455	455	530	505	580	475
Результат программы ВРТ	отрицательный	отрицательный	отрицательный	отрицательный	отрицательный	положительный
Качество ооцитов (морфологическая оценка)	низкое	низкое	норма	норма	норма	норма
Соотношение ооцитов MII и ОКК	4/7	1/3	3/3	6/6	10/12	6/7
Количество бластоцист/ морул на 5-е сутки после оплодотворения	0	1 (морула)	0	5 (4AA, 4AA, 4AA,3AA, 4BA)	3 (4AA, 4BA, 3BA)	6 (4AA, 3BA, 4BB, 4AA, 4AB, 3BB)
Количество эмбрионов неудовлетворительного качества на 5-е сутки после оплодотворения	4 (5b, 8b, 8b, 3c)	0	3 (8c, 8b,00)	1 (12b)	7 (10a, 12b, 10a, 12a, 10b, 10b, 6c)	0
Спермограмма супруга	Тератозоо-спермия	Тератозоо-спермия	Тератозоо-спермия	Тератозоо-спермия	Тератозоо-спермия	Нормозоо-спермия

ников пациентки 8 была использована в качестве контрольной ввиду полученных у нее яйцеклеток отличного морфологического качества, соотношения MII/ОКК, равного 0,9, формирования бластоцист среднего, хорошего и отличного качества на основании морфологических критериев оценки развития эмбрионов Gardner при отсутствии формирования эмбрионов неудовлетворительного качества. У супругов пациенток 1, 4, 5, 6 и 7 была выявлена тератозооспермия, в связи с чем для оплодотворения яйцеклеток был выбран метод ИКСИ. У супруга пациентки 8 отмечалась нормозооспермия. Учитывая неудачные попытки ЭКО в анамнезе, а также желание супружеской пары, оплодотворение ооцитов было произведено методом ИКСИ.

Из 86 пивиРНК и 79 микроРНК, идентифицированных методом глубокого секвенирования во всех 6 образцах, мы выбрали пивиРНК hsa_piR_020497, дифференцирующую все 5 образцов ФЖ с отрицательным исходом программы ВРТ от контрольного образца, а в качестве референсной РНК для последующих исследований мы выбрали пивиРНК

hsa_piR_016945 ввиду стабильного уровня экспрессии во всех анализируемых образцах (табл. 3).

Для валидации выявленных отличий уровня экспрессии hsa_piR_020497 был использован метод количественной ОТ-ПЦР в реальном времени. Были проанализированы 44 образца ФЖ из левого и правого яичников 22 пациенток, из которых у 8 пациенток беременность не наступила, а у 14 пациенток был положительный исход программы ВРТ. Образцы ФЖ левого и правого яичников пациенток из супружеских пар I– III, описанных выше, до и после прегравидарной подготовки были сопоставлены с данной выборкой по уровню экспрессии hsa_piR_020497, и данные представлены на рисунке 1 для пациентки из супружеской пары I, на рисунке 2 – для пациентки из супружеской пары II, на рисунке 3 – для пациентки из супружеской пары III.

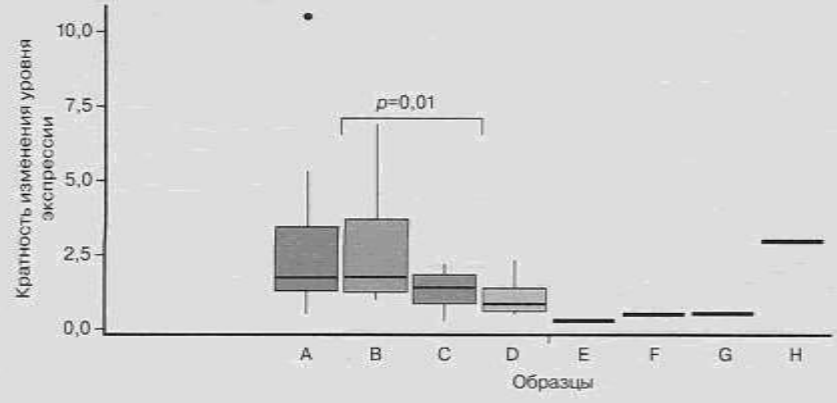
Методом Манна–Уитни выявлено статистически значимое различие (p=0,01) между группой женщин с наступившей беременностью и группой женщин с отсутствием беременности в виде более высокого уровня экспрессии hsa_piR_020497 в ФЖ левого и правого яичников группы пациенток с положительным результатом ВРТ (1,74 (1,3;3,41) и 1,77 (1,28;3,69) соответственно) относительно такового в ФЖ левого и правого яичников группы пациенток с отрицательным результатом ВРТ (1,42 (0,87;1,82) и 0,84 (0,61;1,35) соответственно).

Обращает на себя внимание повышение уровня экспрессии hsa_piR_020497 в ФЖ правого яичника пациентки из супружеской пары I после лечения (2,98 (2,98;2,98), рис. 1, H) до значений уровня экспрессии hsa_piR_020497, характерных для левого и правого яичников группы пациенток с наступившей беременностью (1,74 (1,3;3,41), рис. 1, A и 1,77 (1,28;3,69), рис. 1, B соответственно), при сравнении с таковым в ФЖ левого и правого яичников данной пациентки до лечения (0,52 (0,52; 0,52), рис. 1, E и 0,3 (0,3;0,3), рис. 1, F). Отсутствие изменений уровня экспрессии hsa_piR_020497 в ФЖ левого яичника после проведенного лечения (0,55 (0,55;0,55), рис. 1, G) может быть связано с наличием эндометриоидной кисты и возможного долгосрочного отрицательного влияния на фолликулогенез в данном яичнике. После проведенного лечения улучшилось качество полученных яйцеклеток, равно как и эмбриологические показатели (табл. 2), что привело к наступлению беременности и рождению доношенного ребенка.

У пациентки из супружеской пары II обнаружено увеличение уровня экспрессии hsa_piR_020497 в ФЖ обоих яичников после проведенного лечения (рис. 2, K vs I, L vs J) с достижением значения уровня экспрессии hsa_piR_020497 в правом яичнике (2,38 (2,38;2,38), рис. 2, L), характерного для левого и правого яичника группы пациенток с наступившей беременностью (1,74 (1,3;3,41), рис. 2, A и 1,77 (1,28;3,69), рис. 2, B соответственно). Однако беременность не наступила и после прегравидарного лечения, возможно, из-за наличия воспалительного процесса в малом тазу после позднего выкидыша дихориальной триамниотической тройней в анамнезе, осложненного преждевременной отслойкой нормально расположенной плаценты, развитием кровотечения, а впоследствии непроходимостью маточных труб.

У пациентки из супружеской пары III выявлено значительное увеличение уровня экспрессии hsa_piR_020497 в ФЖ обоих яичников после проведенного лечения (рис. 3, O vs M, P vs N) с достижением значений уровней экспрессии hsa_piR_020497 в левом яичнике (1,97 (1,97;1,97), рис. 3, O) и правом яичнике (4,41 (4,41;4,41), рис. 3, P), характерных для левого и правого яичников группы пациенток с наступившей беременностью (1,74 (1,3;3,41), рис. 3, A и 1,77 (1,28;3,69), рис. 3, B соответственно). После проведенного лечения отмечалось увеличение количества ОКК и числа эмбрионов, пригодных для переноса, по сравнению с циклом ВРТ до лечения (табл. 2). После переноса двух эмбрионов на 4-е сутки после оплодотворения произошла имплантация одного из эмбрионов, но на 10-й неделе гестации была диагностирована неразвивающаяся беременность.

Рис. 1. Кратность изменения уровня экспрессии пивиРНК hsa_piR_020497 в образцах ФЖ левого яичника (A) и правого яичника (B) группы женщин с наступившей беременностью, левого яичника (C) и правого яичника (D) группы женщин с отрицательным результатом программы ВРТ, левого яичника (E) и правого яичника (F) пациентки из супружеской пары I до прегравидарной подготовки, левого яичника (G) и правого яичника (H) пациентки из супружеской пары I после прегравидарной подготовки.
Границами бокса (A–D) служат первый и третий квартили, линия в середине бокса – медиана; концы усов – разность первого квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния, сумма третьего квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния. Значения медианы уровня экспрессии, первого и третьего квартилей указаны во вставке в правой части рисунка.



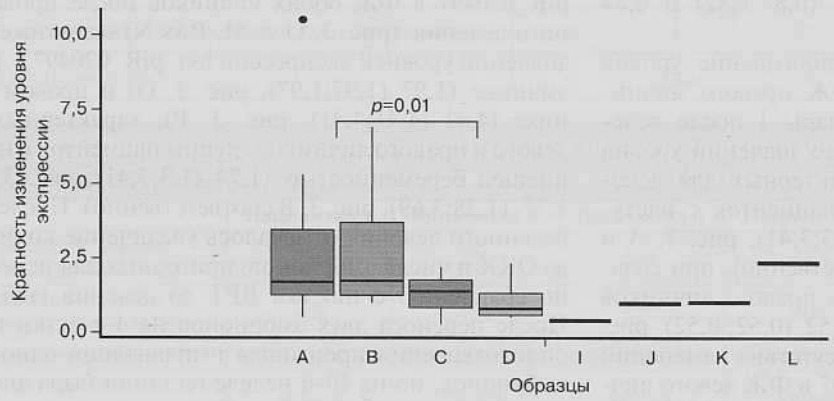
Образец	Медиана	Q1	Q3
A	1.74	1.3	3.41
B	1.77	1.28	3.69
C	1.42	0.87	1.82
D	0.84	0.61	1.35
E	0.52	–	–
F	0.3	–	–
G	0.55	–	–
H	2.98	–	–

Функциональная значимость потенциальных генов-мишеней hsa_piR_020497

При анализе потенциальных генов-мишеней hsa_piR_020497, идентифицированных с использованием алгоритма, описанного в статье Тимофеевой А.В. и соавт. [14], выявлено их участие в таких биологических процессах, как регуляция метаболизма нуклеиновых кислот (PAX4 – транскрипционный фактор, содержащий парный бокс-домен 4; протоонкоген JUNB; NHLH1 – транскрипционный фактор, содержащий спираль-петлю-спираль 1), клеточный рост (белковая фосфатаза SSH1, регулирующая динамические изменения актиновых филаментов), транспорт веществ (пуринергический рецептор P2RX1, формирующий АТФ-регулируемые ионные каналы, обеспечивая быструю и избирательную проницаемость для катионов), метаболизм белков (TRIM10, являющийся членом E3 убиквитинлигазного комплекса), метаболические и энергетические процессы в клетке (NADSYN1 – синтетаза 1 никотинамидадениндинуклеотида, являющегося коферментом в окислительно-восстановительных реакциях, предшественником для некоторых клеточных сигнальных молекул и субстратом для посттрансляционных модификаций белков) (рис. 4).

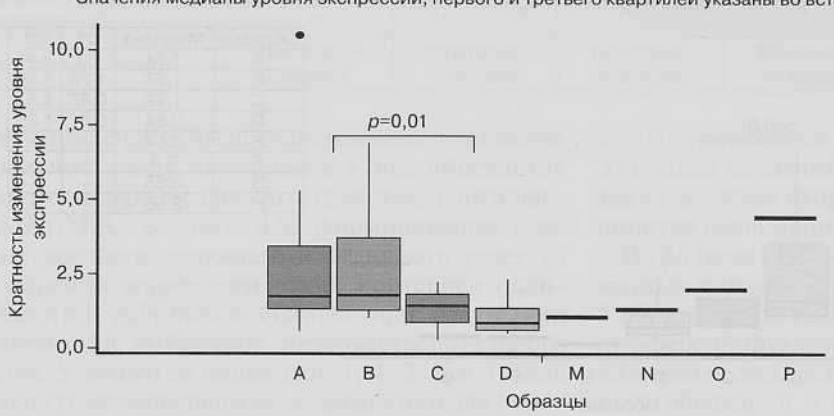
При рассмотрении сигнальных путей, в которых участвуют белковые продукты генов-мишеней hsa_piR_020497, обращает на себя внимание участие JUNB, PLK3, SSH1 в основных сигнальных путях, отвечающих за формирование фолликула и созревание яйцеклетки, а именно: сигнальных путях, опосредованных рецептором к эпидермальному ростовому фактору (ErbB), митоген-активированной протеинкиназой (MAPK), трансформирующим ростовым фактором бета (TGFβ), инсулиноподобным ростовым фактором 1 (IGF1), а также фосфатидилинозитол-3-киназном пути, опосредованном действием Akt [17, 18]. Кроме того, участие белковых продук-

Рис. 2. Кратность изменения уровня экспрессии пивиРНК hsa_piR_020497 в образцах ФЖ левого яичника (A) и правого яичника (B) группы женщин с наступившей беременностью, левого яичника (C) и правого яичника (D) группы женщин с отрицательным результатом программы ВРТ, левого яичника (I) и правого яичника (J) пациентки из супружеской пары II до прегравидарной подготовки, левого яичника (K) и правого яичника (L) пациентки из супружеской пары II после прегравидарной подготовки.
Границами бокса (A–D) служат первый и третий квартили, линия в середине бокса – медиана; концы усов – разность первого квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния, сумма третьего квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния.
Значения медианы уровня экспрессии, первого и третьего квартилей указаны во вставке в правой части рисунка.



Образец	Медиана	Q1	Q3
A	1.74	1.3	3.41
B	1.77	1.28	3.69
C	1.42	0.87	1.82
D	0.84	0.61	1.35
I	0.44	–	–
J	1.01	–	–
K	1.05	–	–
L	2.38	–	–

Рис. 3. Кратность изменения уровня экспрессии пивиРНК hsa_piR_020497 в образцах ФЖ левого яичника (A) и правого яичника (B) группы женщин с наступившей беременностью, левого яичника (C) и правого яичника (D) группы женщин с отрицательным результатом программы ВРТ, левого яичника (M) и правого яичника (N) пациентки из супружеской пары III до прегравидарной подготовки, левого яичника (O) и правого яичника (P) пациентки из супружеской пары III после прегравидарной подготовки.
Границами бокса (A-D) служат первый и третий квартили, линия в середине бокса – медиана; концы усов – разность первого квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния, сумма третьего квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния.
Значения медианы уровня экспрессии, первого и третьего квартилей указаны во вставке в правой части рисунка.



Образец	Медиана	Q1	Q3
A	1.74	1.3	3.41
B	1.77	1.28	3.69
C	1.42	0.87	1.82
D	0.84	0.61	1.35
M	0.9	–	–
N	1.29	–	–
O	1.97	–	–
P	4.41	–	–

Рис. 4. Участие белковых продуктов генов-мишеней hsa_piR_020497 в биологических процессах по результатам программы анализа функционального обогащения Finrich (http://www.funrich.org/)

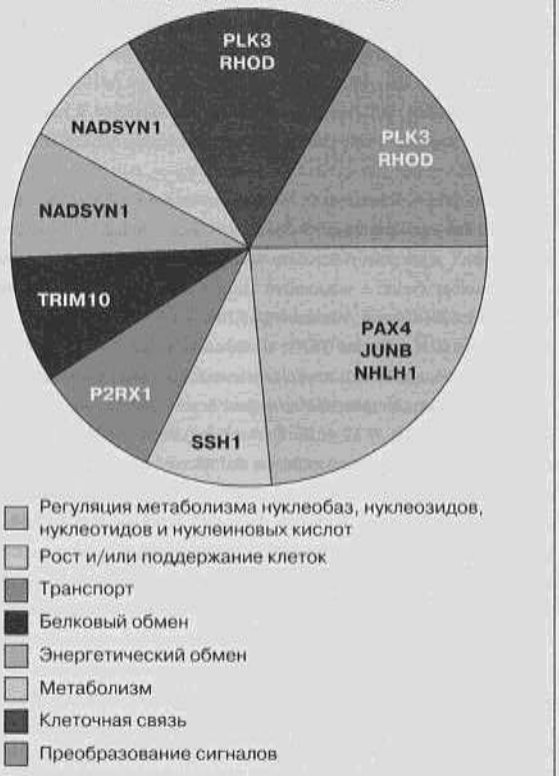
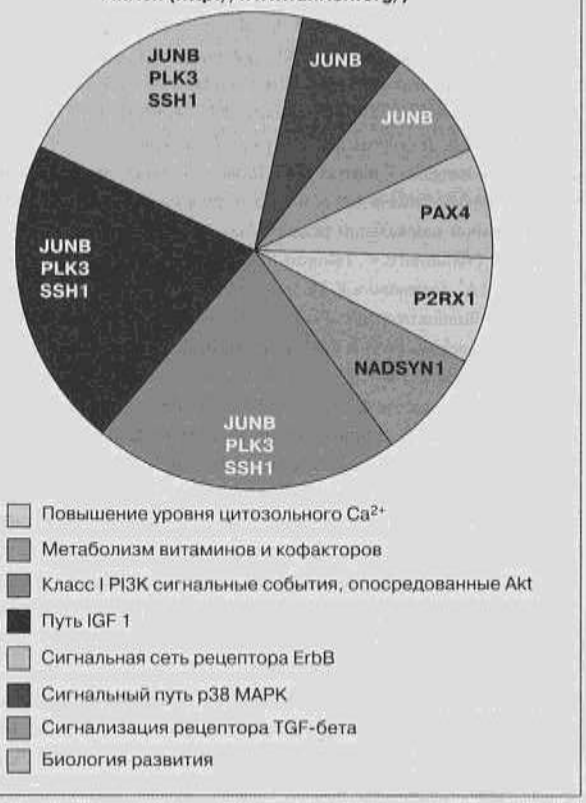


Рис. 5. Участие белковых продуктов генов-мишеней hsa_piR_020497 в сигнальных путях по результатам программы анализа функционального обогащения Finrich (http://www.funrich.org/)



тов других генов-мишеней hsa_piR_020497, P2RX1 и NADSYN1 в регуляции концентрации цитозольного кальция и метаболизме витаминов и кофакторов соответственно предполагает взаимное участие мио-инозитола и hsa_piR_020497 в оогенезе. Известно, что мио-инозитол образуется из глюкозо-1-фосфат в реакции, катализируемой NAD, участвует в фосфоинозитидном сигнальном пути, регулирующем концентрацию внутриклеточного кальция, который играет важную роль в созревании ооцита, оплодотворении и эмбриональном развитии [19–21].

Обсуждение

Основной целью проведения программ ВРТ является предоставление супружеской паре с бесплодием персонализированного и оптимального лечения на основе их клинико-анамнестических характеристик с целью достижения положительного результата при минимизации риска отмены проведения программы ВРТ. Недостаточное количество, а также низкое качество извлеченных ооцитов во время пункции фолликулов и/или низкий уровень фертилизации после ИКСИ считаются главными причинами отрицательного результата при проведении программ ВРТ. Использование оральных контрацептивов или кортикостероидов для улучшения ответа яичников на стимуляцию зачастую не приводят к желаемому результату или показывают статистически незначимые улучшения [22–24].

В настоящем исследовании был оценен эффект комбинированного прегравидарного лечения в виде сочетанного назначения мио-инозитола, фолиевой кислоты, витамина D и омега-3 трем женщинам с безрезультатными попытками ЭКО. Эффективность лечения оценивали по морфологическим критериям полученных ооцитов и эмбрионов, а также уровню экспрессии пивиРНК hsa_piR_020497 в ФЖ, уровень которой статистически значимо был выше в группе пациенток с положительным результатом программы ВРТ в сравнении с группой пациенток, у которых беременность не наступила в результате проведения программы ВРТ.

При сравнительном анализе стимулированных циклов у пациенток, включенных в данное исследование, до и после проведения лечения различий в длительности стимуляции, а также суммарной дозе используемых гонадотропинов не было. При сравнительном анализе эмбриологических этапов у пациентки из супружеской пары I было установлено, что после проведенного лечения было получено большее количество ОКК, при этом процент зрелых MII ооцитов также был выше. Соотношение числа зигот на стадии 2PN и количество зрелых ооцитов, равно как и количество и качество полученных эмбрионов, было выше после лечения, что позволило произвести перенос лучшего эмбриона в полость матки с развитием физиологической беременности. Надо отметить, что до лечения все полученные эмбрионы были неудовлетворительного качества.

При анализе двух эмбриологических этапов пациентки из супружеской пары II до и после лечения значимых различий получено не было. При этом

цикл ЭКО до лечения закончился наступлением клинической беременности, которая была прервана в связи остановкой в развитии плода на сроке 8 недель с последующей вакуум-аспирацией плода, а в цикле ЭКО после лечения имплантация эмбриона в полость матки не произошла.

У пациентки из супружеской пары III после проведенного лечения было получено большее количество ОКК, процент зрелых ооцитов на стадии MII и количество зигот 2PN также оказались выше. При морфологической оценке полученных эмбрионов было установлено, что количество эмбрионов, пригодных к переносу в полость матки или соответствующих условиям криоконсервации, было выше после проведенного лечения. Однако после переноса двух эмбрионов в полость матки беременность остановилась в развитии на 10-й неделе гестации.

Несмотря на различия в морфологических показателях ооцитов и полученных эмбрионов у трех пациенток после проведенного лечения мио-инозитолом в сочетании с фолиевой кислотой, омега-3 и витамином D, у всех пациенток было выявлено увеличение уровня экспрессии hsa_piR_020497 в ФЖ из одного или двух яичников до значений уровня экспрессии hsa_piR_020497, характерных для группы пациенток с наступившей беременностью. Поскольку белковые продукты генов-мишеней hsa_piR_020497 участвуют в основных сигнальных путях, отвечающих за формирование фолликула и созревание яйцеклетки, можно говорить о наличии эффекта проведенной терапии. Но для понимания причин бесплодия у супружеских пар необходимы дальнейшие исследования на многочисленной выборке с подбором дозировки данных или других препаратов и длительности их применения и оценкой их эффективности по молекулярно-биологическому профилю ФЖ.

Заключение

Данное исследование показывает актуальность проблемы плохого качества ооцитов у молодых пациенток, обратившихся с целью преодоления бесплодия путем проведения программы ЭКО. Низкое качество ооцитов является одним из основных факторов, влияющих на возможность получения эмбриона «хорошего» качества. Прегравидарная подготовка, которая была применена у данных пациенток, оказала положительное влияние на характеристики эмбриологического этапа. В связи с этим необходимо проведение дальнейших поисков препаратов, используемых в качестве предварительного лечения у женщин, проходящих лечение ЭКО/ИКСИ, с целью улучшения репродуктивных исходов.

Литература/References

1. *Liang J., Wang S., Wang Z.* Role of microRNAs in embryo implantation. Reprod. Biol. Endocrinol. 2017; 15(1): 90. https://dx.doi.org/10.1186/s12958-017-0309-7.
2. *Senbon S., Hirao Y., Miyano T.* Interactions between the oocyte and surrounding somatic cells in follicular development: lessons from in vitro culture. J. Reprod. Dev. 2003; 49(4): 259-69. https://dx.doi.org/10.1262/jrd.49.259.
3. *Qasemi M., Amidi F.* Extracellular microRNA profiling in human follicular fluid: new biomarkers in female reproductive potential. J. Assist. Reprod. Genet. 2020; 37(8): 1769-80. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-020-01860-0.
4. *Luti S., Fiaschi T., Magherini F., Modesti P.A., Piombani P., Governini L.* et al. Relationship between the metabolic and lipid profile in follicular fluid of women undergoing in vitro fertilization. Mol. Reprod. Dev. 2020; 87(9): 986-97. https://dx.doi.org/10.1002/mrd.23415.
5. *Pla I., Sanchez A., Pors S.E., Pawlowski K., Appelqvist R., Sahlin K.B.* et al. Hum. Reprod. 2021; 36(3): 756-70. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deaa335.
6. *Akbari Sene A., Tabatabaie A., Niknitaz H., Alizadeh A., Sheibani K., Mortezapour A.* et al. The myo-inositol effect on the oocyte quality and fertilization rate among women with polycystic ovary syndrome undergoing assisted reproductive technology cycles: a randomized clinical trial. Arch. Gynecol. Obstet. 2019; 299(6): 1701-7. https://dx.doi.org/10.1007/s00404-019-05111-1.
7. *Громова О.А., Торшин И.Ю., Тетруашвили Н.К., Рейер И.А.* Синергизм между фолатами и докозагексаеновой кислотой в рамках раздельного приема микронутриентов во время беременности. Акушерство и гинекология. 2018; 7: 12-9. [Gromova O.A., Torshin I.Yu., Tetruashvili N.K., Reier I.A. Synergy between folates and docosahexaenoic acid when taking the micronutrients separately during pregnancy. Obstetrics and Gynecology. 2018; 7: 12-9. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.7.12-19.
8. *Ших Е.В., Махова А.А.* Вопросы выбора формы фолата для коррекции фолатного статуса. Акушерство и гинекология. 2018; 8: 33-40. [Shikh E.V., Makhova A.A. Problems in the choice of a folate formulation for correction of folate status. Obstetrics and Gynecology. 2018; 8: 33-40. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.8.33-40.
9. *Владимирова И.В., Донников А.Е., Макарова Н.П., Калинина Е.А.* Применение миоинозитола в лечении женского бесплодия в программах вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с высоким риском получения незрелых гамет. Акушерство и гинекология. 2017; 7: 146-9. [Vladimirova I.V., Donnikov A.E., Makarova N.P., Kalinina E.A. The use of myo-inositol in the treatment of female infertility in assisted reproductive technology programs in patients at high risk for immature gametes. Obstetrics and Gynecology. 2017; 7: 146-9. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.7.146-9.
10. *Вартанян Э.В., Цатурова К.А., Девятова Е.А., Михайлюкова А.С., Левин В.А., Сагамонова К.Ю., Громенко Д.С., Овсянникова Т.В., Эрлихман И.М., Колосова Е.А., Сафронова Е.В., Фотина О.В., Красновская Е.В., Пожарищенская Т.Г., Аутлева С.Р., Гиззатова А.М., Нуриев И.Р., Воропаева Е.Е., Пестова Т.И., Здановский В.М., Киев И.А., Котельников А.Н., Сафронов О.В., Назаренко Т.А., Ионова Р.М.* Подготовка к лечению бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения при сниженном овариальном резерве. Акушерство и гинекология. 2019; 8: 134-42. [Vartanyan E.V., Tsaturova K.A., Devyatova E.A., Mikhailyukova A.S., Levin V.A., Sagamonova K.Yu., Gromenko D.S. et al. Preparation for the in vitro fertilization treatment of infertility in diminished ovarian reserve. Obstetrics and Gynecology. 2019; 8: 134-42. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.8.134-142.
11. *Paffoni A., Somigliana E., Sarais V., Ferrari S., Reschini M., Makieva S.* et al. Effect of vitamin D supplementation on assisted reproduction technology (ART) outcomes and underlying biological mechanisms: protocol of a randomized clinical controlled trial. The "supplementation of vitamin D and reproductive outcome" (SUNDRO) study. BMC Pregnancy Childbirth. 2019; 19(1): 395. https://dx.doi.org/10.1186/s12884-019-2538-6.
12. *Ciepiela P., Dulęba A.J., Kowalczyk E., Chełstowski K., Kurzawa R.* Vitamin D as a follicular marker of human oocyte quality and a serum marker of *in vitro* fertilization outcome. J. Assist. Reprod. Genet. 2018; 35(7): 1265-76. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-018-1179-4.
13. *Timofeeva A.V., Chagovets V.V., Drapkina Yu.S., Makarova N.P., Kalinina E.A., Sukhikh G.T.* Cell-free, embryo-specific sncRNA as a molecular biological bridge between patient fertility and IVF efficiency. Int. J. Mol. Sci. 2019; 20(12): 2912. https://dx.doi.org/10.3390/ijms20122912.

14. *Timofeeva A., Drapkina Yu., Fedorov I., Chagovets V., Makarova N., Shamina M., Kalinina E., Sukhikh G.* Small noncoding RNA signatures for determining the developmental potential of an embryo at the morula stage. Int. J.. Mol Sci. 2020; 21(24): 9399. https://dx.doi.org/10.3390/ijms21249399.
15. *Esfandiari N., Burjaq H., Gotlieb L., Casper R.F.* Brown oocytes: implications for assisted reproductive technology. Fertil. Steril. 2006; 86(5): 1522-5. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2006.03.056.
16. *Горшкова А.Г., Долгушина Н.В., Макарова Н.П., Ковальская Е.В., Калинина Е.А.* Факторы риска развития дисморфизмов ооцитов в программах вспомогательных репродуктивных технологий. Акушерство и гинекология. 2015; 5: 66-73. [Gorshkova A.G., Dolgushina N.V., Makarova N.P., Kovalskaya E.V., Kalinina E.A. Risk factors for oocyte dysmorphisms in assster reproductive technology programs. Obstetrics and Gynecology. 2015; 5: 66-73. (in Russian)].
17. *Alexandri C., Daniel A., Bruylants G., Demeestere I.* The role of microRNAs in ovarian function and the transition toward novel therapeutic strategies in fertility preservation: from bench to future clinical application. Hum. Reprod. Update. 2020; 26(2): 174-96. https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmz039.
18. *Santonocito M., Vento M., Guglielmino M.R., Battaglia R., Wahlgren J., Ragusa M.* et al. Molecular characterization of exosomes and their microRNA cargo in human follicular fluid: bioinformatic analysis reveals that exosomal microRNAs control pathways involved in follicular maturation. Fertil. Steril. 2014; 102(6): 1751-61.e1. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.08.005.
19. *Di Paolo G., De Camilli P.* Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics. Nature. 2006; 443(7112): 651-7. https://dx.doi.org/10.1038/nature05185.
20. *Vitale S.G., Rossetti P., Corrado F., Rapisarda A.M., La Vignera S., Condorelli R.* et al. How to achieve high-quality oocytes? The key role of myo-inositol and melatonin. Int. J. Endocrinol. 2016; 2016: 4987436. https://dx.doi.org/10.1155/2016/4987436.
21. *Wakai T., Mehregan A., Fissore R.A.* Ca^{2+} signaling and homeostasis in mammalian oocytes and eggs. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2019; 11(12): a035162. https://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a035162.
22. *Farquhar C., Rombauts L., Kremer J.A., Lethaby A., Ayeleke R.O.* Oral contraceptive pill, progestogen or oestrogen pretreatment for ovarian stimulation protocols for women undergoing assisted reproductive techniques. Cochrane Database Syst. Rev. 2017; (5): CD006109. https://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD006109.pub3.
23. *Kalem M.N., Kalem Z., Gurgan T.* Effect of metformin and oral contraceptives on polycystic ovary syndrome and IVF cycles. J. Endocrinol. Invest. 2017; 40(7): 745-52. https://dx.doi.org/10.1007/s40618-017-0634-x.
24. *Kalampokas T., Pandian Z., Keay S., Bhattacharya S.* Glucocorticoid supplementation during ovarian stimulation for IVF or ICSI. Cochrane Ddatabase Syst. Rev. 2017; (3): CD004752. https://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD004752.pub2.

Поступила 23.09.2021
Принята в печать 19.11.2021
Received 23.09.2021
Accepted 19.11.2021

Сведения об авторах:
Шамина Мария Александровна, аспирант отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(916)096-60-90, mariashamina@mail.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Тимофеева Анжелика Владимировна, к.б.н., заведующая лабораторией прикладной транскриптомики отдела системной биологии в репродукции, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(495)438-13-41, avtimofeeva28@gmail.com, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Федоров Иван Сергеевич, м.н.с. лаборатории прикладной транскриптомики отдела системной биологии в репродукции, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(495)438-13-41, is_fedorov@oparina4.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Калинина Елена Анатольевна, д.м.н., профессор, заведующая отделением вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(495)438-13-41, e_kalinina@oparina4.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:
Maria A. Shamina, PhD student at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, +7(916)096-60-90, mariashamina@mail.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Angelika V. Timofeeva, PhD, Chief of the Laboratory of Applied Transcriptomics at the Department of Systems Biology in Reproduction, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, +7(495)438-13-41, avtimofeeva28@gmail.com, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Ivan S. Fedorov, Junior Researcher at the Laboratory of Applied Transcriptomics at the Department of Systems Biology in Reproduction V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, +7(495)438-13-41, is_fedorov@oparina4.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.
Elena A. Kalinina, Dr. Med. Sci., Professor, Head of the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, +7(495)438-13-41, e_kalinina@oparina4.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.

©Коллектив авторов, 2021

Н.П. МАКАРОВА, Н.Н. ЛОБАНОВА, Е.В. КУЛАКОВА, О.С. НЕПША, А.Н. ЕКИМОВ, Е.А. КАЛИНИНА

ВЛИЯНИЕ ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОГРАММ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ У СУПРУЖЕСКИХ ПАР С МУЖСКИМ ФАКТОРОМ БЕСПЛОДИЯ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава, России, Москва, Россия

Актуальность: *Связь между тяжелым мужским фактором (ТМФ) и частотой анеуплоидией эмбриона находится в фокусе внимания, а вопрос о том, следует ли рассматривать ТМФ в качестве показания для проведения преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А), остается спорным.*

Цель: *Оценить влияние старшего репродуктивного возраста мужчин и разных форм мужского бесплодия на частоту получения анеуплоидных эмбрионов и исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).*

Материалы и методы: *Был выполнен ретроспективный анализ 2915 циклов ВРТ (2225 циклов стимуляции, в т.ч. 371 цикл с ПГТ-А, и 690 криоциклов). Эякулят оценивали на основе критериев 5-го издания ВОЗ. Группу с ТМФ составили пациенты с олигоастенотератозооспермией и пациенты с биопсией яичка. Дополнительно выделены 2 группы с тератозооспермией (Т) в зависимости от процента морфологически аномальных сперматозоидов. На 5-е сутки после оплодотворения проводили биопсию трофэктодермы эмбрионов с последующим проведением ПГТ-А.*

Результаты: *При сравнении исходов программ ВРТ в циклах стимуляции при переносе свежего эмбриона и исходов программ ВРТ в криопротоколах с ПГТ-А с исходами в криопротоколах без ПГТ-А статистически значимое снижение частоты наступления беременности (ЧНБ) и частоты родов было выявлено для групп пациентов с морфологией сперматозоидов 0–2% и 3% — при переносе криоконсервированного эмбриона без ПГТ-А. Для пациентов с ТМФ была отмечена тенденция к увеличению ЧНБ и частоты родов в программах ВРТ с ПГТ-А.*

Заключение: *В парах с ТМФ ПГТ-А может повысить частоту родов с меньшим количеством перенесенных эмбрионов за счет снижения числа потерь на ранних сроках беременности.*

Ключевые слова: *мужское бесплодие, тяжелый мужской фактор, анеуплоидия, ПГТ-А.*

Вклад авторов: Макарова Н.П. – культивирование эмбрионов, проведение биопсии трофэктодермы эмбриона, криоконсервация эмбриона, редактирование и утверждение публикации; Непша О.С., Лобанова Н.Н. – сбор и анализ литературных данных, написание статьи; Кулакова Е.В. – редактирование рукописи статьи; Екимов А.Н. – проведение преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии методом высокопроизводительного секвенирования (NGS); Калинина Е.А. – редактирование и утверждение публикации.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.
Финансирование: Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Согласие пациентов на публикацию: Пациенты подписали информированное согласие на публикацию своих данных.
Обмен исследовательскими данными: Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Макарова Н.П., Лобанова Н.Н., Кулакова Е.В., Непша О.С., Екимов А.Н., Калинина Е.А. Влияние преимплантационного генетического тестирования на результаты программ вспомогательных репродуктивных технологий у супружеских пар с мужским фактором бесплодия. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 154-164
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.154-164

© A group of authors, 2021

N.P. MAKAROVA, N.N. LOBANOVA, E.V. KULAKOVA, O.S. NEPSHA, A.N. EKIMOV, E.A. KALININA

IMPACT OF PREIMPLANTATION GENETIC TESTING ON ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY OUTCOMES IN COUPLES WITH MALE FACTOR INFERTILITY

V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Background: *In recent years, considerable attention has been focused on the association between severe male factor (SMF) and the incidence of embryonic aneuploidy, including whether SMF should be considered an indication for preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A).*

Objective: *To investigate the impact of men's age and form of male infertility on the rate of embryonic aneuploidy and the outcomes of assisted reproductive technology (ART).*

Materials and methods: *This retrospective study analyzed 2915 ART cycles (2225 stimulation cycles, including 371 cycles with PGT-A and 690 cryopreserved cycles). The ejaculate was evaluated based on the sperm quality criteria of the WHO reference values. The SMF group consisted of patients with oligoasthenoteratozoospermia and patients with testicular biopsy. Patients with teratozoospermia were divided into two groups, categorized by the percentage of morphologically abnormal spermatozoa. On day five after fertilization, the embryo trophectoderm was biopsied, followed by PGT-A.*

Results: *Comparison of ART outcomes in stimulation cycles and a fresh embryo transfer and in cryopreserved cycles with and without PGT-A showed statistically significantly lower pregnancy and birth rates in patients with the sperm morphology score of 0–2% and 3% in cryopreserved cycles without PGT-A. Patients with SMF undergoing ART with PGT-A showed a trend towards increasing pregnancy and birth rates.*

Conclusion: *PGT-A can improve pregnancy outcomes for couples with SMF with fewer embryos transferred due to reducing early pregnancy losses.*

Keywords: *male infertility, severe male factor, aneuploidy, PGT-A.*

Authors' contributions: Makarova N.P. – embryo culture, embryo trophectoderm biopsy, embryo cryopreservation, manuscript editing and approval; Nepsha O.S., Lobanova N.N. – collection and review of the relevant literature, manuscript preparation; Kulakova E.V. – manuscript editing; Ekimov A.N. – c preimplantation genetic testing for aneuploidy by next-generation sequencing (NGS); Kalinina E.A. – manuscript editing and approval.
Conflicts of interest: The authors have no conflicts of interest to declare.
Funding: There was no funding for this study.
Patient Consent for Publication: All patients provided informed consent for the publication of their data.
Authors' Data Sharing Statement: The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Makarova N.P., Lobanova N.N., Kulakova E.V., Nepsha O.S., Ekimov A.N., Kalinina E.A. Impact of preimplantation genetic testing on assisted reproductive technology outcomes in couples with male factor infertility. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 154-164 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.154-164

Внедрение в 1992 г. интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов (ИКСИ) резко изменило лечение мужского бесплодия, что позволило пациентам с тяжелым мужским фактором (ТМФ) иметь биологическое потомство [1]. Однако, согласно всемирному отчету Международного комитета по мониторингу вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), несмотря на развитие лабораторных технологий, частота наступления беременности после ИКСИ составляет около 25–30%, а частота родов – около 20% [2]. В большинстве случаев стратегия выбора эмбриона для переноса основывается на морфологических характеристиках эмбриона, в то время как эмбрион отличного или хорошего качества может оказаться генетически аномальным. На сегодняшний день хорошо известно, что анеуплоидии являются наиболее частыми генетическими аномалиями, которые приводят к неудачам имплантации и потерям беременности на ранних сроках более, чем в 50% случаев.

На бесплодие, связанное с мужским фактором, по разным данным, приходится от 20 до 50% всех случаев [3]. Из них чуть более 20% имеют диагноз тяжелого мужского бесплодия [4]. Стоит также отметить, что отсроченное родительство во всем мире становится все более распространенным явлением как для женщин, так и для мужчин [5], в связи с чем растет интерес к изучению влияния отцовского возраста на мужскую фертильность, репродуктивный потенциал и здоровье потомства. Известно, что старший репродуктивный возраст мужчин отрицательно влияет на функции яичек, гормональный баланс мужской репродуктивной системы, параметры спермы, а также целостность генома и эпигенома сперматозоидов. Однако систематический обзор 12 статей, показал, что возраст отца не был связан с результатами ВРТ [6], но данные в отношении эмбриологического этапа менее достоверны и однозначны.

Поскольку мужской фактор является одним из наиболее часто встречающихся показаний к проведению ВРТ, связь между ТМФ и частотой анеуплоидией эмбриона также находится в фокусе внимания, а вопрос о том, следует ли рассматривать ТМФ в качестве показания для проведения пренатального генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А), все еще остается спорным [7]. Ранние исследования по анализу частоты анеуплоидий показали, что ТМФ может способствовать более высокой распространенности анеуплоидных эмбрионов при ВРТ. Однако этот вывод в основном основан на исследованиях с использованием флуоресцентного анализа гибридизации in situ (FISH) для ограниченного числа хромосом на эмбрионах на стадии дробления [8].

Цель исследования заключалась в оценке влияния разных форм мужского бесплодия на репродуктивные результаты с особым вниманием к раннему эмбриональному развитию (частота оплодотворения и частота образования бластоцист высшего качества), частоте получения анеуплоидных эмбрионов и исходам программ ВРТ.

Материалы и методы

На базе отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский

центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России был выполнен ретроспективный анализ 2915 циклов ВРТ (2225 циклов стимуляции, из которых 371 цикл с ПГТ-А и 690 криоциклов) с января 2018 г. по июнь 2021 г. Все пары подписали добровольное информированное согласие. Исследование было одобрено Этическим Комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России.

Критерием исключения являлся возраст женщин >35 лет, пары с измененным кариотипом. Мы не исключали пары, использующие замороженную сперму, донорскую сперму, а также пары с донорскими ооцитами. Возраст доноров половых гамет не превышал 35 лет.

Образцы эякулята, полученные после 3–5 дней полового воздержания путем мастурбации в день трансвагинальной пункции, оценивали на основе критериев 5-го издания Всемирной Организации Здравоохранения [9]. Для характеристики спермы использовались следующие параметры: концентрация (млн/мл), процент прогрессивно подвижных сперматозоидов и процент морфологически нормальных сперматозоидов. Группы для исследования были сформированы на основании параметров эякулята. В группу сравнения/контроля вошли пары с донорской спермой, а также с нормозооспермией (концентрация ⩾15 млн/мл, прогрессивно подвижные сперматозоиды ⩾32%, морфология ⩾4%). Группу с олигоастенотератозооспермией (ОАТ) составили пациенты с концентрацией <15 млн/мл, прогрессивно подвижными сперматозоидами <32% и морфологией <4%, в том числе пациенты с азооспермией (концентрация <1 млн/мл в нативном образце). Пациенты с абструктивной и неабструктивной азооспермией, у которых сперматозоиды были получены путем аспирации или биопсии тканей яичка, составили группу microTESE. Дополнительно нами были выделены 2 группы с тератозооспермией в зависимости от процента морфологически аномальных сперматозоидов: мужчины с морфологией сперматозоидов в диапазоне от 0 до 2% составили группу «0–2%Т», а с морфологией 3% – группу «3%Т». Группу с ТМФ бесплодия составили пациенты с ОАТ и пациенты с microTESE. Данные группы пациентов объединили вместе ввиду малого количества наблюдений.

У всех пациентов начало овариальной стимуляции приходилось на 2–5-й день менструации по протоколу с использованием антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона и рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона или препаратов человеческого менопаузального гонадотропина. В качестве триггера финального созревания ооцитов использовался человеческий хорионический гонадотропин в дозе 6 000–10 000 ЕД внутримышечно по достижении диаметра фолликулов ⩾ 17 мм. Через 36 часов после введения триггера производился забор ооцитов с помощью трансвагинальной пункции фолликулов с последующей оценкой качества полученного материала. Сразу же после аспирации фолликулярной жидкости производили идентификацию ооцит кумулюсных комплексов (ОКК) и оценку степени зрелости ооцитов под стереомикроскопом на нагретой поверхности стерильного ламинарного бокса. Оплодотворение ооцитов проводилось методом ИКСИ, после чего оплодотворенные клетки были перенесены в культуральную среду CSCM (Irvine Sc., США) с целью дальнейшего культивирования. Оценку наступления стадии двух пронуклеусов (формирования зиготы) проводили через 14–16 ч после оплодотворения. Все этапы культивирования выполняли в мультигазовых инкубаторах COOK (Ирландия) в каплях по 25 мкл под маслом (Irvine Sc., США). Среду CSCM не меняли в течение 5 суток культивирования. На 4-е или 5-е сутки в цикле стимуляции выполняли перенос 1 эмбриона хорошего/отличного качества.

На 5-е или 6-е сутки после оплодотворения в ряде циклов была проведена процедура биопсии клеток трофэктодермы с последующей криоконсервацией биопсированных эмбрионов. Бластоцисты, подходящие для генетического анализа, были оценены по классификации, принятой Стамбульским консенсусом по оценке качества эмбрионов, и соответствовали степени 3BB и выше [10]. Полученные клетки трофэктодермы были перенесены в пробирки типа Эппендорф, содержащие лизирующий буфер, для проведения ПГТ-А с помощью методики высокопроизводительного секвенирования (NGS). Процедура ПГТ-А состояла из нескольких этапов: на первом этапе была проведена полногеномная амплификация и подготовка библиотеки для нанесения на чип. Для создания библиотеки к фрагментам ДНК присоединялись специальные молекулярные метки-баркоды, уникальные для каждого образца в постановке. Далее было выполнено ионное полупроводниковое секвенирование с последующим биоинформатическим анализом результатов и подготовкой заключения на основании полученных данных согласно стандартной методике ПГТ-А.

При переносе криоконсервированных эмбрионов пациенткам назначалась циклическая гормональная терапия (с 4–5-го дня менструального цикла – эстрадиола валерат в дозе 6 мг/сутки, с 15–16-го дня менструального цикла – микронизированный прогестерон 400–600 мг/сутки вагинально) и осуществлялся ультразвуковой контроль динамики роста эндометрия на 9–10-й день менструального цикла и на 15–16-й день цикла для назначения гестагенов. Перенос эмбрионов в полость матки осуществлялся на 20–21-й день менструального цикла с помощью мягкого катетера Wallace (Германия) или Cook (Австралия). Предварительное размораживание эмбрионов и ведение посттрансферного периода осуществлялось согласно принятым в клинической практике протоколам.

В качестве основных эмбриологических показателей циклов стимуляции оценивали количество ОКК, зрелых ооцитов, частоту оплодотворения и частоту бластуляции. Под частотой бластуляции понимали отношение числа бластоцист хорошего и отличного качества (количество замороженных бластоцист + число перенесенных эмбрионов) к числу зигот с двумя пронуклеусами. В качестве основных клини-

ческих показателей исходов программ ВРТ оценивали частоту наступления клинической беременности (ЧНБ), частоту потерь на сроках до 12 недель гестации, а также частоту родов. На 14-й день после переноса эмбриона пациентки сдавали кровь на содержание бета-субъединицы хорионического гонадотропина человека (β-ХГЧ) для диагностики беременности. Положительный результат соответствовал уровню β-ХГЧ более 35 МЕ/л. При положительном результате β-ХГЧ для диагностики клинической беременности на 21-й день после переноса эмбриона выполняли трансвагинальное ультразвуковое исследование с целью визуализации гестационного мешка/плодного яйца. Случаи внематочной беременности, анэмбрионии, а также прерывание беременности на сроках до 12 недели гестации вошли в группу с ранними потерями. Частота родов рассчитывалась на число переносов.

Статистический анализ

Анализ результатов проводился с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics версии 23.0 (США), а также с помощью таблиц Microsoft Excel. Для анализа количественных данных в группах определялся вид распределения данных (тест Колмогорова–Смирнова). Для описания категориальных бинарных данных использовали абсолютные числа N и процентные доли от общего числа пациенток в группе P в формате N (P%). Непрерывные переменные были представлены в виде медианы (Me) и межквартильных значений (Q1; Q3) на основе распределения выборки. Статистический анализ проводили с использованием критерия Краскела–Уоллиса для нескольких независимых выборок, теста Манна–Уитни для парного сравнения. Статистическую значимость различий двух или нескольких относительных показателей (частот, долей) оценивали с помощью критерия χ^2. При множественных сравнениях использовали поправку Бонферрони. Для оценки связи между определенным исходом и фактором риска рассчитывали отношение шансов (ОШ) с доверительным интервалом (ДИ) 95%, если ДИ не включал 1, делали вывод о статистической значимости выявленной связи между фактором и исходом при уровне значимости $p<0,05$. Величину порогового уровня значимости p принимали равной 0,05.

Результаты

Для оценки влияния параметров эякулята на эмбриологический этап было проанализировано 2225 циклов ВРТ, из них 161 цикл был с использованием донорских ооцитов, а 87 циклов – с донорской спермой. Для всех анализируемых параметров (возраст, число ОКК, число зрелых ооцитов, частота оплодотворения и частота бластуляции) проверка критерием Колмогорова–Смирнова на нормальное распределение показала отсутствие такового ($p<0,001$). Для сравнения групп использовали непараметрические критерии. Средний возраст мужчин ($n=2138$) составил Me 34 (31; 38) лет, исключая программы с донорской спермой. Средний возраст женщин ($n=2064$) составил Me 31 (29; 34) лет, исключая программы с донорскими ооцитами.

Чтобы оценить влияние старшего репродуктивного возраста мужчин (>40 лет) на эмбриологический этап были сформированы две группы: 1918 программ с возрастом мужчин ⩽40 лет и 307 программ с возрастом мужчин >40 лет. В результате сравнения характеристик эмбриологического этапа не были выявлены значимые различия в группах мужчин разного возраста: частота оплодотворения (100,0 (80,0; 100,0) в группе мужчин ⩽40 лет против 92,3 (75,0; 100,0) в группе мужчин >40 лет) и частота бластуляции (50,0 (33,3; 75,0) в группе мужчин ⩽40 лет против 50,0 (33,3; 75,0) в группе мужчин >40 лет) были сравнимы в анализируемых группах и не имели статистически значимых различий (табл. 1).

На основании показателей спермограммы было сформировано 5 групп: группу сравнения составили 257 пар с нормозооспермией (в т.ч. пары с донорской спермой), 214 пар с ОАТ, 105 пар с биопсией яичка (microTESE), 1061 пара с морфологией сперматозоидов 0–2% и 588 пар с морфологией сперматозоидов 3%. Стоит отметить, что в группу сравнения вошли пары с трубно-перитонеальным фактором, пары с мужским фактором или одинокие женщины без партнера, которые воспользовались донорской спермой (87 пар), а также пары с бесплодием с нормальными показателями спермограммы. Средний возраст мужчин значимо не отличался в анализируемых группах ($p=0,057$). Анализ числа ОКК и зрелых ооцитов между группами не выявил значимых различий в стимуляции пациенток (табл. 2). При сравнении показателей эмбриологического этапа в группах с разной мужской патологией при помощи критерия Краскела–Уоллиса было показано наличие значимых различий между группами в отношении частоты оплодотворения и частоты бластуляции. Для уточнения между какими именно группами имеются различия был выполнен апостериорный анализ и попарное сравнение анализируемых групп с контрольной груп-

Таблица 1. Характеристика эмбриологического этапа циклов ВРТ в группах мужчин разного возраста

Параметры эмбриологического этапа	Мужчины ⩽40 лет $n=1918$ циклов	Мужчины >40 лет $n=307$ циклов	p (U-критерий Манна–Уитни)
ОКК	8,0 (4,0;13,0)	6,0 (4,0;11,0)	0,004
Зрелые ооциты	6,0 (4,0;10,0)	5,0 (4,0;9,0)	0,106
Частота оплодотворения, %	100,0 (80,0;100,0)	92,3 (75,0;100,0)	0,356
Частота бластуляции, %	50,0 (33,3;75,0)	50,0 (33,3;75,0)	0,597

пой с помощью критерия Манна–Уитни с поправкой Бонферрони. В результате чего был определен новый критический уровень значимости p=0,0125, который использовали при интерпретации результатов сравнения групп. Были выявлены статистически значимые различия по частоте бластуляции между группой ОАТ и группой сравнения (p=0,007), а также группой с морфологией 0–2% и группой сравнения (p=0,005). Таким образом, в группах мужчин с ОАТ и в группе с показателями морфологии сперматозоидов 0–2% выявлено статистически значимое снижение частоты бластуляции по сравнению с группой контроля. При попарном сравнении показателей частоты оплодотворения групп с разными показателями спермограммы с группой контроля не была преодолена величина нового критического уровня значимости p=0,0125. Однако стоит отметить, что частота оплодотворения в группах ОАТ и microTESE в среднем была ниже, чем в группах с морфологией сперматозоидов 0–2% и 3%. Возможно, ввиду недостаточного количества наблюдай в группах эти различия не достигли уровня статистической значимости, но тенденция была отмечена, что проявилось при сравнении всех анализируемых групп с помощью критерия Краскала–Уоллиса (p=0,03) (табл.2).

Для оценки влияния возраста мужчин на частоту анеуплоидий была проанализирована 341 программа ВРТ с ПГТ-А (1022 эмбриона). Когорта пациентов была разделена на 2 группы: мужчины ⩽40 лет и >40 лет. В группе мужчин ⩽40 (n=271) средний возраст мужчин составил Me 34 (32; 36) лет, средний возраст женщин – Me 32 (29,75; 34) лет. В когорте мужчин >40 (n=70) средний возраст мужчин составил Me 44 (42; 48) лет, средний возраст женщин – Me 33 (31; 34) лет. Структура мужской патологии на основании показателей спермограммы не отличалась в группах мужчин ⩽40 и >40 лет: группа ОАТ – 34/271 (12,5%) против 11/70 (15,7%); группа с морфологией 0–2% – 144/271 (53,1%) против 32/70 (45,7%); группа с морфологией 3% – 69/271 (25,5%) против 20/70 (28,6%); группа сравнения – 20/271 (7,4%) против 3/70 (4,3%) соответственно (табл. 3). Однако пациенты с биопсией яичка (microTESE) чаще встречались в группе мужчин >40 лет по сравнению с группой мужчин ⩽40 лет: 4/70 (5,7%) против 4/271 (1,5%) соответственно (p=0,037).

Сравнение характеристик эмбриологического этапа не выявило значимых различий в группах мужчин разного возраста: частота оплодотворения (88,9 (77,8; 100,0) в группе мужчин ⩽40 лет против 87,5 (75,0; 100,0) в группе мужчин >40 лет) и частота бластуляции (50,0 (33,3; 66,7) в группе мужчин ⩽40 лет против 42,9 (26,7; 66,7) в группе мужчин >40 лет) были сравнимы в анализируемых группах и не имели статистически значимых различий (табл. 4).

Анализ частоты эуплоидных, анеуплоидных и мозаичных эмбрионов в группах мужчин ⩽40 лет и >40 лет показал отсутствие влияния возрастного фактора на генетический статус эмбриона: частота получения эуплоидных эмбрионов в группе мужчин ⩽40 лет составила 422/829 (50,9%), а в группе мужчин >40 лет – 91/193 (47,2%) (табл. 5). Частота получения

Таблица 2. Характеристика эмбриологического этапа и возраста мужчин в группах с разными показателями спермограммы

Параметры	ОАТ, n=214 (9,6%)	microTESE, n=105 (4,7%)	0–2% Т, n=1061 (47,7%)	3% Т, n=588 (26,4%)	Группа сравнения, n=257 (11,5%)	p, критерий Краскела–Уоллиса
Возраст мужчин, лет (исключая циклы с донорской спермой), n=2138	34,0 (32,0;39,0)	35,0 (30,0;40,0)	34,0 (32,0;38,0)	34,0 (31,0;38,0)	34,0 (31,0;37,0)	0,057
ОКК	9,0 (4,8;13,0)	8,0 (4,0;13,0)	8,0 (4,0;12,0)	7,0 (4,0;12,0)	8,0 (4,0;13,5)	0,161
Зрелые ооциты	7,0 (4,0;10,0)	6,0 (3,5;11,0)	6,0 (4,0;10,0)	6,0 (4,0;9,0)	6,0 (4,0;11,0)	0,170
Частота оплодотворения, %	90,0 (76,9;100,0)	88,9 (66,7;100,0)	100,0 (80,0;100,0)	100,0 (80,0;100,0)	92,3 (75,0;100,0)	0,030
Частота бластуляции, %	50,0± (33,3;66,7)	50,0 (33,3;81,7)	50,0* (33,3;71,4)	50,0 (33,3;75,0)	60,0±,* (36,0;77,8)	0,043

* p=0,005 при сравнении группы пациентов с морфологией сперматозоидов 0–2% и группы пациентов с нормозооспермией;
± p=0,007 при сравнении группы пациентов с ОАТ и группы пациентов с нормозооспермией.

Таблица 3. Структура мужской патологии в циклах ВРТ+ПГТ-А в группах мужчин разного возраста

Параметры	Мужчины ⩽40 лет (271 цикл)	Мужчины >40 лет (70 циклов)	p (критерий χ^2)
ОАТ, n (%)	34/271 (12,5%)	11/70 (15,7%)	0,486
microTESE, n (%)	4/271 (1,5%)	4/70 (5,7%)	0,037 ОШ 4,045 ДИ [0,986, 16,601]
0–2% Т, n (%)	144/271 (53,1%)	32/70 (45,7%)	0,268
3% Т, n (%)	69/271 (25,5%)	20/70 (28,6%)	0,598
Группа сравнения, n (%)	20/271 (7,4%)	3/70 (4,3%)	0,358

мозаичных эмбрионов также значимо не отличалась между группами мужчин ≤40 лет и >40 лет: 56/829 (6,8%) против 14/193 (7,2%) соответственно.

Принимая во внимание отсутствие влияния возраста мужчины на частоту анеуплоидий в когорте получаемых эмбрионов, мы решили оценить влияние ТМФ (группа с OAT и microTESE) и других характеристик эякулята (морфология сперматозоидов 0–2% и 3%) на частоту анеуплоидий в циклах ВРТ+ПГТ-А, для чего были проанализированы результаты генетического анализа эмбрионов в группах пациентов с разными параметрами спермограммы. В результате анализа было показано, что частота получения анеуплоидных и эуплоидных эмбрионов не зависит от структуры мужской патологии (табл. 6). Стоит отметить, что частота получения мозаичных эмбрионов значимо отличалась в сравниваемых группах от 6/155 (3,9%) в группе с ТМФ до 9/73 (12,3%) в группе сравнения с нормальными параметрами спермограммы (p=0,022). При введении поправки на множественные сравнения был определен новый критический уровень значимости p=0,0125, однако в результате попарного сравнения анализируемых групп с группой контроля не была преодолена данная величина: p=0,017, 0,029 и 0,456 при сравнении OAT, 0-2%T и 3%T против группы контроля соответственно.

Для оценки влияния параметров эякулята на исходы программ ВРТ в исследование вошли все пары, которым был осуществлен перенос 1 эмбриона в полость матки на 4-е или 5-е сутки в цикле стимуляции, или перенос 1 эмбриона 5-х или 6-х суток культивирования как после проведения ПГТ-А, так и без ПГТ-А в криопротоколе, за исключением пар с донорскими ооцитами.

В качестве ключевых параметров исходов программ ВРТ на основании характеристик спермограммы рассматривали частоту наступления клинической беременности (ЧНБ) на число переносов, частоту ранних потерь беременности до 12 недель гестации на ЧНБ и частоту родов на число переносов. Стоит отметить, что информация для контрольных точек доступна не для всех пациенток, т.к. у ряда из них в настоящее время беременность продолжается.

Сравнение исходов программ ВРТ в контрольных временных точках между группами мужчин с разными показателями спермограммы показало, что структура мужской патологии не влияла на исходы лечения бесплодия ни в цикле стимуляции при переносе свежего эмбриона, ни в криопротоколе при переносе замороженного/размороженного эмбриона как в программах с ПГТ-А, так и в программах без генетического тестирования (табл. 7–9).

Сравнение исходов программ ВРТ в циклах стимуляции при переносе свежего эмбриона с исходами в криопротоколах без ПГТ-А показало снижение ЧНБ и частоты родов в криоциклах для всех групп пациентов с разными показателями спермограммы. Однако статистически значимое снижение ЧНБ и частоты родов было выявлено для групп пациентов с морфологией сперматозоидов 0–2%T и 3%T. ЧНБ при переносе свежего эмбриона в группе с морфологией 0–2% составила 216/554 (39%) про-

Таблица 4. Характеристика эмбриологического этапа циклов ВРТ+ПГТ-А в группах мужчин разного возраста

Параметры эмбриологического этапа	Мужчины ≤40 лет (271 цикл)	Мужчины >40 лет (70 циклов)	*P* (*U*-критерий Манна–Уитни)
ОКК	11,0 (7,0;15,0)	8,0 (5,0;13,3)	0,094
Зрелые ооциты	9,0 (6,0;12,0)	7,5 (4,0;12,0)	0,235
Частота оплодотворения, %	88,9 (77,8;100,0)	87,5 (75,0;100,0)	0,971
Частота бластуляции, %	50,0 (33,3;66,7)	42,9 (26,7;66,7)	0,307

Таблица 5. Частота получения эуплоидных и анеуплоидных эмбрионов в группах мужчин разного возраста

	Мужчины ≤40 лет, 829 эмбрионов	Мужчины >40 лет, 193 эмбриона	*p* (критерий χ^2)
Анеуплоидные эмбрионы, *n* (%)	351/829 (42,3%)	88/193 (45,6%)	0,411
Эуплоидные эмбрионы, *n* (%)	422/829 (50,9%)	91/193 (47,2%)	0,348
Мозаичные эмбрионы, *n* (%)	56/829 (6,8%)	14/193 (7,2%)	0,594

Таблица 6. Частота получения эуплоидных, анеуплоидных и мозаичных эмбрионов в группах мужчин с разными параметрами спермограммы

	OAT+ microTESE, *n*=155	0–2%T, *n*=517	3%T, *n*=277	Группа сравнения, *n*=73	*p* (критерий χ^2)
Анеуплоидные эмбрионы, *n* (%)	68/155 (43,9%)	215/517 (41,6%)	129/277 (46,6%)	27/73 (37,0%)	0,394
Эуплоидные эмбрионы, *n* (%)	81/155 (52,3%)	273/517 (52,8%)	122/277 (44,0%)	37/73 (50,7%)	0,118
Мозаичные эмбрионы, *n* (%)	6/155 (3,9%)	29/517 (5,6%)	26/277 (9,4%)	9/73 (12,3%)	0,022

тив 61/211 (28,9%) в криопротоколе (p=0,01, χ^2), ОШ 0,636; ДИ [0,452; 0,897], частота родов – 153/527 (29,0%) против 35/202 (17,3%) соответственно (p=0,002, χ^2); ОШ 0,512; ДИ [0,340; 0,772]. В группе с морфологией 3% ЧНБ при переносе свежего эмбриона составила 115/299 (38,5%) против 34/132 (25,8%) в криопротоколе (p=0,01, χ^2), ОШ 0,555; ДИ [032; 0,874]; частота родов – 72/285 (25,3%) против 16/122 (13,1%) соответственно (p=0,007, χ^2); ОШ 0,447; ДИ [0,248; 0,805].

При сравнении исходов программ ВРТ в криопротоколах с ПГТ-А и без проведения генетического тестирования на анеуплоидии было отмечено увеличение ЧНБ при переносе эуплоидного эмбриона, снижение числа ранних потерь, а также увеличение частоты родов, что обусловлено переносом генетически нормального эмбриона по результатам скрининга. Однако статистически значимые отличия были также описаны для групп пациентов с морфологией сперматозоидов 0–2% и 3%. ЧНБ при переносе эуплоидного эмбриона в группе с морфологией 0–2% составила 49/116 (42,2%) против 61/211 (28,9%) в криопротоколе без ПГТ-А (p=0,015, χ^2); ОШ 1,798; ДИ [1,120; 2,888]; частота родов – 33/107 (30,8%) против 35/202 (17,3%) соответственно (p=0,007, χ^2), ОШ 2,128; ДИ [1,229; 3,683]. В группе с морфологией 3% ЧНБ в криоцикле при переносе эуплоидного эмбриона составила 23/55 (41,8%) против 34/132 (25,8%) в криопротоколе без ПГТ-А (p=0,03, χ^2); ОШ 2,072; ДИ [1,068; 4,019]; частота родов – 19/53 (35,8%) против 16/122 (13,1%) соответственно (p<0,001, χ^2); ОШ 3,702; ДИ [1,716; 7,989]. Таким образом, ЧНБ и частота родов в группах с морфологией 0–2 и 3% почти в 2 раза ниже в криопротоколах по сравнению с переносом свежего эмбриона в цикле стимуляции и по сравнению с переносом эуплоидного эмбриона в криоцикле, при отсутствии разницы в частоте получения эуплоидных эмбрионов в группах с измененными параметрами спермограммы и в группах мужчин старше и младше 40 лет.

Обсуждение

На сегодняшний день данные о влиянии мужского фактора (возраст, ТМФ) на результаты программ ВРТ, такие как жизнеспособность эмбриона/раннее эмбриональное развитие, частота анеуплоидии, а также частота наступления беременности и частота родов являются достаточно неоднознач-

Таблица 7. Исходы программ ВРТ при переносе 1 эмбриона в полость матки в цикле стимуляции в группах мужчин с разными показателями спермограммы

Исходы программ ВРТ	OAT, n=107	microTESE, n=38	0-2%T, n=554	3%T, n=299	Группа сравнения, n=151	p (критерий χ^2)
Клиническая беременность	45/107 (42,1%)	11/38 (28,9%)	216/554 (39,0%)	115/299 (38,5%)	57/151 (37,7%)	0,715
Ранние потери	7/45 (15,6%)	0/11 (0%)	33/216 (15,3%)	27/115 (23,5%)	10/57 (17,5%)	0,194
Роды *(/n пациенток, для которых известны исходы)	31/103* (30,1%)	8/35* (22,9%)	153/527* (29,0%)	72/285* (25,3%)	43/147* (29,3%)	0,711

Таблица 8. Исходы программ ВРТ при переносе 1 эмбриона в полость матки в криоцикле в группах мужчин с разными показателями спермограммы

Исходы программ ВРТ	OAT, n=47	microTESE, n=13	0–2%T, n=211	3%T, n=132	Группа сравнения, n=68	p (критерий χ^2)
Клиническая беременность	16/47 (34,0%)	3/13 (23,1%)	61/211 (28,9%)	34/132 (25,8%)	24/68 (35,3%)	0,601
Ранние потери * (/n пациенток, для которых известны исходы)	3/15* (20%)	0/3 (0%)	15/61 (24,6%)	8/33* (24,2%)	5/24 (20,8%)	0,886
Роды *(/n пациенток, для которых известны исходы)	10/44* (22,7%)	3/13 (23,1%)	35/202* (17,3%)	16/122* (13,1%)	14/63* (22,2%)	0,448

Таблица 9. Исходы программ ВРТ-ПГТ-А при переносе 1 эуплоидного эмбриона в полость матки в криоцикле в группах мужчин с разными показателями спермограммы

Исходы программ ВРТ	OAT, n=29	microTESE, n=6	0–2%T, n=116	3%T, n=55	Группа сравнения, n=13	p (критерий χ^2)
Клиническая беременность	13/29 (44,8%)	3/6 (50%)	49/116 (42,2%)	23/55 (41,8%)	4/13 (30,8%)	0,921
Ранние потери *(/n пациенток, для которых известны исходы)	1/13 (7,7%)	0/3 (0%)	6/47* (12,8%)	2/23 (8,7%)	0/4 (0%)	0,862
Роды *(/n пациенток, для которых известны исходы)	11/28* (39,3%)	3/6 (50%)	33/107* (30,8%)	19/53* (35,8%)	3/13 (23,1%)	0,688

ными и дискутабельными. Настоящее исследование было посвящено изучению влияния старшего репродуктивного возраста отцов (>40 лет) и наличия ТМФ на частоту эмбриональных анеуплоидий в программах ЭКО/ИКСИ, а также изучению влияния данных факторов на эмбриологический этап лечения бесплодия. Принимая во внимание, что большинство анеуплоидий эмбриона являются результатом наследования материнских аберраций, распространенность которых увеличивается с 30% у женщин в возрасте от 30 лет до почти 90% у женщин в возрасте 44 лет [11], мы исключили все циклы ВРТ, в которых возраст женщин превышал 35 лет, чтобы нивелировать влияние материнского фактора на частоту анеуплоидий и исходы программ ВРТ.

Считается, что возраст мужчины отрицательно влияет на результаты ВРТ, возможно вследствие повреждения ДНК в сперматозоидах в результате оксидативного стресса [11]. В результате проведенного анализа не было выявлено значимых различий в характеристиках эмбриологического этапа в группах мужчин старше и младше 40 лет: частота оплодотворения и частота бластуляции были сопоставимы в обеих группах, что согласуется с данными Kasman A.M. et al. [13], которые показали, что возраст отца (⩾40 лет) не связан ни с эмбриологическим этапом, ни исходами программ ВРТ. Хотя в исследовании Dviri M. et al. [14] было отмечено статистически значимое снижение частоты оплодотворения с 80% до 76% в группе мужчин ⩾50 по сравнению с более молодыми мужчинами, что конечно не является столь клинически значимым фактом, в то время как Hanson B.M. et al. в своей работе при анализе 4058 циклов показали снижение процента бластуляции в группе мужчин ⩾40 лет [15], а Morris G. et al. в исследовании 2021г показали, что независимо от причины бесплодия, увеличение мужского возраста (⩾50 лет) связано с уменьшением количества живорождений и ЧНБ, но не влияет на частоту ранних потерь [16]. Требуются дальнейшие исследования по изучению возможных механизмов этого эффекта, а также необходимо совершенствовать существующие методы отбора сперматозоидов, которые могут смягчить данные эффекты.

При сравнении показателей эмбриологического этапа в группах мужчин с разными параметрами эякулята нами было отмечено снижение процента получения бластоцист высокого качества в анализируемых группах по сравнению с группой с нормозооспермией. Статистически значимая разница была определена для группы мужчин с ОАТ и группы с морфологией сперматозоидов 0–2%, что может свидетельствовать о влиянии мужского фактора на раннее эмбриональное развитие. В работе Mazzilli R. et al. в результате анализа 1219 циклов было отмечено снижение частоты оплодотворения для групп с ТМФ по сравнению с группой с нормозооспермией, в то время как частота получения бластоцист топового уровня была значимо ниже только в группе с неабструктивной азооспермией [17]. Анализ 1266 циклов ИКСИ показал, что снижение концентрации (<5 млн/мл) связано со снижением частоты оплодотворения, но не влияет на частоту получения бластоцист отличного качества и на частоту продолжающейся беременности [18].

Сперматозоиды играют важную роль на этапах эмбриогенеза, таких как оплодотворение, эпигенетический контроль и деление клеток, что может повлиять на результаты ИКСИ. Существует мнение, что негативное влияние тяжелой ОАТ на скорость бластуляции может быть связано с повышенной фрагментацией ДНК сперматозоидов [19]. В недавнем исследовании, в котором за эмбрионами наблюдали с помощью метода покадровой съемки, продемонстрировали, что ТМФ связан с более низким процентом бластоцист, доступных для переноса, по сравнению с другими причинами бесплодия. Однако ранние и поздние морфокинетические параметры эмбрионов оставались схожими независимо от степени тяжести мужского бесплодия [20], но этот факт не дает полной уверенности в высоком репродуктивном потенциале переносимых бластоцист. Таким образом, присутствие ТМФ, по-видимому, в первую очередь влияет на способность оплодотворенных ооцитов достигать стадии бластоцисты, что приводит к уменьшению количества бластоцист топового качества. Однако это не полностью доказывает, сохраняется ли репродуктивный потенциал переносимых бластоцист.

Как показали ранние исследования с использованием FISH, количество анеуплоидных эмбрионов на стадии дробления может зависеть от тяжести мужского бесплодия. Однако вероятность того, что анеуплоидные на стадии дробления эмбрионы достигнут стадии бластоцисты, может отрицательно коррелировать с ТМФ. Таким образом, частота эуплоидных эмбрионов на стадии бластоцисты может быть одинаковой для группа мужчин со сниженными показателями спермограммы, как показали недавние исследования [17, 21]. Это можно объяснить преимуществом выживания эуплоидных на стадии дробления эмбрионов до стадии бластоцист. Другое возможное объяснение заключается в том, что время биопсии эмбриона влияет на частоту анеуплоидии, поскольку статус плоидности эмбрионов более точно определяется на стадии бластоцисты, чем на стадии дробления [22].

Установлен факт, что повышение частоты эмбриональных анеуплоидий связано с возрастом матери [11]. В отношении возраста отца и показателей эякулята и их связи с частотой анеуплоидий однозначных объективных данных нет. Известно, что по мере увеличения возраста у мужчин в сперматозоидах накапливаются точечные мутации, отвечающие за наследование определенных заболеваний (шизофрения, аутизм): удвоение отцовских наследуемых мутаций происходит каждые 16,5 года [23], в то время как доказательства генеза именно отцовских анеуплоидий остаются противоречивыми. В результате нашего исследования было показано, что ни аномальные параметры спермограммы (ОАТ, microTESE, морфология сперматозоидов), ни возраст отца старше 40 лет не связаны с повышением частоты анеуплоидии эмбрионов, что соответствовало более ранним исследованиям [17,

21]. В исследовании Carrasquillo R.J. et al. при анализе 1202 циклов с донорскими ооцитами и ПГТ-А было показано отсутствие влияния старшего репродуктивного возраста отца на генетический статус эмбриона [24]. Аналогичные результаты были получены при анализе 3118 эмбрионов на анеуплоидии в группах мужчин разного возраста (⩽39, 40–49, ⩾50 лет) в программах с донорскими ооцитами: не было найдено связи между возрастом отца и уровнем анеуплоидий [14]. Однако Coates A. et al. сообщили о повышенной частоте аномалий половых хромосом у эмбрионов в группе мужчин с олигозооспермией по сравнению с мужчинами с нормальной спермой [25]. Более низкая частота эуплоидии, более высокая частота мозаицизма и более высокая частота аномального морфокинетического развития были описаны при ИКСИ с тестикулярной спермой с женщинами ⩽35 лет по сравнению с нормальными сперматозоидами [26].

Анализ исходов программ ВРТ показал, что при переносе как свежего эмбриона в цикле стимуляции, так и размороженного эмбриона в криопротоколе значения контрольных временных точек измерения (ЧНБ, потери на ранних сроках, частота родов) статистически значимо не различались в группах с разными показателями спермограммы. Таким образом, можно сделать вывод, что наличие фактора мужского бесплодия, связанного с изменениями в показателях эякулята не влияет на исходы программ ВРТ. Стоит отметить, что наилучшие показатели по суммарной ЧНБ (42,0%), случаям ранних потерь (10%) и частоте родов (33,3%) отмечены в программах ВРТ с ПГТ-А, что обусловлено переносом эуплоидного эмбриона, в отличие от программ без ПГТ-А. Минимальная суммарная ЧНБ 29,3%, максимальное количество ранних потерь 22,8% и минимальная частота родов 17,6% были выявлены при переносе замороженного/размороженного эмбриона в криопротоколе без ПГТ-А.

Сравнение исходов программ ВРТ для пар с нормозооспермией при переносе как свежего, так и размороженного эмбриона в циклах с ПГТ-А и без генетического скрининга показало отсутствие значимых различий по каждой из контрольных временных точек: частота родов составила 29,3%, 22,2% и 23,1% соответственно. Таким образом, для пар с нормозооспермией и возрастом женщин ⩽35 лет проведение ПГТ-А не улучшает исходы программ ВРТ. В группе пациентов с ТМФ (объединенная группа ОАТ и microTESE) было отмечено повышение ЧНБ, снижение ранних потерь и увеличение частоты родов по сравнению с переносом размороженного эмбриона без ПГТ-А: 45,7% против 31,7%; 6,3% против 16,7% и 41,2% против 22,8% соответственно. Однако данные различия не достигли уровня статистической значимости, но была отмечена тенденция в отношении частоты родов (p=0,064). Похожие выводы были сделаны Xu R. et al. [27], которые показали, что ПГТ-А на основе NGS может улучшить исходы беременности для пар с ТМФ за счет значительного снижения частоты выкидышей на ранних сроках (6,7% против 21,6%, p=0,02), но без влияния на кумулятивную частоту продолжающейся беременности (54,9% против 55,8%, p=0,90) по сравнению с ИКСИ без ПГТ-А.

Сравнение исходов программ ВРТ в группах мужчин с морфологией 0–2% и 3% показало статистически значимое снижение ЧНБ и частоты родов при переносе замороженного/размороженного эмбриона с неизвестным генетическим статусом как по сравнению с переносом свежего эмбриона в цикле стимуляции в аналогичной группе, так и по сравнению с переносом эмбриона в криопротоколе с ПГТ-А. Это согласуется с работой, в которой было показано, что наличие тератозооспермии у мужчин способствует повышенному риску неудачных исходов программ ВРТ [28]. Надо сказать, что тератозооспермия является одним из самых распространенных вариантов отклонений он нормы в спермограмме в общей популяции пациентов, а морфологическая оценка сперматозоидов сама по себе является крайне субъективной и во многом зависит от эмбриолога. Известно, что неудачи имплантации на 1/3 связаны с эмбрионом, а на 2/3 – с эндометрием [29]. Основная причина бесплодия в таких парах отводится женскому фактору бесплодия. Снижение ЧНБ и частоты родов в криопротоколе в таких парах, вероятно, связано с недостаточным обследованием женщины. В парах с ТМФ (ОАТ, microTESE), как правило, женщины не имеют отягощенного анамнеза, что подтверждается отсутствием статистически значимых различий в ЧНБ и частоте родов как при переносе эмбриона в цикле стимуляции, так и при переносе размороженного эмбриона в криопротоколе.

Заключение

Настоящее исследование продемонстрировало, что в парах с ТМФ ПГТ-А на основе NGS может повысить частоту родов с меньшим количеством перенесенных эмбрионов за счет снижения именно числа потерь на ранних сроках беременности, т.к., по нашим данным, частота получения эуплоидных и анеуплоидных эмбрионов в группах мужчин с разными параметрами спермограммы, в том числе и с ОАТ, и с microTESE, не отличалась от таковой в группе сравнения и составила около 50%. Данный подход можно рекомендовать для пар с ТМФ. Также стоит отметить, что наличие тяжелых форм мужского бесплодия и преклонный возраст отца (⩾50 лет) могут отрицательно повлиять на скорость оплодотворения и бластуляции, но не на ЧНБ в циклах ИКСИ. Однако для подтверждения этих результатов по-прежнему необходимы хорошо спланированные и достаточно мощные рандомизированные контролируемые исследования.

Литература/References

1. *Palermo G., Joris H., Devroey P., Van Steirteghem A.C.* Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. Lancet. 1992; 340(8810): 17-8. https://dx.doi.org/10.1016/0140-6736(92)92425-f.
2. *de Mouzon J., Chambers G.M., Zegers-Hochschild F., Mansour R., Ishihara O., Banker M.* et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive

Technologies world report: assisted reproductive technology 2012† Hum. Reprod. 2020; 35(8): 1900-13. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deaa090.

3. *Brugh V.M., Lipshultz L.I.* Male factor infertility: evaluation and management. Med. Clin. North Am. 2004; 88(2): 367-85. https://dx.doi.org/10.1016/S0025-7125(03)00150-0.
4. *Punab M., Poolamets O., Paju P., Vihljajev V., Pomm K., Ladva R.* et al. Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm counts. Hum. Reprod. 2017; 32(1): 18-31. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dew284.
5. *Bergh C., Pinborg A., Wennerholm U.B.* Parental age and child outcomes. Fertil. Steril. 2019; 111(6): 1036-46. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.04.026.
6. *Sagi-Dain L., Sagi S., Dirnfeld M.* Effect of paternal age on reproductive outcomes in oocyte donation model: a systematic review. Fertil. Steril. 2015; 104(4): 857-65.e1. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.06.036.
7. *Carvalho F., Coonen E., Goossens V., Kokkali G., Rubio C., Meijer-Hoogeveen M.* et al. ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the organisation of PGT. Hum. Reprod. Open. 2020; 2020(3): hoaa021. https://dx.doi.org/10.1093/hropen/hoaa021.
8. *Magli M.C., Gianaroli L., Ferraretti A.P., Gordts S., Fredericks V., Crippa A.* Paternal contribution to aneuploidy in preimplantation embryos. Reprod. Biomed. Online. 2009; 18(4): 536-42. https://dx.doi.org/10.1016/s1472-6483(10)60131-9.
9. *Cooper T.G., Noonan E., von Eckardstein S., Auger J., Baker H.W.G., Behre H.M.* et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. Hum. Reprod. Update. 2010; 16(3): 231-45. https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmp048.
10. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. Hum. Reprod. 2011; 26(6): 1270-83. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/der037.
11. *Franasiak J.M., Forman E.J., Hong K.H., Werner M.D., Upham K.M., Treff N.R., Scott R.T. Jr.* The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophectoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. Fertil. Steril. 2014; 101(3): 656-63.e1. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.11.004.
12. *Смольникова В.Ю., Агаджанян Д.С., Красный А.М.* Активные формы кислорода и компоненты системы антиоксидантной защиты как маркеры прогнозирования качества эмбрионов у супружеских пар с различными типами бесплодия. Акушерство и гинекология. 2020; 11: 55-60. [Smolnikova V.Yu., Agadzhanyan D.S., Krasnyi A.M. Reactive oxygen species and components of the antioxidant defense system as markers for prediction of embryo quality in married couples with different infertility types. Obstetrics and Gynegology. 2020; 11: 55-60. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.11.55-60.
13. *Kasman A.M., Li S., Zhao Q., Behr B., Eisenberg M.L.* Relationship between male age, semen parameters and assisted reproductive technology outcomes. Andrology. 2021; 9(1): 245-52. https://dx.doi.org/10.1111/andr.12908.
14. *Dviri M., Madjunkova S., Koziarz A., Antes R., Abramov R., Mashiach J.* et al. Is there a correlation between paternal age and aneuploidy rate? An analysis of 3,118 embryos derived from young egg donors. Fertil. Steril. 2020; 114(2): 293-300. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.03.034. Erratum in: Fertil. Steril. 2020; 114(5): 1122.
15. *Hanson B.M., Kim J.G., Osman E.K., Tiegs A.W., Lathi R.B., Cheng P.J.* et al. Impact of paternal age on embryology and pregnancy outcomes in the setting of a euploid single-embryo transfer with ejaculated sperm: retrospective cohort study. F S Rep. 2020; 1(2): 99-105. https://dx.doi.org/10.1016/j.xfre.2020.06.004.
16. *Morris G., Mavrelos D., Odia R., Viñals Gonzalez X., Cawood S., Yasmin E.* et al. Paternal age over 50 years decreases assisted reproductive technology (ART) success: A single UK center retrospective analysis. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 2021; 100(10): 1858-67. https://dx.doi.org/10.1111/aogs.14221.
17. *Mazzilli R., Cimadomo D., Vaiarelli A., Capalbo A., Dovere L., Alviggi E.* et al. Effect of the male factor on the clinical outcome of intracytoplasmic sperm injection combined with preimplantation aneuploidy testing: observational longitudinal cohort study of 1,219 consecutive cycles. Fertil. Steril. 2017; 108(6): 961-72.e3. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.08.033.
18. *Bartolacci A., Pagliardini L., Makieva S., Salonia A., Papaleo E., Viganò P.* Abnormal sperm concentration and motility as well as advanced paternal age compromise early embryonic development but not pregnancy outcomes: a retrospective study of 1266 ICSI cycles. J. Assist. Reprod. Genet. 2018; 35(10): 1897-903. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-018-1256-8.
19. *Sedó C.A., Bilinski M., Lorenzi D., Uriondo H., Noblía F., Longobucco V.* et al. Effect of sperm DNA fragmentation on embryo development: clinical and biological aspects. JBRA Assist. Reprod. 2017; 21(4): 343-50. https://dx.doi.org/10.5935/1518-0557.20170061.
20. *Sacha C.R., Dimitriadis I., Christou G., James K., Brock M.L., Rice S.T.* et al. The impact of male factor infertility on early and late morphokinetic parameters: a retrospective analysis of 4126 time-lapse monitored embryos. Hum. Reprod. 2020; 35(1): 24-31. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dez251.
21. *Tarozzi N., Nadalini M., Lagalla C., Coticchio G., Zacà C., Borini A.* Male factor infertility impacts the rate of mosaic blastocysts in cycles of preimplantation genetic testing for aneuploidy. J. Assist. Reprod. Genet. 2019; 36(10): 2047-55. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01584-w.
22. *Liñán A., Lawrenz B., El Khatib I., Bayram A., Arnanz A., Rubio C.* et al. Clinical reassessment of human embryo ploidy status between cleavage and blastocyst stage by Next Generation Sequencing. PLoS One. 2018; 13(8): e0201652. https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0201652.
23. *Kong A., Frigge M.L., Masson G., Besenbacher S., Sulem P., Magnusson G.* et al. Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. Nature. 2012; 488(7412): 471-5. https://dx.doi.org/10.1038/nature11396.
24. *Carrasquillo R.J., Kohn T.P., Cinnioglu C., Rubio C., Simon C., Ramasamy R., Al-Asmar N.* Advanced paternal age does not affect embryo aneuploidy following blastocyst biopsy in egg donor cycles. J. Assist. Reprod. Genet. 2019; 36(10): 2039-45. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01549-z.
25. *Coates A., Hesla J.S., Hurliman A., Coate B., Holmes E., Matthews R.* et al. Use of suboptimal sperm increases the risk of aneuploidy of the sex chromosomes in preimplantation blastocyst embryos. Fertil. Steril. 2015; 104(4): 866-72. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.06.033.
26. *Kahraman S., Sahin Y., Yelke H., Kumtepe Y., Tufekci M.A., Yapan C.C.* et al. High rates of aneuploidy, mosaicism and abnormal morphokinetic development in cases with low sperm concentration. J. Assist. Reprod. Genet. 2020; 37(3): 629-40. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01673-w.
27. *Xu R., Ding Y., Wang Y., He Y., Sun Y., Lu Y., Yao N.* Comparison of preimplantation genetic testing for aneuploidy versus intracytoplasmic sperm injection in severe male infertility. Andrologia. 2021; 53(6): e14065. https://dx.doi.org/10.1111/and.14065.
28. *Долгушина Н.В., Сокур С.А., Глинкина Ж.И., Калинина Е.А.* Исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий у супружеских пар с различными видами патозооспермии у мужчин. Акушерство и гинекология. 2013; 10: 69-75. [Dolgushina V.F., Sokur S.A., Glinkina Zh.I., Kalinina E.A. Outcomes of assisted reproductive technology programs in married couples with different types of pathozoospermia in men. Obstetrics and Gynegology. 2013; 10: 69-75. (in Russian)].
29. *Achache H., Revel A.* Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. Hum. Reprod. Update. 2006; 12(6): 731-46. https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dml004.

Поступила 12.10.2021
Принята в печать 28.10.2021
Received 12.10.2021
Accepted 28.10.2021

Сведения об авторах:
Макарова Наталья Петровна, д.б.н., в.н.с.. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, np_makarova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0003-8922-2878, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Лобанова Наталия Николаевна, м.н.с. отделения вспомогательных репродуктивных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, n_lobanova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-0818-4073, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Кулакова Елена Владимировна, к.м.н., с.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, e_kulakova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-4433-4163, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Непша Оксана Сергеевна, к.б.н., научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, o_nepsha@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-9988-2810, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Екимов Алексей Николаевич, врач-лабораторный генетик лаборатории молекулярно-генетических методов, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, a_ekimov@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0001-5029-0462, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Калинина Елена Анатольевна, д.м.н., профессор, заведующая отделением вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России, e_kalinina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-8922-2878, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Автор, ответственный за переписку: Оксана Сергеевна Непша, o_nepsha@oparina4.ru

Authors' information:
Natalia P. Makarova, Dr. Biol. Sci., Senior Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, np_makarova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0003-8922-2878, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Nataliya N. Lobanova, Junior Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, n_lobanova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-0818-4073, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Elena V. Kulakova, Ph.D., Senior Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, e_kulakova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-4433-4163, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Oksana S. Nepsha, Ph.D. (Biol. Sci.), Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, nepsha@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-9988-2810, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Alexey N. Ekimov, Clinical Geneticist at the Molecular Genetics Laboratory, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, a_ekimov@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0001-5029-0462, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Elena A. Kalinina, Dr. Med. Sci., Professor, Head of the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, e_kalinina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-8922-2878, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Corresponding author: Oksana S. Nepsha, nepsha@oparina4.ru

www.bionika-media.ru

ОТКРЫТА ПОДПИСКА

на 2022 год на журналы издательского дома «Бионика Медиа».

Вы можете узнать подробности и оформить подписку

на сайте:

или по телефону :

+7 (495) 786-25-41

16+ Реклама

bionika media

©Коллектив авторов, 2021

Ю.С. ДРАПКИНА, Е.В. КУЛАКОВА, О.С. НЕПША, А.Н. ЕКИМОВ, Н.П. МАКАРОВА, Е.А. КАЛИНИНА

ОПТИМИЗАЦИЯ ЭМБРИОЛОГИЧЕСКОГО ЭТАПА В ПРОГРАММАХ ЛЕЧЕНИЯ БЕСПЛОДИЯ МЕТОДАМИ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СРЕД С ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ У СУПРУЖЕСКИХ ПАР С ПРЕИМПЛАНТАЦИОННЫМ ГЕНЕТИЧЕСКИМ ТЕСТИРОВАНИЕМ НА АНЕУПЛОИДИИ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

Актуальность: *Одна из причин отсутствия имплантации при переносе эуплоидного эмбриона заключается в недостаточном формировании адгезивного матрикса между эмбрионом и эндометрием. Результаты исследований показали, что культуральные среды с гиалуроновой кислотой оказывают положительное влияние на исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) за счет облегчения контакта эмбриона с эндометрием, а также участия в процессах децидуализации эндометрия и развитии эмбриона.*

Цель: *Оценить частоту наступления беременности и родов у пациенток, проходящих лечение бесплодия методом ЭКО/ИКСИ+ПГТ-А, при переносе эуплоидного эмбриона в среде, обогащенной гиалуроновой кислотой.*

Материалы и методы: *Ретроспективно проанализированы данные 309 супружеских пар, проходящих лечение бесплодия методом ЭКО/ИКСИ по протоколу с антагонистом гонадотропин-рилизинг-гормона. Проведение ПГТ-А выполнено с помощью методики NGS. Подготовка эндометрия для последующего переноса эуплоидного эмбриона осуществлялась с помощью циклической гормональной терапии. У 53 пациенток перенос выполнен в среде с гиалуроновой кислотой, у 256 пациенток была использована стандартная культуральная среда.*

Результаты: *В зависимости от возраста все пациентки были разделены на 3 подгруппы: подгруппа 1 (24–30 лет, 72 женщины), подгруппа 2 (31–36 лет, 148 женщин), подгруппа 3 (37–43 лет, 89 женщин). В отличие от результатов других исследований в данной работе не было обнаружено статистически значимого влияния культуральной среды с гиалуроновой кислотой на исходы программ ВРТ у пациенток в разных возрастных подгруппах.*

Заключение: *Отсутствие статистически значимых результатов может быть связано с небольшой выборкой пациентов в группе с гиалуроновой кислотой, а также с критериями отбора пациентов в группу сравнения и контроля. Необходимы дальнейшие исследования для оптимизации использования культуральной среды с гиалуроновой кислотой, а также определения показаний к ее применению у разных групп пациентов.*

Ключевые слова: *гиалуроновая кислота, культуральная среда, эмбрион, ВРТ, беременность, роды.*

Вклад авторов: Драпкина Ю.С. – сбор и анализ литературных данных, написание статьи; Кулакова Е.В. – написание статьи, участие в проведении программы ВРТ у супружеской пары; Непша О.С. – статистический анализ данных, написание статьи; Екимов А.Н. – проведение преимплантационного генетического тестирования методом высокопроизводительного секвенирования (NGS); Макарова Н.П. – культивирование эмбрионов, проведение биопсии трофэктодермы эмбриона, криоконсервация эмбриона, редактирование публикации; Калинина Е.А. – редактирование и утверждение публикации.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

Финансирование: Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Согласие пациентов на публикацию: Пациенты подписали информированное согласие на публикацию своих данных.

Обмен исследовательскими данными: Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Драпкина Ю.С., Кулакова Е.В., Непша О.С., Екимов А.Н., Макарова Н.П., Калинина Е.А. Оптимизация эмбриологического этапа в программах лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий с применением культуральных сред с гиалуроновой кислотой у супружеских пар с преимплантационным генетическим тестированием на анеуплоидии. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 166-174

https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.166-174

© A group of authors, 2021

YU.S. DRAPKINA, E.V. KULAKOVA, O.S. NEPSHA, A.N. EKIMOV, N.P. MAKAROVA, E.A. KALININA

IMPROVEMENT OF THE EMBRYOLOGICAL STAGE IN ASSISTED REPRODUCTION TREATMENT WITH HYALURONAN-ENRICHED CULTURE MEDIUM IN COUPLES USING PREIMPLANTATION GENETIC TESTING FOR ANEUPLOIDY

Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Background: *During the transfer of an euploid embryo, implantation failure can result from the inadequate formation of the embryo-endometrial adhesion. According to the studies, hyaluronic acid culture media have a positive effect on the outcomes of assisted reproduction programs due to a better embryo-endometrial communication. Such media can also influence the processes of endometrial decidualization and embryo development.*

Objective: *To evaluate pregnancy and delivery rates in patients undergoing infertility treatment with IVF/ICSI with preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) when an euploid embryo is transferred in hyaluronan-enriched culture medium.*

Materials and methods: *This was a retrospective analysis of the data of 309 couples undergoing IVF/ICSI cycles with gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist protocol. Cyclic hormone therapy was administered to prepare the endometrium for the subsequent transfer of an euploid embryo. Hyaluronan-enriched culture medium was used in embryo transfer of 53 patients and a standard culture medium was used in 256 cases.*

Results: *Depending on the age, all patients were divided into three subgroups: subgroup 1 (24–30 years, 72 women), subgroup 2 (31–36 years, 148 women), subgroup 3 (37–43 years, 89 women). Unlike the results of other studies, we did not find any statistically significant effect of the hyaluronan-enriched culture medium on the outcomes of ART programs in patients of different age subgroups.*

Conclusion: *The absence of statistically significant results may be associated with a small sample of patients in the group with hyaluronic acid, as well as the criteria for selecting patients in the comparison and control group. Further research should be done to investigate the optimal use of hyaluronan-enriched culture medium and to determine the indications for its use in different groups of patients.*

Keywords: *hyaluronic acid, culture medium, embryo, ART, pregnancy, delivery.*

Authors' contributions: Drapkina Yu.S. – collection and analysis of literature data, writing the article; Kulakova E.V. – writing the article, participating in the ART program of couples; Nepsha O.S. – statistical analysis of the data, writing the article; Ekimov A.N. – conducting preimplantation genetic testing with next-generation sequencing (NGS); Makarova N.P. – embryo cultivation, biopsy of the trophectoderm of the embryo, cryopreservation of the embryo, editing the text of the article; Kalinina E.A. – editing and approval of the text of the article.
Conflicts of interest: The authors declare that they have no competing interests.
Funding: The study was performed without any financial support.
Patient Consent for Publication: All patients provided informed consent for the publication of their data.
Authors' Data Sharing Statement: The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Drapkina Yu.S., Kulakova E.V., Nepsha O.S., Ekimov A.N., Makarova N.P., Kalinina E.A. Improvement of the embryological stage in assisted reproduction treatment with hyaluronan-enriched culture medium in couples using preimplantation genetic testing for aneuploidy. Akusherstvo i Ginekologiya / Obstetrics and gynecology. 2021; 11: 166-174 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.166-174

В настоящее время приоритетным направлением повышения эффективности лечения бесплодия методом вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) являются разработка новых модифицированных схем и препаратов для стимуляции функции яичников, а также усовершенствование эмбриологического этапа, в частности условий культивирования эмбрионов [1]. Согласно результатам исследований, одна из причин отсутствия имплантации эмбриона хорошего/отличного качества заключается в недостаточном формировании адгезивного матрикса между эмбрионом и эндометрием [2]. Формированию более прочной соединительной основы между эмбрионом и клетками эндометрия способствует гиалуроновая кислота через рецепторы CD44, экспрессирующиеся на поверхности эмбриона на стадии дробления и в эндометрии в период «окна имплантации» [3, 4]. На сегодняшний день предложено большое количество коммерческих однокомпонентных и многокомпонентных культуральных сред. Тем не менее, несмотря на все достижения в культивировании эмбрионов, в том числе и в разработке различных культуральных сред, стоит учитывать разницу между естественной средой для развития эмбрионов и условиями *in vitro*. Культуральные среды, обогащенные гиалуроновой кислотой, имитируют естественную среду в полости матки во время имплантации [5]. Высокая концентрация гиалуроновой кислоты делает куль-

туральную среду более густой, что минимизирует дрейф эмбриона. Разработаны культуральные среды с гиалуроновой кислотой, содержащие очищенный или рекомбинантный альбумин, который служит источником энергии для развивающегося эмбриона, а также регулирует осмотическое давление [6]. Кроме этого, добавление альбумина в культуральную среду повышает ее вязкость и предотвращает прикрепление эмбриона к культуральному пластику или катетеру [7].

В настоящий момент существуют противоречивые данные об эффективности культуральной среды, обогащенной гиалуроновой кислотой и рекомбинантным альбумином, в отношении частоты наступления беременности (ЧНБ) и частоты живорождения у пациентов, проходящих лечение бесплодия методом ВРТ. Результаты одного из первых исследований, посвященных применению культуральных сред с гиалуроновой кислотой, показали повышение частоты наступления беременности у пациенток с множественными неудачными попытками ВРТ и привычным невынашиванием беременности в анамнезе [8]. В Кокрейновском обзоре, опубликованном в 2014 г., было описано повышение ЧНБ у пациенток в программе ВРТ на 8% при добавлении гиалуроновой кислоты в культуральную среду эмбриона [9]. Последующий анализ, включивший данные от 3898 пациенток, продемонстрировал повышение частоты живорождения при культивировании эмбриона в среде с гиалуроновой кислотой, однако было отмечено повышение частоты многоплодной беременности. В еще одном исследовании, проведенном в Китае в 2011 г., было показано снижение частоты внематочной беременности при использовании культуральной среды с высоким содержанием гиалуроновой кислоты [10]. Однако P. Fancsovits et al. (2015) поставили под сомнение имеющиеся данные о положительном влиянии гиалуроновой кислоты на имплантацию эмбриона, изучив результаты 581 протокола ЭКО/ИКСИ и переноса эмбриона. Авторы показали отсутствие влияния культуральной среды с гиалуроновой кислотой на частоту имплантации [11]. Рутинное использование культуральной среды, обогащенной гиалуроновой кислотой, также не рекомендовали S. Safari et al., так как результаты их исследования, включающего 229 пациентов, не показали статистически значимого повышения частоты имплантации, ЧНБ и родов при использовании гиалуроновой кислоты [12]. Аналогичные данные об отсутствии влияния гиалуроновой кислоты на прикрепление эмбриона к эндометрию были получены и P.T. Ruane et al. (2020) в *in vitro* эксперименте [13]. Тем не менее авторы предположили, что, с одной стороны, условия *in vitro* не могут полностью соответствовать условиям, при которых происходит имплантация бластоцисты в организме женщины, а с другой стороны, повышение ЧНБ и влияние на дальнейшее развитие беременности при переносе эмбриона в культуральной среде с гиалуроновой кислотой может быть связано с другими механизмами, помимо более плотного прикрепления эмбриона к эндометрию.

Еще одна причина, приводящая к отсутствию наступления беременности при переносе бластоцисты хорошего/отличного качества, заключается в нарушении хромосомного статуса эмбриона [14]. Проведение преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А) позволяет определить эуплоидные эмбрионы на доимплантационном этапе, что, в свою очередь, приводит к увеличению частоты наступления беременности, уменьшению репродуктивных потерь и снижению риска рождения детей с генетическими нарушениями. Таким образом, перенос эуплоидного эмбриона в последующем криопротоколе позволил минимизировать влияние «эмбрионального» фактора на интерпретацию полученных данных и оценить истинное влияние культуральной среды с гиалуроновой кислотой и рекомбинантным альбумином на ЧНБ и частоту родоразрешений.

Цель данного исследования заключалась в анализе частоты имплантации, ЧНБ и родов живым плодом у пациенток после переноса эуплоидного эмбриона по результатам ПГТ-А в культуральной среде, обогащенной гиалуроновой кислотой.

Материалы и методы

На базе отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им проф. Б.В. Леонова ретроспективно были проанализированы данные, полученные от 309 супружеских пар, проходящих лечение бесплодия методом ЭКО/ИКСИ+ПГТ-А с последующим переносом эуплоидного эмбриона в криопротоколе.

Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ АГиП им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ.

Все супружеские пары, включенные в исследование, прошли предварительное обследование согласно Приказу МЗ РФ № 803н и подписали информированное добровольное согласие. Программа ЭКО/ИКСИ у пациенток была проведена по протоколу с антагонистом гонадотропин-рилизинг-гормона, начиная со 2–3-го дня менструального цикла. При достижении фолликулами диаметра 18 мм пациенткам был назначен триггер финального созревания ооцитов (ХГЧ). Для профилактики синдрома гиперстимуляции яичников у 100 пациенток была произведена замена триггера на агонист гонадотропин-рилизинг-гормона (аГнРГ). Учитывая истощение овариального резерва у 5 пациенток, программа ЭКО/ИКСИ была проведена в естественном цикле (ЕЦ). Из исследования были исключены пациентки, у которых были использованы донорские ооциты или донорская сперма, а также пациентки в возрасте старше 44 лет. Средний возраст женщин, включенных в исследование, составлял 34 года, средний возраст мужчин – 38 лет. У всех супружеских пар, включенных в исследование, было проведено ПГТ-А с использованием методики высокопроизводительного секвенирования следующего поколения (NGS) на эмбрионах хорошего/отличного качества. Из исследования были исключены пациентки, у которых не было получено эуплоидного эмбриона после проведения ПГТ-А.

После проведения трансвагинальной пункции яичников оплодотворение ооцитов проводилось методом ИКСИ, после чего оплодотворенные клетки были перенесены в культуральную среду CSCM (Irvine Sc., США) с целью дальнейшего культивирования. Оценку наступления стадии двух пронуклеусов (формирования зиготы) проводили через 14–16 ч после оплодотворения. Все этапы культивирования проводили в мультигазовых инкубаторах COOK (Ирландия) в каплях по 25 мкл под маслом (Irvine Sc., USA). Среду CSCM (Irvine Sc., США) не меняли в течение 5 суток культивирования. На 5-е сутки после оплодотворения была проведена процедура биопсии трофэктодермы с дальнейшей криоконсервацией биопсированных эмбрионов. Криоконсервация и последующая разморозка эмбриона в криопротоколе проводились с использованием набора для витрификации Kitazato (Япония), Irvine (США), Z-VIT (Россия) и Z-REV (Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Процедура ПГТ-А состояла из нескольких этапов: на первом этапе была проведена полногеномная амплификация и подготовка библиотеки для нанесения на чип. Для создания библиотеки к фрагментам ДНК присоединялись специальные молекулярные метки – баркоды, уникальные для каждого образца в постановке. Далее было выполнено ионное полупроводниковое секвенирование с последующим биоинформатическим анализом результатов и подготовкой заключения на основании полученных данных согласно стандартной методике ПГТ-А

После получения результата ПГТ-А у пациенток была выполнена подготовка эндометрия эстрогенсодержащими препаратами с 5–6-го дня менструального цикла. В 1-й группе в криопротоколе использовалась среда для переноса эмбриона с повышенной вязкостью, в состав которой входили гиалуроновая кислота в высокой концентрации, сахариды и аминокислоты, а также источник белка – рекомбинантный альбумин (53 супружеские пары). В контрольной группе криоперенос эмбрионов осуществлялся по стандартной схеме с использованием среды, не содержащей гиалуроновую кислоту (256 супружеских пар). В случае, когда была использована культуральная среда с гиалуроновой кислотой, перенос осуществляли согласно инструкции производителя.

За день до переноса эмбриона культуральную среду, обогащенную гиалуроновой кислотой, разливали в культуральные плашки в объеме 2,0 мл под маслом и оставляли в течение 15 ч при температуре 37°C и 6% CO_2. В день переноса эмбрион был размерожен по стандартной методике. После разморозки эмбрион сразу помещался на 10 минут в культуральную среду с гиалуроновой кислотой без предварительного прекультивирования. Через 10 минут культуральная среда, обогащенная гиалуроновой кислотой и содержащая эмбрион, набиралась в мягкий катетер Wallace (Германия) или CooK (Австралия) в объеме 30 µL. У пациентов без использования культуральной среды с гиалуроновой кислотой перенос эмбриона осуществлялся согласно стандартной эмбриологической методике. Всем пациенткам, включенным в исследование, был проведен селективный перенос 1 эмбриона. В обеих группах пациентов эмбрион переносили в полость матки на 18–21-й день менструального цикла при толщине эндометрия в день переноса эмбриона более 8,2 мм. Поддержку лютеиновой фазы цикла, а также посттрансферного периода выполняли согласно стандартной методике [15]. На 14-й день после переноса эмбриона пациентки сдавали кровь на содержание бета-субъединицы хорионического гонадотропина человека (β-ХГЧ) для диагностики беременности. При положительном результате β-ХГЧ для диагностики клинической внутриматочной беременности на 21-й день после переноса эмбриона выполняли трансвагинальное УЗИ. При наличии плодного яйца в полости матки повторное УЗИ малого таза было проведено на 7–8-й неделе беременности. Дальнейшее наблюдение за беременностью проводилось акушером-гинекологом по месту жительства с последующим сбором данных об исходах беременности.

Статистический анализ

Анализ результатов проводился с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics версии 23.0 (США), а также с помощью таблиц Microsoft Excel. Для анализа количественных данных в группах определялся вид распределения данных (тест Колмогорова–Смирнова). Для описания категориальных бинарных данных использовали абсолютные числа N и процентные доли от общего числа пациенток в группе P в формате N (P%). Статистическую значимость различий двух или нескольких относительных показателей (частот, долей) оценивали с помощью критерия χ^2. При распределении признаков, отличающемся от нормального, их описывали в виде медианы (Me) и квартилей Q1 и Q3 в формате Me (Q1;Q3). Величину порогового уровня значимости p принимали равной 0,05.

Результаты

Все пациенты, включенные в данное исследование, были разделены на две группы: пациенты, которым был выполнен перенос эмбриона в культуральной среде с гиалуроновой кислотой (группа 1, n=53), и пациенты, которым перенос проведен с использованием однокомпонентной культуральной среды CSCM (группа 2, n=256). Внутри каждой группы все пациенты были разделены на подгруппы в зависимости от результата имплантации. Общие результаты программы ВРТ у пациенток, включенных в исследование, представлены в таблице 1. Относительная частота наступления клинической беременности в контрольной группе составляла 43,7%, а в группе сравнения – 32,0%. Неразвивающаяся беременность в контрольной группе была у 13 пациенток (13,1%), у 1 пациентки была диагностирована внематочная беременность. В группе сравнения у 1 пациентки была диагностирована неразвивающаяся беременность (5,8%). После переноса эмбриона в культуральной среде,

обогащенной гиалуроновой кислотой, у 15 пациенток были роды живым плодом (88,3%), и из контрольной группы 90 женщин были родоразрешены (80,3%) (табл. 1). У 8 пациенток из контрольной группы был диагностирован выкидыш на раннем сроке беременности, сопровождающийся кровянистыми выделениями и болями внизу живота. Наиболее вероятной причиной выкидыша на раннем сроке послужили акушерские синдромы, в том числе нарушения свертывающей системы крови.

Для минимизации влияния возраста на исходы программ ВРТ и интерпретацию полученных результатов все пациентки, включенные в исследование, были разделены на 3 подгруппы в зависимости от возраста: подгруппа 1 (24–30 лет, 72 женщины), подгруппа 2 (31–36 лет, 148 женщин), подгруппа 3 (37–43 лет, 89 женщин). Эффективность программы ВРТ была проанализирована в каждой группе.

В подгруппе 1 частота наступления клинической беременности у пациенток, которым был проведен перенос эмбриона в среде, обогащенной гиалуроновой кислотой, составила 27,2%, в контрольной подгруппе – 42,6%. В группе с использованием гиалуроновой кислоты все забеременевшие пациентки в программе ВРТ были успешно родоразрешены. В контрольной подгруппе частота родоразрешений составила 76,9% (табл. 2). У 5 пациенток в данной подгруппе был диагностирован выкидыш на раннем сроке беременности, у 1 пациентки диагностирована внематочная беременность с последующим проведением тубэктомии (перенос эмбриона в культуральной среде CSCM).

Частота наступления клинической беременности в подгруппе 2 составила 25,0%, в контрольной подгруппе – 46,8%. У 1 пациентки в контрольной группе была диагностирована анэмбриония. У 1 пациентки было прерывание беременности на раннем сроке. Частота родов живым плодом в подгруппе с использованием среды с гиалуроновой кислотой составляла 100%, в подгруппе с использованием среды CSCM – 96,6% (табл. 3).

В подгруппе 3 у 22 пациенток был проведен перенос эмбриона в среде с гиалуроновой кислотой. У 2

Таблица 1. Общая характеристика эффективности программ ВРТ у пациенток в зависимости от способа культивирования эмбриона

Способ культивирования эмбриона	Количество пациенток	Количество пациенток с клинической беременностью, абс. (%)	Количество пациенток с прогрессирующей беременностью, абс. (%)	Количество пациенток, родивших здорового ребенка, абс. (%)	% невынашивания
Перенос в культуральной среде с гиалуроновой кислотой	53				
Имплантация +	17	17 (32,0)	16 (94,2)	15 (88,3)	11,7%
Имплантация -	36				
Перенос в культуральной среде CSCM	256				
Имплантация +	112	112 (43,7)	98 (87,5)	90 (80,3)	20,7
Имплантация -	144				
Критерий χ^2, p		P=0,11	P=0,4	P=0,3	

Таблица 2. Характеристика эффективности программ ВРТ у пациенток в возрасте 24–30 лет в зависимости от способа культивирования эмбриона

Способ культивирования эмбриона	Количество пациенток	Количество пациенток с клинической беременностью, абс. (%)	Количество пациенток с прогрессирующей беременностью, абс. (%)	Количество пациенток, родивших здорового ребенка, абс. (%)	% невынашивания
Перенос в культуральной среде с гиалуроновой кислотой	11				
Имплантация +	3	3 (27,2)	3 (100)	3 (100)	0
Имплантация -	8				
Перенос в культуральной среде CSCM	61				
Имплантация +	26	26 (42,6)	25 (96,1)	20 (76,9)	23,1
Имплантация -	35				
Критерий χ^2, p		P=0,3	P=1,0	P=0,5	

пациенток в контрольной подгруппе был диагностирован выкидыш на раннем сроке беременности, у 1 пациентки беременность наступила при переносе эмбриона в среде с гиалуроновой кислотой. У 12 пациенток была диагностирована неразвивающаяся беременность на сроке 7–8 недель (перенос эмбриона в культуральной среде CSCM). Частота наступления клинической беременности в подгруппе сравнения составляла 40,9%, в контрольной подгруппе – 38,8%. Относительная частота родоразрешений в подгруппе пациенток с использованием гиалуроновой кислоты составила 88%, в контрольной подгруппе – 50% (табл. 4).

В результате нашего исследования мы не получили различий по ЧНБ и частоте родов в подгруппах женщин разного возраста в зависимости от использования среды с гиалуроновой кислотой ($p \geq 0,05$). Внутри каждой возрастной подгруппы был проведен анализ клинико-анамнестических характеристик у пациенток, у которых была использована культуральная среда с гиалуроновой кислотой и стандартная культуральная среда. Результаты анализа показали, что подгруппы были сопоставимы по клинико-анамнестическим данным. Стоит отметить, что, несмотря на отсутствие получения статистически значимых результатов о влиянии среды с гиалуроновой кислотой на ЧНБ и прогрессирование беременности, что наиболее вероятно связано с небольшой выборкой пациентов в группе с гиалуроновой кислотой, была описана тенденция положительного влияния данной среды на течение беременности, наступившей после переноса эуплоидного эмбриона, особенно у пациенток старшего репродуктивного возраста.

Обсуждение

Имплантация эмбриона в эндометрий представляет собой многоэтапный процесс, опосредованный многоуровневой регуляцией внутри- и межклеточных взаимодействий [16]. Эти процессы необходимы для дальнейшего развития бластоцисты и адаптации организма матери к беременности. Эффективность программ ВРТ, безусловно, зависит от совокупности многих факторов, тем не менее, в

Таблица 3. Характеристика эффективности программ ВРТ у пациенток в возрасте 31–36 лет в зависимости от способа культивирования эмбриона

Способ культивирования эмбриона	Количество пациентов	Количество пациентов с клинической беременностью, абс. (%)	Количество пациенток с прогрессирующей беременностью, абс. (%)	Количество пациентов, родивших здорового ребенка, абс. (%)	% невынашивания
Перенос в культуральной среде с гиалуроновой кислотой	20				
Имплантация +	5	5 (25,0)	5 (100)	5 (100)	0
Имплантация -	15				
Перенос в культуральной среде CSCM	128				
Имплантация +	60	60 (46,8)	59 (98, 3)	58 (96,6)	3,4
Имплантация -	68				
Критерий χ^2, p		$P = 0,06$	$P = 0,7$	$P = 0,5$	

Таблица 4. Характеристика эффективности программ ВРТ у пациенток в возрасте 37–43 лет в зависимости от способа культивирования эмбриона

Способ культивирования эмбриона	Количество пациентов	Количество пациентов с клинической беременностью, абс. (%)	Количество пациенток с прогрессирующей беременностью, абс. (%)	Количество пациентов, родивших здорового ребенка, абс. (%)	% невынашивания
Перенос в культуральной среде с гиалуроновой кислотой	22				
Имплантация +	9	9 (40,9)	8 (88,8)	8 (88,8)	11,2
Имплантация -	13				
Перенос в культуральной среде CSCM	67				
Имплантация +	26	26 (38,8)	14 (53,8)	13 (50,0)	50,0
Имплантация -	41				
Критерий χ^2, p		$P = 0,8$	$P = 0,07$	$P = 0,9$	

конечном итоге успешная имплантация и дальнейшее развитие физиологической беременности возможны при правильном и координированном взаимодействии генетически здорового эмбриона с рецептивным эндометрием [17]. Уникальность данного исследования заключается в том, что при проведении анализа данных был минимизирован «эмбриональный» фактор, в значительной степени влияющий на результат программы ВРТ. У всех пациенток, включенных в данное исследование, были получены эуплоидные эмбрионы, которые были перенесены в последующем криопротоколе на фоне подготовки эндометрия с помощью циклической гормональной терапии.

В отношении влияния гиалуроновой кислоты на ЧНБ и пролонгирование беременности опубликовано большое количество работ, имеющих противоречивые результаты. В физиологических условиях гиалуроновая кислота содержится в матке и маточных трубах, а во время имплантации концентрация гиалуроновой кислоты возрастает. Гиалуроновая кислота связывается с CD44-рецепторами на поверхности эпителия эндометрия и за счет этого регулирует экспрессию ряда генов, участвующих в имплантации эмбриона, а также участвует в процессах адгезии клеток, пролиферации, миграции и клеточной дифференцировке [3, 4]. Участие гиалуроновой кислоты в процессах имплантации эмбриона в физиологических условиях опосредует возрастающий интерес ученых к применению культуральной среды, обогащенной данным компонентом, в программах ВРТ.

У пациентов, включенных в настоящее исследование, был проведен анализ клинико-анамнестических характеристик, фактора бесплодия, частоты имплантации, ЧНБ, а также частоты родоразрешений. Полученные результаты не показали статистически значимого преимущества среды, содержащей гиалуроновую кислоту, на исходы программы ВРТ и частоту родоразрешений. Тем не менее не стоит игнорировать тенденцию к повышению частоты вынашивания беременности у пациенток разных возрастных подгрупп, особенно у пациенток старшей возрастной подгруппы. В подгруппе 1 (24–30 лет) доля невынашивания составляла 0% в группе сравнения и 20% – в контрольной группе; в подгруппе 2 (31–36 лет) этот показатель составлял 0 и 5% соответственно, и в подгруппе пациенток старшего репродуктивного возраста (37–43 года) доля невынашивания была 12% у женщин с переносом эмбриона в среде с гиалуроновой кислотой и 50% у пациенток контрольной группы.

В 2021 г. T. Adeniyi et al. опубликовали обзор исследований, посвященных использованию гиалуроновой кислоты для культивирования эмбриона в программах ВРТ. Кроме этого, авторы проанализировали частоту наступления беременности и родов у пациенток в зависимости от способа культивирования эмбриона [18]. В исследование были включены 1018 пациенток, которым был выполнен перенос эмбриона в среде с низким содержанием гиалуроновой кислоты, и 1175 пациенток, которым был перенесен эмбрион в условиях высокого содержания гиалуроновой кислоты. Внутри группы пациенток, которым был проведен перенос эмбриона в среде с повышенным содержанием гиалуроновой кислоты, эмбрион находился в данной среде в течение 2–4 ч или в течение 10–30 минут. Результаты исследования показали, что использование культуральной среды, обогащенной гиалуроновой кислотой, статистически значимо повышает ЧНБ и частоту родоразрешений вне зависимости от времени культивирования эмбриона в культуральной среде (продолжительное культивирование: ОШ 1,21; 95%, ДИ 0,99–1,48; быстрое культивирование: ОШ 1,32; 95% ДИ 1,02–1,72; общее ОШ 1,26; 95% ДИ 1,03–1,54 по сравнению с культуральной средой с пониженным содержанием гиалуроновой кислоты). Полученные результаты показывают, что продолжительность культивирования эмбриона в среде с гиалуроновой кислотой не влияет на наступление беременности, однако обогащение культуральной среды гиалуроновой кислотой повышает эффективность программы ВРТ.

Потенциальное положительное влияние гиалуроновой кислоты на прогрессирование беременности заключается во влиянии данного компонента на развитие эмбриона, а также на процессы децидуализации эндометрия. Кроме этого, гиалуроновая кислота может выступать как источник эмбрионального фактора роста, так как небольшие концентрации гиалуроновой кислоты могут пенетрировать через блестящую оболочку *zona pellucida* [19].

Противоречивые результаты других исследований могут быть связаны с тем, что в разных работах использовался небольшой объем культуральной среды (25–75 мкл), тогда как в работе K. Nakagawa et al. использование 1–2 мл среды с гиалуроновой кислотой оказало положительное влияние на ЧНБ [20]. Кроме этого, концентрация гиалуроновой кислоты также отличается в средах разных производителей, что может влиять на интерпретацию результатов исследований [9]. В Кокрейновском обзоре, опубликованном в 2014 г., было описано положительное влияние культуральных сред, содержащих 0,5 мг/мл гиалуроновой кислоты, на частоту наступления клинической беременности [9].

Результаты данной работы подтверждают необходимость дальнейших исследований для оптимизации использования культуральной среды, обогащенной гиалуроновой кислотой, а также определения показаний к ее применению у разных групп пациентов. Согласно обзорам, наиболее часто среда, обогащенная гиалуроновой кислотой, используется у пациенток старшего репродуктивного возраста [20]. Стоит отметить, что в данном исследовании наиболее выраженная тенденция к повышению ЧНБ и частоты родоразрешений была получена именно в данной возрастной подгруппе (p=0,8 и p=0,07).

Заключение

Одна из причин отсутствия имплантации эуплоидного эмбриона заключается в недостаточной рецептивности эндометрия, а также в нарушении

формирования адгезивного матрикса между бластоцистой и эндометрием. Согласно результатам предыдущих научных работ, гиалуроновая кислота позволяет уменьшить миграцию эмбриона в полости матки, а также облегчает контакт эмбриона с эндометрием. Результаты ряда исследований рекомендуют применять культуральные среды с гиалуроновой кислотой у пациенток старшего репродуктивного возраста, с множественными неудачными попытками ЭКО в анамнезе, однако необходимы дальнейшие исследования с большой выборкой пациентов, позволяющие оптимизировать и стандартизовать условия культивирования эмбриона в данных культуральных средах.

Литература/References

1. *Vander B.M., Wyns C.* Fertility and infertility: Definition and epidemiology. Clin. Biochem. 2018; 62: 2-10. https://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012.
2. *Singh N., Gupta M., Kriplani A., Vanamail P.* Role of embryo glue as a transfer medium in the outcome of fresh non-donor in-vitro fertilization cycles. J. Hum. Reprod. Sci. 2015; 8(4): 214-7. https://dx.doi.org/10.4103/0974-1208.170398.
3. *Behzad F., Seif M.W., Campbell S., Aplin J.D.* Expression of 2 isoforms of CD44 in human endometrium. Biol. Reprod. 1994; 51(4): 739-47. https://dx.doi.org/10.1095/biolreprod51.4.739.
4. *Berneau S.C., Ruane P.T., Brison D.R., Kimber S.J., Westwood M., Aplin J.D.* Investigating the role of CD44 and hyaluronate in embryo-epithelial interaction using an in vitro model. Mol. Hum. Reprod. 2019; 25(5): 265-73. https://dx.doi.org/10.1093/molehr/gaz011.
5. *Wu F., Lü R., Bai X.H., Song X.R.* Influence of EmbryoGlue on the implantation of embryo and pregnancy outcome in vitro fertilization-embryo transfer. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. 2012; 47(2): 121-4. (in Chinese).
6. *Girish K.S., Kemparaju K.* The magic glue hyaluronan and its eraser hyaluronidase: a biological overview. Life Sci. 2007; 80(21): 1921-43. https://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2007.02.037.
7. *Lim K., Lee B., Kang S., Hwang W.* Effects of protein source and energy substrates on the in vitro development of bovine embryos in a two-step culture system. J. Vet. Sci. 2003; 4(1): 73-8.
8. *Valojerdi M.R., Karimian L., Yazdi P.E., Gilani M.A., Madani T., Baghestani A.R.* Efficacy of a human embryo transfer medium: a prospective, randomized clinical trial study. J. Assist. Reprod. Genet. 2006; 23(5): 207-12. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-006-9031-7.
9. *Bontekoe S., Heineman M., Johnson N., Blake D.* Adherence compounds in embryo transfer media for assisted reproductive technologies. Cochrane Database Syst. Rev. 2014; (2): CD007421. https://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD007421.pub3.
10. *Fu W., Yu M., Zhang X.J.* Effect of hyaluronic acid-enriched transfer medium on frozen-thawed embryo transfer outcomes. J. Obstet. Gynaecol. Res. 2018; 44(4): 747-55. https://dx.doi.org/10.1111/jog.13581.
11. *Fancsovits P., Lehner A., Murber A., Kaszas Z., Rigo J., Urbancsek J.* Effect of hyaluronan-enriched embryo transfer medium on IVF outcome: a prospective randomized clinical trial. Arch. Gynecol. Obstet. 2015; 291(5): 1173-9. https://dx.doi.org/10.1007/s00404-014-3541-9.
12. *Safari S., Razi M.H., Safari S., Razi Y.* Routine use of EmbryoGlue as embryo transfer medium does not improve the ART outcomes. Arch. Gynecol. Obstet. 2015; 291(2): 433-7. https://dx.doi.org/10.1007/s00404-014-3416-0.
13. *Ruane P.T., Buck C.J., Babbington P.A., Aboussahoud W., Berneau S.C., Westwood M.* et al. The effects of hyaluronate-containing medium on human embryo attachment to endometrial epithelial cells in vitro. Hum. Reprod. Open. 2020; 2020(2): hoz033. https://dx.doi.org/10.1093/hropen/hoz033.
14. *Драпкина Ю.С., Тимофеева А.В., Чаговец В.В., Кононихин А.С., Франкевич В.Е., Калинина Е.А.* Применение омиксных технологий в решении проблем репродуктивной медицины. Акушерство и гинекология. 2018; 9: 24-32. [Drapkina Yu.S., Timofeeva A.V., Chagovets V.V., Kononikhin A.S., Frankevich V.E., Kalinina E.A. Application of omix technologies in solving problems of reproductive medicine. Obstetrics and gynecology. 2018; 9: 24-32. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.9.24-32.
15. Приказ Минздрава России от 31.07.2020 № 803н "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению". Настоящий приказ вступает в силу с 1 января 2021 года. [Order of the Ministry of Health of Russia dated July 31, 2020 N 803n "On the procedure for using assisted reproductive technologies, contraindications and restrictions on their use." This order comes into force on January 1, 2021. (in Russian)].
16. *Андреева М.Г., Калинина Е.А., Дьяконов С.А.* Критерии успеха в программах вспомогательных репродуктивных технологий. Акушерство и гинекология. 2016; 3: 12-5. [Andreeva M.G., Kalinina E.A., Dyakonov S.A. Success criteria in assisted reproductive technology programs. Obstetrics and gynecology. 2016; 3: 12-5. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2016.3.12-15.
17. *Тимофеева А.В., Калинина Е.А., Драпкина Ю.С., Чаговец В.В., Макарова Н.П., Сухих Г.Т.* Оценка качества эмбриона по профилю экспрессии малых некодирующих РНК в культуральной среде эмбриона в программах вспомогательных репродуктивных технологий. Акушерство и гинекология. 2019; 6: 79-86. [Timofeeva A.V., Kalinina E.A., Drapkina Yu.S., Chagovets V.V., Makarova N.P., Sukhikh G.T. Evaluation of the quality of the embryo by the expression profile of small noncoding RNAs in the culture medium of the embryo in programs of assisted reproductive technologies. Obstetrics and gynecology. 2019; 6: 79-86. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.6.79-86.
18. *Adeniyi T., Horne G., Ruane P.T., Brison D.R., Roberts S.A.* Clinical efficacy of hyaluronate-containing embryo transfer medium in IVF/ICSI treatment cycles: a cohort study. Hum. Reprod. Open. 2021; 2021(1): hoab004. https://dx.doi.org/10.1093/hropen/hoab004.
19. *Fouladi-Nashta A.A., Raheem K.A., Marei W.F., Ghafari F., Hartshorne G.M.* Regulation and roles of the hyaluronan system in mammalian reproduction. Reproduction. 2017; 153(2): R43-58. https://dx.doi.org/10.1530/REP-16-0240.
20. *Nakagawa K., Takahashi C., Nishi Y., Jyuen H., Sugiyama R., Kuribayashi Y.* et al. Hyaluronan-enriched transfer medium improves outcome in patients with multiple embryo transfer failures. J. Assist. Reprod. Genet. 2012; 29(7): 679-85. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-012-9758-2.

Поступила 12.10.2021
Принята в печать 18.11.2021
Received 12.10.2021
Accepted 18.11.2021

Сведения об авторах:
Драпкина Юлия Сергеевна, к.м.н., научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, yu_drapkina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-0545-1607, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Кулакова Елена Владимировна, к.м.н., с.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, e_kulakova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-4433-4163, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Непша Оксана Сергеевна, к.б.н., старший научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, o_nepsha@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-9988-2810, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Екимов Алексей Николаевич, врач-лабораторный генетик лаборатории молекулярно-генетических методов, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, a_ekimov@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0001-5029-0462, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Макарова Наталья Петровна, д.б.н., в.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, np_makarova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0003-8922-2878, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Калинина Елена Анатольевна, д.м.н., профессор, заведующая отделением вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, e_kalinina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-8922-2878, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:
Yulia S. Drapkina, PhD, Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, yu_drapkina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-0545-1607, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Elena V. Kulakova, PhD, Senior Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, e_kulakova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-4433-4163, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Oksana S. Nepsha, Ph.D. (Biol. Sci.), Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, nepsha@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-9988-2810, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Alexey N. Ekimov, Clinical Geneticist at the Molecular Genetics Laboratory, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, a_ekimov@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0001-5029-0462, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Natalia P. Makarova, Dr. Biol. Sci., Senior Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, np_makarova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0003-8922-2878, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.
Elena A. Kalinina, Dr. Med. Sci., Professor, Head of the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, e_kalinina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-8922-2878, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

©Коллектив авторов, 2021

О.А. МЕЛКОЗЕРОВА, Е.О. ОКУЛОВА, А.А. МИХЕЛЬСОН, Т.Б. ТРЕТЬЯКОВА

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ И СОСТОЯНИЕ ОВАРИАЛЬНОГО РЕЗЕРВА ПРИ ГЛУБОКОМ ИНФИЛЬТРАТИВНОМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, Екатеринбург, Россия

Цель: *Изучить молекулярно-генетические предикторы и состояние овариального резерва у пациенток с инфильтративной формой наружного генитального эндометриоза.*

Материалы и методы: *Проведено исследование «случай–контроль». Основную группу составили 70 пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом, группу сравнения – 50 фертильных пациенток. У всех пациенток проводилась оценка овариального резерва. Выполнено молекулярно-генетическое типирование полиморфных вариантов генов, кодирующих белки, участвующие в регуляции апоптоза (C-KIT: 2600 G>A, KITLG: 80441 C>T, TP53: Ex4+119 G>C (Arg72Pro)) и ангиогенеза (VEGF-A: +12143 C>A, VEGF-A: -2578 C>A, VEGF-A: -634 G>C, VEGF-A: +936 C>T).*

Результаты: *Уровень антимюллерова гормона (АМГ) был значимо ниже у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом (2,4 (2,0) нг/мл), чем у пациенток группы сравнения (3,8 (3,2) нг/мл), $p<0,05$. Количество антральных фолликулов в яичниках также было значимо ниже у женщин основной группы (8,3 (4,5)), чем группы сравнения (11,8 (4,1)), $p<0,001$. У женщин основной группы выявлена статистически значимо большая, чем у женщин группы сравнения, частота полиморфного аллеля Ex4+119 G>C гена TP53 (ОШ 2,43 (95% ДИ 1,12; 5,27); $p<0,03$). Носительство полиморфного аллеля +12143 C>A гена VEGF-A в гомо- или гетерозиготном состоянии повышает риск развития глубокого инфильтративного эндометриоза (ОШ 2,18 (95% ДИ 1,03–4,61); $p<0,05$). По данным многофакторного анализа сформирована трехлокусная модель, согласно которой в патогенезе глубокого инфильтративного эндометриоза играет роль сочетание однонуклеотидных полиморфизмов генов-регуляторов апоптоза (C-KIT: 2600 G>A, TP53: Ex4+119 G>C) и ангиогенеза (VEGF-A: -2578 C>A).*

Заключение: *Наличие глубокого инфильтративного эндометриоза без видимого поражения яичников может быть ассоциировано со значительным снижением овариального резерва. Дисрегуляция процессов апоптоза и ангиогенеза при глубоком инфильтративном эндометриозе может являться одним из ключевых механизмов снижения овариального резерва вследствие преждевременной активации примордиальных фолликулов и раннего их истощения.*

Ключевые слова: *ангиогенез, апоптоз, бесплодие, глубокий инфильтративный эндометриоз, межгенные взаимодействия, овариальный резерв.*

Вклад авторов: Мелкозерова О.А., Третьякова Т.Б. – концепция и дизайн исследования; Окулова Е.О., Михельсон А.А., Мелкозерова О.А. – сбор и обработка материала; Окулова Е.О. – статистическая обработка данных; Окулова Е.О., Мелкозерова О.А. – написание текста; Мелкозерова О.А., Третьякова Т.Б., Михельсон А.А. – редактирование.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Финансирование исследования проводилось за счет средств федерального бюджета, выделяемых в рамках выполнения федерального государственного задания по научно-исследовательской работе № 0056-00128-21-05.

Согласие пациентов на публикацию. Пациенты подписали информированное согласие на публикацию своих данных.

Обмен исследовательскими данными. Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Мелкозерова О.А., Окулова Е.О., Михельсон А.А., Третьякова Т.Б. Молекулярно-генетические предикторы и состояние овариального резерва при глубоком инфильтративном эндометриозе. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 175-186
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.175-186

©A group of authors, 2021

O.A. MELKOZEROVA, E.O. OKULOVA, A.A. MIKHELSON, T.B. TRETYAKOVA

MOLECULAR GENETIC PREDICTORS AND OVARIAN RESERVE IN WOMEN WITH DEEP INFILTRATING ENDOMETRIOSIS

Ural Research Institute of Maternity and Child Care, Ministry of Health of Russia, Yekaterinburg, Russia

Objective: *To investigate molecular genetic predictors and ovarian reserve in patients with infiltrating extragenital endometriosis.*

Materials and methods: *This is a case-control study including 70 patients of reproductive age with deep infiltrating endometriosis (study group) and 50 fertile women (control group). All patients underwent testing for ovarian reserve. The molecular genetic analysis included testing for polymorphic variants of genes encoding proteins involved in the regulation of apoptosis [C-KIT: 2600 G>A, KITLG: 80441 C>T, TP53: Ex4+119 G>C (Arg72Pro)] and angiogenesis ((VEGF-A: +12143 C>A, VEGF-A: -2578 C>A, VEGF-A: -634 G>C, VEGF-A: +936 C>T).*

Results: *The AMH level was significantly lower in patients with deep infiltrating endometriosis [2.4 (2.0) ng/ml] than in the control group [3.8 (3.2) ng/ml], p<0.05. Antral follicle counts were also significantly lower in women in the study group [8.3 (4.5)] than in the control group [11.8 (4.1)], p<0.001. Women in the study group had a statistically significantly higher frequency of the polymorphic allele Ex4+119 G>C of the TP53 gene [OR 2.43 (95% CI1.12; 5.27)], p<0.03. Carriage of the polymorphic allele +12143 C>A of the VEGF-A gene in a homo- or heterozygous state increases the risk of deep infiltrating endometriosis [OR 2.18 (95% CI 1.03; 4.61)], p<0.05. Trilocus model constructed by multivariate analysis suggested the involvement of a combination of single nucleotide polymorphisms of genes regulating apoptosis (C-KIT: 2600 G>A, TP53: Ex4+119 G>C) and angiogenesis (VEGF-A: -2578 C>A) in the pathogenesis of endometriosis.*

Conclusion: *Deep infiltrating endometriosis without visible affection of the ovaries may be associated with a significant decline in ovarian reserve. Dysregulation of apoptosis and angiogenesis in deep infiltrating endometriosis may be a critical mechanism undelaying diminished ovarian reserve due to the premature activation of primordial follicles and their early depletion.*

Keywords: *angiogenesis, apoptosis, infertility, deep infiltrating endometriosis, intergenic interactions, ovarian reserve.*

Authors' contributions: Melkozerova O.A., Tretyakova T.B. – conception and design of the study; Okulova E.O., Mikhelson A.A., Melkozerova O.A. – data collection and analysis; Okulova E.O. – statistical analysis; Okulova E.O., Melkozerova O.A. – manuscript drafting; Melkozerova O.A., Tretyakova T.B., Mikhelson A.A. – manuscript editing.
Conflicts of interest: The authors have no conflicts of interest to declare.
Funding: The study was financed from the federal budget within the framework of the state order for the implementation of research No. 0056-00128-21-05.
Patient Consent for Publication: All patients provided informed consent for the publication of their data.
Authors' Data Sharing Statement: The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Melkozerova O.A., Okulova E.O., Mikhelson A.A., Tretyakova T.B. Molecular genetic predictors and ovarian reserve in women with deep infiltrating endometriosis. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 175-186 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.175-186

Эндометриоз выявляется у 5–15% женщин репродуктивного возраста. Одна из наиболее частых причин обращения больных эндометриозом за врачебной помощью – бесплодие, которым страдают от 25 до 50% пациенток с данным заболеванием. Эндометриоз выявляется у 58% женщин, подвергшихся лапароскопии как конечному этапу обследования по поводу бесплодия. Точная патофизиология бесплодия при эндометриозе не установлена, предполагается многофакторное воздействие генетически и морфологически измененной эндометриоидной ткани на органы репродуктивной системы [1, 2].

Среди разнообразных факторов, определяющих бесплодие или субфертильность у женщин, наиболее важным является истощение пула остаточных фолликулов яичника. Недавние исследования подтверждают снижение овариального резерва у пациенток с генитальным эндометриозом, независимо от локализации эндометриоидных гетеротопий [3, 4]. Механизм снижения овариального резерва при глубоком инфильтративном эндометриозе до настоящего времени не установлен.

В последние годы широко обсуждаются общие свойства эндометриоза, особенно его инфильтративных форм, с раком: неконтролируемый рост и многоочаговость эндометриоидных имплантов, сниженный апоптоз, метастазирование в лимфатические узлы и распространение внутри и за пределы брюшной полости, проникновение в окружающие ткани, стимулирование неоангиогенеза, хронический воспалительный процесс и оксидативный стресс [5–8].

В эндометриоидных имплантах выявляются генетические и эпигенетические мутации, участвующие в онкогенной трансформации. Усиленный ангиогенез, а также снижение способности к апоптозу, необходимые для роста клеток, являются важнейшими признаками злокачественной опухоли, которые также обнаруживаются и в тканях глубокого инфильтративного эндометриоза [9, 10].

Нарушение регуляции апоптоза при эндометриозе в последние годы рассматривают, как одну из причин снижения овариального резерва при данном заболевании вследствие преждевременной активации примордиальных фолликулов и раннего их истощения [11].

Цель исследования: изучить молекулярно-генетические предикторы и состояние овариального резерва у пациенток с инфильтративной формой наружного генитального эндометриоза.

Материалы и методы

Проведено исследование «случай-контроль», включавшее 120 пациенток репродуктивного возраста, проходивших лечение на базе гинекологического отделения ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Минздрава России в период с 2019 по 2021 гг. с соотношением числа контролей к случаю 1:1,4. Основную группу составили 70 пациенток репродуктивного возраста, прооперированных по поводу глубокого инфильтративного эндометриоза. У всех пациенток, вошедших в основную группу, диагноз был верифицирован гистологически. В группу сравнения вошли 50 фертильных пациенток репродуктивного возраста без наружного генитального эндометриоза, которым были выполнены пластические операции на матке. Критериями сопоставления групп были пол, возраст, антропометрические данные, социальный статус пациентов, а также предстоящее органосохраняющее оперативное лечение на органах малого таза без вмешательства на придатках.

Протокол исследования был утвержден на заседании локального этического комитета (протокол №5 от 08.10.2019 г.). Все пациентки подписали письменное информированное согласие на участие в настоящем исследовании и публикацию результатов исследования.

Проведен анализ соматического и гинекологического анамнеза, менструальной и репродуктивной функций, а также особенностей клинической картины заболевания у пациенток обеих групп.

С целью оценки состояния овариального резерва у пациенток обеих групп на 2–5-й дни менструального цикла проводилось определение уровня антимюллерова гормона (АМГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и эстрадиола в крови методом иммуноферментного анализа на иммунохимическом анализаторе Access 2 (Beckman Coulter, США) с использованием реагентов того же производителя в соответствии с инструкцией, а также подсчет количества антральных фолликулов в яичниках при трансвагинальном ультразвуковом исследовании (УЗИ), выполненном в раннюю фолликулярную фазу на аппарате Voluson 8 (General Electric, США).

Критериями сниженного овариального резерва, согласно Болонским рекомендациям Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (ESHRE), являлись: количество антральных фолликулов менее 5–7 в одном ультразвуковом срезе и концентрация сывороточного АМГ менее 0,5–1,1 нг/мл [12].

Для формирования прогностической модели заболевания всем пациенткам после включения в исследование проводили молекулярно-генетическое типирование полиморфных вариантов генов, кодирующих белки, участвующие в регуляции апоптоза (*C-KIT*: 2600 G>A, *KITLG*: 80441 C>T, *TP53*: Ex4+119 G>C (Arg72Pro) и ангиогенеза (*VEGF-A*: +12143 C>A, *VEGF-A*: -2578 C>A, *VEGF-A*: -634 G>C, *VEGF-A*: +936 C>T) с использованием комплекта реагентов ООО «ТестГен», Россия. ДНК выделяли из 0,5 мл венозной крови, взятой в пробирку с этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА) в качестве антикоагулянта; использовали реагенты «Проба ГС-Генетика» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Для оценки количества выделенной геномной ДНК применяли набор реагентов контроля взятия материала для метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Для исследования брали не менее 1,0 нг геномной ДНК на реакцию. Генотипирование образцов по аллельным вариантам исследуемых генов проводили методом аллель-специфичной ПЦР в режиме реального времени со снятием кривых плавления продуктов амплификации. Анализ результатов ПЦР проводили в автоматическом режиме программного обеспечения детектирующего амплификатора ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Статистический анализ

Статистическую обработку данных производили с использованием статистического пакета программ Microsoft Excel (2010), SPSS Statistics версия 22.0 (IBM Microsoft, США), Multifactor Dimensionality Reduction 2.0 beta 8. Расчет размера выборки проводили с использованием калькулятора мощности на основании данных о количестве больных глубоким инфильтративным эндометриозом, имеющим носительство полиморфизмов генов-регуляторов апоптоза и ангиогенеза [13]. При принятии уровня значимости $p<0,05$, доверительном интервале 95% и мощности исследования 80%, общий размер выборки составляет 120 пациентов. В случае подчинения распределения признака закону нормального распределения и равенства дисперсий в сравниваемых группах данные представляли в виде среднего арифметического (M) и стандартного отклонения (SD). Проверку статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий количественных признаков в независимых группах осуществляли с использованием процедуры однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). При отклонении распределения признака от закона нормального распределения, данные представляли в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей: 25-го и 75-го процентилей (Q1;Q3). Определение достоверности различий между подгруппами пациенток по частотам генотипов и аллелей проводили с помощью критерия χ^2. Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя отношения шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (ДИ). Тест на соответствие распределения генотипов закону Харди–Вайнберга в обеих выборках проводили с помощью критерия χ^2 с использованием программы Hardy–Weinberg equilibrium.

Для учета влияния полиморфных генетических маркеров использовалось несколько моделей риска. Общая (аддитивная) модель предполагает, что пенетрантность (ожидаемое значение признака) у гетерозигот лежит между значениями пенетрантности для обеих гомозигот. При анализе с использо-

ванием общей модели по отдельности оцениваются частоты «дикого» гомозиготного, гетерозиготного и полиморфного генотипов. Мультипликативная модель предполагает, что пенетрантность зависит от количества копий предрасполагающего аллеля, в исследуемых группах оценивается частота по отдельности каждого вариантного аллеля («дикого» или полиморфного). Доминантная модель предполагает, что полиморфный аллель является доминантным, и его значение проявляется при гетеро- и гомозиготном носительстве – оценивается суммарная частота гетерозигот и полиморфных гомозигот. Рецессивная модель предполагает, что полиморфный аллель является рецессивным, и что влияние на пенетрантность проявляется только для полиморфных гомозигот, в исследуемых группах сравниваются частота полиморфных гомозигот и суммарная частота гетерозигот и «диких» гомозигот [14, 15].

Межгенные взаимодействия оценивали с использованием биоинформатического метода сокращения многофакторной размерности (MDR), позволяющим оценивать все двухфакторные, трехфакторные и четырехфакторные модели комбинаций SNP, выбирая наилучшие модели, характеризующиеся наименьшей ошибкой предсказания и наивысшей воспроизводимостью. Окончательный уровень значимости p для наилучшей n-локусной модели оценивался процедурой Монте–Карло (1000 симуляций). Статистически значимым считали различия при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Средний возраст женщин в группах был сопоставим и составил 33 (5,16) года в основной группе и 33 (3,44) года в группе сравнения, $p>0,05$. При исследовании антропометрических данных женщин в группах наблюдения статистически значимых отличий не выявлено, средний индекс массы тела пациенток основной группы составил 22,54 (3,57) кг/м^2, группы сравнения – 23,40 (3,91) кг/м^2, $p>0,05$.

Большинство пациенток основной группы (56/70, 80%) и группы контроля (36/50, 72%), $p>0,05$ имели высшее образование. Клинико-демографические характеристики пациенток исследуемых групп представлены в таблице 1.

При оценке характера сопутствующей соматической патологии выявлено, что 7/70 (10%) пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом страдали анемией, тогда как у пациенток группы сравнения при обследовании анемии выявлено не было, $p=0,022$. Частота курения среди женщин составила 7/70 (10,0%) в основной группе и 5/50 (10%) в группе сравнения, $p>0,05$.

Возраст менархе, продолжительность менструального цикла и продолжительность менструального кровотечения были сопоставимы в группах, $p>0,05$. Болезненный характер менструаций наблюдался более, чем у половины пациенток основной группы (39/70, 55,7%), что было значимо выше, чем у пациенток группы сравнения (14/50, 28,0%), $p=0,003$.

Средний возраст начала половой жизни был также сопоставим в группах, $p>0,05$. Не было статистически значимых различий по частоте использования комбинированных оральных контрацептивов в группах наблюдения, $p>0,05$.

Хотя бы одна беременность в анамнезе наблюдалась у 37/70 (52,9%) пациенток основной группы, при этом у 29/70 (41,4%) она закончилась родами, тогда как 50/50 (100%) женщин группы сравнения имели роды в анамнезе ($p<0,001$). Частота медицинских абортов в анамнезе была значимо ниже у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом (7/70, 10,0%), чем у пациенток группы сравнения (17/50, 34,0%), $p=0,011$. Не было статистически значимых различий по частоте встречаемости самопроизвольных выкидышей, неразвивающихся и эктопических беременностей у пациенток обеих групп, $p>0,05$.

Половина пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом (34/70, 48,6%) страдали бесплодием, тогда как в группе сравнения данный показатель составил 7/50 (14,0%), $p<0,001$. При этом отмечается преобладание первичного эндометриоз-ассоциированного бесплодия (24/34, 70,6%) над вторичным (10/34, 29,4%).

При оценке гинекологического анамнеза было выявлено, что эктопия шейки матки отмечалась у 12/70 (17,1%) пациенток основной группы против 2/50 (4,0%) в группе сравнения, $p=0,028$. У 6/70 (8,6%) пациенток глубокий инфильтративный эндометриоз сочетался с врожденными пороками развития внутренних половых органов, у пациенток группы сравнения врожденных пороков развития половых органов не отмечалось ($p=0,034$). Миома матки также встречалась чаще в основной группе (21/70, 30%), чем в группе сравнения (5/50,

Таблица 1. Клинико-демографические характеристики пациенток групп наблюдения

Показатель	Основная группа (n=70)	Группа сравнения (n=50)	p
Возраст, годы	33 (5,16)	33 (3,44)	1,00
Индекс массы тела, кг/м^2	22,54 (3,57)	23,40 (3,91)	0,23
Состоят в браке, n (%)	57 (81,4)	45 (90,0)	0,20
Высшее образование, n (%)	56 (80,0)	36 (72,0)	0,31

Примечание. Количественные данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения M (SD).

10%), p=0,009. Не было статистически значимых различий по частоте встречаемости других гинекологических заболеваний в двух группах.

Не выявлено статистически значимых различий в частоте хирургических вмешательств на яичниках в анамнезе у пациенток двух групп (21/70 (30,0%) в основной группе против 8/50 (16,0%) в группе сравнения), p>0,05. 17/70 (24,3%) пациенток основной группы перенесли хирургическое лечение эндометрием яичников в анамнезе, в среднем 5,6 (0,51) года назад. Хирургическое иссечение очагов глубокого инфильтративного эндометриоза в анамнезе перенесли 7/70 (10%) пациенток основной группы в среднем 3,0 (0,36) года назад. Гистероскопические операции в анамнезе статистически значимо чаще наблюдались в основной группе (20/70, 28,6%), чем в группе сравнения (6/50, 12,0%), p=0,03. При оценке анамнеза других гинекологических операций значимых различий в двух группах выявлено не было.

Пациентки с наличием глубокого инфильтративного эндометриоза закономерно чаще страдали хронической тазовой болью (60/70, 85,7%), чем пациентки группы сравнения (6/50, 12,0%), p<0,001. Также пациентки основной группы испытывали диспареунию значимо чаще (14/70, 20%), чем пациентки группы сравнения (2/50, 4%), p=0,012. Дисхезия и дизурия встречались у 4/70 (5,7%) и 2/70 (2,8%) пациенток основной группы соответственно, у пациенток группы сравнения данных симптомов не наблюдалось.

При оценке состояния овариального резерва было выявлено, что уровень АМГ на дооперационном этапе был ниже у пациенток с инфильтративной формой наружного генитального эндометриоза, чем у пациенток группы сравнения в среднем на 1,3 нг/мл (2,4 (2,0) нг/мл в основной группе, 3,8 (3,2) нг/мл в группе сравнения), p=0,02.

Средний уровень ФСГ статистически значимо не различался у пациенток в группах наблюдения, составив 8,1 (8,7) мМЕ/мл в основной группе и 7,2 (8,7) мМЕ/мл в группе сравнения, p>0,05. Также не было статистически значимых различий в среднем уровне эстрадиола в сыворотке крови между основной группой (150,3 (123,7) пг/мл) и группой сравнения (168,4 (112,5) пг/мл), p>0,05.

Количество антральных фолликулов по данным трансвагинального УЗИ было статистически значимо ниже в основной группе – 8,3 (4,5), чем в группе сравнения – 11,8 (4,1), p<0,001. Данные, отражающие состояние овариального резерва у пациенток двух групп, представлены в таблице 2.

Полученные данные свидетельствуют о снижении овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста с инфильтративной формой наружного генитального эндометриоза. Механизм снижения овариального резерва при глубоком инфильтративном эндометриозе до конца не изучен.

Результаты молекулярно-генетического типирования полиморфных вариантов генов, кодирующих белки-регуляторы апоптоза (*C-KIT*: 2600 G>A, *KITLG*: 80441 C>T, *TP53*: Ex4+119 G>C (Arg72Pro) и ангиогенеза (*VEGF-A*: +12143 C>A, *VEGF-A*: -2578 C>A, *VEGF-A*: -634 G>C, *VEGF-A*: +936 C>T), свидетельствуют, что характер распределения аллелей и генотипов по полиморфным вариантам исследуемых генов в обеих группах соответствует равновесию Харди–Вайнберга (табл. 3).

При анализе распределения генотипов по полиморфным маркерам исследуемых генов выявлено, что вариант гена регулятора апоптоза *TP53*: Ex4+119 CC регистрировался значимо чаще у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом, чем у пациенток группы сравнения (ОШ=2,43 (95% ДИ 1,12; 5,27); p<0,05) (табл. 4).

Распределение частот аллелей по полиморфным локусам исследуемых генов (табл. 5) показало статистически значимые различия в частоте полиморфного аллеля Ex4+119 G>C гена *TP53* (Arg72Pro). У женщин основной группы вариантный аллель Ex4+119 C гена *TP53* регистрировали статистически значимо чаще, чем у пациенток группы сравнения (ОШ=1,87 (95% ДИ 1,1; 3,15); p=0,018). Статистически значимых различий в частоте аллелей по полиморфным маркерам других исследуемых генов в исследуемых группах не выявлено.

Для оценки возможного влияния генотипа на риск развития глубокого инфильтративного эндометриоза были использованы рецессивная и доминантная модели распределения частот генотипов по исследуемым полиморфным маркерам изучаемых генов у пациенток основной группы и группы сравнения.

При анализе рецессивной модели распределения частот генотипов (табл. 6) у женщин основной группы выявлена статистически значимо большая, чем у женщин группы сравнения, частота полиморфного маркера Ex4+119 G>C гена *TP53*. Генотип Ex4+119 CC гена *TP53* можно расценивать, как генотип «риска» развития глубоко-

Таблица 2. Состояние овариального резерва у пациенток групп наблюдения

Показатель	Основная группа (n=70)	Группа сравнения (n=50)	p
АМГ, нг/мл	2,4 (2,0)	3,8 (3,2)	0,02*
ФСГ, мМЕ/мл	8,1 (7,3)	7,2 (8,7)	0,72
Эстрадиол, пг/мл	150,3 (123,7)	168,4 (112,5)	0,28
Количество антральных фолликулов	8,3 (4,5)	11,8 (4,1)	<0,001*

Примечание. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения M (SD); * – данные статистически значимы.

го инфильтративного эндометриоза, так как его носительство увеличивает риск развития данного заболевания (ОШ=2,43 (95% ДИ 1,12–5,27); $p<0,03$). Напротив, присутствие в генотипе вариантного аллеля Ex4+119 G в гомо- или гетерозиготном состоянии снижает шанс развития глубокого инфильтративного эндометриоза (ОШ=0,41 (95% ДИ 0,19–0,89); $p<0,03$).

Одним из ключевых генов-супрессоров опухолевого роста является ген *TP53*, функция которого направлена на ограничение вероятности возникновения генетически нестабильных клеток. Белок p53

Таблица 3. Анализ соответствия распределения исследуемых генотипов закону Харди–Вайнберга

Ген	Основная группа		Группа сравнения	
	χ^2	p	χ^2	p
C-KIT: 2600	5,388	0,068	5,723	0,057
KITLG: 80441	1,747	0,417	2,317	0,314
TP53: Ex4+119	5,868	0,053	3,791	0,150
VEGF-A: +12143	2,021	0,364	5,889	0,053
VEGF-A: -2578 CC	1,584	0,453	1,232	0,540
VEGF-A: -634 GG	0,357	0,836	0,263	0,877
VEGF-A: +936 CC	4,433	0,109	0,703	0,704

Таблица 4. Распределение частот генотипов по полиморфным маркерам исследуемых генов-регуляторов апоптоза и ангиогенеза в группах наблюдения

Ген/генотип	Основная группа (*n*=70)		Группа сравнения (*n*=50)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	*n*	%					
C-KIT: 2600 GG	17	24	9	18	0,679	0,410	1,46	0,59	3,61
C-KIT: 2600 GA	45	64	36	72	0,791	0,374	0,70	0,32	1,54
C-KIT: 2600 AA	8	12	5	10	0,062	0,804	1,61	0,36	3,79
KITLG: 80441 CC	11	16	4	8	1,587	0,208	2,14	0,64	7,17
KITLG: 80441 CT	40	57	28	56	0,016	0,901	1,05	0,50	2,18
KITLG: 80441 TT	19	27	18	36	1,073	0,301	0,66	0,30	1,45
TP53: Ex4+119 GG	18	26	18	36	1,469	0,226	0,62	0,28	1,35
TP53: Ex4+119 GC	18	26	18	36	1,469	0,226	0,62	0,28	1,35
TP53: Ex4+119 CC	34	48	14	28	5,143	0,024*	2,43	1,12	5,27
VEGF-A: +12143 CC	22	31	25	50	4,222	0,040*	0,46	0,22	0,97
VEGF-A: +12143 CA	29	42	14	28	2,287	0,131	1,82	0,83	3,97
VEGF-A: +12143 AA	19	27	11	22	0,411	0,522	1,32	0,56	3,10
VEGF-A: -2578 CC	26	37	13	26	1,651	0,199	1,68	0,76	3,73
VEGF-A: -2578 CA	29	42	21	42	0,004	0,951	0,98	0,47	2,03
VEGF-A: -2578 AA	15	21	16	32	1,701	0,193	0,58	0,25	1,32
VEGF-A: -634 GG	24	34	19	38	0,175	0,676	1,50	0,68	3,34
VEGF-A: -634 GC	36	52	25	50	0,024	0,878	1,06	0,51	2,19
VEGF-A: -634 CC	10	14	6	12	0,132	0,717	1,22	0,41	3,62
VEGF-A: +936 CC	19	27	15	30	0,117	0,733	0,87	0,39	1,94
VEGF-A: +936 CT	26	37	22	44	0,571	0,450	0,75	0,36	1,58
VEGF-A: +936 TT	25	36	13	26	1,272	0,260	1,58	0,71	3,52

Примечание: * – данные статистически значимы; ОШ – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал.

осуществляет регуляцию широкого спектра клеточных процессов, устраняющих потенциально опасные в плане злокачественной трансформации клетки. TP53 является транскрипционным фактором свыше 300 генов, отвечающих за активацию таких жизненно важных процессов, как репликация, репа-

Таблица 5. Распределение частот аллелей по полиморфным маркерам исследуемых генов-регуляторов апоптоза и ангиогенеза в группах наблюдения

Ген/аллель	Основная группа (*n*=70)		Группа сравнения (*n*=50)		χ^2	*p*	ОШ	95% ДИ	
	n	%	*n*	%					
C-KIT: 2600 G	79	56	54	54	0,139	0,710	1,10	0,66	1,85
C-KIT: 2600 A	61	44	46	46			0,91	0,54	1,52
KITLG: 80441 C	62	44	36	36	1,658	0,198	1,41	0,83	2,39
KITLG: 80441 T	78	56	64	64			0,70	0,42	1,20
TP53: Ex4+119 G	54	39	54	54	5,610	0,018*	0,54	0,32	0,90
TP53: Ex4+119 C	86	61	46	46			1,87	1,11	3,15
VEGF-A: +12143 C	73	52	64	64	3,348	0,068	0,61	0,36	1,04
VEGF-A: +12143 A	67	48	36	36			1,63	0,96	2,76
VEGF-A: -2578 C	81	58	47	47	2,763	0,097	1,55	0,92	2,60
VEGF-A: -2578 A	59	42	53	53			0,65	0,39	1,08
VEGF-A: -634 G	84	60	63	63	0,221	0,639	0,88	0,52	1,49
VEGF-A: -634 C	56	40	37	37			1,14	0,67	1,93
VEGF-A: +936 C	64	46	52	52	0,923	0,337	0,78	0,47	1,30
VEGF-A: +936 T	76	54	48	48			1,29	0,77	2,15

Примечание: * – данные статистически значимы; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал.

Таблица 6. Распределение частот генотипов по полиморфным вариантам исследуемых генов у женщин основной группы и группы сравнения (рецессивная модель)

Ген/полиморфизм	Основная группа (*n*=70)		Группа сравнения (*n*=50)		χ^2	*p*	ОШ	95% ДИ	
	n	%	*n*	%					
C-KIT: 2600 AA	18	12	5	10	0,062	0,804	1,16	0,36	3,79
C-KIT: 2600 GA+GG	62	88	45	90			0,86	0,26	2,80
KITLG: 80441 TT	19	27	18	36	1,073	0,301	0,66	0,30	1,45
KITLG: 80441 CT+CC	51	73	32	64			1,51	0,69	3,30
TP53: Ex4+119 CC	34	48	14	28	5,143	0,024*	2,43	1,12	5,27
TP53: Ex4+119 GC+ GG	36	52	36	72			0,41	0,19	0,89
VEGF-A: +12143 AA	19	27	11	22	0,411	0,522	1,32	0,56	3,10
VEGF-A: +12143 CA+ CC	51	73	39	78			0,76	0,32	1,77
VEGF-A: -2578 AA	15	21	16	32	1,701	0,193	0,58	0,25	1,32
VEGF-A: -2578 CA+ CC	55	79	34	68			1,73	0,76	3,93
VEGF-A: -634 CC	10	14	6	12	0,012	0,913	1,22	0,41	3,62
VEGF-A: -634 GC+ GG	60	86	44	88			0,82	0,28	2,42
VEGF-A: +936 TT	25	36	13	26	1,272	0,260	1,58	0,71	3,52
VEGF-A: +936 CT+ CC	45	64	37	74			0,63	0,28	1,41

Примечание: * – данные статистически значимы; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал.

рация ДНК, апоптоз, антиоксидантная защита и др. В человеческих популяциях активность белка p53 в значительной степени модифицирована генетическим полиморфизмом, наиболее значимой является точечная замена гуанина на цитозин в 72-м кодоне 4-го экзона (Ex4+119 G>C, Arg72Pro, rs 1042522), при этом G- и C-аллели кодируют различающиеся по биохимическим и физиологическим свойствам белки, обладающие разной эффективностью в поддержании генетического гомеостаза клетки в условиях влияния генотоксических факторов [16].

Многочисленные исследования подтверждают ассоциацию полиморфизма Arg72Pro гена *TP53* с риском развития рака молочной железы, а также рака эндометрия [17].

Широко исследована ассоциация между полиморфизмом TP53 Arg72Pro и риском развития рака яичников, однако полученные результаты противоречивы. В связи с чем Zhang A. et al. (2017) провели метаанализ, включивший 24 опубликованных исследований с общим количеством пациенток 10113. Объединенные результаты показали отсутствие значимой ассоциации между полиморфизмом Arg72Pro гена *TP53* и риском развития рака яичников [18].

Исследования полиморфизмов гена *TP53* нашли свое широкое применение в области онкологии, и взаимосвязь между полиморфизмами данного гена и риском развития эндометриоза на сегодняшний день остается спорной [19].

Li J. et al. (2015) в проведенном метаанализе, включившем 14 исследований из 8 стран, выявили положительную связь полиморфизма TP53 Arg72Pro (rs1042522) с риском развития эндометриоза, особенно среди азиатской популяции (в доминантной модели ОШ=0,746 (95% ДИ 0,585–0,952), в рецессивной модели ОШ=0,650 (95% ДИ 0,510–0,829); при аллельном анализе ОШ=0,762 (95% ДИ 0,654–0,888)) [20].

Yan Y. et al. (2015) в метаанализе, включившем 15 исследований «случай-контроль», также подтвердили, что носительство полиморфизма Arg72Pro гена *TP53* повышает риск развития эндометриоза [19].

Vagnini L.D. et al. (2015) в исследовании на 605 пациентках репродуктивного возраста с бесплодием установили, что носительство полиморфизма rs4648551 A>G гена *TP73*, кодирующего изоформу p73 белка p53, ассоциировано со снижением овариального резерва в виде уменьшения уровня АМГ в крови, а также количества антральных фолликулов по данным УЗИ [21].

Помимо снижения способности к апоптозу, общим в патогенезе эндометриоза и злокачественных новообразований является активация неоангиогенеза. Поэтому в последние годы активно изучается роль сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), как ключевого регулятора ангиогенеза, в развитии эндометриоза.

Результаты проведенного анализа доминантной модели распределения частот генотипов (табл. 7) выявили значимость полиморфного маркера *VEGF-A*: +12143 C>A в риске развития глубокого инфильтративного эндометриоза: присутствие в генотипе вариантного аллеля +12143 A в гомо- или гетерозиготном состоянии повышает риск развития данной патологии (ОШ=2,18 (95% ДИ 1,03–4,61); $p<0,05$). Генотип *VEGF-A*: +12143 CC, наоборот, дает протективный эффект в отношении развития глубокого инфильтративного эндометриоза (ОШ=0,46 (95% ДИ 0,22–0,97); $p<0,05$).

Исследования последних лет демонстрируют повышенное содержание VEGF в перитонеальной жидкости больных эндометриозом, а также рецепторов к нему (VEGFR1) в эктопическом эндометрии [22–24]. Более того, уровень экспрессии VEGF у пациенток с эндометриозом напрямую коррелирует со стадией заболевания [25, 26]. При этом исследования полиморфных вариантов гена *VEGF* имеют противоречивые результаты [27].

Cardoso J.V. et al. (2017) в исследовании с участием 293 пациенток с эндометриозом и 223 контрольных пациенток продемонстрировали положительную корреляцию между однонуклеотидными заменами -2578 C>A и -1154 G>A гена *VEGF* и риском развития эндометриоза. При этом полиморфизмы *VEGF*: +405 G>C и *VEGFR2*: 1192 C>T были ассоциированы со снижением риска развития заболевания. Комбинированный анализ генотипов VEGF-VEGFR2 выявил роль межгенных взаимодействий в предрасположенности к эндометриозу [28].

В свою очередь, Rashidi B.H. et al. (2019) в исследовании, включившем 100 пациенток с эндометриозом и 200 пациенток контрольной группы, не выявили ассоциации полиморфизмов -2578 A/C и +936 C/T гена *VEGF* с риском развития эндометриоза. Также авторы не обнаружили связи между экспрессией микро-РНК VEGF и риском развития данного заболевания [29].

Позже Pergialiotis V. et al. (2020) в метаанализе, основанном на 20 исследованиях, также не выявили влияния однонуклеотидных полиморфизмов -460 C/T, +405 G/C, +936 C/T, -2578 A/C и -1154 G/A гена *VEGF* на риск развития и тяжесть течения эндометриоза [30].

В своем исследовании Liu P. et al. (2020) продемонстрировали, что пациентки на ранних стадиях преждевременной недостаточности яичников имеют измененный цитокиновый профиль, характеризующийся повышением хемокинов и факторов роста, в том числе VEGF [31].

Противоречивость данных, полученных разными авторами, диктует необходимость дальнейшего изучения роли полиморфизмов гена *VEGF* в развитии эндометриоза, а также их влияния на овариальный резерв при данном заболевании.

В последние годы считается, что отдельные генетические варианты вносят достаточно низкий вклад в формирование патологического фенотипа, поэтому для понимания ключевых звеньев патогенеза заболевания следует анализировать межгенные и генно-средовые взаимодействия, играющие роль в формировании клинического фенотипа заболевания.

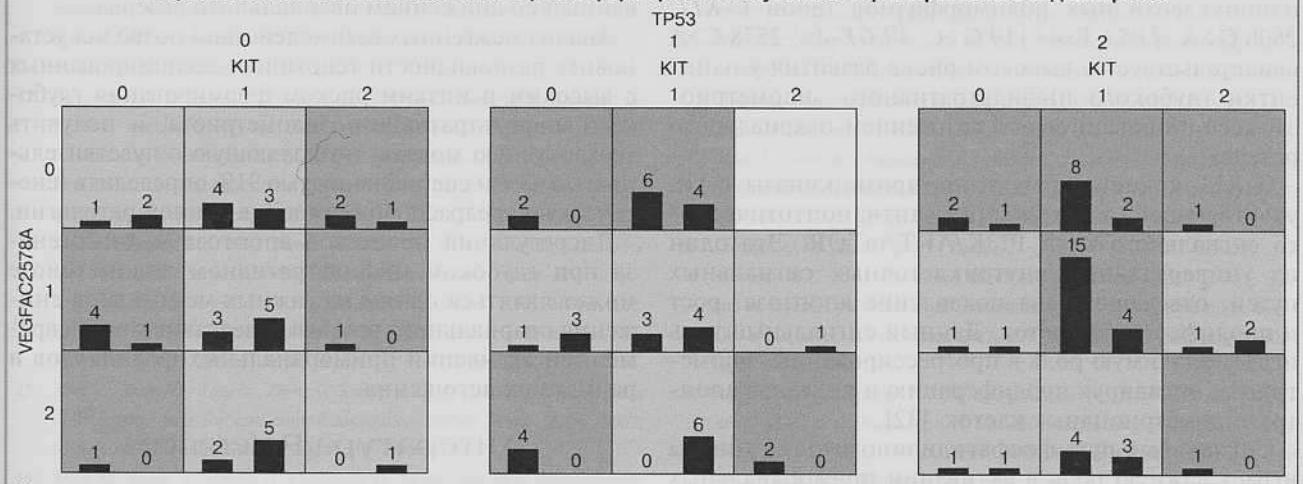
Современным подходом для моделирования межгенных взаимодействий является биоинформатический метод сокращения многофакторной размерности (MDR). По данным многофакторного анализа

была сформирована трехлокусная модель *C-KIT* (2600 G/A)×*VEGFA* (-2578 C/A)×*TP53* (Ex4+119 G/C), характеризовавшаяся чувствительностью 70% и специфичностью 74% (табл. 8).

В результате исследования нами выявлено 13 генотипов повышенного риска и 12 генотипов пониженного риска развития глубокого инфильтративного эндометриоза (рисунок).

Согласно данной прогностической модели, в патогенезе глубокого инфильтративного эндометриоза играет роль сочетание однонуклеотидных полиморфизмов генов, регулирующих апоптоз (*C-KIT*: 2600 G>A, *TP53*: Ex4+119 G>C) и ангиогенез (*VEGF-A*: -2578 C>A). Чувствительность метода составляет 93%, специфичность – 91%. Для прогнозирования наличия глубокого инфильтративного эндометриоза у пациенток с клиническими проявлениями заболевания в виде синдрома тазовой боли, диспареунии или бесплодия проводят молекулярно-генетическое исследование с определением однонуклеотидных полиморфизмов генов *C-KIT, TP53*, регулирующих апоптоз, и гена *VEGF-A*,

Рисунок. Межгенные взаимодействия в риске формирования глубокого инфильтративного эндометриоза



Квадраты темно-серого цвета – генотипы повышенного риска развития глубокого инфильтративного эндометриоза. Квадраты светло-серого цвета – генотипы пониженного риска развития глубокого инфильтративного эндометриоза. Квадраты белые – отсутствие ассоциаций генотипов. Левые столбики – пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом; правые столбики – пациентки группы сравнения.

Таблица 7. Распределение частот генотипов по полиморфным вариантам исследуемых генов у женщин основной группы и группы сравнения (доминантная модель)

Ген/полиморфизм	Основная группа (*n*=70)		Группа сравнения (*n*=50)		χ^2	*p*	ОШ	95% ДИ	
	n	%	*n*	%					
C-KIT: 2600 GG	17	24	9	18	0,679	0,410	1,46	0,59	3,61
C-KIT: 2600 GA+ AA	53	76	41	82			0,68	0,28	1,69
KITLG: 80441 CC	11	16	4	8	1,587	0,208	2,14	0,64	7,17
KITLG: 80441 CT+TT	59	84	46	92			0,47	0,14	1,56
TP53: Ex4+119 GG	18	26	18	36	1,469	0,226	0,62	0,28	1,35
TP53: Ex4+119 GC+CC	52	74	32	64			1,63	0,74	3,57
VEGF-A: +12143 CC	22	31	25	50	4,222	0,040*	0,46	0,22	0,97
VEGF-A: +12143 CA+AA	48	69	25	50			2,18	1,03	4,62
VEGF-A: -2578 CC	26	37	13	26	1,651	0,199	1,68	0,76	3,73
VEGF-A: -2578 CA+AA	44	63	37	74			0,56	0,27	1,32
VEGF-A: -634 GG	24	34	19	38	0,175	0,676	0,85	0,40	1,81
VEGF-A: -634 GC+CC	46	66	31	62			1,18	0,55	2,50
VEGF-A: +936 CC	19	27	15	30	0,117	0,733	0,87	0,39	1,94
VEGF-A: +936 CT+TT	51	73	35	70			1,15	0,52	2,57

Примечание: * – данные статистически значимы; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал.

Таблица 8. Результаты анализа межгенных взаимодействий при глубоком инфильтративном эндометриозе, рассчитанные с помощью программы MDR v2.0 beta 8

Число локусов в модели	Наиболее значимые комбинации локусов в модели	χ^2	p	ОР	ДИ	
1	*TP53* (Ex4+119 G/C)	5,14	0,02	2,42	1,12	5,27
2	*KITLG* (80441 C/T) × *TP53* (Ex4+119 G/C)	13,22	0,0003	4,46	1,94	10,26
3	*C-KIT* (2600 G/A) × *VEGFA* (–2578 C/A) × *TP53* (Ex4+119 G/C)	22,61	0,0001	6,64	2,94	14,97

Точность предсказания модели: 0,72; чувствительность: 0,93; специфичность: 0,91.
Примечание: ОР – относительный риск; ДИ – доверительный интервал.

регулирующего ангиогенез. Наличие сочетания однонуклеотидных полиморфизмов генов *C-KIT*: 2600 G>A, *TP53*: Ex4+119 G>C, *VEGF-A*: -2578 C>A свидетельствует о высоком риске развития у пациентки глубокого инфильтративного эндометриоза, ассоциированного со снижением овариального резерва.

C-KIT кодирует рецептор тирозинкиназы c-kit, участвующей в активации антиапоптотического сигнального пути PI3K/AKT/mTOR. Это один из универсальных внутриклеточных сигнальных путей, отвечающий за подавление апоптоза, рост и пролиферацию клеток. Данный сигнальный путь играет значимую роль в прогрессировании эндометриоза, активируя пролиферацию и подавляя апоптоз эндометриоидных клеток [32].

Сигнальный путь фосфатидилинозитол-3-киназы играет важную роль в активации примордиальных фолликулов, что подчеркивается в исследованиях на трансгенных животных [33].

Результаты анализа рецессивной и доминантной моделей распределения частот генотипов по полиморфным вариантам генов, активирующих сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR (*C-KIT*: 2600 G>A, *KITLG*: 80441 C>T) не выявили значимости данных маркеров в риске развития глубокого инфильтративного эндометриоза (табл. 4, 5). Однако сочетание полиморфизма 2600 G>A гена *C-KIT* с полиморфизмами Ex4+119 G>C гена *TP53* и -2578 C>A гена *VEGF-A* согласно анализу межгенных взаимодействий играет значимую роль в развитии данного заболевания. Полученные данные демонстрируют некоторые молекулярно-генетические механизмы сочетанной дизрегуляции апоптоза и ангиогенеза, лежащие в основе снижения овариального резерва при глубоком инфильтративном эндометриозе у пациенток репродуктивного возраста.

Заключение

Наличие глубокого инфильтративного эндометриоза без видимого поражения яичников может быть ассоциировано со значительным снижением овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста.

Установлена ассоциация полиморфных аллелей генов, регулирующих апоптоз (*TP53*: Ex4+119 G>C (Arg72Pro) и ангиогенез (*VEGF-A*: +12143 C>A), определяющая повышенный риск развития глубокого инфильтративного эндометриоза у женщин репродуктивного возраста, ассоциированный со снижением овариального резерва.

Анализ межгенных взаимодействий позволил установить разновидности генотипов, ассоциированных с высоким и низким риском формирования глубокого инфильтративного эндометриоза, и получить трехлокусную модель, позволяющую с чувствительностью 93% и специфичностью 91% определить генетическую предрасположенность к данной патологии.

Дисрегуляция процессов апоптоза и ангиогенеза при глубоком инфильтративном эндометриозе может являться одним из важных механизмов снижения овариального резерва вследствие преждевременной активации примордиальных фолликулов и раннего их истощения.

Литература/References

1. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Клинические рекомендации. Эндометриоз. 2020. 60с. [Ministry of Health of the Russian Federation. Clinical guidelines. Endometriosis. 2020. (in Russian)].
2. *Адамян Л.В., Салимова Д.Ф., Кондратович Л.М.* Патогенетические аспекты эндометриоз-ассоциированного бесплодия. Проблемы репродукции. 2015; 21(6): 90-6. [Adamyan L.V., Salimova D.F., Kondratovich L.M. Pathogenetic aspects of endometriosis-associated infertility. Problems of Reproduction. 2015; 21(6): 90-6. (in Russian)]. https://doi.org/10.17116/repro201521682-88.
3. *Ashrafi M., Arabipoor A., Hemat M., Salman-Yazdi R.* The impact of the localisation of endometriosis lesions on ovarian reserve and assisted reproduction techniques outcomes. J. Obstet. Gynaecol. 2019; 39(1): 91-7. https://dx.doi.org/10.1080/01443615.2018.1465898.
4. *Romanski P.A., Brady P.C., Farland L.V., Thomas A.M., Hornstein M.A.* The effect of endometriosis on the antimüllerian hormone level in the infertile population. J. Assist. Reprod. Genet. 2019; 36(6): 1179-84. https://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01450-9.
5. *Муфтайдинова Ш.К., Буралкина Н.А., Файзуллин Л.З.* Эндометриоз и рак. Акушерство и гинекология. 2021; 3: 12-7. [Muftaydinova Sh.K., Buralkina N.A., Faizullin L.Z. Endometriosis and cancer. Obstetrics and Gynecology. 2021; 3: 12-7. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.3.12-17.
6. *Wilson R.B.* Hypoxia, cytokines and stromal recruitment: parallels between pathophysiology of encapsulating peritoneal sclerosis, endometriosis and peritoneal metastasis. Pleura Peritoneum. 2018; 3(1): 20180103. https://dx.doi.org/10.1515/pp-2018-0103.
7. *Králíčková M., Laganà A.S., Ghezzi F., Vetvicka V.* Endometriosis and risk of ovarian cancer: what do we know? Arch. Gynecol. Obstet. 2020; 301(1): 1-10. https://dx.doi.org/10.1007/s00404-019-05358-8.
8. *Башмакова Н.В., Мелкозерова О.А., Михельсон А.А., Акулова Е.О.* Роль средовых факторов в патогенезе бесплодия, ассоциированного с генитальным эндометриозом (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2019; 25(5): 42-8. [Bashmakova N.V., Melkozerova O.A., Mikhelson A.A. et

al. The role of environmental factors in the pathogenesis of infertility associated with genital endometriosis (literature review). Problems of Reproduction. 2019; 25(5): 42-8. (in Russian)]. https://doi.org/10.17116/repro20192505142.

9. *Kajiyama H., Suzuki S., Yoshihara M., Tamauchi S., Yoshikawa N., Niimi K.* et al. Endometriosis and cancer. Free Radic. Biol. Med. 2019; 133: 186-92. https://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.12.015.
10. *Мелкозерова О.А., Башмакова Н.В., Окулова Е.О.* Генетические и эпигенетические механизмы бесплодия, ассоциированного с генитальным эндометриозом. Акушерство и гинекология. 2019; 8: 26-32. [Melkozerova O.A., Bashmakova N.V., Okulova E.O. Genetic and epigenetic mechanisms of infertility associated with genital endometriosis. Obstetrics and gynecology. 2019; 8: 26-32. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.8.26-32.
11. *Kitajima M., Dolmans M.M., Donnez O., Masuzaki H., Soares M., Donnez J.* Enhanced follicular recruitment and atresia in cortex derived from ovaries with endometriomas. Fertil. Steril. 2014; 101(4): 1031-7. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.12.049.
12. *Ferraretti A.P., La Marca A., Fauser B.C., Tarlatzis B., Nargund G., Gianaroli L.,* ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. Hum. Reprod. 2011; 26(7): 1616-24. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/der092.
13. Sealed Envelope Ltd. 2012. Power calculator for binary outcome superiority trial. Available at: https://www.sealedenvelope.com/power/binary-superiority
14. *Clarke G.M., Anderson C.A., Pettersson F.H., Cardon L.R., Morris A.P., Zondervan K.T.* Basic statistical analysis in genetic case-control studies. Nat. Protoc. 2011; 6(2): 121-33. https://dx.doi.org/10.1038/nprot.2010.182.
15. *Zang Y., Zhang H., Yang Y., Zheng G.* Robust genomic control and robust delta centralization tests for case-control association studies. Hum. Hered. 2007; 63(3-4): 187-95. https://dx.doi.org/10.1159/000099831.
16. *Khan M., Khalil A., Rashid H.* Evaluation of the p53 Arg72Pro polymorphism and its association with cancer risk: a HuGE review and meta-analysis. Genet. Res. (Camb.). 2015; 97: e7. https://dx.doi.org/10.1017/S0016672315000075.
17. *Diakite B., Kassogue Y., Dolo G., Wang J., Neuschler E., Kassogue O.* et al. p.Arg72Pro polymorphism of P53 and breast cancer risk: a meta-analysis of case-control studies. BMC Med. Genet. 2020; 21(1): 206. https://dx.doi.org/10.1186/s12881-020-01133-8.
18. *Zhang A., Shi T.Y., Zhao Y., Xiang J., Yu D., Liang Z.* et al. No association between TP53 Arg72Pro polymorphism and ovarian cancer risk: evidence from 10113 subjects. Oncotarget. 2017; 8(68): 112761-9. https://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.22603.
19. *Yan Y., Wu R., Li S., He J.* Meta-analysis of association between the TP53 Arg72Pro polymorphism and risk of endometriosis based on case-control studies. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2015; 189: 1-7. https://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2015.03.015.
20. *Li J., Chen Y., Mo Z., Li L.* TP53 Arg72Pro polymorphism (rs1042522) and risk of endometriosis among Asian and Caucasian populations. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2015; 189: 73-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2015.03.026.
21. *Vagnini L.D., Renzi A., Oliveira-Pelegrin G.R., Canas Mdo C., Petersen C.G., Mauri A.L.* et al. The TP73 gene polymorphism (rs4648551, A>G) is associated with diminished ovarian reserve. PLoS One. 2015; 10(3): e0120048. https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0120048.
22. *Barreta A., Sarian L.O., Ferracini A.C., Costa L.B.E., Mazzola P.G., de Angelo Andrade L.* et al. Immunohistochemistry expression of targeted therapies biomarkers in ovarian clear cell and endometrioid carcinomas (type I) and endometriosis. Hum. Pathol. 2019; 85: 72-81. https://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2018.10.028.
23. *Sekiguchi K., Ito Y., Hattori K., Inoue T., Hosono K., Honda M.* et al. VEGF receptor 1-expressing macrophages recruited from bone marrow enhances angiogenesis in endometrial tissues. Sci. Rep. 2019; 9(1): 7037. https://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-43185-8.
24. *Li C., Zhao H.L., Li Y.J., Zhang Y.Y., Liu H.Y., Feng F.Z.* et al. The expression and significance of leukemia inhibitory factor, interleukin-6 and vascular endothelial growth factor in Chinese patients with endometriosis. Arch. Gynecol. Obstet. 2021; 304(1): 163-70. https://dx.doi.org/10.1007/s00404-021-05980-5.
25. *Tang T., Lai H., Huang X., Gu L., Shi H.* Application of serum markers in diagnosis and staging of ovarian endometriosis. J. Obstet. Gynaecol. Res. 2021; 47(4): 1441-50. https://dx.doi.org/10.1111/jog.14654.
26. *Huang Y., Zhang T., Chen L., Yu M., Liu Q., Zhou C.* et al. Elevated expressions of SHP2 and GAB2 correlated with VEGF in eutopic and ectopic endometrium of women with ovarian endometriosis. Gynecol. Endocrinol. 2020; 36(9): 813-8. https://dx.doi.org/10.1080/09513590.2020.1787378.
27. *Méar L., Herr M., Fauconnier A., Pineau C., Vialard F.* Polymorphisms and endometriosis: a systematic review and meta-analyses. Hum. Reprod. Update. 2020; 26(1): 73-102. https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmz034.
28. *Cardoso J.V., Abrão M.S., Vianna-Jorge R., Ferrari R., Berardo P.T., Machado D.E.* et al. Combined effect of vascular endothelial growth factor and its receptor polymorphisms in endometriosis: a case-control study. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2017; 209: 25-33. https://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.10.046.
29. *Rashidi B.H., Sarhangi N., Aminimoghaddam S., Haghollahi F., Naji T., Amoli M.M.* et al. Association of vascular endothelial growth factor (VEGF) Gene polymorphisms and expression with the risk of endometriosis: a case-control study. Mol. Biol. Rep. 2019; 46(3): 3445-50. https://dx.doi.org/10.1007/s11033-019-04807-6.
30. *Pergialiotis V., Fanaki M., Bellos I., Stefanidis K., Loutradis D., Daskalakis G.* The impact of vascular endothelial growth factor single nucleotide polymorphisms in the development and severity of endometriosis: a systematic review of the literature. J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod. 2020; 22: 101732. https://dx.doi.org/10.1016/j.jogoh.2020.101732.
31. *Liu P., Zhang X., Hu J., Cui L., Zhao S., Jiao X.* et al. Dysregulated cytokine profile associated with biochemical premature ovarian insufficiency. Am. J. Reprod. Immunol. 2020; 84(4): e13292. https://dx.doi.org/10.1111/aji.13292.
32. *Fabregues F., Ferreri J., Calafell J.M., Moreno V., Borràs A., Manau D.* et al. Pregnancy after drug-free in vitro activation of follicles and fresh tissue autotransplantation in primary ovarian insufficiency patient: a case report and literature review. J. Ovarian Res. 2018; 11(1): 76. https://dx.doi.org/10.1186/s13048-018-0447-3.
33. *Rehnitz J., Alcoba D.D., Brum I.S., Hinderhofer K., Youness B., Strowitzki T.* et al. FMR1 and AKT/mTOR signalling pathways: potential functional interactions controlling folliculogenesis in human granulosa cells. Reprod. Biomed. Online. 2017; 35(5): 485-93. https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2017.07.016.

Поступила 08.10.2021
Принята в печать 08.11.2021
Received 08.10.2021
Accepted 08.11.2021

Сведения об авторах:
Мелкозерова Оксана Александровна, д.м.н., заместитель директора института по науке, Уральский НИИ ОММ Минздрава России, +7(343)371-24-27, +7(922)219-45-06, abolmed1@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-4090-0578, 620028, Россия, Екатеринбург, ул. Репина, д. 1.
Окулова Екатерина Олеговна, аспирант, м.н.с. отделения сохранения репродуктивной функции, Уральский НИИ ОММ Минздрава России, +7(343)371-24-27, cat93_07@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-3035-2862, 620028, Россия, Екатеринбург, ул. Репина, д. 1.
Михельсон Анна Алексеевна, д.м.н., руководитель отделения сохранения репродуктивной функции заведующая отделением гинекологии, Уральский НИИ ОММ Минздрава России, +7(343)371-24-27, ann_lukach@list.ru, https://orcid.org/0000-0003-1709-6187, 620028, Россия, Екатеринбург, ул. Репина, д. 1.

Третьякова Татьяна Борисовна, к.м.н., с.н.с. отделения биохимических методов исследования с группой генетики, Уральский НИИ ОММ Минздрава России, +7(343)371-08-78, tbtretyakova@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-5715-7514, 620028, Россия, Екатеринбург, ул. Репина, д. 1.
Автор, ответственный за переписку: Екатерина Олеговна Окулова, cat93_07@mail.ru

Authors' information:
Oxana A. Melkozerova, Dr. Med. Sci., Deputy of Director for Science, Ural Research Institute of Maternity and Child Care, Ministry of Health of the Russian Federation, +7(343)371-24-27, +7(922)219-45-06, abolmed1@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-4090-0578, 620028, Russia, Ekaterinburg, Repina str., 1.
Ekaterina O. Okulova, Ph.D. Student of the Department of Reproductive Functions Preservation, Ural Research Institute of Maternity and Child Care, Ministry of Health of the Russian Federation, +7(343)371-24-27, cat93_07@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-3035-2862, 620028, Russia, Ekaterinburg, Repina str., 1.
Anna A. Mikhelson, Dr. Med. Sci., Head of the Department of Reproductive Functions Preservation, Head of the Department of Gynecology, Ural Research Institute of Maternity and Child Care, Ministry of Health of the Russian Federation, +7(343)371-24-27, ann_lukach@list.ru, https://orcid.org/0000-0003-1709-6187, 620028, Russia, Ekaterinburg, Repina str., 1.
Tatyana B. Tretyakova, Ph.D., Senior Researcher at the Department of Biochemical Research with Genetics Group, Head of the Genetics Laboratory, Ural Research Institute of Maternity and Child Care, Ministry of Health of the Russian Federation, +7(343)371-08-78, tbtretyakova@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-5715-7514, 620028, Russia, Ekaterinburg, Repina str., 1.
Corresponding author: Ekaterina O. Okulova, cat93_07@mail.ru

ОБМЕН ОПЫТОМ

©Коллектив авторов, 2021

И.Е. ДМИТРИЕВА, Т.А. НАЗАРЕНКО, А.Г. БУРДУЛИ, Е.С. ПОЛУШКИНА, С.В. ХОХЛОВА

ВОССТАНОВЛЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У ЖЕНЩИН ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

Цель: *Провести анализ состояния менструальной и репродуктивной функций женщин, прошедших лечение неходжкинских лимфом (НХЛ).*

Материалы и методы: *В исследование были включены 39 женщин с диагнозом НХЛ. Все пациентки на момент проведения исследования находились в ремиссии. Опрос большинства пациенток с целью сбора ретроспективных данных проводился по телефону и по данным амбулаторных карт.*

Результаты: *Забеременевшие женщины проводили от 3–4 до более чем 11 курсов лечения. Одна пациентка, прошедшая 14 курсов химиотерапии, не восстановила менструальную функцию; тем не менее, единичного наблюдения недостаточно для достоверного установления зависимости. Схемы лечения в подавляющем большинстве случаев подразумевали использование препаратов, обладающих высокой степенью гонадотоксичности (циклофосфамид – в 94,87% случаев, доксорубицин и препараты платины – в 89,74%). Наиболее часто используемый режим среди исследуемой когорты – R-CHOP. У 82,05% больных после окончания лечения восстановился регулярный менструальный цикл. Из них 46,88% с целью медикаментозной защиты яичников получали комбинированные оральные контрацептивы (КОК) и 9,38% – агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ). У 16,66% женщин, получавших КОК, после лечения наступила стойкая аменорея; в подгруппе женщин, получавших агонисты ГнРГ, не было отмечено аменореи ни у одной пациентки. Период возобновления менструальной функции после окончания лечения составил в среднем 2,41 месяца. У 62,07% женщин, получавших КОК, цикл восстановился сразу или в течение 1 месяца. Для пациенток, принимавших агонисты ГнРГ, был характерен более длинный интервал в 1–2 месяца. У 34,48% женщин в дальнейшем отмечались эпизоды дисфункции яичников по типу олигоменореи. У 82,76% женщин, восстановивших менструации, наступила самостоятельная беременность в период от 24 до 54 месяцев после окончания полихимиотерапии. Доля бесплодия среди пролечившихся пациенток повысилась с 10,26 до 23,07%. У 2 пациенток беременность наступила с помощью вспомогательных репродуктивных технологий. У части пациенток степень снижения овариального резерва диктовала необходимость использования донорских ооцитов.*

Заключение: *Решающими факторами восстановления менструальной функции после проведенной терапии по поводу НХЛ являются: возраст пациентки, высокие показатели овариального резерва, длительность и дозы проводимой химиотерапии. Восстановление менструальной функции не в каждом случае означает восстановление репродуктивной функции. Медикаментозная защита яичников не исключает полностью гонадотоксичного влияния полихимиотерапии. В связи с этим важно обследование онкологических пациенток у врача акушера-гинеколога не только после постановки диагноза, но и по завершении лечения. Только сотрудничество в ведении пациента онкологов и акушеров-гинекологов может способствовать корректному прогнозированию, снижению потери репродуктивной функции и полноценному информированию пациента относительно репродуктивных перспектив.*

Ключевые слова: *неходжкинские лимфомы, онкофертильность, защита яичников, сохранение фертильности, химиотерапия, беременность.*

Вклад авторов: Дмитриева И.Е., Назаренко Т.А., Бурдули А.Г. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста, редактирование; Полушкина Е.С. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала; Хохлова С.В. – концепция и дизайн исследования, редактирование.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.
Финансирование: Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Согласие пациентов на публикацию: Все пациенты, принявшие участие в исследовании, подписали информированное согласие на публикацию своих данных в обезличенном виде.
Обмен исследовательскими данными: Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Дмитриева И.Е., Назаренко Т.А., Бурдули А.Г., Полушкина Е.С., Хохлова С.В. Восстановление репродуктивной функции у женщин после лечения неходжкинских лимфом. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 187-193
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.187-193

©A group of authors, 2021

I.E. DMITRIEVA, T.A. NAZARENKO, A.G. BURDULI, E.S. POLUSHKINA, S.V. KHOKHLOVA

RESTORATION OF FERTILITY IN WOMEN AFTER TREATMENT FOR NON-HODGKIN LYMPHOMA

Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Aim: *To assess menstrual and reproductive function in women, who underwent treatment non-Hodgkin (NHL) lymphoma.*

Materials and methods: *The study included 39 female patients diagnosed with NHL. All patients still had remission by the end of the study. To collect retroaspective data, a telephone survey of the women under the study was conducted, or the data were collected from their medical records.*

Results: *Before conception, the patients underwent 3–4 or even more than 11 chemotherapy cycles. In one patient, menses never resumed after 14 cycles of chemotherapy. However, a single observation was not enough for making statistically significant conclusion. Most treatment regimens included highly gonadotoxic substances (Cyclophosphan in 94.87% of the cases, Doxorubicin and platinum-based drugs in 89.74%). R-CHOP was the most common regimen, which was used among the studied cohort.*

Regular menstrual cycle resumed after treatment in 82.05% of patients. Of them, 46.88% of women received combined oral contraceptive pills (COCP), and 9.38% received depot GnRH agonist (aGnRH) for ovarian protection. After treatment with COCP, 16.66% of patients had permanent amenorrhea. None of the patients, who were treated with depot aGnRH, had persistent amenorrhea. The median period of menstrual cycle restoration was 2.41 months. In 62.07% of women, who received COCP, menstruation restored immediately or 1 month after treatment. Restoration period was longer (1–2 months) in patients, who received depot aGnRH. In 34/48% of women, the episodes of ovarian dysfunction (oligomenorrhea) was observed.

Spontaneous pregnancy rate was 82.76% among those who had menses. Pregnancy occurred in a period from 24 to 54 months after the completion of chemotherapy treatment. Infertility rate increased from 10.26 to 23.07%. Two patients got pregnant after undergoing ART treatment.

82.76% of women with restored menses spontaneously conceived 24 to 54 months after polychemotherapy. The rate of infertility among the treated women increased from 10.26% to 23.07%. Two patients became pregnant after IVF.

Conclusion: *The critical factors for restoration of menstrual function after treatment for non-Hodgkin lymphoma were; the age of patients, high ovarian reserve, chemotherapy duration and regimens. Recovery of menstrual cycle does not always result in restoration of fertility. Medical ovarian protection does not completely protect from gonadotoxic impact of polychemotherapy. Due to this, it is important that the patients with oncologic diseases should undergo examination by a gynecologist not only after being diagnosed with the oncologic disease, but also after treatment. Only cooperation between oncologists and gynecologists may contribute to correct prognosis, reduction of reproductive losses women's understanding of their reproductive prospective.*

Keywords: *non-Hodgkin lymphoma, oncofertility, ovarian protection, fertility preservation, chemotherapy, pregnancy.*

Authors' contributions: Dmitrieva I.E., Nazarenko T.A., Burduli A.G. – the concept and design of the study, material collection and processing, writing and editing the article; Polushkina E.S. – the concept and design of the study, material collection and processing; Khokholova S.V. – the concept and design of the study, editing the article.
Conflicts of interest: The authors have no conflicts of interest.
Funding: The study was carried out without any sponsorship.
Patient Consent for Publication: All patients provided informed consent for the publication of their data.
Authors' Data Sharing Statement: The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Dmitrieva I.E., Nazarenko T.A., Burduli A.G., Polushkina E.S., Khokhlova S.V. Restoration of fertility in women after treatment for non-Hodgkin lymphoma. Akusherstvo i Ginekologiya/ Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 187-193 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.187-193

Неходжкинские лимфомы (НХЛ) – гетерогенная группа злокачественных новообразований, происходящих из 2 типов лимфоцитов (В- и Т-лимфоциты) на разных стадиях дифференцировки [1]. Чаще всего опухоль возникает и/или диагностируется в лимфоидных тканях (лимфатические узлы, селезенка, костный мозг). Наиболее часто встречаемые экстранодальные опухоли локализованы в коже, желудочно-кишечном тракте и в центральной нервной системе [2].

Лимфома Ходжкина представляет собой В-клеточную лимфому с выраженным реактивным полиморфноклеточным окружением (клетки Ходжкина, Березовского–Штернберга, лакунарные, мумифицированные, LP-клетки), характеризующимся единым иммунофенотипом (CD-30,

CD-15, PAX-5). Часто клетки опухоли содержат вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ). Все остальные виды лимфопролиферативных заболеваний (до 90%) объединяются в общую группу неходжкинских лимфом (НХЛ). Среди возможных этиологических факторов упоминаются не только ВЭБ, но и другие инфекционные агенты, а также травматические воздействия, генетические и аутоиммунные заболевания; самым доказанным фактором развития патологического процесса является иммуносупрессия.

Группа гемобластозов является первой по частоте среди онкологических заболеваний у пациентов до 30 лет. По данным Российского центра информационных технологий и эпидемиологических исследований в области онкологии за 2019 г., НХЛ в 11,64% случаев диагностируются в возрасте от 20 до 35 лет, лимфогранулематоз – в 26,92% случаев [3]. Темпы заболеваемости НХЛ растут – прирост заболеваемости за последние 10 лет составил 13,32%.

Характер заболевания при разных формах НХЛ может варьироваться от индолентного течения (вялотекущий, неагрессивный процесс) при фолликулярной лимфоме до более агрессивных форм диффузной В-крупноклеточной лимфомы и лимфом Беркитта. НХЛ, в отличие от лимфомы Ходжкина, протекают в основном бессимптомно и поэтому проявляются поздно, с широко распространенным заболеванием и требуют более агрессивного лечения.

Основным методом лечения НХЛ является химиотерапия. Агрессивные лимфомы, как правило, требуют немедленного начала лечения. При этом средний возраст смерти женщин с лимфопролиферативными заболеваниями в России за 2019 г. составил 67,6 года, а статистические данные указывают на повышение эффективности лечения (прежде всего благодаря совершенствованию протоколов лечения, в том числе внедрению таргетной терапии). По данным American Cancer Society (Американского онкологического сообщества), пятилетняя выживаемость при НХЛ составляет от 65 до 84%, в зависимости от степени распространенности злокачественного процесса [4]. Эффективное лечение у пациентов женского пола обуславливает повышение частоты выживаемости, что делает актуальным вопрос о влиянии высокодозной химиотерапии на показатели овариального резерва у столь молодой когорты пациентов и о возможности реализации репродуктивной функции после лечения.

Мультидисциплинарный подход онкологов и акушеров-гинекологов к лечению онкологических заболеваний, в частности НХЛ, позволяет информировать молодых пациенток о рисках снижения овариального резерва еще до начала лечения. Возможность выбора препаратов для минимизации гонадотоксичного эффекта полихимиотерапии (ПХТ) (комбинированные оральные контрацептивы (КОК), агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона (аГнРГ)), а также предварительная овариальная стимуляция с целью витрификации полученных ооцитов должны быть доступны еще до начала лечения онкологического заболевания [5]. Только так можно обеспечить полноценное планирование реализации репродуктивной функции после достижения ремиссии. В последнее время намечена тенденция к увеличению числа консультаций таких пациентов у акушеров-гинекологов [6], что повышает информированность женщин и позволяет им принимать взвешенное решение о мерах, направленных на сохранение фертильности [7].

Вместе с тем важнейшим и нерешенным на сегодняшний день является вопрос прогнозирования дальнейшей репродуктивной функции больных с НХЛ, прошедших химиотерапевтическое лечение. Решение этого вопроса позволило бы формировать персонифицированные программы для каждой пациентки и, несомненно, обеспечило бы реализацию репродуктивной функции заболевших молодых женщин.

В связи с этим целью настоящего исследования было провести анализ состояния менструальной и репродуктивной функции женщин, прошедших лечение НХЛ.

Материалы и методы

В исследование были включены 39 женщин с диагнозом НХЛ. Исследование было одобрено Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Возраст женщин на момент постановки диагноза НХЛ составил 24 (20;27) года. Пять пациенток были моложе 18 лет, двое из них не достигли менархе. Все пациентки на момент проведения исследования находились в ремиссии. Опрос большинства пациенток с целью сбора ретроспективных данных проводился по телефону и по данным амбулаторных карт (стадия и форма НХЛ, оценка менструального статуса до и после ПХТ, применение КОК или аГнРГ во время ПХТ, режим ПХТ, акушерско-гинекологический анамнез, соматический анамнез).

В таблице представлен анализ состояния соматического здоровья пациенток до диагностики НХЛ.

Выявленные соматические патологии соответствовали наиболее часто встречающимся в популяции; их частота встречаемости не выходила за границы популяционной нормы.

При анализе гинекологического анамнеза обращает на себя внимание распространенность гормонально детерминированных патологий, таких как синдром поликистозных яичников (СПКЯ) (15,4%), миома матки (30,8%), полипы эндометрия (12,8%). Частота встречаемости других гинекологических заболеваний, таких как аденомиоз (5,1%), хронический сальпингоофорит (5,1%), кисты яичников (5,1%), хронический эндометрит (7,7%), инфекции, передающиеся половым путем (15,4%), соответствовала общепопуляционной. Среди вмешательств у пациенток были отмечены коагуляция эктопии шейки матки (41%) и резекция яичников (7,7%).

Объединяющей характеристикой большинства обследуемых женщин явились молодой возраст и априори хорошие показатели овариального резерва. До лечения длительность менструального цикла в среднем составила 28 дней, продолжительность менструации – 5 дней. Помимо упомянутых пациенток с диагностированным СПКЯ, нарушение менструального цикла по типу олигоменореи и мультифолликулярные яичники до начала ПХТ были отмечены еще у 7 женщин (17,95%).

Таблица. Частота встречаемости соматических заболеваний в исследуемой когорте (*n*=39)

Виды патологий	Частота встречаемости, *n* (%)
Патология сердечно-сосудистой системы (артериальная гипертония, врожденные анатомические дефекты, тромбозы)	7 (17,95)
Заболевания желудочно-кишечного тракта (гастрит, дуоденит, желчнокаменная болезнь, аппендицит)	7 (17,95)
Заболевания эндокринной системы (аутоиммунный тиреоидит, ожирение, сахарный диабет 1 типа)	8 (20,51)
Заболевания мочевыделительной системы (пиелонефрит)	1 (2,56)
Заболевания ЛОР-органов	10 (25,64)
Заболевания молочных желез (фиброзно-кистозная мастопатия)	3 (7,69)
Заболевания органов зрения (миопия)	12 (30,77)
Заболевания опорно-двигательной системы и кожи (гигантская гемангиома)	1 (2,56)
Инфекционные заболевания (ВИЧ)	1 (2,56)

До манифестации заболевания 74,36% пациенток не имели беременностей в анамнезе. Из 17,95% забеременевших до лечения пациенток роды хотя бы единожды были у каждой; из 13 беременностей только 2 закончились абортами и еще 2 были неразвивающимися. 10,26% обратившихся до лечения уже имели диагноз «бесплодие».

Результаты

Ретроспективная оценка тяжести НХЛ на момент постановки диагноза установила, что 1-я стадия заболевания была диагностирована у 2 пациенток (8,7%), 2-я стадия – у 9 (39,1%), 3-я стадия – у 4 (17,4%), 4-я стадия – у 8 (34,8%). Всем женщинам проводилась ПХТ в количестве от 3 до 14 курсов, одной пациентке диагноз НХЛ был поставлен во время беременности, в связи с чем ПХТ проводилась после родоразрешения. ПХТ совместно с лучевой терапией применялась у 16 из 39 женщин (41,03%), совместно с хирургическим лечением (в том числе для проведения гистологической верификации диагноза) – у 9 из 39 женщин (23,08%). Лучевая терапия на пограничную с органами малого таза область (правые паховые лимфатические узлы) проведена у 1 пациентки с диагнозом «фолликулярная лимфома».

Мы попытались провести анализ зависимости числа курсов ПХТ и состояния репродуктивной функции женщины после окончания лечения. Явной закономерности не было получено, хотя небольшое число наблюдений не позволило сделать однозначных выводов. Забеременевшие женщины проводили от 3–4 до более чем 11 курсов лечения (рис. 1). Одна пациентка, прошедшая 14 курсов ПХТ, не восстановила менструальную функцию; тем не менее единичного наблюдения недостаточно для достоверного установления зависимости.

Число курсов ПХТ (ретроспективные данные 27 женщин) составляло от 3 до 14. Медиана количества проведенных курсов – 6 (у 46,15% пациенток), 8 курсов – у 5 (30,77%). Более 11 курсов ПХТ проведено у 4 пациенток (10,26%); 3–4 курса ПХТ – у 5 (12,82%). Рецидив после 1-й линии ПХТ был зарегистрирован у 2 женщин с первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомой и В-мелкоклеточной лимфомой 2-й стадии. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток проводилась только у одной пациентки с НХЛ.

Введение химиотерапевтических агентов проводили по разным алгоритмам, в том числе по схемам RCHOP, R-EPOCH, R-MACOP-B, mNHL-BFM-90, DHAP. Одним из наиболее распространенных режимов ПХТ Т- и В-клеточных лимфом был R-CHOP, состоящий из таких компонентов, как циклофосфамид, доксорубицин, винкристин и преднизолон с добавлением ритуксимаба (моноклональное антитело, используемое при экспрессии антигена $CD20^+$). Схемы лечения пациентов с лимфомами в подавляющем большинстве случаев подразумевают использование сразу нескольких препаратов [8], обладающих очень высокой степенью гонадотоксичности [9]: циклофосфамид, хлорамбуцил, прокарбазин, ифосфамид, препараты платины, мелфалан, дакарбазин; неалкилирующие препараты (антрациклины, блеомицин, этопозид, винкристин/винбластин, гемцитабин) обычно не указываются как обладающие высокой гонадотоксичностью [10].

Учитывая разнообразие схем ПХТ, в рамках ретроспективного анализа выделены наиболее часто используемые препараты (рис. 2).

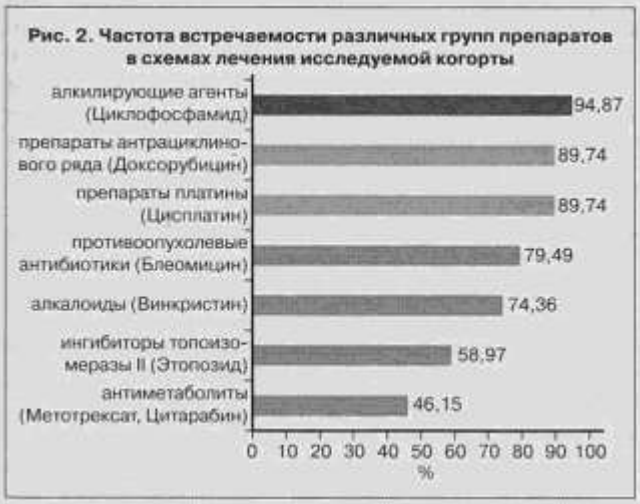
В настоящей работе среди забеременевших женщин защиту яичников во время проведения гона-

Рис. 1. Распределение количества пройденных курсов ПХТ

дотоксичного химиотерапевтического лечения применяли у 21 пациентки, 18 – препараты не назначали. Из 21 женщины 3 (14,29%) были назначены препараты аГнРГ, и 18 (85,71%) – КОК. У 32 (82,05%) больных после окончания лечения восстановился регулярный менструальный цикл. Из них 15 (46,88%) получали КОК и 3 (9,38%) – аГнРГ. У 3 женщин, получавших КОК (16,66%), после лечения наступила стойкая аменорея; в подгруппе женщин, получавших агонисты, не было отмечено аменореи ни у одной пациентки.

Период возобновления менструальной функции после окончания лечения составил в среднем 2,41 месяца. У большинства женщин (62,07%), получавших КОК в непрерывном режиме на время проведения курсов ПХТ, цикл восстановился сразу или в течение 1 месяца. Для пациенток, принимавших аГнРГ, был характерен более длинный интервал в 1–2 месяца ввиду его механизма действия. Период восстановления цикла у 6 (20,69%) женщин составил 3 месяца, у 2 (6,9%) – 2 месяца, у 1 (3,45%) – 12 месяцев, у 1 (3,45%) – 36 месяцев (рис. 3). У части женщин (34,48%) в дальнейшем отмечались эпизоды дисфункции яичников по типу олигоменореи.

После лечения длительность менструального цикла составила 29 (28;30) дней. Количество дней менструации (данные представлены для 14 женщин) составило от 3 до 7, у большинства (6 женщин – 42,9%) – 5 дней, что достоверно не отличалось от исходных данных.



На момент сбора ретроспективных данных средний возраст женщин составил 36 лет (медиана и мода 37 лет), у 7 женщин отмечено наступление преждевременной менопаузы.

Из женщин, восстановивших менструации, забеременели 82,76%. Беременность наступила самостоятельно в период от 24 до 54 месяцев после окончания ПХТ. Доля бесплодия среди пролечившихся пациенток повысилась с 10,26 до 23,07%, в том числе в 1 случае за счет трубно-перитонеального фактора (после сальпингита, возникшего как осложнение ПХТ). У 2 пациенток беременность наступила с помощью вспомогательных репродуктивных технологий.

Обсуждение

Наиболее сложной задачей явилось установление степени влияния проведенной ПХТ на репродуктивную функцию женщины. Сложность выяснения закономерностей связана как с небольшим числом наблюдений, так и с тем, что женщинам назначали разные схемы ПХТ и препараты с различающимися механизмами действия и, соответственно, влиянием на овариальную функцию.

Также отмечено назначение моноклональных антител к трансмембранному антигену CD20 (ритуксимаб) в 42,9% случаев (у 21 женщины, получавшей курсы ПХТ). На настоящий момент данные о гонадотоксичности препаратов моноклональных антител ограничены; даже вопрос о безопасности назначения ритуксимаба во время беременности остается открытым [11].

Что касается стадии заболевания, то зависимости восстановления репродуктивной функции от стадии выраженности процесса не обнаружено. Половина больных имели 1–2-ю стадии заболевания (48,72%), другая половина – 3–4-ю (51,28%).

Нерешенным является вопрос об эффективности защиты яичников на фоне проводимой ПХТ. Онкогематологи достаточно широко используют в клинической практике КОК и аГнРГ, ориентируясь на известные работы, показывающие, что десенситизация гипоталамо-гипофизарной системы и перевод яичников в «спящий» режим способны предотвратить повреждение овариального резерва и сохранить функцию яичников. Однако консолидированного мнения на этот счет не представлено [12].

Объединяющими характеристиками больных, восстановивших менструальный цикл, явились молодой возраст и априори хорошие показатели овариального резерва. Более того, сбор анамнеза показал, что до диагностики заболевания молодые женщины были практически здоровы, за исключением частой встречаемости гормонозависимых гинекологических заболеваний (СПКЯ, миомы матки, полипов эндометрия). Можно отметить, что пациентки, восстановившие менструальный цикл, были молодого возраста на момент начала лечения (до 27 лет) и в подавляющем большинстве имели мультифолликулярные или поликистозные яичники. При этом статистически не выявлено различий

между наличием защиты яичников КОК и ее отсутствием (p=0,20).

Среди пациенток, принимавших аГнРГ, случаев аменореи и развития бесплодия не наблюдалось; в то же время доля девушек, получавших аГнРГ, слишком мала, чтобы можно было достоверно судить об их эффективности. В настоящее время аГнРГ применяются все чаще, что подчеркивает необходимость исследований в данном направлении.

Учитывая все еще довольно низкий процент обращения онкологических пациентов к гинекологам, прогностические модели сохранения овариального резерва в настоящее время отсутствуют. Однако подавляющее большинство случаев потери менструальной функции было сопряжено с определенными особенностями, повышающими вероятность истощения яичников. Эти клинические наблюдения могут быть описаны как типичные случаи высокого риска утери репродуктивного потенциала.

Из женщин, не восстановивших менструальный цикл, одна пациентка начала лечение с изначально низким овариальным резервом и манифестацией преждевременной недостаточности яичников, вступив после лечения в менопаузальное состояние. Помимо низкого овариального резерва, в качестве факторов риска можно выделить рецидивы, обуславливающие необходимость проведения повторных курсов химиотерапии второй линии, трансплантации стволовых клеток крови, а также приема пациенткой других видов гонадотоксичной терапии (такой как антиретровирусная у одной пациентки с ВИЧ).

В нашем исследовании восстановление менструальной функции происходило в первые 3 месяца после отмены препаратов, но крайне редко могло занимать и более года (у двух пациенток после приема заместительной гормональной терапии). Исходя из полученных данных, можно отметить, что шансы на восстановление менструальной функции тем ниже, чем больше времени прошло с момента окончания лечения.

Зависимость восстановления от возраста и овариального резерва подтверждается отечественными [5, 13, 14] и иностранными [15, 16] исследованиями. Показано, что вероятность стать родителями у пациентов со злокачественными заболеваниями тем ниже, чем старше они на момент обнаружения заболевания и лечения [17, 18]. При этом у женщин эта вероятность ниже, чем у мужчин, что, учитывая сложность предварительной криоконсервации генетического материала у женщин, еще раз подчеркивает необходимость разработки единых алгоритмов ведения онкологических пациентов у гинеколога.

Заключение

Решающими факторами восстановления менструальной функции после проведенной терапии по поводу НХЛ являются возраст пациентки, наличие мультифолликулярных яичников с высокими показателями овариального резерва, а также длительность и дозы проводимой химиотерапии. Важно отметить, что восстановление менструальной функции не в каждом случае означало восстановление репродуктивной функции, и некоторым пациенткам для достижения беременности потребовалось прибегнуть к методам вспомогательной репродукции, причем у части пациенток степень снижения овариального резерва диктовала необходимость использования донорских ооцитов. Данные исследования показали, что медикаментозная защита яичников не обеспечивает полного исключения гонадотоксичного влияния ПХТ. В связи с этим очевидной становится важность обследования онкологических пациенток у врача акушера-гинеколога не только после постановки диагноза, но и по завершении лечения. Только сотрудничество в ведении пациента онкологов и акушеров-гинекологов может способствовать корректному прогнозированию, снижению потери репродуктивной функции и полноценному информированию пациента относительно репродуктивных перспектив.

Литература/References

1. *Campo E., Swerdlow S.H., Harris N.L., Pileri S., Stein H., Jaffe E.S.* The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. Blood. 2011; 117(19): 5019-32. https://dx.doi.org/10.1182/blood-2011-01-293050.
2. *Howlader N., Noone A.M., Krapcho M., Garshell J., Miller D., Altekruse S.F.* et al. (eds.). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2011, National Cancer Institute. Bethesda, MD, based on November 2013 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2014. Available at: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2011
3. *Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О.*, ред. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ "НМИЦ радиологии" Минздрава России; 2020. 239с. [Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Shakhzadova A.O., ed. The state of cancer care for the population of Russia in 2019. M.; 2020. 239 p. (in Russian)].
4. *Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A.* Cancer statistics, 2020. CA Cancer J. Clin. 2020; 70(1): 7-30. https://dx.doi.org/10.3322/caac.21590.
5. *Сухих Г.Т., Давыдов М.И., Савченко В.Г.*, ред. Репродуктивное здоровье женщин с онкогематологическими заболеваниями. М.; 2012. 310с. [Sukhikh G.T., Davydov M.I.,Savchenko V.G., ed. Reproductive health in women diagnosed with hematologic malignancies. M.; 2012. 310 p. (in Russian)].
6. *Coleman C.E.M., Pudwell J., McClintock C., Korkidakis A., Green M., Velez M.P.* Modest increase in fertility consultations in female adolescents and young adults with lymphoma: a population-based study. J. Adolesc. Young Adult Oncol. 2021; 10(3): 342-5. https://dx.doi.org/10.1089/jayao.2020.0101.
7. *Kelvin J.F., Thom B., Benedict C., Carter J., Corcoran S., Dickler M.N.* et al. Cancer and fertility program improves patient satisfaction with information received. J. Clin. Oncol. 2016; 34(15): 1780-6. https://dx.doi.org/10.1200/JCO.2015.64.5168.
8. *Румянцев А.Г., Масчан А.А., Самочатова Е.В.* Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению неходжкинских лимфом. М.; 2015. 47с. [Rumyantsev A.G., Maschan A.A., Samochatova E.V. Federal clinical recommendations for the diagnosis and treatment of non-Hodgkin's lymphomas. M.: 2015. 47 p. (in Russian)].
9. *Meirow D., Biederman H., Anderson R.A., Wallace W.H.* Toxicity of chemotherapy and radiation on female reproduction. Clin. Obstet. Gynecol. 2010; 53(4): 727-39. https://dx.doi.org/10.1097/GRF.0b013e3181f96b54.
10. *Brydøy M., Fosså S.D., Dahl O., Bjøro T.* Gonadal dysfunction and fertility problems in cancer survivors. Acta Oncol. 2007; 46(4): 480-9. https://dx.doi.org/10.1080/02841860601166958.

11. *Pavanello F., Zucca E., Ghielmini M.* Rituximab: 13 open questions after 20 years of clinical use. Cancer Treat. Rev. 2017; 53: 38-46. https://dx.doi.org/10.1016/j.ctrv.2016.11.015.
12. *Blumenfeld Z., Avivi I., Linn S., Epelbaum R., Ben-Shahar M., Haim N.* Prevention of irreversible chemotherapy-induced ovarian damage in young women with lymphoma by a gonadotrophin-releasing hormone agonist in parallel to chemotherapy. Hum. Reprod. 1996; 11(8): 1620-6. https://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a019457.
13. *Пылова И.В., Шмаков Р.Г., Демина Е.А., Любимова Н.В., Сметник В.П., Самойлова Т.Е., Махова Е.Е.* Эффективность защиты яичников при проведении химиотерапии у женщин с лимфомой Ходжкина. Акушерство и гинекология. 2011; (7-1): 40-5. [Pylova I.V., Shmakov R.G., Demina E.A., Lyubimova N.V., Smetnik V.P., Samoilova T.E., Makhova E.E. Efficiency of ovarian protection during chemotherapy in women with Hodgkin's lymphoma. Obstetrics and Gynecology. 2011; 7-1: 40-5. (in Russian)].
14. *Пылова И.В., Демина Е.А., Шмаков Р.Г., Перилова Е.Е.* Репродуктивная функция пациенток с лимфомой Ходжкина и возможности ее сохранения. Онкогематология. 2006; (1-2): 113-20. [Pylova I.V., Demina E.A., Shmakov R.G., Perilova E.E. Reproductive function in females with Hodgkin's lymfoma and possibilities of its protection. Oncogematology. 2006; 1-2: 113-20. (in Russian)].
15. *Elis A., Tevet A., Yerushalmi R., Blickstein D., Bairy O., Dann E.J.* et al. Fertility status among women treated for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. Leuk. Lymphoma. 2006; 47(4): 623-7. https://dx.doi.org/10.1080/10428190500353877.
16. *Akhtar S., Youssef I., Soudy H., Elhassan T.A.M., Rauf S.M., Maghfoor I.* Prevalence of menstrual cycles and outcome of 50 pregnancies after high-dose chemotherapy and auto-SCT in non-Hodgkin and Hodgkin lymphoma patients younger than 40 years. Bone Marrow Transplant. 2015; 50(12): 1551-6. https://dx.doi.org/10.1038/bmt.2015.178.
17. *Fossa S.D., Magelssen H., Melve K., Jacobsen A.B., Langmark F., Skjaerven R.* Parenthood in survivors after adulthood cancer and perinatal health in their offspring: a preliminary report. J. Natl. Cancer Inst. Monogr. 2005; (34): 77-82. https://dx.doi.org/10.1093/jncimonographs/lgi019.
18. *Viviani S., Caccavari V., Gerardi C., Ramadan S., Allocati E., Minoia C.* et al. Male and female fertility: prevention and monitoring Hodgkin' lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma adult survivors. A systematic review by the Fondazione Italiana Linfomi. Cancers (Basel). 2021; 13(12): 2881. https://dx.doi.org/10.3390/cancers13122881.

Поступила 08.10.2021
Принята в печать 13.10.2021
Received 08.10.2021
Accepted 13.10.2021

Сведения об авторах:
Дмитриева Ирина Евгеньевна, аспирантка, НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова Минздрава России, +7(916)089-08-09, nika06@inbox.ru, https://orcid.org/0000-0001-5119-3816, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Назаренко Татьяна Алексеевна, д.м.н., профессор, директор Института репродуктивной медицины, НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова Минздрава России, +7(985)998-74-12, t_nazarenko@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-5823-1667, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Бурдули Анна Георгиевна, к.м.н., с.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия имени профессора Б.В. Леонова, НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова Минздрава России, +7(985)120-36-14, burdulianna@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-2849-5426, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Полушкина Евгения Сергеевна, к.м.н., с.н.с. 2-го родильного отделения, НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова Минздрава России, +7(903)154-74-13, e_polushkina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-1945-0154, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Хохлова Светлана Викторовна, д.м.н., заведующая онкологическим отделением противоопухолевой лекарственной терапии, НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова Минздрава России, +7(903)170-98-02, s_hohlova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-4121-7228, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:
Irina Ye. Dmitrieva, PhD candidate, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, +7(916)089-08-09, nika06@inbox.ru, https://orcid.org/0000-0001-5119-3816, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparin str., 4.
Tatiana A. Nazarenko, Dr. Med. Sci., Professor, Head of the Institute of Reproductive medicine, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, +7(985)998-74-12, t_nazarenko@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-5823-1667, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparin str., 4.
Anna G. Burduli, PhD/Med, Senior Researcher of the Professor Leonov Department of Assistive Reproductive Technologies, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, +7(985)120-36-14, burdulianna@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-2849-5426, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparin str., 4.
Evgeniya S. Polushkina, PhD/Med, Senior Researcher of the 2nd Maternity Department, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, +7(903)154-74-13, e_polushkina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-1945-0154, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparin str., 4.
Svetlana V. Khokhlova, PhD/Med, Head of the Oncology Department of Anticancer Drug Therapy, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, +7(903)170-98-02, s_hohlova@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-4121-7228, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparin str., 4.

©Коллектив авторов, 2021

О.Н. БЕСПАЛОВА, Т.С. ЖЕРНАКОВА

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА ИНТРАЛИПИД ПРИ РАННИХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОТЕРЯХ

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

Жировая эмульсия интралипид, содержащая ω-6 и ω-3 жирные кислоты, на протяжении 60 лет является золотым стандартом парентерального питания. На сегодняшний день имеется 30-летний опыт применения интралипида при иммунологическом факторе ранних репродуктивных потерь; доказана роль ω-6 и ω-3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в созревании ооцитов и имплантации эмбриона, в балансе синтеза про- и противовоспалительных цитокинов и в снижении цитотоксичности NK-клеток. Учитывая сопоставимую эффективность интралипида и внутривенных иммуноглобулинов, жировая эмульсия была представлена как перспективный и доступный метод лечения привычного выкидыша и нарушений имплантации в программах ЭКО. В научных источниках имеются противоположные данные об эффективности введения препарата «Интралипид» при повторных имплантационных потерях. Это связано с определением показаний для его назначения, выбором критериев для оценки эффективности данной терапии. В статью включены данные 25 научных оригинальных исследований с 1991 по 2021 гг., в которых представлены различные результаты терапии препаратом «Интралипид». Описан предполагаемый механизм его действия на ранних сроках беременности и кратко изложен материал об истории открытия, классификации и метаболизме жировых эмульсий.

***Заключение:** Накопленное депо эссенциальных ω-3 ПНЖК в преконцепционный период способствует оптимальному развитию мозга плода и органов зрения и, по данным многочисленных исследований, профилактирует развитие «больших акушерских синдромов». Таким образом, внутривенное введение жировых эмульсий оказывает положительное влияние на наступление и пролонгирование беременности.*

***Ключевые слова:** интралипид, ранние репродуктивные потери, привычное невынашивание, повторные нарушения имплантации, иммунотерапия.*

Вклад авторов: Жернакова Т.С. – обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи; Беспалова О.Н. – разработка концепции статьи, написание текста и редактирование рукописи.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.
Финансирование: Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Согласие пациентов на публикацию: Пациенты подписали информированное согласие на публикацию своих данных.
Обмен исследовательскими данными: Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Беспалова О.Н., Жернакова Т.С. Опыт применения препарата Интралипид при ранних репродуктивных потерях. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 194-201
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.194-201

©A group of authors, 2021

O.N. BESPALOVA, T.S. ZHERNAKOVA

EXPERIENCE WITH INTRALIPID IN EARLY REPRODUCTIVE LOSSES

D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology, Saint Petersburg, Russia

The fat emulsion Intralipid containing ω-6 and ω-3 fatty acids has been the gold standard of parenteral nutrition for 60 years. To date, there have been thirty years of experience with Intralipid in the immunological factor of early reproductive losses; ω-6 and ω-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) have been proven to play a role in oocyte maturation and embryo implantation, in the balance of synthesis of pro- and anti-inflammatory cytokines, and in the reduction of natural killer (NK) cytotoxicity. Considering the comparable efficacy of Intralipid and intravenous immunoglobulins, the fat emulsion was presented as a promising and affordable method for the treatment of recurrent abortion and implantation failures in IVF programs. Scientific sources have contradictory data on the efficacy of Intralipid in repeated implantation failures. This is due to the determination of indications for its prescription and to the choice of criteria for evaluating the efficiency of this therapy. The paper includes data from 25 original investigations from 1991 to 2021, which present different results of Intralipid therapy. It describes the proposed mechanism of its action in the early stages of pregnancy and presents materials on the history of the discovery, classification, and metabolism of fat emulsions.

Conclusion: *The accumulated depot of essential ω-3 PUFA during the pre-conception period contributes to the optimal development of the fetal brain and visual organs and, as shown by numerous studies, prevents the development of great obstetric syndromes. Thus, the intravenous administration of fat emulsions has a positive effect on the onset and prolongation of pregnancy.*

Keywords: *Intralipid, early reproductive losses, recurrent miscarriage, repeated implantation failures, immunotherapy.*

Authors' contributions: Zhernakova T.S. – review of publications on the topic of the article; writing the text of the manuscript; Bespalova O.N. – development of the concept of the article, writing the text and editing the manuscript.
Conflicts of interest: The authors declare that there are no possible conflicts of interest.

Funding: The investigation has not been sponsored.
Patient Consent for Publication: All patients provided informed consent for the publication of their data.
Authors' Data Sharing Statement: The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Bespalova O.N., Zhernakova T.S.
Experience with Intralipid in early reproductive losses.
Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 194-201 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.194-201

Ранние репродуктивные потери (РРП) – актуальная проблема современного мира, которая объединяет сходные по этиопатогенезу патологии, такие как привычный выкидыш и повторные неудачи имплантации в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Успешность вспомогательных репродуктивных технологий уже десятилетиями остается на уровне 30% [1]. Вероятно, на анеуплоидию эмбрионов приходится большинство неудачных циклов ЭКО [2], однако доимплантационный генетический скрининг и перенос только генетически нормальных эмбрионов по-прежнему дает вероятность успеха только в 60% [3], что обуславливает необходимость поиска новых эффективных методов лечения, улучшающих имплантацию и исходы беременности. Имплантационная недостаточность эндометрия может приводить к повторным выкидышам с частотой 1–5% [4–6]. Более чем в половине случаев причина РРП неясна, что затрудняет персонифицированный подбор терапии. Ключевыми факторами риска РРП являются генетические, анатомические, эндокринные, инфекционные, иммунологические нарушения [7–9], а также мужской фактор, стресс, воздействие экологии, дефицит биодоступных форм значимых микронутриентов, особенно активных фолатов и эссенциальных жирных кислот. По данным некоторых авторов, более 80% повторных ранних потерь плода обусловлено иммунологическими причинами [10]. К современным методам регуляции нарушения иммунного гомеостаза относится иммуноэфферентная терапия: иммуноцитотерапия [11], внутривенное введение иммуноглобулинов (ВВИГ) [12], применение плазмафереза [13] и внутривенное введение жировых эмульсий [14]. Жировая эмульсия интралипид изначально использовалась при патологии репродукции как альтернатива ВВИГ, так как эффективность их использования, по данным некоторых авторов, сопоставима [15]. Кроме того, он является дешевым парентеральным питанием, разрешенным к применению во время беременности, с отсутствием противопоказаний и минимальными побочными действиями. В научных источниках имеются противоположные данные об эффективности введения препарата «Интралипид» при повторных имплантационных потерях; это связано с определением показаний для его назначения, выбором критериев для оценки эффективности данной терапии [16, 17].

История открытия, состав жировой эмульсии, метаболизм и функции

Жировая эмульсия представляет собой коллоидную дисперсную систему «масло в воде». Вода является доминирующей фазой, в которой триглицериды распределены в виде эмульгированных частиц с помощью фосфолипидов. Жировая эмульсия состоит из частиц размером 100–500 нм, которые напоминают хиломикроны. Фосфолипиды выполняют функцию эмульгатора, их получают преимущественно из яичного желтка. Эмульсии в своем составе содержат полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) семейств ω-3 и ω-6, некоторые витамины (Е, К), продукты перекисного окисления и фитостеролы.

Метаболизм жировой эмульсии осуществляется в 4 стадии.

1. Связывание частиц жировой эмульсии с аполипопротеинами, которые переносятся эндогенными липопротеинами высокой плотности (ЛПВП).

2. Гидролиз значительной части триглицеридов с помощью фермента липопротеинлипазы в эндотелиальном участке большинства внепеченочных тканей. В ходе гидролиза уменьшаются размеры частиц, а освободившиеся жирные кислоты потребляются клетками близлежащих тканей и высвобождаются в кровоток в виде неэстерифицированных жирных кислот, связанных с альбумином.

3. Обмен триглицеридов и эфиров холестерина с богатыми холестерином эндогенными липопротеинами низкой плотности и ЛПВП с помощью белка, переносящего эфиры холестерина.

4. Утилизация жирных кислот и частиц триглицеридов (ТГ). При внутриклеточном гидролизе ТГ высвобождаются жирные кислоты, которые затем включаются в мембранные фосфолипиды. Поглощение печенью ТГ и эфиров холестерина стимулирует образование в печени аполипопротеина В-100 и осво-

бождение в кровоток липопротеинов очень низкой плотности [18].

В 1961 г. Arvid Wretlind впервые представил миру безопасную внутривенную жирную эмульсию – интралипид, которая уже 60 лет остается золотым стандартом парентерального жирового питания (таблица). Интралипид относится к I поколению жировых эмульсий, приготовленных на основе соевого масла. Основной характеристикой первого поколения является наличие только длинноцепочечных триглицеридов (Long Chain Triglycerides, LCT), которые отлично снабжают организм человека незаменимыми жирными кислотами (ПНЖК), особенно линолевой (ω-6) и а-линоленовой (ω-3). Основными функциями ПНЖК является их участие в формировании фосфолипидов клеточных мембран и синтез эйкозаноидов. Линолевая кислота (ЛК) является родоначальником ω-6 жирных кислот. Эйкозаноиды, происходящие из этой серии жирных кислот: простагландин Е1, простагландин Е2, тромбоксан А1 и тромбоксан А2. А-линоленовая кислота (АЛК) является родоначальником ω-3 жирных кислот. Из этой группы происходят следующие эйкозаноиды: простагландин Е3, тромбоксан А3, простациклин.

Главным механизмом фармакологического действия эссенциальных липидов на физиологию человека является их участие в метаболических процессах, формирующих «каскад арахидоновой кислоты (АРК)». АРК входит в состав фосфолипидов клеточных мембран тромбоцитов и эндотелиальных клеток. Существуют два основных метаболизма АРК – циклооксигеназный, который приводит к образованию простагландинов и тромбоксана А2, и липооксигеназный, который приводит к образованию лейкотриенов. При недостаточном поступлении ω-3 ПНЖК АРК вступает в конкурентный синтез эйкозаноидов. Функциональные свойства эйкозаноидов, синтезируемых из ω-6 (АРК) и из ω-3 ПНЖК, противоположны. Простациклин-3 оказывает вазодилатирующий эффект, а простациклин-2, напротив, вызывает вазоконстрикцию. Тромбоксан-3 оказывает выраженный антиагрегационный эффект, а тромбоксан-2 активирует агрегацию тромбоцитов. Лейкотриен-5 (ω-3) оказывает выраженный противовоспалительный эффект, а лейкотриен-4 (ω-6) не влияет на процесс воспаления или в некоторых случаях потенцирует его развитие. Таким образом, эйкозаноиды, синтезируемые из ω-3 ПНЖК, обладают вазодилатирующим, противовоспалительным и антитромботическим действиями в противоположность метаболитам из ω-6 ПНЖК [19].

Показаниями к назначению жировой эмульсии являются недостаточность эссенциальных жирных кислот (МКБ-10 код Е63.0) и парентеральное питание. Рутинно инфузии жирных кислот используются в реанимации и интенсивной терапии взрослых и новорожденных в составе сбалансированных питательных «коктейлей». Рекомендуемая максимальная доза – 3 г триглицеридов/кг/сут, что соответствует интралипиду 20% 15 мг/кг/сут. Для предотвращения или коррекции недостаточности ПНЖК рекомендуется введение интралипида, обеспечивающее поступление достаточного количества ЛК (ω-6) и АЛК (ω-3) и 4–8% небелковой энергии. Согласно инструкции к препарату, при стрессовом состоянии в сочетании с недостаточностью эссенциальных жирных кислот необходимо увеличить количество вводимого интралипида.

Таким образом, жировые эмульсии выполняют ряд функций:

- снабжают организм энергией (30–50%);
- восполняют недостаточность эссенциальных жирных кислот;
- способствуют образованию эйкозаноидов (простагландинов, простациклинов, тромбоксанов, лейкотриенов), обладающих широким спектром биологической активности (гипохолестеринемический, антиатерогенный, антитромботический, вазодилатирующий, иммуномодулирующий);
- эмульсификаторы – фосфатиды яичного желтка – снабжают организм фосфором;
- глицерин – при его добавлении жировые эмульсии становятся изотоническим раствором, обладает антикетогенным действием.

Опыт применения интралипида в качестве парентерального питания показал и его побочные эффекты: перегрузка ретикулоэндотелиальной системы, увеличение сывороточных трансаминаз (АЛТ и АСТ) и билирубина на фоне длительной инфузии, а также выраженный иммуносупрессивный эффект. Так, в работе Gogos C.A. et al. (1990) было показано, что при проведении парентерального питания у 40 больных отделения интенсивной терапии к 10-м суткам у пациентов, получавших 100% LCT эмульсию, снижалось соотноше-

Таблица. Жирнокислотный состав интралипида

Жирные кислоты	LCT Соевое масло (% w/w, весовой процент/процент от массы)
Пальмитиновая С16:0	10,5
Стеариновая С18:0	3,7
Олеиновая С18:1 (ω-9)	20,9
Линолевая, ЛК С18:1 (ω-6)	56,6
а-Линоленовая, АЛК С18:3 (ω-3)	7,8
Эйкозапентаеновая, ЭПК С20:5 (ω-3)	–
Докозагексаеновая, ДГК С22:6 (ω-3)	–
Другие	0,5
ω-6/ω-3	7:1

ние Т-хелперов к Т-супрессорам, хотя такой разницы не было обнаружено при введении среднецепочечных триглицеридов (МСТ) – 50% LCT эмульсии [20].

Ряд авторов связывали подобные реакции с избыточной нагрузкой ЛК (ω-6), которая является основной составляющей (52–54%) жировых эмульсий на основе соевого масла [21, 22]. Дальнейшие направления в создании новых формул жировых эмульсий были направлены на замещение части LCT МСТ, которые включали в себя структурированные МСТ/LCT жировые эмульсии (структолипид), а также жировые эмульсии с высоким содержанием ω-3 жирных кислот: липоплюс, смофлипид, омегавен.

Выделяют три поколения жировых эмульсий.

I поколение представлено эмульсиями, приготовленными на основе соевого или сафлорового масла. Основной характеристикой I поколения является высокое содержание ПНЖК и наличие только LCT (интралипид, липовеноз, липозин и др.).

II поколение было разработано с целью нивелирования недостатков жировых эмульсий первого поколения. Жировые эмульсии II поколения представлены «физическими» (липофундин МСТ/LCT, медиалипид и др.) и «химическими» (структолипид) смесями LCT и МСТ, а также жировыми эмульсиями на основе оливкового масла.

III поколение было создано с целью включения в состав жировой эмульсии специфических ω-3 жирных кислот, полученных из рыбьего жира. Первоначально в 1998 г. была представлена жировая эмульсия из чистого рыбьего жира (омегавен), предназначенная для добавления в традиционно применяемые эмульсии. В 2000-х гг. началось клиническое использование сбалансированных жировых эмульсий III поколения, содержащих в своем составе МСТ- и LCT-фракции, а также существенно увеличенную долю ω-3 жирных кислот (липоплюс, смофлипид).

В жировых эмульсиях I и II поколений соотношение ω-3 и ω-6 ПНЖК составляло 7:1, а в жировой эмульсии с 80% оливкового масла достигало 9:1. При этом рекомендуемое российскими, европейскими и американскими стандартами клинического питания идеальное соотношение ω-3/ω-6 должно колебаться в пределах 1:4–1:10, а при состояниях, сопровождающихся повышенной продукцией провоспалительных медиаторов, данное соотношение должно сдвигаться к 1:4–1:2 [23].

Понимание различий в составе, в метаболических и фармакологических эффектах жировых эмульсий позволяет обоснованно их применять у пациентов с различными патологическими процессами. Интралипид – единственная жировая эмульсия, одобренная для введения беременным и кормящим женщинам, которая по результатам исследований эффективно снижает цитотоксичность NK-клеток.

Механизм действия жировой эмульсии интралипид при ранних репродуктивных потерях

Основной причиной неудач имплантации и выкидышей считается снижение восприимчивости эндометрия в результате иммунной дисфункции и несбалансированного состава цитокинов эндометрия [24–26]. Kwak-Kim J.Y.H. et al. [27] указывают, что именно персистирующее локальное воспаление, опосредованное Т-лимфоцитами, NK-клетками на фоне дисфункции T-reg, и связанный с этим тромбоз сосудов фетоплацентарного комплекса рассматриваются как ключевые звенья синдрома невынашивания плода неизвестной этиологии. У женщин с РРП были зарегистрированы повышения как уровня NK, так и цитотоксичности NK в периферической крови [28, 29]. Жировая эмульсия интралипид вызывает снижение цитотоксичности NK-клеток как *in vitro*, так и *in vivo*. Несмотря на то что механизм действия препарата на NK-клетки до конца не изучен, действие жирных кислот проявляется опосредованно через рецепторы – активаторы пролиферации пероксисом (Peroxisome Proliferator-Activated Receptors, PPAR), рецепторы, связанные с G-белками, и CD1-рецепторы. Было показано, что активация таких ядерных рецепторов снижает цитотоксичность NK-клеток за счет снижения секреции интерферона-гамма, способствуя имплантации [30]. Известно, что жировые эмульсии для парентерального введения являются накопителями макрофагов. Они приводят к нарушению различных функций макрофагов и ретикулоэндотелиальной системы. Кроме того, ПНЖК входят в состав всех иммунокомпетентных клеток, влияют на текучесть клеточных мембран, строение иммунологических синапсов, рецепторную активность и синтез эйкозаноидов [31]. Таким образом, внутривенное введение жировых эмульсий оказывает положительное влияние на наступление и пролонгирование беременности при иммунологических факторах.

Опыт применения интралипида при ранних репродуктивных потерях

Впервые благоприятный эффект жировой эмульсии на вынашивание беременности случайно получили Johnson P.M. et al. (1991) в двойном слепом рандомизированном контролируемом исследовании (РКИ) эффективности лечения с помощью мембран трофобласта у женщин с повторными репродуктивными потерями. В основной группе достижение беременности составляло 47% (8/17; 95% CI 23,2–70,7%), а в контрольной группе, получающей интралипид, – 70% (14/20; 95% CI 49,9–90,1%); таким образом, у 20 пациенток была отмечена низкая частота выкидышей – 30%. Этот прогноз был подтвержден с использованием модели рецидивирующего самопроизвольного аборта на мышах [32, 33]. Результаты данных исследований дали основание сравнить эффективность интралипида с другими методами иммунотерапии при РРП.

Способность интралипида подавлять цитотоксичность NK-клеток крови с такой же высокой эффективностью, как при использовании ВВИГ и sHLA-G, была продемонстрирована в последующих исследованиях *in vitro* (2007) и *in vivo* (2008) на женщинах с РРП. Roussev R.G. et al. (2007) исследовали кровь 275 пациенток с повторными неудачами имплантации в программах ЭКО (n=165) и привычным невынашиванием (n=110). Из всех образцов крови у 149 была зарегистри-

рована нормальная активность NK-клеток (меньше 10%), а у 126 наблюдалась активность NK-клеток выше 10%. Цитотоксичность NK-клеток оценивалась методом проточной цитометрии с использованием иммунофлуоресцентных меченых клеток K562 в качестве мишеней. Интралипид 20% добавляли в две пробирки с достижением конечной концентрации 18 мг/мл и 9 мг/мл. Среди образцов крови с активностью NK-клеток выше 10% интралипид снижал цитотоксичность NK на 39,8±6,2%, ВВИГ – на 38,9±4,5%, sHLA-G – на 39,9±5,0%. В 2008 г. Roussev et al. вводили Интралипид 20% внутривенно 2–4 мл/кг в 250 мл NaCl 0,9% 50 женщинам с повышенной активностью NK-клеток (более 10%), у 39 (78%) произошло подавление цитотоксичности до нормы в первую неделю; у 11 (22%) произошло снижение, но результат был выше порогового значения, и данные пациентки получили вторую инфузию жировой эмульсии, после которой нормализовались показатели у 10 женщин; только 4 пациента получили третью инфузию через 2 недели, тем самым результат был достигнут у всех и сохранялся на протяжении от 4 до 9 недель [15, 30].

Также эффективность интралипида показывают Acacio B. et al. (2008) в нерандомизированном ретроспективном исследовании 79 историй болезни, включая женщин с повторными неудачами имплантации при переносе более 4 эмбрионов и отрицательном тесте хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) (n=68), с привычным выкидышем (2 и более) (n=11) и с повышенной активностью NK-клеток. Частота наступления беременности после внутривенного введения интралипида 20% 2–4 мл составила 40% [34].

Ndukwe G. et al. (2011) провели плацебо-контролируемое исследование на женщинах (n=50) с повторной неудачей ЭКО (3 и более) и повышенным ответом цитокинов Th1. Им вводили интралипид 20% по схеме: первая внутривенная инфузия – между 4-м и 9-м днем стимуляции овуляции, вторая – при положительном тесте ХГЧ в течение недели. Частота клинической беременности составила 46%, в группе контроля – 8,7% [35].

Аналогичные данные привели Holschbach V. et al. (2014), которые включили в свое исследование 14 женщин с привычным выкидышем (n=4) и повторной неудачей имплантации (n=10) с активностью NK-клеток более 12%. Всем женщинам выполняли биопсию эндометрия, и маточные NK были идентифицированы методом иммуногистохимии (CD56). Интралипид 20% вводили по схеме: первая инфузия – в день пункции фолликулов или переноса эмбриона, вторая – после получения положительного теста на беременность. Далее жировую эмульсию вводили каждые 2 недели до 12 недель беременности. Беременность наступила у 9 женщин – были одни роды, один выкидыш и 7 беременностей продолжаются [36].

Kaul V. et al. (2014) провели ретроспективный анализ историй 76 пациенток с повторными неудачами имплантации (5 переносов и более, в среднем 9 попыток ЭКО, средний возраст 39 лет) с повышенной активностью NK-клеток (более 12%) и получили рост процента беременностей после введения интралипида на 20% [37]. El Khayat W., El Sadek M. (2015) провели рандомизированное плацебо-контролируемое исследование с участием 203 женщин с РРП (от 2 до 6 повторных неудач ЭКО, возраст женщин до 40 лет). Основной группе (n=101) вводили внутривенно интралипид в дозе 4 мл/кг по схеме: первая инфузия – между 4-м и 9-м днем стимуляции овуляции, а вторая – после положительного теста на ХГЧ. Авторы обнаружили статистически значимое увеличение частоты клинической беременности – 35% (15%), живорождения – 33% (13%) и имплантации – 13% (5%) [38].

Dakly D.M.R. (2016) вводил внутривенно интралипид 296 женщинам (144 – группы лечения, 152 – контроль) с вторичным бесплодием неясного генеза, привычными выкидышами (3 и более), нарушением имплантации и с повышенной активностью NK-клеток (больше 12%). Это исследование показало, что введение интралипида в день извлечения ооцитов ассоциировано со значимым увеличением частоты наступления биохимической беременности [39].

Meng L. et al. (2016) провели РКИ 76 женщин (с тремя спорадическими выкидышами до 12 недель, с активностью NK более 20%, средний возраст – 31,6 года). Интралипид вводили внутривенно на 3-й день менструального цикла и каждую неделю при наступлении беременности до 12 недель. Показано, что препарат Интралипид может использоваться в качестве альтернативного лечения ВВИГ (живорождения 70/76 (91%) – интралипид против 67/76 (88%) ВВИГ (p=0,4)) [40].

Предварительные результаты Кокрановского обзора были представлены на 34-м ежегодном совещании ESHRE в 2018 г., и на их основании было высказано предположение, что интралипид, вероятно, повышает частоту живорождения по сравнению с отсутствием лечения (OP 2,13; 95% CI 1,35–3,36) [41].

Слепое контролируемое исследование Sing N. et al. (2018) демонстрирует значительный эффект внутривенного введения интралипида на исходы беременности при ЭКО, но только после 1 неудачной попытки. В исследовании приняли участие 102 пациентки с неудачами имплантации в циклах ЭКО (1 и более) с хорошим качеством ооцитов. Интралипид 20% 4 мл/кг в 250 мл NaCl 0,9% вводили по схеме: первая доза – в день пункции фолликулов, вторая – за час до переноса эмбриона. Частота биохимической беременности составила 40,38% (16%), клинической беременности – 34,6% (14%), имплантации – 16,6% (6,6%), живорождения – 28,8% (10%) [42].

Ledee-Bataille N. et al. (2018) провели ретроспективное когортное исследование (n=94), вводили интралипид 20% внутривенно в 400 мл NaCl в течение 90 минут на 8-й день криоцикла и на 5-й и 9-й неделе аменореи женщинам (средний возраст 35,6 лет), у которых в анамнезе были повторные неудачи имплантации (n=80), хронический эндометрит и ЭКО с донорской яйцеклеткой (n=14). Срочные роды произошли у 54% женщин [26].

Ehrlich R. et al. (2019) в ретроспективном исследовании историй болезни 93 женщин с РРП показали увеличение клинической беременности в группе пациенток, получавших жировую эмульсию, – 40% (35%) [43].

Al-Zebeidi J. et al. (2020) в исследовании женщинам с повторными неудачами имплантации (3 и более) в программах ЭКО вводили интралипид 20% 100 мл в 500 мл NaCl 0,9% внутривенно по схеме: первая

доза – в день переноса эмбриона, вторая – в день положительного теста на ХГЧ. Частота клинической беременности была 36,6% (28,2%), живорождения – 18,3% (13%) [44].

Plaçais L. et al. (2020) в ретроспективном когортном исследовании на 26 женщинах с 3 и более неудачами имплантации и самопроизвольными выкидышами показали, что интралипид 20%, введенный по схеме: первая доза – на 8-й день менструального цикла, а далее – на 3, 5, 9-й неделях беременности, повышает частоту клинических беременностей и живорождения: 12/19 (63%) против 5/19 (26%) (p=0,005); 7 (70) против 3 (15) (p=0,005) для группы с повторными выкидышами; 5/9 (55%) против 2/6 (33%) (p=0,5) для группы с нарушением имплантации [14].

Другие авторы не показывают статистически значимой эффективности жировых эмульсий при РРП. Например, Check J.H. et al. (2016) показали, что введение интралипида 20% 4 мл/кг в 100 мл NaCl в течение 60 минут в середине фолликулярной фазы связано с отсутствием родов, тогда как в контрольной группе данный показатель составил 30%. В связи с этим авторы прекратили исследование. Скорее всего, данный результат связан с маленькой выборкой (n=4) и включением женщин с повторными репродуктивными неудачами (10 попыток ЭКО) старшего репродуктивного возраста (40–42 года) [45].

Hilsherfeld-Cytron J.E. et al. (2016) в ретроспективном когортном исследовании (n=127) указали, что Интралипид не повышает частоту живорождений у пациенток с многократными неудачами имплантации, но у 51,5% был положительный тест на ХГЧ, и у 37% женщин беременность пролонгировалась после 12 недель [46].

Gamaleldin I. et al. (2016) в двойном слепом рандомизированном контролируемом исследовании (n=100) не получили улучшения показателей живорождения и беременности у женщин с РРП, получавших интралипид 20% внутривенно по схеме: первая доза – на 6–7-й день до переноса эмбриона, вторая – после положительного теста на ХГЧ, по сравнению с плацебо [47].

В ретроспективном когортном исследовании Shirlow R.H. et al. (2016) оценивали все переносы эмбрионов у женщин с повторными неудачами имплантаций (n=11028) и не обнаружили статистической разницы биохимической, клинической беременности и живорождения с контрольной группой (n=10 483) [48].

Martini A.E. et al. (2018) в ретроспективном когортном исследовании (n=127) показали, что интралипид 20% 4 мл/кг в 250 мл NaCl 0,9% внутривенно со скоростью 50 мл/ч, увеличивая до 90–120 мл/ч, по схеме: первая доза – за 7–10 дней до переноса эмбриона, вторая – на 6-й неделе беременности и третья – на 10-й неделе беременности не улучшает показатели живорождения – 37% (47)/контроль – 40% (8) и не является экономически эффективным для пациентов с РРП, средним возрастом 36,1 года и повышенной активностью NK-клеток (более 10%). Тест $CD3^-CD56^+$-NK проводили за 2 недели до введения интралипида, а далее осуществляли контроль еженедельно после введения жировой эмульсии [49].

Deepika K. et al. (2019) в проспективном когортном исследовании (n=120) обнаружили минимальную эффективность интралипида у пациенток до 40 лет с повторными неудачами имплантации (4 неудачных переноса эмбриона и более) и с повышенной активностью NK-клеток матки по результатам биопсии эндометрия на 21-й день предшествующего переносу цикла [50].

В сети клиник репродуктивной иммунологии Bravermana оценивают более 80 иммунологических биомаркеров, изменения которых могут приводить к прерыванию беременности на ранних сроках; также все пациенты сдают анализ на уровень жирных кислот и соотношение ω-6/ω-3 и определяют, по какому пути развивается синтез эйкозаноидов из ПНЖК (провоспалительному или противовоспалительному). В зависимости от данных параметров женщин подразделяют на категории: низкий риск, средний риск и высокий риск и подбирают соответствующую дозировку ω-3 и ω-6 ПНЖК и путь введения для восстановления параметров перед переносом эмбрионов или попытками зачатия. Затем рекомендуют поддерживающую дозировку для группы низкого риска на протяжении всей беременности [51].

Использовались различные дозировки препарата «Интралипид», время начала лечения, частота и продолжительность введения. Кроме того, в исследованиях были использованы разные критерия включения и исключения. В ряд работ вошли только женщины с 3 и более выкидышами и неудачами имплантации [14], а в других работах были женщины с 1 и более выкидышем [42]; некоторые только изучали женщин с неудачами имплантации в циклах ЭКО [44]. В 10 исследованиях использовались повышенный уровень и цитотоксичность NK-клеток как критерий включения [15, 26, 30, 34, 36, 37, 39, 40, 49, 50], но даже пограничный уровень NK-клеток отличался в приведенных исследованиях (более 10% [30], более 12% [36]). Другие авторы назначали интралипид эмпирически, основываясь на данных анамнеза [38, 42–45, 47, 48]. Только в одном исследовании оценивали несколько иммунологических параметров перед введением инфузии [14].

В последний метаанализ Rimmer M.P. et al. (2021) было включено 5 рандомизированных исследований, в которых использовался интралипид 20% на момент переноса эмбриона в программе ЭКО (n=843), но с различиями в объеме и продолжительности лечения. В группе интралипида были более высокие шансы на клиническую беременность (172 против 119; соотношение риска [RR] 1,55; 95% CI 1,16–2,07; I2 44,2%) и живорождение (132 против 73; RR 1,83; 95% CI 1,42–2,35; I2 0%) после лечения [52].

Заключение

На сегодняшний день применение препарата «Интралипид» у пациенток с нарушениями репродуктивной функции остается off-label. Нет четких показаний, регламентов кратности проведения процедур.

Учитывая состав и механизм действия интралипида, его целесообразно вводить внутривенно для быстрого восполнения недостаточности незаменимых жирных

кислот (МКБ Е63.0). Данный путь введения показан женщинам при РРП, так как доказано, что ω-3 и ω-6 ПНЖК играют многогранную роль в созревании ооцитов, имплантации эмбрионов, в балансе про- и противовоспалительных цитокинов, снижении цитотоксичности NK-клеток. Известно, что накопленное депо эссенциальных ω-3 ПНЖК в преконцепционном периоде способствует оптимальному развитию мозга плода и органов зрения и, по данным многочисленных исследований, профилактирует развитие «больших акушерских синдромов». Положительный эффект терапии препаратом «Интралипид» у одних исследователей и отсутствие такого результата у других может быть объяснено еще и тем, что ни в одном исследовании не были определены исходные уровни ПНЖК, не было определено соотношение ω-6/ω-3 и индекс ω-3.

На данном этапе продолжаются исследования эффективности терапии препаратом «Интралипид» у пациентов при РРП, расширяется спектр определения иммунологических и биохимических параметров.

Литература/References

1. *Drakopoulos P., Errázuriz J., Santos-Ribeiro S., Tournaye H., Vaiarelli A., Pluchino N., Blockeel C., Polyzos N.P.* Cumulative live birth rates *in in-vitro* fertilization. Minerva Ginecol. 2019; 71(3): 207-10. https://dx.doi.org/10.23736/S0026-4784.18.04347-2.
2. *Donoso P., Staessen C., Fauser B.C., Devroey P.* Current value of preimplantation genetic aneuploidy screening in IVF. Hum. Reprod. Update. 2007; 13: 15-25. https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dml043.
3. *Lee E., Illingworth P., Wilton L., Chambers G.M.* The clinical effectiveness of preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy in all 24 chromosomes (PGD-A): systematic review. Hum. Reprod. 2015; 30(2): 473-83. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deu303.
4. *Van den Boogaard E., Hermens R.P.M.G., Franssen A.M.H.W., Doornbos J.P.R., Kremer J.A.M., van der Veen F., Goddijn M.* Recurrent miscarriage: do professionals adhere to their guidelines. Hum. Reprod. 2013; 28(11): 2898-904. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/det329.
5. *Mak W.* BMJ best practice topic. Yale recurrent pregnancy loss program. Yale School of Medicine, New Haven, CT. 2017. 46p.
6. *Сидельникова В.М., Сухих Г.Т.* Невынашивание беременности. М.: МИА; 2010. 534с. [Sidelnikova V.M., Sukhikh G.T. Miscarriage of pregnancy. M.; 2010. 534p. (in Russian)].
7. *Jeve Y.B., Davies W.* Evidence-based management of recurrent miscarriages. J. Hum. Reprod. Sci. 2014; 7(3): 159-69. https://dx.doi.org/10.4103/0974-1208.142475.
8. *Сидельникова В.М.* Невынашивание беременности – современный взгляд на проблему. Российский вестник акушера-гинеколога. 2007; 7(2): 62-4. [Sidelnikova V.M. Miscarriage – a modern view of the problem. Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist. 2007; 2: 62-5.(in Russian)].
9. *Серов В.Н., Сидельникова В.М., Жаров Е.В.* Привычное невынашивание беременности: современные представления о патогенезе, диагностике и лечении. Журнал Российского общества акушеров-гинекологов. 2008; 3: 28-41. [Serov V.N., Sidelnikova V.M., Zharov E.V. Habitual miscarriage: current understanding of the pathogenesis, diagnosis and treatment. M., 2008; 28-41. (in Russian)].
10. *Агаджанова А.А.* Современные методы терапии женщин с привычным невынашиванием беременности. Русский медицинский журнал. 2003; 1: 3-6. [Agadzhanova A.A. Modern methods of therapy for women with recurrent miscarriage. Russian medical journal. 2003; 1: 3-6. (in Russian)].
11. *Pandey M.K., Thakur S., Agrawal S.* Lymphocyte immunotherapy and its probable mechanism in the maintenance of pregnancy in women with recurrent spontaneous abortion. Arch. Gynecol. Obstet. 2004; 269(3): 161-72. https://dx.doi.org/10.1007/s00404-003-0560-3.
12. *Christiansen O., Larsen E., Egerup P., Lunoee L., Egestad L., Nielsen H.* Intravenous immunoglobulin treatment for secondary recurrent miscarriage: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. BJOG. 2015; 122(4): 500-8. https://dx.doi.org/10.1111/1471-0528.13192.
13. *Бельских А.Н., Костюченко А.Л., Жибурт Е.Б., Сизов Д.Н.* Новые возможности оценки эффективности экстракорпоральных методов гемокоррекции в лечении больных с острыми гнойно-деструктивными заболеваниями легких и плевры. Клиническая лабораторная диагностика. 1996; 1: 42-3. [Belskikh A.N., Kostyuchenko A.L., Zhiburt E.B., Sizov D.N. New possibilities for assessing the effectiveness of extracorporeal methods of hemocorrection. 1996; 1: 42-3. (in Russian)].
14. *Plaçais L., Kolanska K., Kraiem Y.B., Cohen J., Suner L., Bornes M.* et al. Intralipid therapy for unexplained recurrent miscarriage and implantation failure: Case-series and literature review. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2020; 252: 100-4. https://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.06.017.
15. *Roussev R.G., Ng S.C., Coulam C.B.* Natural killer cell functional activity suppression by intravenous immunoglobulin, intralipid and soluble human leukocyte antigen-G. Am. J. Reprod. Immunol. 2007; 57(4): 262-9. https://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0897.2007.00473.x.
16. *Guo F., Zhou M.-J., Zhang A.-J.* Advances in the treatment of recurrent implantation failure. Reprod. Dev. Med. 2017; 1: 123-6. https://dx.doi.org/10.4103/2096-2924.216860.
17. *Khan L., Qureshi V.F., Jabeen T., Qureshi S.A.* Use of intralipid in the management of recurrent implantation failure: An overview. J. Nat. Sci. Biol. Med. 2018; 9(2): 111-4. https://dx.doi.org/10.4103/jnsbm.JNSBM_246_17.
18. *Лейдерман И.Н., Ярошецкий А.И., Кокарев Е.А., Мазурок В.А.* Парентеральное питание: вопросы и ответы. Руководство для врачей. СПб.: Онли-Пресс; 2016. 191 с. [Leiderman I.N., Yaroshetskiy A.I., Kokarev E.A., Mazurok V.A. Parenteral Nutrition: Questions and Answers: A Guide for Physicians. SPb.: Onli-Press; 2016. 191 p. (in Russian)].
19. *Serhan C.N., Chiang N., Dalli J.* The resolution code of acute inflammation: Novel pro-resolving lipid mediators in resolution. Semin. Immunol. 2015; 27(3): 200-15. https://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2015.03.004.
20. *Gogos C.A., Kalfarentzos F.E., Zoumbos N.C.* Effect of different types of total parenteral nutrition on T-lympho- cyte subpopulations and NK cells. Am. J. Clin. Nutr. 1990; 51(1): 119-22. https://dx.doi.org/10.1093/ajcn/51.1.119.
21. *Ton M.N., Chang C., Carpentier Y.A., Deckelbaum R.J.* In vivo and in vitro properties of an intravenous lipid emulsion containing only medium chain and fish oil triglycerides. Clin. Nutr. 2005; 24(4): 492-501. https://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2005.03.001.
22. *Adolph M.* Lipid emulsions in total parenteral nutrition-state of the art and futureperspectives. Clin. Nutr. (Edinburgh, Scotland). 2001; 20: 11-4.
23. *Wachtler P., König W., Senkal M., Kemen M., Köller M.* Influence of a total parenteral nutrition enriched with omega-3 fatty acids on leukotriene synthesis of peripheral leukocytesan systemic cytokine levels in patients with major surgery. J. Trauma. 1997; 42(2): 191-8. https://dx.doi.org/10.1097/00005373-199702000-00004.
24. *Makrigiannakis A., Petsas G., Toth B., Relakis K., Jeschke U.* Recent advances in understanding immunology of reproductive failure. J. Reprod. Immunol. 2011; 90(1): 96-104. https://dx.doi.org/10.1016/j.jri.2011.03.006.
25. *Inagaki N., Stern C., McBain J., Lopata A., Kornman L., Wilkinson D.* Analysis of intra-uterine cytokine concentration and matrix-metalloproteinase activity in women with recurrent failed embryo transfer. Hum. Reprod. 2003; 18(3): 608-15. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deg139.
26. *Ledee-Bataille N., Bonnet-Chea K., Hosny G., Dubanchet S., Frydman R., Chaouat G.* Role of the endometrial tripod interleukin-18, -15, and -12 in inadequate uterine receptivity in patients with a history of repeated in vitro fertilization–embryo transfer failure. Fertil. Steril. 2005; 83(3): 598-605. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.11.021.
27. *Kwak-Kim J.Y.H., Chung-Bang H.S., Ng S.C., Ntrivalas E.I., Mangubat C.P., Beaman K.D.* et al. Increased T helper 1cytokine responses by

circulating T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple implantation failures after IVF. Hum. Reprod. 2003; 18(4): 767-73. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deg156.

28. *Karami N., Boroujerdnia M.G., Nikbakht R., Khodadadi A.* Enhancement of peripheral blood CD56(dim) cell and NK cell cytotoxicity in women with recurrent spontaneous abortion or in vitro fertilization failure. J. Reprod. Immunol. 2012; 95(1-2): 87-92. https://dx.doi.org/10.1016/j.jri.2012.06.005.
29. *Fukui A., Fujii S., Yamaguchi E., Kimura H., Sato S., Saito Y.* Natural killer cell subpopulations and cytotoxicity for infertile patients undergoing in vitro fertilization. Am. J. Reprod. Immunol. 1999; 41(6): 413-22. https://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0897.1999.tb00456.x.
30. *Roussev R.G., Acacio B., Ng S.C., Coulam C.B.* Duration of intralipid's suppressive effect on NK cell's functional activity. Am. J. Reprod. Immunol. 2008; 60(3): 258-63. https://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0897.2008.00621.x.
31. *Громова О.А., Торшин И.Ю.* Витамины и минералы: между Сциллой и Харибдой: о мисконцепциях и других чудовищах. М.: МЦНМО; 2013. 693с. [Gromova O.A., Torshin I.Yu. Vitamins and Minerals: Between Scylla and Charybdis: About Misconceptions and Other Monsters. M.; 2013. 764p. (in Russian)].
32. *Johnson P.M., Ramsden G.H., Chia K.V., Hart C.A., Farquharson R.G., Francis W.J.A.* A combined randomised double-blind and open study of trophoblast membrane infusion (TMI) in unexplained recurrent miscarriage. Cell. Mol. Biol. Mat. Fetal Relation. 1991; 212: 277-84.
33. *Clark D.A.* Intralipid as treatment for recurrent unexplained abortion? Am. J. Reprod. Immunol. 1994; 32(4): 290-3. https://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0897.1994.tb01128.x.
34. *Acacio B., Coulam C.B., Rinehart J.S., Rinehart L., Ng S.C., Roussev R., Parrett S.* Pregnancy outcome after intralipid infusion among women experiencing recurrent pregnancy loss. Fertil. Steril. 2008; 89(4, Suppl.): S11. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.02.034.
35. *Ndukwe G.* Recurrent embryo implantation failure after in vitro fertilisation: Improved outcome following intralipid infusion in women with elevated T Helper 1 response. Hum. Fertil. (Camb.). 2011; 14(2): 21-2.
36. *Holschbach V., Kuon R.J., Goeggl T., Daniel V., Weber M., Markert U.R.* et al. Intravenous lipid administration in RPL and RIF patients with elevated uterine natural killer cells. Hum. Reprod. 2014; 29(Suppl. 1): i1-i389. (Abstract book of the 30th ESHRE Annual Meeting, Munich, Germany, 29 June - 2 July 2014). https://dx.doi.org/10.1093/humrep/29.Supplement_1.1.
37. *Kaul V., Lolatgis N., Osianlis T., Sorby K., Vollenhoven B.* et al. The use of intralipid in IVF cycles in poor responders with repeated implantation failure who were positive for Natural Killer (NK) cells. Hum. Reprod. 2014; 29(Suppl. 1): i1-i389. (Abstract book of the 30th ESHRE Annual Meeting, Munich, Germany, 29 June–2 July 2014). https://dx.doi.org/10.1093/humrep/29.Supplement_1.1.
38. *El-Khayat W., El Sadek M.* Intralipid for repeated implantation failure (RIF): a randomized controlled trial. Fertil. Steril. 2015; 104(3, Suppl.): 26. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.07.080.
39. *Dakhly D.M.R., Bayoumi Y.A., Sharkawy M., Allah S.H.G., Hassan M.A., Gouda H.M.* et al. Intralipid supplementation in women with recurrent spontaneous abortion and elevated levels. Int. J. Gynaecol. Obstet. 2016; 135(3): 324-7. https://dx.doi.org/10.1016/j.ijgo.2016.06.026.
40. *Meng L., Lin J., Chen L., Wang Z., Liu M., Liu Y.* et al. Effectiveness and potential mechanisms of intralipid in treating unexplained recurrent spontaneous abortion. Arch. Gynecol. Obstet. 2016; 294(1): 29-39.
41. *Benschop L., Seshadri S., Toulis K.A., Vincent K., Child T., Granne I.E.* et al. Immune therapies for women with history of failed implantation undergoing IVF treatment. Cochrane Database Syst. Rev. 2012; (1): CD009602.
42. *Singh N., Davis A., Kriplani A., Kumar S.* Effect of administration of intravenous intralipid on implantation rate in women with implantation failure after IVF/ICSI: a randomized controlled trial. Hum. Reprod. 2014; 29(Suppl. 1): i1-i389. (Abstract book of the 30th ESHRE Annual Meeting, Munich, Germany, 29 June–2 July 2014). https://dx.doi.org/10.1093/humrep/29.Supplement_1.1.
43. *Ehrlich R., Hull M.L., Wajkley J., Sacks G.* Intralipid immunotherapy for repeated IVF failure. Fertil. Reprod. 2019; 1(4): 1-7. https://dx.doi.org/10.1142/S2661318219500178.
44. *Al-Zebeidi J., Agdi M., Lary S., Al-Obaid S., Salim G., Al-Jaroudi D.* Effect of empiric intravenous intralipid therapy on pregnancy outcome in women with unexplained recurrent implantation failure undergoing intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer cycle: a randomized controlled trial. Gynecol. Endocrinol. 2020; 36(2): 131-4. https://dx.doi.org/10.1080/09513590.2019.1631280.
45. *Check J.H., Check D.L.* Intravenous intralipid therapy is not beneficial in having a live delivery in women aged 40-42 years with a previous history of miscarriage or failure To conceive despite embryo transfer undergoing *in vitro* fertilization-embryo transfer. Clin. Exp. Obstet. Gynecol. 2016; 43(1): 14-5.
46. *Hirshfeld-Cytron J.E., Martini A., Jasulaitis S., Uhler M.L.* Does intralipid infusion improve outcomes in RPL (recurrent pregnancy loss)/RIF (recurrent implantation failure) patients undergoing IVF? Is it costeffective? Fertil Steril. 2016; 106(3): e342. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.07.968.
47. *Gamaleldin I., Lenguerrand E., Akande V., Fouad M.* Intralipid in women with recurrent implantation failure in IVF/ ICSI cycles. A double blinded randomised controlled trial. Hum Reprod. 2016; 31(Suppl. 1.1): i284-5. https://doi.org/10.1093/humrep/31.Supplement_1.1.
48. *Shirlow R.H., Healey M., Volovsky M., MacLachlan V.B., Vollenhoven B.J.* The effect of intralipid on pregnancy rates in in vitro fertilisation (IVF). Fertil. Steril. 2016; 106(3): e337-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.07.956.
49. *Martini A.E., Jasulaitis S., Fogg L.F., Uhler M.L., Hirshfeld-Cytron J.E.* Evaluating the utility of intralipid infusion to improve live birth rates in patients with recurrent pregnancy loss or recurrent implantation failure. J. Hum. Reprod. Sci. 2018; 11(3): 261-8. https://dx.doi.org/10.4103/jhrs.JHRS_28_18.
50. *Deepika K., Vohra A.* Uterine NK cell activity in recurrent implantation failure- role of intralipids. Fertil. Steril. 2019; 112(3, Suppl.): E105-6. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.07.396
51. BRI Reproductive immunology and endometriosis surgical centre [Электронный ресурс] URL: https://www.preventmiscarriage.com/reproductive-immunology.html (дата обращения: 27.07.2021).
52. *Rimmer M.P., Black N., Keay S., Quenby S., Al Wattar B.H.* Intralipid infusion at time of embryo transfer in women with history of recurrent implantation failure: A systematic review and meta-analysis. J. Obstet. Gynaecol. Res. 2021; 47(6): 2149-56. https://dx.doi.org/10.1111/jog.14763.

Поступила 14.05.2021
Принята в печать 11.10.2021
Received 14.05.2021
Accepted 11.10.2021

Сведения об авторах:
Беспалова Олеся Николаевна, д.м.н., заместитель директора по научной работе, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, shiggerra@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-6542-5953, eLibrary SPIN: 4732-8089, 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
Жернакова Татьяна Сергеевна, аспирант, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, tatazhernakova@gmail.com, 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

Authors' information:
Olesya N. Bespalova, MD, PhD, DSci (Medicine), Deputy Director for Research, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, shiggerra@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-6542-5953, eLibrary SPIN: 4732-8089, 3, Mendeleevskaya line, Saint-Petersburg, 199034, Russia.
Tatiana S. Zhernakova, graduate student, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, tatazhernakova@gmail.com, 3, Mendeleevskaya line, Saint-Petersburg, 199034, Russia.

©Коллектив авторов, 2021

А.Т. УРУЙМАГОВА, В.Н. ПРИЛЕПСКАЯ, Е.А. МЕЖЕВИТИНОВА, А.Е. ДОННИКОВ, П.Р. АБАКАРОВА, Э.Р. ДОВЛЕТХАНОВА, К.И. ГУСАКОВ, А.А. ОДЫВАНОВА

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ПРИЕМЛЕМОСТЬ ДВУХЭТАПНОЙ ТЕРАПИИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

Цель: *Оценить клинико-лабораторную эффективность, приемлемость и безопасность противорецидивной терапии кремом, содержащим в своем составе ацидофильные бактерии (Lactobacillus acidophilus), витаминно-минеральный белково-пептидный комплекс (Суперлимфлайф) у пациенток с бактериальным вагинозом (БВ).*

Материалы и методы: *Обследовано 116 женщин в возрасте от 18 до 49 лет с рецидивирующим БВ. Постановка диагноза осуществлялась на основании критериев Амселя. После оценки критериев включения и невключения в исследование вошли 100 женщин. Пациентки были разделены на 2 группы: в 1-ю группу вошли женщины с рецидивирующим БВ (n=50), которым была назначена одноэтапная терапия, пациенткам 2-й группы с рецидивирующим БВ (n=50) была назначена двухэтапная терапия с применением крема Ацилакт DUO. Комплексное исследование микрофлоры урогенитального тракта проводилось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Для оценки состояния локального (мукозального) иммунитета по уровню мРНК ключевых генов иммунного ответа использовался метод экспрессионного профилирования. В образце эпителиальных клеток учитывался уровень экспрессии 8 генов: IL-1β, IL-10, IL-18, TNF-α, TLR4, GATA3, CD68, B2M (ИммуноКвантэкс).*

Результаты: *Согласно полученным данным, у пациенток, получавших двухэтапную терапию, к 4-му визиту количество жалоб уменьшалось, в то время как после проведения одноэтапной терапии отмечалось их возвращение. По данным микроскопического исследования вагинальных мазков к 4-му визиту преобладание бактерий морфотипа Lactobacillus spp. и отсутствие «ключевых клеток» встречались чаще среди пациенток, получавших противорецидивную терапию, по сравнению с пациентками, получавшими одноэтапную терапию (p<0,05). Во 2-й группе женщин, получавших двухэтапную терапию, к 4-му визиту у 45 (90%) пациенток количество лактобактерий соответствовало норме, умеренное снижение лактобактерий было установлено у 2 (4%), значительное снижение – у 3 (6%), в то время как в 1-й группе к 4-му визиту нормальное количество лактобактерий наблюдалось у 22 (44%) женщин, умеренное снижение – у 16 (32%), значительное снижение – у 12 (24%). При анализе динамики изменения уровня экспрессии провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в каждой из групп на протяжении 4 визитов было выявлено, что в группе женщин, получавших двухэтапную терапию, наблюдалась тенденция к снижению провоспалительных маркеров и повышению противовоспалительных маркеров (p<0,05). В группе женщин, получавших одноэтапную терапию, наоборот, наблюдалось снижение уровня экспрессии противовоспалительных маркеров и повышение TLR4 и TNF-α по сравнению с этапом скрининга, в то время как уровень экспрессии IL-8, IL-10 и TLR2 снижался (p<0,05).*

Заключение: *Двухэтапная терапия с включением крема Ацилакт DUO повышает эффективность антибактериальной терапии при сочетанном применении за счет нормализации местного иммунного ответа, способствует более устойчивому восстановлению нормального соотношения представителей микробиоты влагалища, снижению частоты рецидивирования процесса.*

Ключевые слова: *вагинальная микрофлора, бактериальный вагиноз, рецидивирующий БВ, пробиотики, ацидофильные бактерии, Ацилакт DUO.*

Вклад авторов: Уруймагова А.Т., Прилепская В.Н., Межевитинова Е.А., Донников А.Е., Абакарова П.Р., Довлетханова Э.Р., Гусаков К.И., Одыванова А.А. – разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста рукописи.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование: Статья подготовлена без спонсорской поддержки.
Согласие пациенток на публикацию: Пациентки подписали информированное согласие на публикацию своих данных.
Обмен исследовательскими данными: Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Уруймагова А.Т., Прилепская В.Н., Межевитинова Е.А., Донников А.Е., Абакарова П.Р., Довлетханова Э.Р., Гусаков К.И., Одыванова А.А. Эффективность и приемлемость двухэтапной терапии рецидивирующего бактериального вагиноза. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 202-212
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.202-212

©A group of authors, 2021

A.T. URUIMAGOVA, V.N. PRILEPSKAYA, E.A. MEZHEVITINOVA, A.E. DONNIKOV, P.R. ABAKAROVA, E.R. DOVLETKHANOVA, K.I. GUSAKOV, A.A. ODYVANOVA

EFFICIENCY AND ACCEPTABILITY OF TWO-STAGE THERAPY FOR RECURRENT BACTERIAL VAGINOSIS

Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Objective: *To evaluate the clinical and laboratory efficiency, acceptability, and safety of anti-relapse therapy with a cream containing acidophilic bacteria (Lactobacillus acidophilus), vitamin-mineral protein-peptide complex (Superlimflife) in patients with bacterial vaginosis (BV)*

Materials and methods: *One hundred and sixteen women aged 18 to 49 years with recurrent BV were examined. The diagnosis was based on Amsel's criteria. After assessing the inclusion and exclusion criteria, 100 women were included in the study. The patients were divided into 2 groups: 1) 50 patients with recurrent BV who were prescribed one-stage therapy; 2) 50 patients with recurrent BV who were prescribed two-stage therapy using Acylact DUO cream. The urogenital tract microflora was comprehensively studied using real-time PCR. The expression profiling method was used to evaluate the state of local (mucosal) immunity by the mRNA expression levels of the key immune response genes. The expression level of 8 genes, such as IL-1β, IL-10, IL-18, TNFa, TLR4, GATA3, CD68, and B2M, was taken into account in the epithelial cell sample, by using the ImmunoQuantex kit.*

Results: *The findings suggest that the number of complaints in the patients who received two-stage therapy at Visit 4, while their recurrence occurred after one-stage therapy. Microscopic examination of vaginal smears by Visit 4 revealed that the predominance of the Lactobacillus spp. morphotype and the absence of key cells were more common in the patients receiving anti-relapse therapy than in those having one-stage therapy ($p<0.05$). In Group 2 women who received two-stage therapy by Visit 4, the number of lactobacilli in 45 (90%) women corresponded to the normal value, moderate and significant decreases in lactobacilli were found in 2 (4%) and 3 (6%) patients, respectively; while in Group 1 by Visit 4, the normal number of lactobacilli was observed in 22 (44%) women; moderate or significant decrease were seen in 16 (32%) and 12 (24%) patients, respectively. Analyzing the time course of changes in the expression level of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in each of the groups during 4 visits revealed that the women in the two-stage group had a tendency to decrease proinflammatory markers and to increase anti-inflammatory ones ($p<0.05$). On the contrary, the women having one-stage therapy showed a decrease in the expression level of anti-inflammatory markers and an increase in that of TLR4 and TNFA compared to the screening stage; while the expression level of IL8, IL10, and TLR2 decreased ($p < 0.05$).*

Conclusion: *Two-stage therapy using the Acylact DUO cream enhances the efficiency of antibacterial therapy in combined use due to the normalization of a local immune response, contributes to a more stable restoration of the normal representative ratio for the vaginal microbiota and to a decrease in the rate of the recurrent process.*

Keywords: *vaginal microflora, bacterial vaginosis, recurrent BV, probiotics, acidophilic bacteria, Acylact DUO.*

Authors' contributions: Uruimagova A.T., Prilepskaya V.N., Mezhevitinova E.A., Donnikov A.E., Abakarova P.R., Dovletkhanova E.R., Gusakov K.I., Odyvanova A.A.: development of the design of the investigation; obtaining the data for analysis; review of publications on the topic of the article; analysis of the findings; writing the text of the manuscript.
Conflicts of interest: The authors declare that there are no conflicts of interest.
Funding: The article has been prepared without sponsorship.
Patient Consent for Publication: All patients provided informed consent for the publication of their data.
Authors' Data Sharing Statement: The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Uruimagova A.T., Prilepskaya V.N., Mezhevitinova E.A., Donnikov A.E., Abakarova P.R., Dovletkhanova E.R., Gusakov K.I., Odyvanova A.A. Efficiency and acceptability of two-stage therapy for recurrent bacterial vaginosis. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 202-212 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.202-212

Организм человека населен сложными сообществами бактерий, грибов, простейших, которые являются индивидуальными для конкретных биологических ниш каждого человека (желудочно-кишечный, респираторный, урогенитальный тракты, кожа и др.). В 2012 г. стало известно, что геном человека состоит из 20 000–25 000 генов, в то время как геном всего микробного сообщества отдельного человека в несколько сотен раз больше и состоит из миллионов генов [1]. Большой вклад в осознание истинной роли микробиоты внес проект «Микробиом человека» (Human Microbiome Project), который был разделен на две фазы. В рамках 1-й фазы изучалась характеристика микробных сообществ различных локализаций человеческого организма. Показано, что изучения одного лишь таксономического состава микробиоты недостаточно. Это послужило основой для разработки 2-й фазы проекта, которая, помимо изучения качественно-количественного состава микробиоты, продемонстрирова-

ла большую роль нейроэндокринного, иммунного, метаболического состояния самого макроорганизма в реализации свойств микроорганизмов [1].

Результаты проекта в целом показали, что каждый человек несет свой собственный, в основном индивидуальный набор микробных штаммов, который приобретается сразу после рождения [2, 3] и имеет расовые и средовые различия [4], может претерпевать быстрые качественно-количественные изменения [5] или же оставаться относительно неизменным [6].

Одной из самых динамичных экосистем в организме женщины является микробиота влагалища. Ее нарушение играет ключевую роль в развитии ряда урогенитальных заболеваний в акушерско-гинекологической практике, таких как бактериальный вагиноз, аэробный вагинит, инфекции, передаваемые половым путем, инфекции мочевыводящих путей, воспалительные заболевания органов малого таза, неопластические процессы шейки матки, бесплодие, невынашивание беременности, хориоамнионит, преэклампсия, плацентарная недостаточность, послеродовый эндометрит, субинволюция матки и др. [7–9].

По мнению большинства ученых, ключевую роль в гомеостазе микробиоты влагалища играют бактерии, продуцирующие молочную кислоту, в основном *Lactobacillus spp.*, которые являются представителями резидентной вагинальной микрофлоры у женщин репродуктивного возраста и составляют 80–90% всего пула микроорганизмов влагалища. На долю условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) остается всего 10–20% [10]. По мере созревания клетки многослойного плоского эпителия накапливают гликоген, который ферментируется *Lactobacillus spp.* в процессе их жизнедеятельности до молочной кислоты, способствуя установлению pH влагалищного содержимого <4,5, что создает неблагоприятные условия для роста условных и абсолютных патогенов [10].

Наиболее ярким примером нарушения микробиоты влагалища является БВ (полимикробный невоспалительный синдром, возникающий в результате замены нормальной микробиоты влагалища (различных видов *Lactobacillus spp.*, продуцирующих молочную кислоту и перекись водорода) на повышенную генерацию многочисленных видов облигатных и факультативных анаэробных микроорганизмов (*Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Bacteroides spp.*, *Prevotella spp.*, *Mobiluncus spp.*, *Mycoplasma hominis* и др.) [10]. Патологические вагинальные выделения, характерные для БВ, – частая причина обращения женщины к врачу.

В поддержании нормобиоценоза, помимо качественно-количественного состава микробиоты, большую роль также играет иммунный, нейроэндокринный и метаболический фон самого макроорганизма. Предполагается, что именно иммунная система определяет исход заболевания, следовательно, внимание необходимо уделять не только состоянию микробиоценоза влагалища, но и оценке местного иммунного статуса [1].

Важным компонентом местной иммунной защиты влагалища являются цитокины. Они продуцируются различными клетками, присутствуют в вагинальном секрете в виде провоспалительных (ФНО-α, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-12) и противовоспалительных (IL-4, IL-10, TGFβ) цитокинов [11] и являются не только эндогенными регуляторами иммунных реакций, но и ключевыми факторами, инициирующими развитие дисбиотических процессов различной локализации. При сбалансированной работе факторов врожденного иммунитета происходит активация адаптивного иммунитета, в результате чего достигается нормоценоз. Недостаточность факторов врожденного иммунитета может привести к хронизации и персистированию инфекции [12].

На сегодняшний день, в соответствии с методическими рекомендациями Центра по контролю и профилактике инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), США (CDC, 2021), рекомендациями европейского руководства (IUSTI, 2018), Российскими рекомендациями по диагностике и лечению заболеваний, сопровождающихся патологическими выделениями из половых путей (РОАГ, 2019), лечение показано только женщинам с симптомным течением БВ [13]. По всей видимости, это является оправданным, поскольку существуют здоровые женщины с типом бактериального сообщества, который характеризуется преобладанием анаэробов, что обусловлено генетическими особенностями иммунной системы макроорганизма [14].

Лечение бессимптомных пациенток с результатами лабораторных методов обследования, соответствующих БВ, показано пациенткам, планирующим хирургические операции на влагалище, шейке матки, матке, ее придатках, и беременным женщинам с преждевременными родами или поздним выкидышем в анамнезе [15].

Основным терапевтическим направлением при БВ является, с одной стороны, снижение числа и разнообразия строгих и факультативных анаэробных УПМ, с другой – восстановление доминирования *Lactobacillus spp.* (пробиотики, иммунокоррекция, восстановление pH влагалища). Имевшееся в прошлые десятилетия стремление к «полной санации» слизистых может привести к последующему инфицированию прежними или более вирулентными микроорганизмами [16].

Во всем мире врачи стремятся использовать антибактериальные препараты согласно актуальным гайдлайнам и принципам глобальной компании ВОЗ по борьбе с антибиотикорезистентностью. В соответствии с рекомендациями по лечению ИППП (CDC, 2021) лечение БВ проводится одноэтапно метронидазолом перорально/интравагинально или клиндамицином интравагинально. Альтернативные схемы лечения БВ включают несколько режимов применения тинидазола и клиндамицина перорально, а также деквалиния хлорида интравагинально [13, 15, 17]. Однако антимикробная терапия при БВ часто не обеспечивает стойкого эффекта, и перед учеными и врачами стоит проблема высокого процента его рецидивирования [18]. Так, по данным различных авторов, процент рецидивирования БВ сразу после лечения составляет 15–30%, достигая 58–80% спустя год после терапии [19].

К сожалению, этиология и патогенез рецидивирующих вагинальных инфекций изучены далеко не полностью. Интерес представляют факторы риска рецидивирования БВ, опубликованные в американском обзоре научной литературы по данной теме (2020) [20]. К ним относятся: наличие или отсутствие постоянного полового партнера, персистирование БВ-ассоциированных бактерий в биопленке, колонизация *de novo*, наличие резервуаров БВ-ассоциированных бактерий вне влагалища, несоблюдение схем терапии и формирование патологических биоценозов вследствие необоснованного лечения несуществующих заболеваний (фактически неправильной трактовки результатов лабораторных исследований). Кроме того, к факторам риска можно отнести отсутствие восполнения количества *Lactobacillus spp.*, т.е. невозвращение после лечения к оптимальному составу микробиома, в котором доминируют лактобациллы, и неполноценность местной иммунной защиты.

В связи с этим были разработаны препараты, главной целью которых явилось восстановление доминирования лактобактерий. Многими мировыми экспертами был признан «русский» метод двухэтапной терапии лечения БВ с применением пробиотиков с целью предотвращения развития рецидивов [15, 21].

Пробиотики – это живые бактерии, которые формируют здоровую микрофлору. Используются при лечении иммунных заболеваний, авитаминоза, дисбактериоза. К ним относятся, в том числе, и лактобактерии. Пробиотики конкурируют за питательные вещества с патогенами, приводят к изменению местного pH, что создает неблагоприятную среду для патогенов, уничтожают супероксидные радикалы, стимулируют эпителиальную продукцию муцина, усиливают барьерную функцию, конкурируют с патогенами за адгезию, модифицируют токсины патогенных микроорганизмов.

Накоплен большой опыт применения пробиотиков. В ряде исследований [22] показана их эффективность. Недавний систематический обзор и метаанализ показали, что применение пробиотиков в комплексе с основной терапией обеспечивает снижение разнообразия вагинальной микрофлоры и рост популяции *Lactobacillus spp.*, нарушение структуры патогенных биопленок, что приводит к повышению эффективности лечения [23]. Кроме этого, в литературе имеются данные о содружественном влиянии *Lactobacillus spp.* и факторов местного иммунитета на слизистую влагалища: *Lactobacillus spp.* могут регулировать уровень иммунного ответа, выступая в роли его естественного стимулятора. Это происходит за счет активации локальных макрофагов, В-клеточного иммунитета, выработки клетками эпителия влагалища комплемента, лизоцима, секреторного IgA, модуляции цитокинового профиля [24].

Однако вопрос применения пробиотиков при лечении БВ постоянно обсуждается. Опубликованные исследования разнятся по качеству выполнения. Все рекомендации по пробиотикам имеют слабую силу. К тому же нет достаточных доказательств противорецидивной эффективности препаратов, содержащих пробиотики и факторы местного иммунитета [25]. Более того, в литературе недостаточно таких исследований. Поэтому для подкрепления имеющихся данных требуются новые высококачественные исследования, основанные на применении пробиотиков у большого количества пациенток при лечении БВ.

Цель исследования: оценить клинико-лабораторную эффективность, приемлемость и безопасность противорецидивной терапии кремом, содержащим в своем составе ацидофильные бактерии (*Lactobacillus acidophilus*), витаминно-минеральный белково-пептидный комплекс (Суперлимфлайф) у пациенток с БВ.

Исследование было одобрено Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Материалы и методы

На базе научно-поликлинического отделения ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России были обследованы 116 женщин в возрасте от 18 до 49 лет (средний возраст обследуемых составил 31,4±5,95 года). Пациентки обратились с жалобами на обильные выделения из половых путей, в некоторых случаях сопровождающиеся неприятным «рыбным» запахом, дискомфортом во влагалище, зудом. Всем пациенткам, согласно критериям Амселя, поставлен диагноз «бактериальный вагиноз». У всех пациенток отмечались обострения БВ (4 и более эпизода) в течение последнего года.

Было проведено комплексное клинико-лабораторное обследование, включающее сбор и анализ анамнестических данных, гинекологическое обследование, определение pH влагалищной среды, тест с KOH, микроскопическое исследование мазков отделяемого влагалища, комплексное исследование микрофлоры урогенитального тракта методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени (количественная оценка состояния биоценоза), оценку состояния локального иммунитета по уровню мРНК ключевых генов иммунного ответа. Методом ПЦР в режиме реального времени определяли наличие абсолютных патогенов (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, вирус простого герпеса (ВПГ) 1, 2 типов, цитомегаловирус (ЦМВ)) у всех пациенток, включенных в исследование. Наличие патогенов являлось основанием для исключения пациентки из исследования.

Критериями включения в исследование явились: возраст пациенток от 18 до 49 лет (репродуктивный возраст), подтвержденный диагноз БВ на основании критериев Амселя, отсутствие ИППП, желание и способность пациентки выполнять рекомендации врача, подписание информированного согласия пациенткой на участие в исследовании.

Критерии невключения: применение антибактериальной, иммуномодулирующей и гормональной терапии в течение 30 дней до исследования, наличие аутоиммунных заболеваний, в т.ч. сахарного

диабета, соматических заболеваний в стадии декомпенсации, онкологических заболеваний, ожирения, эндокринных нарушений; активного туберкулеза, вирусных гепатитов, ВИЧ-инфекции, дисплазии шейки матки тяжелой степени, рака шейки матки *in situ*, беременности и лактации в настоящее время.

Диагноз устанавливался на основании наличия 3 из 4 критериев Амселя, перечисленных ниже:

1) наличие гомогенных беловато-серых выделений, равномерно распределяющихся по стенкам влагалища;

2) повышение уровня влагалищного pH >4,5 (pH-метрия – обязательный метод диагностики);

3) положительный тест с 10% раствором KOH (появление или усиление специфического запаха несвежей, гнилой рыбы) – определение летучих аминов;

4) обнаружение в нативных препаратах или мазках, окрашенных по Граму, «ключевых клеток».

При гинекологическом осмотре пациенток на всех этапах исследования оценивались такие клинические признаки, как наличие/отсутствие гиперемии слизистой оболочки стенок влагалища и вульвы, отечность, характер выделений (цвет, консистенция, количество, запах).

pH-метрию содержимого заднего свода влагалища проводили с помощью индикаторных полосок УриpH-1 («Биосенсор АН», Россия) – от 3,5 до 7,5, с шагом деления 0,5. Аминный тест считался положительным при появлении или усилении неприятного запаха несвежей рыбы при смешивании 10% раствора KOH и влагалищного отделяемого.

При микроскопическом исследовании нативного и/или окрашенного по Граму влагалищного отделяемого, полученного с верхней трети боковых сводов влагалища, оценивались количество лейкоцитов, эпителиальных клеток, количество и морфологический тип бактерий, наличие/отсутствие «ключевых клеток», представляющих собой эпителиоциты влагалища с плотно прикрепленными (адгезированными) по их поверхности грамвариабельными микроорганизмами, а также наличие/отсутствие ряда специфических возбудителей, таких как грибы рода *Candida*, трихомонады и гонококки.

Для выделения ДНК микроорганизмов при комплексном исследовании микрофлоры урогенитального тракта методом ПЦР в режиме реального времени (количественная оценка состояния биоценоза) использовались наборы «Проба ГС» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Метод основан на сорбции ДНК на носителе (сорбенте), отмывке примесей с последующей элюцией нуклеиновых кислот с сорбента. Амплификация осуществлялась на приборе «ДТ-964» («ДНК-Технология», Россия) с измерением уровня флуоресценции на каждом цикле амплификации по каналам FAM, HEX, ROX. При количественной оценке биоценоза влагалища учитывали: общее количество бактерий, количество *Lactobacillus spp.* и 14 основных групп микроорганизмов, представляющих условно-патогенную флору, включая факультативно-анаэробные *(Enterobacterium spp., Streptococcus spp., Staphylococcus spp.)*, облигатно-анаэробные микроорганизмы *(Gardnerella vaginalis, Prevotella spp., Porphyromonas spp., Eubacterium spp., Sneathia spp., Leptotrichia spp., Fusobacterium spp., Megasphaera spp., Veillonella spp., Dialister spp., Lachnobacterium spp., Clostridium spp., Mobiluncus spp., Corynebacterium spp., Peptostreptococcus spp., Atopobium vaginae)*, а также *Candida spp., Ureaplasma spp., Mycoplasma hominis, Mycoplasma genitalium*. При оценке состава условно-патогенной флоры учитывались не только ее присутствие, но и количество по отношению к общей бактериальной массе (ОБМ). Также определялось количество лактобактерий по отношению к ОБМ.

Как абсолютный нормоценоз рассматривался вариант биоценоза, при котором доля нормофлоры *(Lactobacillus spp.)* составляла более 80% по отношению к общему количеству бактерий. Анаэробный дисбиоз расценивался как дисбаланс микробиоты, обусловленный одним или несколькими облигатно-анаэробными УПМ в количестве более 20% по отношению к общему количеству бактерий и долей нормофлоры менее 80%.

У всех исследуемых пациенток исключалось наличие патогенов *Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Trichomonas vaginalis* методом ПЦР с помощью комплекта реагентов «TNC Комплекс»; вирусов: ВПГ 1, 2 типов, ЦМВ (с помощью комплекта реагентов «ГерпесКомплекс»).

Для оценки состояния локального (мукозального) иммунитета по уровню мРНК ключевых генов иммунного ответа использовался метод экспрессионного профилирования. Для определения уровня экспрессии мРНК генов иммунной системы взятие материала осуществляли с боковых стенок влагалища. Для выделения нуклеиновых кислот использовали наборы «Проба НК». В образце эпителиальных клеток учитывался уровень экспрессии 8 генов: *IL-1β, IL-10, IL-18, TNF-α, TLR4, GATA3, CD68, B2M* (ИммуноКвантэкс). Полученный экспрессионный профиль сравнивался с профилем, характерным для локального воспаления. Заключение о наличии локальной воспалительной реакции проводилось на основании расчета значения индекса воспаления (ИВ), проводимого программным обеспечением детектирующего амплификатора в автоматическом режиме. Пороговое значение вероятности воспаления составило 60% (p=60%). При расчете показателя p у 16 пациенток значение оказалось более 60% и было расценено как маркер вагинита, в связи с чем данные пациентки были исключены из исследования.

Таким образом, после оценки критериев включения и невключения в исследование вошли 100 женщин. Рандомизация пациенток осуществлялась при помощи таблицы случайных чисел. Пациентки были разделены на 2 группы: в 1-ю группу вошли женщины с рецидивирующим БВ (n=50), которым была назначена одноэтапная терапия, пациенткам 2-й группы с рецидивирующим БВ (n=50) была назначена двухэтапная терапия.

Пациентки 1-й группы получали одноэтапную терапию комплексным препаратом местного действия, содержащим метронидазол 500 мг и миконазо-

ла нитрат 100 мг, – 1 свеча 2 раза в день в течение 7 дней. Выбор в пользу этого препарата был сделан на основании имеющихся данных о большей частоте развития вульвовагинального кандидоза (ВВК) у пациенток, применяющих метронидазол [26], а добавление миконазола нитрата к метронидазолу приводит к снижению риска развития ВВК.

Пациенткам 2-й группы в качестве противорецидивной терапии после окончания первого этапа лечения был назначен крем, содержащий в своем составе ацидофильные бактерии (*Lactobacillus acidophilus*) и витаминно-минеральный белково-пептидный комплекс Суперлимфлайф (Ацилакт DUO), оказывающий стимулирующее действие на функциональную активность клеток фагоцитарного ряда (моноциты и нейтрофилы), а именно выработку цитокинов (ИЛ-1, ФНО), индукцию противоопухолевой цитотоксичности макрофагов, регуляцию миграции клеток в очаг воспаления, увеличение активности естественных киллеров. Кроме того, препарат обладает пролиферирующим действием на фибробласты, что обуславливает регенерацию и эпителизацию раневых дефектов, обладает антиоксидантной активностью, снижает развитие воспалительных реакций.

Крем использовался интравагинально 1 раз в сутки в течение 10 дней согласно рекомендованной схеме, указанной в инструкции по медицинскому применению.

Клиническое и лабораторное обследование пациенток проводилось четырехкратно.

- 1-й визит включал сбор анамнеза, жалоб пациентки, гинекологический осмотр, измерение pH влагалищного содержимого, оценку теста с 10% раствором КОН, забор материала с последующим проведением лабораторных методов исследования. По результатам обследования, после постановки предварительного и окончательного диагноза БВ всем пациенткам назначался первый этап терапии.
- 2-й визит осуществлялся через 7–10 дней после окончания 1-го этапа терапии у пациенток обеих групп с оценкой его эффективности (клинической и лабораторной), переносимости, наличия или отсутствия нежелательных явлений. Пациенткам 2-й группы назначался 2-й этап терапии.
- 3-й визит проводился через 1 месяц после окончания одноэтапной терапии у пациенток 1-й группы и через 1 месяц после окончания двухэтапной терапии у пациенток 2-й группы и включал клинико-лабораторное обследование пациенток с целью оценки эффективности терапии, наличия или отсутствия рецидивов в обеих группах.
- 4-й визит предусматривал клинико-лабораторное обследование пациенток через 3 месяца после окончания лечения с оценкой эффективности терапии и частоты рецидивирования заболевания в обеих группах.

Регистрировались нежелательные явления, имеющие место в обеих группах на всех этапах наблюдения.

Статистический анализ

Статистический анализ фактического материала был выполнен с применением программ Excel Microsoft 8.0, Statistica for Windows 6.0 по стандартным методикам вычислений показателей описательной статистики. Проверка выборок на нормальность распределения осуществлялась при помощи теста Колмогорова–Смирнова. Сравнения производились с применением t-критерия Стьюдента и критерия Уилкоксона для зависимых выборок. Для анализа различия частот признаков в независимых группах использовался критерий χ^2 с поправкой Йейтса.

Результаты

Согласно результатам, большинство обследованных женщин (n=75; 75%) находились в раннем репродуктивном возрасте. Средний возраст пациенток составил 33,6 года (95% ДИ 32,67–34,57; min – 19; max – 48; Me – 32,9). Среди сопутствующих нозологий у женщин 1-й группы были указаны хронический цистит (15,3%), хронический пиелонефрит (16,7%), хронический тонзиллит (17,7%), дискинезия желчевыводящих путей (18%), синдром раздраженного кишечника (10%), апоплексия яичника (7,9%), эндометриоз (5,3%). Во 2-й группе: хронический цистит (16,1%), хронический пиелонефрит (15,1%), хронический тонзиллит (16,3%), дискинезия желчевыводящих путей (17,3%), синдром раздраженного кишечника (9,5%), апоплексия яичника (8,1%), эндометриоз (4,9%). Количество беременностей в 1-й группе пациенток варьировало от 0 до 6 и в среднем составило 3,7±0,6; количество родов – 2,5±0,4; количество абортов – 3,9±0,7. У пациенток 2-й группы количество беременностей составило от 0 до 7, в среднем – 4,1±0,5; количество родов – 2,8±0,5; количество абортов – 4,2±0,6. К периоду наблюдения все обследуемые женщины вели активную половую жизнь. Число половых партнеров у обследованных женщин варьировало от 1 до 10 за всю жизнь и в среднем составило 5,6±0,6; количество партнеров за последний месяц в среднем составило 1,2±0,4 (от 1 до 3). Частота половых актов за неделю составляла от 1 до 8, в среднем – 2,4±1,2. Анализируя семейное положение, отмечено, что в браке состояли 87 пациенток (87%): 42 (42%) в 1-й группе; 45 (45%) во 2-й группе; 13 (13%) пациенток были не замужем: 8 (8%) в 1-й группе и 5 (5%) – во 2-й. Таким образом, при изучении всех анамнестических данных не было выявлено статистической разницы между пациентками 1-й и 2-й групп (p>0,05).

Результаты оценки жалоб на момент первичного приема продемонстрировали, что большинство пациенток – 91 (91%) отмечали выделения из половых путей: 35 (35%) пациенток – умеренные, 56 (56%) – обильные. Неприятный «рыбный» запах отмечался у 53 (53%) женщин: у 25 (25%) при применении пробы с 10% раствором КОН запах появлялся, у 28 (28%) – усиливался. Жалобы на дискомфорт во влагалище отмечали 64 (64%) пациентки, зуд в области наружных половых органов

и во влагалище – 15 (15%). Анализ клинических проявлений БВ при включении в исследование статистической разницы между группами не выявил.

У всех (100%) пациенток уровень pH влагалищного отделяемого составил более 4,5: средний уровень pH – 5,6, min – 4,8, max – 7,0, Me – 5,3. При анализе результатов микроскопического исследования вагинальных мазков было выявлено, что у пациенток обеих групп в мазках количество лейкоцитов не превышало 10 в п/зр., преобладали мелкие грамвариабельные и грамотрицательные кокки, изогнутые грамвариабельные палочки. «Ключевые» клетки были обнаружены у 85 (85%) пациенток, включенных в исследование. Таким образом, при постановке диагноза БВ 4 критерия Амселя были обнаружены у 89 (89%) пациенток, в то время как у 11 (11%) женщин наблюдалось только 3 из 4 критериев. Чаще всего встречался критерий повышения уровня влагалищного pH>4,5 (в 100% случаев); наличие гомогенных беловато-серых выделений определялось у 91 (91%) пациентки, ключевые клетки при микроскопическом исследовании мазка влагалищного отделяемого обнаруживались у 85 (85%) женщин, у 53 (53%) пациенток отмечался положительный тест с 10% раствором KOH.

Оценка динамики жалоб была проведена внутри каждой группы до назначения терапии, через 7 дней после окончания первого этапа терапии, через 1 месяц и через 3 месяца после окончания терапии. Динамика клинических данных по группам представлена в таблицах 1 и 2.

Согласно полученным данным, у пациенток, получавших двухэтапную терапию, к 4-му визиту количество жалоб уменьшалось, в то время как после проведения одноэтапной терапии отмечалось их возвращение.

При анализе уровня pH влагалищного отделяемого среди пациенток 1-й группы было выявлено, что на 1-м визите уровень pH >4,5 наблюдался у 50 (100%) пациенток, на 2-м – у 8 (16%), на 3-м – у 12 (24%); к 4-му визиту количество пациенток с уровнем pH>4,5 составило 20 (40%). Во 2-й группе пациенток на 1-м визите уровень pH>4,5 определялся у 50 (100%) пациенток, на 2-м и 3-м визитах – у 7 (14%), на 4-м визите – у 8 (16%). Имеющиеся различия между группами были статистически значимыми ($p<0,05$). Согласно полученным данным, во 2-й группе к 4-му визиту количество женщин с уровнем pH>4,5 было ниже, чем в 1-й группе ($p<0,05$).

Проведен сравнительный анализ параметров микроскопического исследования вагинальных мазков пациенток обеих групп. У всех пациенток уровень лейкоцитов был в пределах нормы. В 1-й группе преобладание грамположительных палочек над грамвариабельными палочками и кокками встречалось у 15 (30%) пациенток, отсутствие «ключевых клеток» – у 24 (48%). Во 2-й группе к 4-му визиту преобладание грамположительных палочек над грамвариабельными палочками и кокками было выявлено у 45 (90%) пациенток, отсутствие «ключевых клеток» – у 48 (96%). Таким образом, по данным микроскопического исследования вагинальных мазков, к 4-му визиту преобладание бактерий морфотипа *Lactobacillus spp.* и отсутствие «ключевых клеток» встречались чаще среди пациенток, получавших противорецидивную терапию, по сравнению с пациентками, получавшими одноэтапную терапию ($p<0,05$).

При сравнительной оценке результатов комплексного исследования микробиоты урогенитального тракта методом ПЦР в режиме реального времени среди пациенток 1-й и 2-й групп при 1-м обращении наблюдалось нарушение микробиоты за счет преобладания облигатно-анаэробных УПМ и снижения количества *Lactobacillus spp.* Среди пациенток 1-й группы на 1-м визите БВ был выявлен у 50 (100%) женщин, на 2-м – у 10 (20%), на 3-м – у 15 (30%), на 4-м – у 28 (56%). Среди пациенток 2-й группы на 1-м визите преобладание облигатно-анаэробных УПМ над *Lactobacillus spp.* наблюдалось у 50 (100%) женщин, на 2-м – у 12 (24%), на 3-м – у 6 (12%); на 4-м – у 5 (10%).

Таблица 1. Динамика жалоб у пациенток 1-й группы (после назначения одноэтапной терапии), *n*=50

Предъявляемые жалобы	Визит 1	Визит 2	Визит 3	Визит 4
Выделения из половых путей	48 (96%)	6 (12%)*	14 (28%)*	30 (60%)*
Неприятный, «рыбный» запах влагалищных выделений	22 (44%)	2 (4%)*	7 (14%)*	14 (28%)*
Дискомфорт во влагалище	36 (72%)	3 (6%)*	11 (22%)*	21 (42%)*
Зуд во влагалище	8 (16%)	1 (2%)*	2 (4%)*	4 (8%)*

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с первым визитом.

Таблица 2. Динамика жалоб у пациенток 2-й группы (после назначения двухэтапной терапии), *n*=50

Предъявляемые жалобы	Визит 1	Визит 2	Визит 3	Визит 4
Выделения из половых путей	43 (86%)	7 (14%)*	8 (16%)*	10 (20%)*
Неприятный, «рыбный» запах влагалищных выделений	31 (62%)	4 (8%)*	3 (6%)*	5 (10%)*
Дискомфорт во влагалище	28 (56%)	4 (8%)*	5 (10%)*	6 (12%)*
Зуд во влагалище	7 (14%)	2 (4%)*	3 (6%)*	2 (4%)*

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с первым визитом.

Оценка динамики изменения количества лактобактерий внутри каждой группы представлена в таблицах 3 и 4. Подробный анализ динамики выявления УПМ в группах исследования представлен в таблицах 5 и 6. Значимой считали концентрацию микроорганизмов более 10% ОБМ.

Согласно полученным данным, можно предположить, что применение двухэтапной терапии способствует более устойчивому восстановлению нормальных показателей лактофлоры. Так, во 2-й группе женщин, получавших двухэтапную терапию, к 4-му визиту у 45 (90%) пациенток количество лактобактерий соответствовало норме, умеренное снижение лактобактерий было установлено у 2 (4%), значительное снижение – у 3 (6%), в то время как в 1-й группе к 4-му визиту нормальное количество лактобактерий наблюдалось у 22 (44%) женщин, умеренное снижение – у 16 (32%); значительное снижение – у 12 (24%).

В ходе исследования были изучены транскрипционные профили генов иммунного ответа во влагалищных мазках женщин 1-й и 2-й групп на всех визитах. Анализ уровня мРНК генов провоспали-

Таблица 3. Динамика изменения количества лактобактерий в 1-й группе пациенток, *n*=50

Количество лактобактерий, %	Визит 1	Визит 2	Визит 3	Визит 4
Норма (80–100)	2 (4%)	40 (80%)	35 (70%)	22 (44%)*
Умеренно снижено (20–80)	26 (52%)	5 (10%)	9 (18%)	16 (32%)*
Значительно снижено (<20)	22 (44%)	5 (10%)	6 (12%)	12 (24%)*

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с первым визитом.

Таблица 4. Динамика изменения количества лактобактерий во 2-й группе пациенток, *n*=50

Количество лактобактерий, %	Визит 1	Визит 2	Визит 3	Визит 4
Норма (80–100)	1 (2%)	38 (76%)	44 (88%)	45 (90%)*
Умеренно снижено (20–80)	29 (58%)	5 (10%)	2 (4%)	2 (4%)*
Значительно снижено (<20)	20 (40%)	7 (14%)	4 (8%)	3 (6%)*

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с первым визитом.

Таблица 5. Динамика выявления УПМ в 1-й группе пациенток, *n*=50**

УПМ	Визит 1		Визит 2		Визит 3		Визит 4	
	n	%	*n*	%	*n*	%	*n*	%
Аэробы								
Enterobacterium spp.	3	6	2	4	1	2	2	4*
Streptococcus spp.	5	10	5	10	4	8	5	10*
Staphylococcus spp.	7	14	5	10	6	12	6	12*
Анаэробы								
Gard/Pre/Porph	41	82	10	20	18	36	25	50*
Eubacterium spp.	21	42	14	28	10	20	12	24*
Sne/Lept/Fuso	11	22	5	10	8	16	8	16*
Mega/Veil/Dial	7	14	5	10	6	12	8	16*
Lachno/Clost	9	8	6	12	5	10	11	22*
Mobi/Coryne	10	20	4	8	3	6	7	14*
Peptostrept.	16	32	6	12	7	14	10	20*
Atopobium vaginae	25	50	19	36	20	40	22	44*
Mycoplasma spp.	5	10	3	6	3	6	4	8*
Ureaplasma spp.	11	22	7	14	6	12	10	20*

*$p<0,05$;
** При расчете динамики выявления УПМ в течение всего периода наблюдения значимой считали концентрацию микроорганизмов более 10% общей бактериальной массы.

Таблица 6. Динамика выявления УПМ во 2-й группе пациенток, *n*=50**

УПМ	Визит 1		Визит 2		Визит 3		Визит 4	
	n	%	*n*	%	*n*	%	*n*	%
Enterobacterium spp.	5	10	4	8	3	6	4	8*
Streptococcus spp.	5	10	4	8	4	8	4	8*
Staphylococcus spp.	6	12	5	10	4	8	6	12*
Gard/Pre/Porph	43	86	12	24	13	26	15	30*
Eubacterium_spp.	19	38	13	26	10	20	5	10*
Sne/Lept/Fuso	10	20	5	10	5	10	6	12*
Mega/Veil/Dial	8	16	6	12	3	6	2	4*
Lachno/Clost	10	20	7	14	7	14	5	10*
Mobi/Coryne	10	20	5	10	2	4	3	6*
Peptostrept.	14	28	9	18	9	18	6	12*
Atopobium vaginae	23	46	17	34	12	24	13	26*
Mycoplasma spp.	6	12	3	6	4	8	5	10*
Ureaplasma spp.	10	20	7	14	7	14	8	16*

*$p<0,05$;
** При расчете динамики выявления УПМ в течение всего периода наблюдения значимой считали концентрацию микроорганизмов более 10% общей бактериальной массы.

тельных (IL-8, TLR2, TLR4, IL-10, TNF-α) и противовоспалительных маркеров (IL-18, GATA3) не выявил статистической разницы между пациентками 1-й и 2-й групп на 1-м визите. При изучении полученных данных у пациенток 1-й группы было выявлено на 1-м визите увеличение уровня экспрессии провоспалительных маркеров TLR4, TNF-α, IL-8, IL-10 и TLR2 соответственно в 1,4; 1,18; 3,31; 2,1 и 3,07 раза и снижение уровня экспрессии IL-18, GATA3 соответственно в 0,22 и 0,24 раза; во 2-й группе увеличение уровня экспрессии провоспалительных маркеров TLR4, TNF-α, IL-8, IL-10 и TLR2 в 1,5; 1,2; 3,45; 2,3; 3,1 раза соответственно и снижение уровня экспрессии IL-18, GATA3 соответственно в 0,21 и 0,2 раза.

К 4-му визиту в 1-й группе было выявлено некоторое увеличение уровней IL-8, TLR2, TLR4, IL-10, TNF-α – в 3,01; 2,2; 1,6; 1,5; 1,3 раза по сравнению с референтными значениями и снижение экспрессии IL-18, GATA3 в 0,22 и 0,2 раза соответственно; во 2-й группе экспрессия TLR4, TNF-α, IL-8, IL-10 и TLR2 была повышена в 1,02; 1,01; 1,4; 1,3; 1,8 раза; экспрессия IL18, GATA3 была снижена в 0,5 и 0,42 раза соответственно.

При анализе динамики изменения уровня экспрессии провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в каждой из групп на протяжении 4 визитов было выявлено, что в группе женщин, получавших двухэтапную терапию, наблюдалась тенденция к снижению провоспалительных маркеров и повышению противовоспалительных маркеров ($p<0,05$). В группе женщин, получавших одноэтапную терапию, наоборот, наблюдалось снижение уровня экспрессии противовоспалительных маркеров и повышение TLR4 и TNF-α по сравнению с этапом скрининга, в то время как уровни экспрессии IL-8, IL-10 и TLR2 снижались ($p<0,05$).

На основании полученных данных был произведен расчет ИВ. При анализе динамики изменения ИВ было выявлено, что в группе женщин, получавших двухэтапную терапию, к 4-му визиту наблюдалась тенденция к снижению ИВ, в то время как в 1-й группе данный показатель, наоборот, несколько возрастал по сравнению с этапом скрининга, но не превышал нормативных значений. Так, средний показатель ИВ во 2-й группе к 4-му визиту достоверно снизился и составил 41,74±6,25; в 1-й – увеличился и составил в среднем 55,65±7,35.

Таким образом, в группе женщин, получавших одноэтапную терапию, ИВ к 4-му визиту возрос на 6,58%, в то время как в группе женщин, получавших двухэтапную терапию, снизился на 13,02%.

При оценке эффективности терапии на 2-м визите было выявлено, что 1-й этап терапии оказался эффективным у 42 (84%) пациенток 1-й группы и 43 (86%) пациенток 2-й группы.

При отслеживании рецидивирования процесса было установлено, что в 1-й группе на 3-м визите случаи рецидива наблюдались у 20 (40%) пациенток, на 4-м визите – у 35 (70%); во 2-й группе на 3-м визите – у 11 (22 %) пациенток, на 4-м – у 15 (30%).

Заключение

Таким образом, учитывая клинические данные, результаты микроскопического исследования влагалищных мазков, комплексной оценки микробиоты влагалища методом ПЦР в режиме реального времени, динамики изменения уровня экспрессии провоспалительных и противовоспалительных мар-

керов, ИВ, можно предположить, что двухэтапная терапия с включением крема Ацилакт DUO повышает эффективность антибактериальной терапии при сочетанном применении за счет нормализации местного иммунного ответа, выработки определенных цитокинов (IL-1, ФНО-α), способствует более устойчивому восстановлению нормального соотношения представителей микробиоты влагалища, снижению частоты рецидивирования процесса.

Литература/References

1. Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. The integrative human microbiome project. Nature. 2019; 569(7758): 641-8. https://dx.doi.org/10.1038/s41586-019-1238-8.
2. *Dominguez-Bello M.G., Costello E.K., Contreras M., Magris M., Hidalgo G., Fierer N., Knight R.* Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010; 107(26): 11971-5. https://dx.doi.org/10.1073/pnas.1002601107.
3. *Koenig J.E., Spor A., Scalfone N., Fricker A.D., Stombaugh J., Knight R.* et al. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010; 108(Suppl. 1): 4578-85. https://dx.doi.org/10.1073/pnas.1000081107.
4. *Yatsunenko T., Rey F.E., Manary M.J., Trehan I., Dominguez-Bello M.G.* et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. Nature. 2012; 486(7402): 222-7. https://dx.doi.org/10.1038/nature11053.
5. *Gajer P., Brotman R.M., Bai G., Sakamoto J., Schütte U.M.E., Zhong X.* et al. Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. Sci. Transl. Med. 2012; 4(132): 132ra52. https://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.3003605.
6. *Faith J.J., Guruge J.L., Charbonneau M., Subramanian S., Seedorf H., Goodman A.L.* et al. The long-term stability of the human gut microbiota. Science. 2013; 341(6141): 1237439. https://dx.doi.org/10.1126/science.1237439.
7. *Haahr T., Jensen J.S., Thomsen L., Duus L., Rygaard K., Humaidan P.* Abnormal vaginal microbiota may be associated with poor reproductive outcomes: a prospective study in IVF patients. Hum. Reprod. 2016; 31(4): 795-803. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dew026.
8. *Brown R.G., Marchesi J.R., Lee Y.S., Smith A., Lehne B.* et al. Vaginal dysbiosis increases risk of preterm fetal membrane rupture, neonatal sepsis and is exacerbated by erythromycin. BMC Med. 2018; 16(1): 9. https://dx.doi.org/10.1186/s12916-017-0999-x.
9. *Менухова Ю.Н.* Бактериальный вагиноз: этиопатогенез, клинико-лабораторные особенности. Журнал акушерства и женских болезней. 2013; 62(4): 79-87. [Menuhova Yu.N. Bacterial vaginosis: etiopathogenesis, clinical and laboratory features. Journal of Obstetrics and Women's Diseases. 2013; 4: 79-87. (in Russian)].
10. *Филимонова Т.М., Елисютина О.Г., Ниязов Д.Д., Болдырева М.Н., Бурменская О.В., Реброва О.Ю.* Локальный и системный иммунный ответ у больных тяжелым атопическим дерматитом. Российский аллергологический журнал. 2011; 5: 10-5. [Filimonova T.M., Elisyutina O.G., Niyazov D.D., Boldyreva M.N., Burmenskaya O.V., Rebrova O.Yu. Local and systemic immune response in patients with severe atopic dermatitis. Russian Allergological Journal. 2011; 5: 10-5. (in Russian)].
11. *Долгушина В.Ф., Смольникова Л.А., Долгушин И.И.* Состояние факторов местной иммунной защиты репродуктивного тракта при вагинозе у беременных. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2001; 4: 89-93. [Dolgushina V.F., Smol'nikova L.A., Dolgushin I.I .Factors of the local immune defence of the reproductive tract in pregnant women with vaginosis. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2001; 4: 89-93. (in Russian)].
12. *Kalia N., Singh J., Kaur M.* Immunopathology of recurrent vulvovaginal infections: new aspects and research directions. Front. Immunol. 2019; 10: 2034. https://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2019.02034.
13. Centers for Disease Control and Prevention. STD Treatment Guidelines. 2021.
14. *Reid G.* Has knowledge of the vaginal microbiome altered approaches to health and disease? F1000Res. 2018; 7: 460. https://dx.doi.org/10.12688/f1000research.13706.1.
15. *Sherrard J., Wilson J., Donders G., Mendling W., Jensen J.S.* 2018 European (IUSTI/WHO) International Union against sexually transmitted infections (IUSTI) World Health Organisation (WHO) guideline on the management of vaginal discharge. Int. J. STD AIDS. 2018; 29(13): 1258-72. https://dx.doi.org/10.1177/0956462418785451.
16. *Радзинский В.Е., Ордиянц И.М., Четвертакова Э.С., Мисуно О.А.* Двухэтапная терапия вагинальных инфекций. Акушерство и гинекология. 2011; 5: 78-81. [Radzinsky V.E., Ordiyants I.M., Chetvertakova E.S., Misuno O.A. Two-stage therapy of vaginal infections. Obstetrics and Gynecology. 2011; 5: 78-81. (in Russian)].
17. *Прилепская В.Н., Кира Е.Ф., Гомберг М.А., Аполихина И.А., Байрамова Г.Р.* Федеральные клинические рекомендации. Диагностика и лечение заболеваний, сопровождающихся патологическими выделениями из половых путей женщин. М.; 2019. 50с. [Prilepskaya V.N., Kira E.F., Gomberg M.A., Apolikhina I.A., Bayramova G.R. Federal clinical guidelines. Diagnostics and treatment of diseases accompanied by pathological discharge from the genital tract of women. M.; 2019. 50p. (in Russian)].
18. *Bradshaw C.S., Sobel J.D.* Current treatment of bacterial vaginosis-limitations and need for innovation. J. Infect. Dis. 2016; 214(Suppl. 1): S14-20. https://dx.doi.org/10.1093/infdis/jiw159.
19. *Wilson J.* Managing recurrent bacterial vaginosis. Sex. Transm. Infect. 2004; 80(1): 8-11. https://dx.doi.org/10.1136/sti.2002.002733.
20. *Muzny C.A., Kardas P.* A narrative review of current challenges in the diagnosis and management of bacterial vaginosis. Sex. Transm. Dis. 2020; 47(7): 441-6. https://dx.doi.org/10.1097/OLQ.0000000000001178.
21. *Coudray M.S., Madhivanan P.* Bacterial vaginosis – a brief synopsis of the literature. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2020; 245: 143-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2019.12.035.
22. *Marcone V., Calzolari E., Bertini M.* Effectiveness of vaginal administration of Lactobacillus rhamnosus following conventional metronidazole therapy: how to lower the rate of bacterial vaginosis recurrences. New Microbiol. 2008; 31(3): 429-33.
23. *Lopez-Moreno A., Aguilera M.* Vaginal probiotics for reproductive health and related dysbiosis: Systematic review and meta-analis. J. Clin. Med. 2021; 10(7): 1461. https:dx.doi.org/10.3390/jcm10071461.
24. *Hay P.* Bacterial vaginosis. F1000Res. 2017; 6: 1761. https://dx.doi.org/10.12688/f1000research.11417.1.
25. *Senok A.C., Verstraelen H., Temmerman M., Botta G.A.* Probiotics for the treatment of bacterial vaginosis. Cochrane Database Syst. Rev. 2009; 4: CD006289. https://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD006289.pub2.
26. *Hanson J.M., McGregor J.A., Hillier S.L., Eschenbach D.A., Kreutner A.K., Galask R.P., Martens M.* Metronidazole for bacterial vaginosis. A comparison of vaginal gel vs. oral therapy. J. Reprod. Med. 2000; 45(11): 889-96.

Поступила 29.10.2021
Принята в печать 11.11.2021
Received 29.10.2021
Accepted 11.11.2021

Сведения об авторах:
Уруймагова Ада Тимуровна, аспирант кафедры акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии, НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова Минздрава России, ada.uruimagova@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0001-5650-3377, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Прилепская Вера Николаевна, д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, руководитель научно-поликлинического отделения, НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова Минздрава России, vprilepskaya@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-3993-7629, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Межевитинова Елена Анатольевна, д.м.н., ведущий научный сотрудник научно-поликлинического отделения, НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова Минздрава России, mejevitinova@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-2977-9065, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Донников Андрей Евгеньевич, к.м.н., заведующий лабораторией молекулярно-генетических методов, НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова Минздрава России, donnikov@dna-technology.ru, http://orcid.org/0000-0003-3504-2406, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Абакарова Патимат Рапиевна, к.м.н., научный сотрудник научно-поликлинического отделения, НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова Минздрава России, abakarova2002@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-8243-5272, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Довлетханова Эльмира Робертовна, к.м.н., научный сотрудник научно-поликлинического отделения, НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова Минздрава России, eldoc@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-2835-6685, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Гусаков Кирилл Ильич, к.м.н., научный сотрудник научно-поликлинического отделения ФГБУ НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова Минздрава России, kigusakov@gmail.com, http://orcid.org/0000-0003-3895-8225, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Одыванова Ангелина Александровна, аспирант кафедры акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии, НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова Минздрава России, lina6345@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-2826-9111, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:
Ada T. Uruymagova, post-graduate student of the Department of Obstetrics, Gynecology, Perinatology and Reproductology, V.I. Kulakov NMRC for OGP, Ministry of Health of Russia, ada.uruimagova@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0001-5650-3377, 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russia.
Vera N. Prilepskaya, Dr. Med. Sci., Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Head of the Scientific Polyclinic Department, V.I. Kulakov NMRC for OGP, Ministry of Health of Russia, vprilepskaya@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-3993-7629, 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russia.
Elena A. Mezhevitinova, PhD, Leading Researcher of the Scientific and Polyclinic Department, V.I. Kulakov NMRC for OGP, Ministry of Health of Russia, mejevitinova@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-2977-9065, 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russia.
Andrey E. Donnikov, PhD, Head of the Laboratory of Molecular Genetic Methods, V.I. Kulakov NMRC for OGP, Ministry of Health of Russia, donnikov@dna-technology.ru, http://orcid.org/0000-0003-3504-2406, 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russia.
Patimat R. Abakarova, PhD, Researcher at the Scientific and Polyclinic Department, V.I. Kulakov NMRC for OGP, Ministry of Health of Russia, abakarova2002@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-8243-5272, 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russia.
Elmira R. Dovletkhanova, PhD, Researcher at the Scientific and Polyclinic Department, V.I. Kulakov NMRC for OGP, Ministry of Health of Russia, eldoc@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-2835-6685, 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russia.
Kirill I. Gusakov, PhD, Researcher at the Scientific and Polyclinic Department, V.I. Kulakov NMRC for OGP, Ministry of Health of Russia, kigusakov@gmail.com, http://orcid.org/0000-0003-3895-8225, 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russia.
Angelina A. Odyvanova, post-graduate student of the Department of Obstetrics, Gynecology, Perinatology and Reproductology, V.I. Kulakov NMRC for OGP, Ministry of Health of Russia, lina6345@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-2826-9111, 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russia.

©Коллектив авторов, 2021

Е.В. КВАШНИНА[1], М.А. ТУТАКОВ[1], О.С. ВАХЛОВА[1], Е.В. ТОМИНА[1], Н.В. ШИЛОВА[2]

ВЛИЯНИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ГОРМОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ЭСТРАДИОЛОМ В КРИОПРОТОКОЛАХ НА МЕТАБОЛИЗМ ЭСТРОГЕНОВ У ЖЕНЩИН С РАЗЛИЧНЫМИ ПОЛИМОРФИЗМАМИ ГЕНА КАТЕХОЛ-О-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ

[1]АО «Центр реабилитации нарушений репродуктивной функции «Партус»», Екатеринбург, Россия
[2]ООО «Ген-лаб», Москва, Россия

Цель: *Сравнить содержание метаболитов эстрадиола в моче женщин с различными полиморфизмами гена COMT rs4680, которым проводился криоперенос эмбриона в естественном овуляторном цикле и «длинном» протоколе на агонистах гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) с заместительной гормональной терапией (ЗГТ).*

Материалы и методы: *Проанализировано 28 циклов ВРТ с витрифицированным эмбрионом, в каждом из которых у женщины оценивали уровень метаболитов эстрона и эстрадиола в моче и полиморфизм гена COMT rs4680. Проводили УЗ-мониторинг эндометрия и биохимический мониторинг уровня эстрогена и прогестерона в сыворотке крови. Оценивали уровни гидрокси- и метоксиэстрона и эстрадиола в моче женщин в криопротоколах вспомогательной репродуктивной терапии в зависимости от полиморфизма гена COMT rs4680. Провели сравнительный анализ показателей в зависимости от типа криопротокола (в овуляторном цикле с гестагенами или с применением ЗГТ на фоне агонистов ГнРГ с использованием 0,1% трансдермального геля с эстрадиолом, «длинный» протокол).*

Результаты: *Показано, что полиморфизм GG гена COMT сопряжен с более высоким уровнем метоксилированных форм эстрогенов в моче по сравнению с таковым у носительниц полиморфизмов AA и GA гена COMT. Выявлено, что у носительниц полиморфизма AA в «длинном» протоколе показатели метоксилирования эстрогенов лучше таковых у женщин в овуляторном цикле, судя по содержанию безопасных метоксиформ в моче пациенток. Не выявлено увеличения проонкогенных гидроксилированных форм эстрогенов у женщин, проходивших лечение в «длинном» протоколе с ЗГТ.*

Заключение: *Уровень образования метоксилированных форм эстрогенов сопряжен с полиморфизмом гена COMT: с вариантами AA и GA ассоциирован более низкий уровень метоксиформ. При этом ни один из полиморфных вариантов не сопряжен с увеличением потенциально опасных продуктов метаболизма эстрогена у женщин, проходивших лечение в «длинном» протоколе. Таким образом, криопротокол с агонистами ГнРГ в сочетании с применением трансдермального эстрадиола (гель 0,1%) не сопровождается ростом проонкогенных метаболитов эстрогенов и не приводит к повышению онкологических рисков в программах ВРТ в сравнении с переносом эмбриона в овуляторном цикле.*

Ключевые слова: *0,1% трансдермальный гель с эстрадиолом, COMT-полиморфизм, безопасность криопротокола, заместительная гормональная терапия.*

Вклад авторов: Квашнина Е.В. – постановка задачи исследования, сбор первичного материала, согласование и редактирование текста статьи; Тутаков М.А. – консолидация данных, контроль эмбриологического этапа исследования; Вахлова О.С. – сбор первичных данных; Томина Е.В. – создание электронной таблицы; Шилова Н.В. – работа с литературными источниками, статистическая обработка результатов исследования, написание текста статьи.
Конфликт интересов: Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование: Статья подготовлена в рамках выполнения инициативной темы.
Согласие пациентов на публикацию: Пациенты подписали информированное согласие на публикацию своих данных.
Обмен исследовательскими данными: Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Квашнина Е.В., Тутаков М.А., Вахлова О.С., Томина Е.В., Шилова Н.В. Влияние заместительной гормональной терапии эстрадиолом в криопротоколах на метаболизм эстрогенов у женщин с различными полиморфизмами гена катехол-О-метилтрансферазы. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 213-220
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.213-220

© A group of authors, 2021

E.V. KVASHNINA[1], M.A. TUTAKOV[1], O.S. VAKHLOVA[1], E.V. TOMINA[1], N.V. SHILOVA[2]

EFFECT OF HORMONE REPLACEMENT THERAPY WITH ESTRADIOL IN FROZEN EMBRYO TRANSFER ON ESTROGEN METABOLISM IN WOMEN WITH VARIOUS POLYMORPHISMS OF CATECHOL-O-METHYLTRANSFERASE GENE

[1]Rehabilitation Center for Reproductive Disorders "Partus", Yekaterinburg, Russia
[2]Gen-lab Ltd., Moscow, Russia

Objective: *To compare the content of estradiol metabolites in the urine of women with various catechol-O-methyltransferase (COMT) rs4680 gene polymorphisms, who underwent natural frozen embryo transfer cycle and gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) agonist long protocol with hormone replacement therapy (HRT).*
Materials and methods: *We analyzed 28 assisted reproductive technology (ART) cycles with vitrified embryo; each of them was assessed for the level of estrone and estradiol metabolites in the urine and polymorphisms of the COMT rs4680 gene. Ultrasound monitoring of the endometrium and biochemical monitoring of estrogen and progesterone levels in blood serum were conducted. Levels of hydroxy- and methoxyestrone and estradiol in urine of women who had a frozen embryo transfer (FET) cycle were evaluated depending on COMT rs4680 gene polymorphism. A comparative analysis of the indicators was carried out depending on the FET type (progestogens in the natural cycle or GnRH agonist long protocol with HRT using 0.1% transdermal gel with estradiol).*
Results: *GG polymorphism of the COMT gene has been shown to be associated with a higher level of methoxylated forms of estrogens in the urine compared to that in women with AA and GA polymorphism of the COMT gene. Indicators of methoxylated estrogens in women with AA polymorphism in GnRH agonist long protocol were found to be better than those in women in the natural cycle, according to the content of non-dangerous methoxy forms in the urine of the patients. There was no increase in pro-oncogenic hydroxylated forms of estrogens in women who had a long protocol with HRT.*
Conclusion: *The level of methoxylated estrogens formation is associated with COMT gene polymorphism: the lower level of methoxy forms is associated with AA and GA variants. At the same time, none of the polymorphism variants are associated with the increase of potentially dangerous metabolites of estrogen in women who had GnRH agonist long protocol. Therefore, the FET cycle with GnRH agonists combined with the use of 0.1% transdermal gel with estradiol does not result in a rise of pro-oncogenic estrogen metabolites and does not lead to an increase of oncological risks in ART programs compared to those with embryo transfer in a natural ovulatory cycle.*

Keywords: *transdermal estradiol gel 0.1%, COMT polymorphism, FET cycle safety, hormone replacement therapy.*

Authors' contributions: Kvashnina E.V. – development and design of the research, collection of primary material, coordination and edition of the text of the article; Tutakov M.A. – review of the data, control of the embryological stage of the study; Vakhlova O.S.: collection of the primary material; Tomina E.V. – creation of a spreadsheet; Shilova N.V – review of the literature, statistical processing of the results of the study, writing the text of the article.
Conflicts of interest: The authors declare that they have no competing interests.
Funding: The article was prepared as part of realization of the research project.
Patient Consent for Publication: All patients provided informed consent for the publication of their data.
Authors' Data Sharing Statement: The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Kvashnina E.V., Tutakov M.A., Vakhlova O.S., Tomina E.V., Shilova N.V. Effect of hormone replacement therapy with estradiol in frozen embryo transfer on estrogen metabolism in women with various polymorphisms of catechol-O-methyltransferase gene. Akusherstvo i Ginekologiya / Obstetrics and gynecology. 2021; 11: 213-220 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.213-220

Современные подходы в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) – это высокая частота циклов с витрифицированным эмбрионом, и практикующий врач сталкивается с вопросом выбора вида криопротокола [1–4]. С одной стороны, перенос эмбриона в овуляторном цикле, когда рост эндометрия происходит за счет работы доминантного фолликула, будет предпочтителен для пациентки из-за меньшей гормональной нагрузки и обеспечит приверженность лечению. С другой стороны, с увеличением доли пациенток, планирующих криоперенос, в старшем репродуктивном возрасте повышается частота гинекологических заболеваний: миома матки, наружный генитальный эндометриоз, гиперплазия эндометрия, фолликулярные кисты яичников требуют медикаментозной коррекции [5–7]. В таких случаях применение агонистов гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) перед криопереносом снижает негативное влияние перечисленных заболеваний на имплантацию, но рост эндометрия далее может быть обеспечен только приемом препаратов эстрогена. Метаболизм эстрогена связан с работой фермента катехол-О-метилтрансферазы (COMT) [8]. Полиморфизм GG детерминирует синтез фермента с

более высокой активностью, который обеспечивает метилирование гидроксиформ эстрогенов и переводит их в безопасные метоксиформы. Полиморфизмы GA и AA связаны с меньшей активностью этого фермента [9]. У носительниц этих вариантов может происходить накопление гидроксиформ эстрогенов, и есть вероятность повышения риска образования хинонов, имеющих негативное влияние на ДНК [10]. Оценить уровень метилирования эстрогенов можно по соотношению этих метаболитов в моче. Наше исследование впервые оценивает уровни эстрогенов в крови и уровни метаболитов в моче на их пиковой концентрации в цикле криопереноса с учетом генетического полиморфизма фермента, осуществляющего метилирование и детоксикацию метаболитов эстрогена.

Цель исследования: сравнить содержание метаболитов эстрадиола в моче женщин с различными полиморфизмами гена *COMT rs4680*, которым проводилось ЭКО с витрифицированным эмбрионом в овуляторном цикле и «длинном» протоколе с заместительной гормональной терапией (ЗГТ).

Материалы и методы

В исследование включены 28 протоколов ЭКО с витрифицированным эмбрионом, из них 11 – в овуляторном цикле (ОЦ) с гестагенной поддержкой, 17 – в «длинном» протоколе с ЗГТ. Протокол в ОЦ включал ультразвуковой (УЗ) мониторинг овуляторного цикла с использованием триггера овуляции (Овитрель 6500 п/к или ХГЧ 5000 в/м) при наличии фолликула 17–18 мм; старт приема препарата дидрогестерона через 37 ч в дозировке 10 мг 3 раза в сутки, перенос эмбриона проводили через 124–125 ч от действия прогестерона. «Длинный» протокол применяли у пациенток с рецидивирующей гиперплазией эндометрия в анамнезе, аденомиозом II–III степени и ранними овуляциями в естественном цикле. Циклу криопереноса предшествовало назначение агониста ГнРГ с 17–19-го дня цикла (Диферелин 3,75 мг). Старт препаратов эстрогена (Дивигель по 1 г 2 раза на кожу) проводился после УЗ-контроля через 3–6 недель действия агониста ГнРГ. Далее также проводился мониторинг роста эндометрия и назначался препарат прогестерона (Дюфастон по 10 мг 3 раза в сутки или Утрожестан по 200 мг 3 раза во влагалище) при наличии эндометрия более 8 мм, перенос эмбриона проводили через 124–125 часов действия препарата.

Все пациентки получали прегравидарную подготовку согласно рекомендациям клинического протокола МАРС 2021 и были обследованы в соответствии с Приказом №803н. Проводился гормональный мониторинг цикла ЭКО в двух точках исследования. Точка 1 в первом протоколе – в день введения триггера овуляции, в «длинном» – в день назначения препарата прогестерона, что соответствовало максимальному уровню эстрадиола в цикле при достигнутой оптимальной толщине эндометрия и под контролем над стартом прогестерона. Все лабораторные исследования проводились в лаборатории «Хеликс», они включали определение содержания в крови эстрадиола (пг/мл), прогестерона (нмоль/л). Кроме этого, проводили анализ утренней порции мочи на метаболиты эстрогенов с расчетом соотношений метилированных и гидроксилированных форм эстрона и эстрадиола с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (лаборатория «Хеликс»). В день переноса (точка 2) повторно проводился анализ крови на гормоны эстрадиол (пг/мл), прогестерон (нмоль/л). Всем пациенткам проводилась оценка полиморфизмов rs 4680 гена *COMT* в лаборатории «Геномед», определяли аллели AA, AG или GG.

Перенос эмбриона осуществлялся с использованием УЗ-контроля катетером Kitazato #213325 или TDT. Пациентки сразу вставали после проведенного переноса. Диагностика наступления беременности проводилась через 14 дней посредством анализа крови на хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) и визуализации плодного яйца в полости матки через 21 день после переноса эмбриона. Для каждой женщины производили расчет частоты имплантации, вычисляя его как отношение числа плодных яиц к числу перенесенных эмбрионов, выраженное в процентах [11].

Статистический анализ

Статистический анализ полученных результатов проводился при помощи пакета программ Statistica 6.0 (Statsoft, США). Для количественных признаков рассчитывалась среднее значение и его среднеквадратичное отклонение (M (SD)), для качественных – абсолютная величина (*n*) и доля (%) от общего объема группы. При межгрупповом сравнении показателей (их распределение отличалось от нормального согласно значению критерия Шапиро–Уилка) использовали критерий Манна–Уитни. Различия между качественными признаками проверялись при помощи точного теста Фишера, так как хотя бы в одной ячейке таблицы сопряженности было менее 5 объектов. Если достигнутый уровень различий не превышал 0,05, их считали статистически значимыми [12].

Результаты

Большинство пациенток, включенных в исследование, были старшего репродуктивного возраста, их средний возраст составил 39,1 (5,7) года, минимальный – 28 лет, максимальный – 53 года. Исследование полиморфизмов гена *COMT* показало, что 7/28 пациенток (25%) имели аллель AA, 12/28 пациенток (43%) – аллель GA и у 9/28 (32%) был выявлен аллель GG.

Частота протоколов в ОЦ и «длинного» с ЗГТ оказалась сопоставимой у женщин с различными полиморфизмами (табл. 1), поэтому мы оценили различия в метаболизме эстрогенов внутри подгрупп, сформированных в зависимости от выявленного аллея гена *COMT* (табл. 2).

Сравнительный анализ показал, что у женщин с разными аллелями гена *COMT* уровни гидроксилированных и метоксилированных эстрона и эстрадиола имеют свои особенности. Носительницы полиморфизма GG показали более низкие уровни 2-OHE1 и 4-OHE2, но более высокое содержание в моче метоксилированного метаболита 2-OMeE1, чем те паци-

ентки, у которых выявили аллели AA и GA (табл. 2). Отношение гидроксилированных форм к метоксилированным у носительниц варианта GG было значимо меньше такового у пациенток с аллелями AA и GA. Следовательно, резонно предположить, что метоксилирование эстрогенов у обладательниц полиморфизма GG происходит более активно.

В группе женщин с полиморфизмом AA трое проходили лечение бесплодия в «длинном» протоколе и четверо – в ОЦ. Поскольку «длинный» протокол сопряжен с дополнительной эстрогеновой нагрузкой на организм, провели оценку уровня метаболитов эстрогенов в зависимости от типа протокола (табл. 3). Оказалось, уровни изучаемых метаболитов в зависимости от протокола различались, однако не в сторону преобладания гидроксилированных форм в моче женщин, проходивших лечение по «длинному» протоколу.

Более того, у женщин в «длинном» протоколе значимо ниже оказалось соотношение уровня гидроксилированных форм эстрона к его метоксилированным формам (4-OHE1/4-OMeE), что свидетельствует в пользу снижения риска накопления проонкогенных метаболитов эстрогенов. Это показывает, что применение 0,1% геля с эстрадиолом не приводит к увеличению токсичных метаболитов эстрогенов. Помимо этого, в «длинном» протоколе была отмечена значимо большая толщина эндометрия на день переноса эмбриона. В нем же удалось поднять уровень эстрадиола ко второй контрольной точке.

У женщин с полиморфизмом GA гена COMT использование «длинного» протокола с применением 0,1% геля с эстрадиолом аналогичным образом не привело к повышению уровня гидроксиформ метаболитов эстрогенов моче (табл. 4). В этой группе оказались сопоставимыми показатели развития эндометрия, а уровень эстрадиола был выше в группе женщин, проходивших лечение в ОЦ.

Для женщин с выявленным полиморфизмом GG гена *COMT* также было отмечено, что применение криопротокола с использованием эстрадиола не приводит к увеличению проонкогенных гидроксилированных метаболитов эстрона и эстрадиола (табл. 5), хотя соотношение гидроксилированных форм к метоксилированным у женщин в «длинном» протоколе было ниже такового у пациенток в ОЦ.

Поскольку метоксиформы метаболитов эстрогенов в моче имеют прогностическое значение для снижения риска развития онкозаболевания, произвели оценку доли метоксилированных форм эстрона в моче женщин в зависимости от типа криопротокола (рисунок).

Оказалось, что использование 0,1% геля с эстрадиолом в «длинном» криопротоколе не приводит к снижению метоксиформ эстрона даже у женщин-носительниц полиморфизмов AA и GA с низкой активностью фермента COMT. Таким образом, можно заключить, что 0,1% гель с эстрадиолом в «длинном» протоколе не увеличивает эстрогеновую нагрузку на

Таблица 1. Доли протоколов ЭКО у женщин с полиморфизмами гена *COMT*

Тип протокола	Полиморфизм гена *COMT rs4680*		
	AA, *n*=7 (1)	GA, *n*=12 (2)	GG, *n*=9 (3)
«Длинный» протокол, *n*=17	3 (42%)	8 (67%)	6 (67%)
Овуляторный цикл, *n*=11	4 (58%)	4 (33%)	3 (33%)
Уровень значимости различий (тест Фишера)	0,25	0,44	0,49

Таблица 2. Сравнительный анализ уровней метаболитов эстрона и эстрадиола в моче женщин с различными полиморфизмами гена *COMT*, M (SD), нмоль/ммоль креатинина

Метаболиты эстрогенов	Полиморфизм гена *COMT rs4680*			Уровень значимости различий		
	AA, *n*=7 (1)	GA, *n*=12 (2)	GG, *n*=9 (3)	1–2	1–3	2–3
2-OHE1	5,84 (1,92)	7,75 (1,82)	3,52 (1,30)	0,04	0,04	0,03
2-OHE2	1,32 (0,85)	2,77 (0,91)	1,08 (0,90)	0,05	0,05	0,03
2-OHE1+2-OHE2	7,02 (2,1)	10,10 (2,1)	4,04 (1,8)	0,021	0,018	0,016
4-OHE1	1,06 (0,56)	1,35 (0,44)	0,46 (0,30)	0,63	0,044	0,040
16-OHE1	3,83 (0,81)	3,12 (46)	3,46 (0,59)	0,82	0,95	0,81
2-OMeE1	3,94 (1,01)	3,31 (0,98)	5,19 (1,12)	0,85	0,029	0,028
4-OMeE1	0,32 (0,15)	0,29 (0,11)	0,30 (0,14)	0,52	0,69	0,56
2-OHE1/2-OMeE1	1,22 (0,59)	2,45 (0,88)	1,15 (0,64)	0,43	0,51	0,13
2-OHE1+2-OHE2/16-OHE1	2,60 (1,71)	2,46 (0,82)	2,32 (0,79)	0,54	0,79	0,84
4-OHE1/4-OMeE1	3,27 (0,98)	3,75 (1,04)	2,25 (1,16)	0,67	0,043	0,040

Примечание: OHE1 – гидроксиэстрон, OHE2 – гидроксиэстрадиол, OMeE1 – метоксиэстрон.

Таблица 3. Характеристика метаболизма эстрогенов, эндометрия и гормонального статуса женщин с полиморфизмом AA гена *COMT* в зависимости от типа криопротокола

Оцениваемый критерий	Овуляторный цикл, *n*=4	«Длинный» протокол, *n*=3	Уровень значимости различий (критерий Манна–Уитни)
День цикла для точки 1	13,8 (3,2)	52,0 (19,0)	0,038
ЛГ, мМе/мл	16,13 (6,3)	0,66 (0,41)	0,006
Е2, пг/мл, точка 1	359,58 (222,01)	113,27 (14,11)	0,025
Р, нмоль/л, точка 1	9,48 (4,88)	0,42 (0,21)	0,007
Толщина эндометрия на день переноса эмбриона, мм	8,00 (3,2)	11,67 (3,1)	0,031
Е2 пг/мл, точка 2	195,28 (44,10)	246,01 (66,9)	0,022
Р, нмоль/л, точка 2	43,53 (21,99)	98,83 (66,85)	0,79
2-OHE1	9,50 (3,10)	5,29 (1,85)	0,05
2-OHE2	3,14 (0,75)	1,18 (1,0)	0,048
2-OHE1+2-OHE2	6,64 (2,25)	7,07 (3,11)	0,39
4-OHE1	1,72 (0,34)	0,86 (0,40)	0,25
16-OHE1	2,40 (0,88)	4,59 (1,24)	0,28
2-OMeE1	3,60 (1,23)	4,28 (1,46)	0,54
4-OMeE1	0,64 (0,22)	0,34 (0,19)	0,79
2-OHE1/2-OMeE1	3,33 (1,06)	1,42 (0,78)	0,39
2-OHE1+2-OHE2/16-OHE1	3,97 (1,74)	2,50 (1,12)	0,57
4-OHE1/4-OMeE1	5,19 (1,14)	2,32 (1,17)	0,038

Примечание. Е2 – эстрадиол; Р – прогестерон; OHE1 – гидроксиэстрон, OHE2 – гидроксиэстрадиол, OMeE1 – метоксиэстрон, ЛГ – лютеинизирующий гормон; для всех метаболитов эстрогенов единица измерения – нмоль/ммоль креатинин.

Таблица 4. Характеристика метаболизма эстрогенов, эндометрия и гормонального статуса женщин с полиморфизмом GA гена *COMT* в зависимости от типа криопротокола

Оцениваемый критерий	Овуляторный цикл, *n*=4	«Длинный» протокол, *n*=8	Уровень значимости различий (критерий Манна–Уитни)
День цикла для точки 1	10,6 (2,5)	31,4 (13,2)	<0,001
ЛГ, мМе/мл	24,58	0,61	<0,001
Е2, пг/мл, точка 1	329,26 (190,22)	190,40 (118,51)	0,22
Р, нмоль/л, точка 1	2,28 (1,09)	0,22 (0,14)	<0,001
Толщина эндометрия на ЕТ, мм	10,04 (2,54)	10,38 (2,63)	0,83
Е2, пг/мл, точка 2	363,52 (152,41)	161,03 (75,9)	0,028
Р, нмоль/л, точка 2	51,26 (15,24)	21,88 (9,57)	0,09
2-OHE1	11,60 (6,60)	5,41 (2,23)	0,35
2-OHE2	7,34 (5,35)	2,30 (1,17)	0,22
2-OHE1+2-OHE2	19,93 (8,24)	7,71 (3,13)	0,22
4-OHE1	1,46 (0,85)	1,24 (0,82)	0,83
16-OHE1	4,41 (1,38)	2,45 (1,44)	0,28
2-OMeE1	4,67 (1,59)	2,01 (1,01)	0,17
4-OMeE1	0,36 (0,11)	0,27 (0,14)	0,44
2-OHE1/2-OMeE1	2,77 (1,20)	3,60 (1,38)	0,72
2-OHE1+2-OHE2/16-OHE1	5,95 (2,25)	2,27 (1,55)	0,62
4-OHE1/4-OMeE1	4,43 (2,19)	5,82 (1,98)	0,83

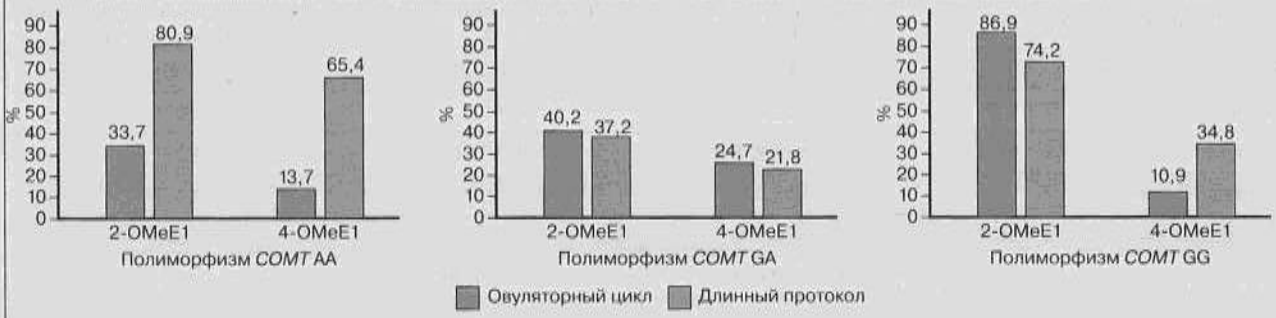
Примечание: Е2 – эстрадиол; Р – прогестерон; OHE1 – гидроксиэстрон, OHE2 – гидроксиэстрадиол, OMeE1 – метоксиэстрон; для всех метаболитов эстрогенов единица измерения – нмоль/ммоль креатинин.

Таблица 5. Характеристика метаболизма эстрогенов, эндометрия и гормонального статуса женщин с полиморфизмом GG гена *COMT* в зависимости от типа криопротокола

Оцениваемый критерий	Овуляторный цикл, *n*=3	«Длинный» протокол, *n*=6	Уровень значимости различий (критерий Манна–Уитни)
День цикла для точки 1	10,00 (2,11)	25,33 (14,17)	<0,001
ЛГ, мМе/мл	16,03 (3,04)	8,75 (2,09)	<0,001
Е2, пг/мл, точка 1	246,00 (140,22)	167,99 (88,10)	0,002
Р, нмоль/л, точка 1	1,15 (0,35)	0,34 (0,18)	0,011
Толщина эндометрия на ЕТ, мм	11,60 (4,33)	9,33 (3,25)	0,75
Е2, пг/мл, точка 2	132,80 (89,70)	197,72 (92,11)	0,036
Р, нмоль/л, точка 2	38,95 (12,07)	11,94 (6,34)	0,06
2-OHE1	3,52 (2,06)	7,28 (4,19)	0,05
2-OHE2	0,42 (0,18)	3,25 (1,17)	0,07
2-OHE1+2-OHE2	3,94 (1,85)	10,53 (5,32)	0,06
4-OHE1	3,01 (1,65)	0,41 (0,77)	0,09
16-OHE1	1,32 (0,74)	3,70 (1,94)	0,11
2-OMeE1	3,06 (1,08)	5,27 (1,21)	0,027
4-OMeE1	0,30 (0,12)	0,49 (0,19)	0,51
2-OHE1/2-OMeE1	1,15 (0,55)	1,68 (0,59)	0,64
2-OHE1+2-OHE2/16-OHE1	2,98 (0,88)	3,31 (1,19)	0,53
4-OHE1/4-OMeE1	9,02 (5,23)	2,27 (1,30)	0,038

Примечание. Е2 – эстрадиол; Р – прогестерон; OHE1 – гидроксиэстрон, OHE2 – гидроксиэстрадиол, OMeE1 – метоксиэстрон; для всех метаболитов эстрогенов единица измерения – нмоль/ммоль креатинин.

Рисунок. Доля метоксилированных форм метаболитов эстрогенов у носительниц различных полиморфизмов гена *COMT*



организм, а у носительниц с полиморфизмом AA позволяет добиться большей толщины эндометрия на день переноса. При сниженной активности COMT, выбирая протокол с использованием 0,1% трансдермального геля 17b-эстрадиола по 2 г с агонистами ГнРГ, возможно снизить уровень накопления «вредных» метаболитов, что является профилактикой возможных онкологических рисков на фоне дисбаланса эстрогенового обмена.

Обсуждение

Показано, что с каждым годом становится все больше женщин, откладывающих материнство с расчетом на ВРТ, но при этом вступающих в протоколы с ожидаемым снижением потенциала эффективного лечения методом ЭКО [13, 14]. Более того, с возрастом увеличивается риск развития ряда заболеваний, в том числе и онкологической природы. В этой связи особое значение приобретает аспект безопасности использования ВРТ в свете возможных побочных эффектов применяемых лекарственных препаратов. Не последнюю роль играет возрастающее внимание к персонализированной медицине, позволяющей подобрать оптимальную стратегию лечения. С доступностью генетических исследований становится возможным учитывать особенности ключевых молекул, участвующих в решении задач метаболизма, в том числе и лекарственных средств [15]. В отношении метаболизма эстрогенов такой молекулой является фермент катехол-О-метилтрансфераза (COMT) и детерминирующий его ген, ответственный за полную инакти-

вацию эстрогенов [8]. Внимание к уровню эстрогенов не случайно – гидроксилированные формы их метаболитов ассоциированы с раком молочной железы [16].

В настоящем исследовании оценивалось, изменяется ли метаболизм эстрогенов у женщин с различными полиморфизмами гена *COMT* на фоне применения 0,1% геля с эстрадиолом (Дивигель, «Орион Фарма») в «длинном» протоколе с ЗГТ. Полученное нами соотношение полиморфизмов (25% AA:43% GA:32% GG) согласуется с данными отечественных исследователей, наблюдавших соотношение полиморфизма rs4680 в популяции Новосибирска в пропорции, близкой к 1:2:1 (27% AA:49% GA:24% GG) [17]. Значение полиморфизмов rs4680 гена *COMT* показано для прогнозирования невынашивания: носительство аллелей AA и GA сопряжено с риском неблагоприятного течения беременности [18]. Дискутабельным является вопрос о возможности прогнозирования онкопатологии с учетом полиморфных вариантов гена *COMT*. Есть данные, что мутантные варианты rs4680 коррелируют с повышенной частотой выявления эндометриоза (OR=1,450; 95% CI 1,012–2,076) [19], но также есть данные, что полиморфизмы этого гена не связаны с частотой рака молочной железы [20]. Нами показано, что носители различных аллелей гена, детерминирующего фермент метаболизма эстрогенов, могут неодинаково накапливать гидроксилированные и метоксилированные формы эстрона и эстрадиола. Однако у женщин с низким уровнем активности фермента COMT применение 0,1% трансдермального геля в программе ВРТ не спровоцировало накопление проонкогенных продуктов обмена эстрогенов. Таким образом, принимая во внимание рост числа сегментированных циклов и криопротоколов, а также женщин, вступающих в программы ВРТ в возрасте от 35 лет и старше, имеющих гинекологические заболевания и нуждающихся в контроле рисков, в том числе и злокачественных новообразований, можно заключить, что применение трансдермального эстрогена безопасно для группы пациенток, которым показан «длинный» протокол с ЗГТ. Этот результат согласуется с мнением специалистов, предпочитающих использование именно таких форм эстрогенов [21, 22]. Более того, показатели эндометрия на день переноса эмбриона сравнимы с таковыми у женщин в протоколе с ОЦ, и следует отметить, что достигаются приемлемые для переноса показатели за меньшее число дней и с меньшим стартовым уровнем эстрадиола в крови.

Выводы

1. Уровень образования метоксилированных форм эстрогенов сопряжен с полиморфизмом гена *COMT*: с вариантами AA и GA ассоциирован более низкий уровень метоксиформ.

2. Применение «длинного» прокола с ЗГТ не сопровождается увеличением уровня метаболитов в моче.

3. Криопротокол с агонистами ГнРГ в сочетании с применением 0,1% трансдермального геля с эстрадиолом не приводит к накоплению «вредных» метаболитов эстрогенов и может быть использован в целях повышения онкобезопасности в программах ВРТ.

4. Пациенткам с полиморфизмом COMT AA «длинный» протокол на агонистах ГнРГ с ЗГТ дает возможность получить оптимальную для переноса криоконсервированного эмбриона толщину эндометрия на фоне применения 2 г препарата Дивигель за меньшее количество дней при более низком пиковом значении уровня эстрадиола в крови и с более безопасным профилем метаболитов в моче, чем при овуляторном цикле.

5. У пациенток с полиморфизмом COMT AG и GG в «длинном» протоколе не получено преимуществ в профиле метаболитов мочи, но оптимальная для переноса эмбриона толщина эндометрия также достигается при меньшем уровне эстрадиола в крови, чем в овуляторном цикле.

Литература/References

1. *Papanikolaou E., Chartomatsidou T., Timotheou E., Tatsi P., Katsoula E., Vlachou C.* et al. In freeze-all strategy, cumulative live birth rate (CLBR) is increasing according to the number of blastocysts formed in women <40 undergoing intracytoplasmic sperm injection (ICSI). Front. Endocrinol. (Lausanne). 2019; 10: 427. https://dx.doi.org/10.3389/fendo.2019.00427.
2. *Наими З.М.С., Калинина Е.А., Донников А.Е., Алиева К.У., Дударова А.Х., Тухватуллина Я.А.* Эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий при переносе эмбрионов в стимулированном цикле по сравнению с переносом криоконсервированных/размороженных эмбрионов. Акушерство и гинекология. 2016; 6: 11-7. [Naimi Z.M.S., Kalinina E.A., Donnikov A.E., Alieva K.U., Dudarova A.H., Tuhvatullina YA.A. The effectiveness of assisted reproductive technology programs in stimulated cycle embryo transfer versus cryopreserved/thawed embryo transfer. Akusherstvo i ginekologiya/ Obstetrics and Gynecology. 2016; 6: 11-7. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2016.6.11-17.
3. *Краснопольская К.В., Назаренко Т.А., Сесина Н.И., Александрова В.Р.* Программы экстракорпорального оплодотворения с эмбрионами, полученными из витрифицированных и нативных ооцитов донора. Акушерство и гинекология. 2017; 3: 75-80. [Krasnopol'skaya K.V., Nazarenko T.A., Sesina N.I., Aleksandrova V.R. In vitro fertilization programs with embryos obtained from vitrified and native donor oocytes. Akusherstvo i ginekologiya/ Obstetrics and Gynecology. 2017; 3: 75-80. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.3.75-80.
4. *Van Heertum K., Weinerman R.* Neonatal outcomes following fresh as compared to frozen/thawed embryo transfer in in vitro fertilization. Birth Defects Res. 2018; 110(8): 625-9. https://dx.doi.org/10.1002/bdr2.1216.
5. *Roque M., Valle M., Guimarães F., Sampaio M., Geber S.* Freeze-all policy: fresh vs. frozen-thawed embryo transfer. Fertil. Steril. 2015; 103(5): 1190-3. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.01.045.
6. *Hosseini-Najarkolaei A., Moini A., Kashani L., Farid Mojtahedi M., Hosseini-Najarkolaee E., Salehi E.* The effect of letrozole versus artificial hormonal endometrial preparation on pregnancy outcome after frozen-thawed embryos transfer cycles: a randomized clinical trial. Reprod. Biol. Endocrinol. 2020; 18(1): 115. https://dx.doi.org/10.1186/s12958-020-00675-z.
7. *Guan Y., Fan H., Styer A.K., Xiao Z., Li Z., Zhang J.* et al. A modified natural cycle results in higher live birth rate in vitrified-thawed embryo transfer for women with regular menstruation. Syst. Biol. Reprod. Med. 2016; 62(5): 335-42. https://dx.doi.org/10.1080/19396368.2016.1199064.
8. *Чагай Н.Б., Мкртумян А.М.* Метаболизм эстрогенов, прижизненные нарушения процессов метилирования и рак молочной железы. Проблемы эндокринологии. 2019; 65(3): 161-73. [Chagay N.V., Mkrtumyan A.M. Estrogen metabolism, lifetime methylation disorders, and

breast cancer. Problemy endokrinologii/ Problems of Endocrinology. 2019; 65(3): 161-73. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.14341/probl10070.

9. *Sak K.* The Val158Met polymorphism in COMT gene and cancer risk: role of endogenous and exogenous catechols. Drug Metab. Rev. 2017; 49(1): 56-83. https://dx.doi.org/10.1080/03602532.2016.1258075.
10. *Kumar P., Singh G., Rai V.* Evaluation of COMT Gene rs4680 polymorphism as a risk factor for endometrial cancer. Indian J. Clin. Biochem. 2020; 35(1): 63-71. https://dx.doi.org/10.1007/s12291-018-0799-x.
11. *Квашнина Е.В., Тутаков М.А., Томина Е.В., Берестецкая О.С., Немцверидзе Н.Я., Шилова Н.В.* Сегментация цикла вспомогательных репродуктивных технологий как инструмент повышения эффективности преодоления бесплодия. Уральский медицинский журнал. 2019; 173(5): 116-23. [Kvashnina E.V., Tutakov M.A., Tomina E.V. et al. Segmentation of the cycle of assisted reproductive technologies as a tool to improve the efficiency of overcoming infertility. Uralskiy meditsinskiy zhurnal / Ural medical journal. 2019; 5(173): 116-23. (in Russian)].
12. *Ланг Т.А., Сесик М.* Как описывать статистику в медицине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов. Пер. с англ. М.: Практическая медицина; 2010. 478с. [Lang T. A., Sesik M. How to describe statistics in medicine: an annotated cuide for authors, editors, and reviewers. M.: Practical Medicine; 2010. 485p. (in Russian)].
13. *Бейк Е.П., Сыркашева А.Г., Долгушина Н.В.* Эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток позднего репродуктивного возраста. Гинекология. 2018; 20(1): 109-12. [Beik E.P., Syrkasheva A.G., Dolgushina N.V. Effectiveness of assisted reproductive technology programs in patients of late reproductive age. Gynecology. 2018; 20(1): 109-12. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.26442/2079-5696_20.1.109-112.
14. *Кукес В.Г., Маринин В.Ф., Олефир Ю.В., Раменская Г.В., Лазарева Н.Б., Смирнов В.В., Журавлева М.В., Прокофьев А.Ф., Ших Е.В., Жестовская А.С., Румянцев Н.А., Мандыч Д.В., Горошко О.А.* Персонализированная медицина в клинике внутренних болезней. Клиническая медицина. 2017; 95(3): 197-200. [Kukes V.G., Marinin V.F., Olefir Yu.V. et al. Personalized medicine in internal medicine. Klinicheskaya meditsina/ Clinical medicine. 2017; 95(3): 197-200. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18821/0023-2149-2017-95-3-197-200.
15. *Артымук Н.В., Гуляева Л.Ф., Зотова О.А., Хвостова Е.П.* Полиморфизм генов метаболизма эстрогенов у женщин с аденомиозом. Журнал акушерства и женских болезней. 2012; 61(6): 18-24. [Artymuk N.V., Gulyayeva L.F., Zotova O.A., Khvostova Y.P. The role of polymorphisms genes of detoxification of xenobiotics in the development of endometriosis. Journal of obstetrics and women's diseases. 2012; 61(6): 18-24. (in Russian)].
16. *Бабаева Н.А., Ашрафян Л.А., Антонова И.Б., Моцкобили Т.А., Люстик А.В.* Роль метаболитов эстрогенов в патогенезе рака молочной железы, эндометрия и яичников. Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России. 2013; 13(1). Доступно по: http://vestnik.rncrr.ru/vestnik/v13/papers/babaeva_v13.htm [Babaeva N.A., Ashrafyan L.A., Antonova I.B., Motskobili T.A., Lyustik A.V. The role of estrogen metabolites in the pathogenesis of breast, endometrial and ovarian cancer. Bulletin of the Russian Scientific Center of Roentgen Radiology of Ministry of Health of Russian Federation. 2013; (13). Available at: http ://vestnik.rncrr.ru/vestnik / v13/papers/babaeva_v13.htm (in Russia)].
17. *Гафаров В.В., Громова Е.А., Панов Д.О., Максимов В.Н., Гагулин И.В., Крымов Э.А., Гафарова А.В.* Полиморфизм Val158Met rs4680 гена COMT и жизненное истощение в открытой популяции 45-64 лет (международные эпидемиологические программы: ВОЗ MONICA, HAPIEE). Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2019; 11(4): 57-60. [Gafarov V.V., Gromova E.A., Panov D.O., Maksimov V.N., Gagulin I.V. et al. Val158Met rs4680 polymorphism of the COMT gene and life depletion in an open population 45–64 years old (international epidemiological programs: WHO MONICA, HAPIEE). Nevrologiya, neyropsikhiatriya, psikhosomatika /Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics. 2019; 11(4): 57-60. (in Russian)]. https://doi.org/10.14412/2074-2711-2019-4-57-60.
18. *Макаров О.В., Морозова К.В., Гончарова В.С., Луценко Н.Н.* Роль полиморфизма генов ферментов системы обмена катехоламинов и эксцизионной репарации ДНК в генезе невынашивания беременности. Вестник Российского государственного медицинского университета. 2014; 1: 31-5. [Makarov O.V., Morozova K.V., Goncharova V.S., Lutsenko N.N. The role of gene polymorphism of enzymes of the catecholamine metabolism and excisional DNA repair in the genesis of miscarriage. Vestnik RGMU/ Bulletin of RSMU. 2014; 1: 31-5. (in Russian)].
19. *Zhai J., Jiang L., Wen A., Jia J., Zhu L., Fan B.* Analysis of the relationship between COMT polymorphisms and endometriosis susceptibility. Medicine (Baltimore). 2019; 98(1): e13933. https://dx.doi.org/10.1097/MD.0000000000013933.
20. *Qin X., Peng Q., Qin A., Chen Z., Lin L., Deng Y.* et al. Association of COMT Val158Met polymorphism and breast cancer risk: an updated meta-analysis. Diagn. Pathol. 2012; 7: 136. https://dx.doi.org/10.1186/1746-1596-7-136.
21. *Hamzaoglu K., Erel C.T.* Should estrogen be used in the co-treatment of COVID-19 patients? What is the rationale? Maturitas. 2020; 140: 80. https://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2020.06.015.
22. *Cagnacci A., Bonaccorsi G., Gambacciani M.*, board of the Italian Menopause Society. Reflections and recommendations on the COVID-19 pandemic: should hormone therapy be discontinued? Maturitas. 2020; 138: 76-7. https://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2020.05.022.

Поступила 15.11.2021
Принята в печать 19.11.2021
Received 15.11.2021
Accepted 19.11.2021

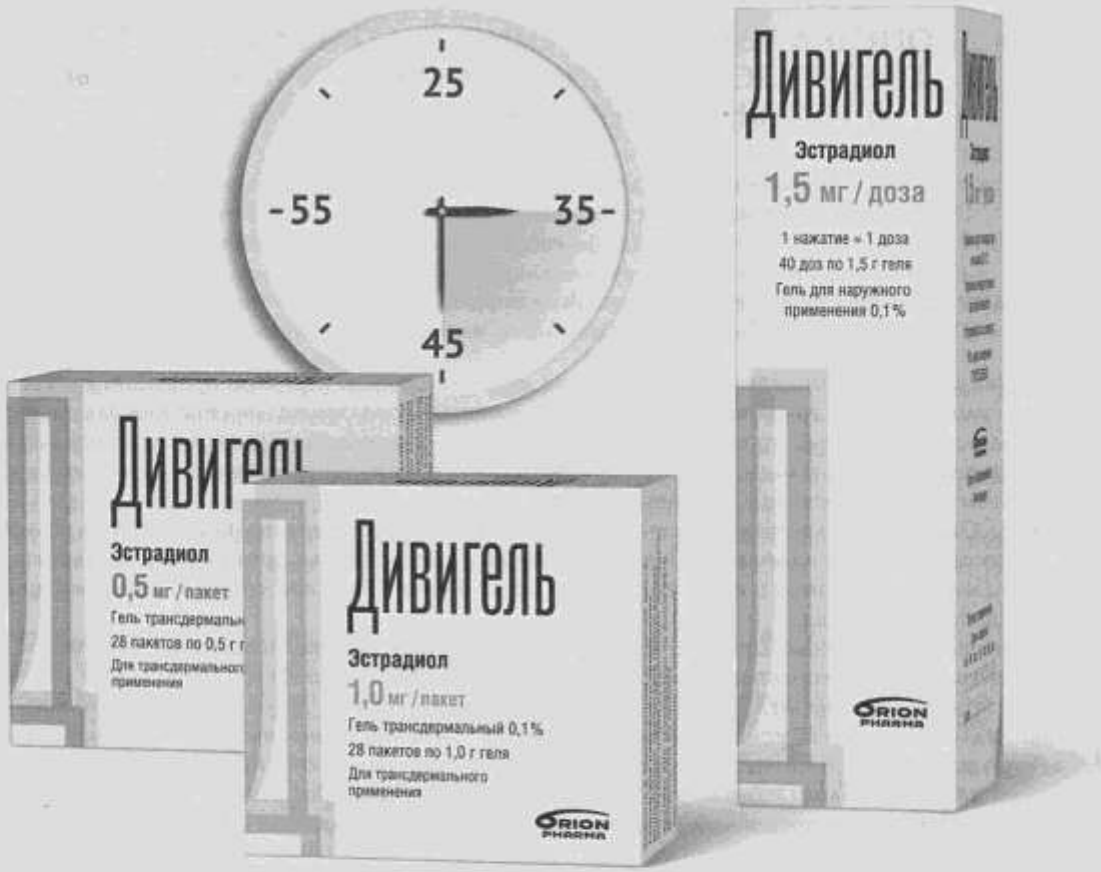
Сведения об авторах:
Квашнина Елена Владимировна, к.м.н., ведущий репродуктолог сети клиник репродуктивного здоровья «Центр ЭКО», заместитель директора по медицинской работе, Центр реабилитации нарушений репродуктивной функции «Партус», Екатеринбург, +7(343)288-53-39, doctor.kvashnina@gmail.com, 620026, Россия, Екатеринбург, ул. Мамина-Сибиряка, д. 171А.
Тутаков Максим Андреевич, ведущий эмбриолог, Центр реабилитации нарушений репродуктивной функции «Партус», Екатеринбург, +7(343)288-53-39, tutakov@ivf-partus.ru, 620026, Россия, Екатеринбург, ул. Мамина-Сибиряка, д. 171А.
Вахлова Олеся Сергеевна, репродуктолог, Центр реабилитации нарушений репродуктивной функции «Партус», Екатеринбург, +7(343)288-53-39, dr.vakhlova@mail.ru, 620026, Россия, Екатеринбург, ул. Мамина-Сибиряка, д. 171А.
Томина Евгения Викторовна, заместитель директора по организационно-методической работе клиники Центр ЭКО «Партус», Екатеринбург, +7(343)288-53-39, tomina@ivf-partus.ru, 620026, Россия, Екатеринбург, ул. Мамина-Сибиряка, д. 171А.
Шилова Наталья Владимировна, к.м.н., Ген-лаб, Москва, +7(495)774-57-57, nvshilova@gmail.com, 107078, Россия, Москва, ул. Каланчевская, д. 31, стр. 4.

Authors' information:
Elena V. Kvashnina, PhD, Leading reproductive specialist of the Network of Reproductive Health Clinics "Center for IVF", the chief physician of the clinic Center for IVF "Partus", Yekaterinburg, +7(343)288-53-39, doctor.kvashnina@gmail.com, 620026, Russia, Yekaterinburg, Mamin-Sibiryak str., 171A.
Maksim A. Tutakov, Leading embryologist at the Center IVF Center Partus Clinic, Yekaterinburg, +7(343)288-53-39, tutakov@ivf-partus.ru, 620026, Russia, Yekaterinburg, Mamin-Sibiryak str., 171A.
Olesya S. Vakhlova, obstetrician-gynecologist, fertility specialist at the Center IVF Center Partus Clinic, Yekaterinburg, +7(343)288-53-39, dr.vakhlova@mail.ru, 620026, Russia, Yekaterinburg, Mamin-Sibiryak str., 171A.
Evgenia V. Tomina, Deputy Director for Organizational and Methodological Work of the Center IVF Center Partus Clinic, Yekaterinburg, +7(343)288-53-39, tomina@ivf-partus.ru, 620026, Russia, Yekaterinburg, Mamin-Sibiryak str., 171A.
Natalya V. Shilova, PhD, Gen-lab Ltd., Moscow, +7(495)774-57-57, nvshilova@gmail.com, 107078, Russia, Moscow, Kalanchevskaya str., 31-4.

ДИВИГЕЛЬ

Начало новой жизни

0,1% трансдермальный гель 17b-эстрадиола для коррекции дефицита эстрогенов



Произведено в Финляндии

ДОЗЫ И ФОРМЫ ВЫПУСКА:

- **Однодозовые пакеты** — 0,5 мг эстрадиола / 0,5 г геля
- **Однодозовые пакеты** — 1,0 мг эстрадиола / 1,0 г геля
- **ПОМПА — 1 нажатие** — 1,5 мг эстрадиола / 1,5 г геля

ORION PHARMA

ООО «Орион Фарма»
119034, Москва, Сеченовский переулок, д. 6, стр. 3
Тел.: +7 495 363 50 71, факс: +7 495 363 50 74
www.orionpharma.ru

DIV-17

РУ: П N015526/01

РЕКЛАМА

©Коллектив авторов, 2021

С.В. ЮРЕНЕВА[1], С.В. ПРОКОФЬЕВА[2], Н.В. СПИРИДОНОВА[3], Е.А. ЮРАСОВА[4], Л.М. ИЛЬИНА[5]

ОЦЕНКА УДОВЛЕТВОРЕННОСТИ ПАЦИЕНТОК ЛЕЧЕНИЕМ ПРЕПАРАТОМ АНЖЕЛИК МИКРО В ТЕЧЕНИЕ 13 ЦИКЛОВ В РЕАЛЬНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ В РОССИИ

[1]ФБГУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия
[2]ФГБОУ «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия
[3]ФГБОУ «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия
[4]ФГБОУ «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, Хабаровск, Россия
[5]Ассоциация гинекологов-эндокринологов, Москва, Россия

Снижение выработки эстрогенов во время менопаузального перехода приводит к появлению различных симптомов, отличающихся по интенсивности и продолжительности, которые могут оказывать значительное влияние на качество жизни. Приливы и ночная потливость являются самыми распространенными симптомами менопаузы. Наиболее эффективной терапией вазомоторных симптомов является менопаузальная гормональная терапия.

Цель: *Оценить удовлетворенность пациенток приемом препарата Анжелик Микро в реальной клинической практике в течение 13 циклов лечения. Помимо этого, проводилась оценка изменений менопаузальных симптомов и качества жизни после 3–4 и 13 циклов лечения, а также причины раннего прекращения лечения.*

Материалы и методы: *Проспективное многоцентровое неинтервенционное когортное исследование по оценке удовлетворенности пациенток приемом препарата Анжелик Микро в реальной клинической практике, выполненное среди 1570 пациенток в возрасте 50–65 лет с умеренными или тяжелыми вазомоторными симптомами, нуждающихся в лечении ультранизкодозированными препаратами.*

Результаты: *Результаты исследования показали, что более 99% пациенток с умеренными и тяжелыми вазомоторными симптомами в постменопаузе были удовлетворены лечением ультранизкодозированным комбинированным эстроген-гестагенным препаратом Анжелик Микро после 13 циклов терапии.*

Заключение: *Результаты лечения препаратом Анжелик Микро в условиях реальной клинической практики, продемонстрировавшие высокие показатели удовлетворенности пациенток этим методом лечения, расширяют возможности современного врача в оказании помощи женщинам среднего возраста.*

Ключевые слова: *менопаузальные вазомоторные симптомы, менопаузальная гормональная терапия (МГТ), ультранизкодозированная МГТ, удовлетворенность лечением.*

Вклад авторов: Юренева С.В. – главный исследователь исследования 19022, написание статьи; Прокофьева С.В., Спиридонова Н.В., Юрасова Е.А. – исследователи исследования 19022, написание статьи; Ильина Л.М. – сбор и анализ литературных данных для обсуждения, написание статьи.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование: Работа выполнена в рамках исследования 19022 (спонсор – АО «Байер», Москва, Россия).
Согласие пациентов на публикацию: Участники подписали информированное согласие на публикацию своих данных.
Обмен исследовательскими данными: Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения главным исследователем.

Для цитирования: Юренева С.В., Прокофьева С.В., Спиридонова Н.В., Юрасова Е.А., Ильина Л.М. Оценка удовлетворенности пациенток лечением препаратом Анжелик Микро в течение 13 циклов в реальной клинической практике в России. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 222-228
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.222-228

© A group of authors, 2021

S.V. YURENEVA[1], S.V. PROKOFIEVA[2], N.V. SPIRIDONOVA[3], E.A. YURASOVA[4], L.M. ILYINA[5]

EVALUATION OF PATIENTS' SATISFACTION WITH ANGELIQ MICRO IN REAL CLINICAL PRACTICE AFTER 13 CYCLES OF TREATMENT IN RUSSIA

[1]Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia
[2]North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Ministry of Health of Russia, Saint Petersburg, Russia
[3]Samara State Medical University, Ministry of Health of Russia, Samara, Russia
[4]Far Eastern State Medical University, Ministry of Health of Russia, Khabarovsk, Russia
[5]Association of Gynecologists and Endocrinologists, Moscow, Russia

A decrease in estrogen production during the menopausal transition leads to the appearance of various symptoms that differ in intensity and duration and can have a significant impact on the quality of life. Hot flushes and night sweats are the most common symptoms of the menopause. The most effective treatment for menopausal symptoms is menopausal hormone therapy.

Objective: *To assess patients' satisfaction with Angeliq Micro in real clinical practice during 13 cycles of treatment and to evaluate changes in menopausal symptoms and quality of life after 3–4 and 13 cycles of treatment, as well as the reasons for early discontinuation of treatment.*

Materials and methods: *This is a prospective multicenter non-interventional cohort study on the assessment of patients' satisfaction with Angeliq Micro in real clinical practice. The study included 1570 patients aged 50–65 years who experienced moderate or severe vasomotor symptoms and needed treatment with ultra-dose drugs.*

Results: *The patients with moderate to severe intensity of menopausal vasomotor symptoms were satisfied with ultra-dose Angeliq Micro. The proportion of such women exceeded 99% after 13 cycles of treatment.*

Conclusion: *The results of treatment with Angeliq Micro in real clinical practice demonstrate high patients' satisfaction rate with this method of treatment and provide a modern doctor with more opportunities to help middle-aged women.*

Keywords: *menopausal vasomotor symptoms, menopause hormone therapy (MHT), ultra-dose MHT, Angeliq Micro, satisfaction with treatment.*

Authors' contributions: Yureneva S.V. – chief researcher of study 19022, writing the article; Prokofieva S.V., Spiridonova N.V., Yurasova E.A. – researchers of study 19022, writing the article; Ilyina L.M. – collection and analysis of data from literature for discussion, writing the article.
Conflicts of interest: The authors declare that they have no competing interests.
Funding: The research was carried out within the framework of study 19022 (sponsored by Bayer, Moscow, Russia).
Patient Consent for Publication: All patients provided informed consent for the publication of their data.
Authors' Data Sharing Statement: The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Yureneva S.V., Prokofieva S.V., Spiridonova N.V., Yurasova E.A., Ilyina L.M. Evaluation of patients' satisfaction with Angeliq Micro in real clinical practice after 13 cycles of treatment in Russia. Akusherstvo i Ginekologiya/ Obstetrics and gynecology. 2021; 11: 222-228 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.222-228

Основные менопаузальные расстройства, развивающиеся вследствие изменений гормонального статуса женщин во время переходного периода и постменопаузы, включают вазомоторные симптомы (ВМС), а также генитоуринарный менопаузальный синдром (ГУМС) и расстройства сна в дополнение ко множеству других физических и психологических симптомов и признаков [1–3]. В указанные периоды времени приливы или ночную потливость различной интенсивности испытывают до 80% женщин. Вазомоторные симптомы у части женщин могут наблюдаться в течение 7–10 лет, и фактически до четверти пациенток в возрасте 60 лет сообщают о продолжающихся приливах [4, 5].

Растет число доказательств, свидетельствующих о необходимости лечения умеренных или тяжелых ВМС, поскольку выявлена четкая корреляция между временем их появления, тяжестью, продолжительностью и состоянием ментального, сердечно-сосудистого и метаболического здоровья женщин [6–8].

В этой связи нельзя не упомянуть еще об одном важнейшем аспекте жизни современных женщин, которые продолжают работать в переходном периоде и ранней постменопаузе. Наступление менопаузы может оказать влияние не только на качество жизни, но и на выполнение рабочих обязанностей, мотивацию к труду и занятость [9–11]. Учитывая данный аспект, эксперты Европейского общества по менопаузе и андропаузе (European Menopause and Andropause Society, EMAS) подготовили рекомендации Глобального консенсуса, направленные против социальной стигматизации работающих менопаузальных женщин и предлагающие меры, способствующие сохранению их здоровья и работоспособности [12].

Наиболее эффективным методом лечения ВМС в переходный период и постменопаузе является

менопаузальная гормональная терапия (МГТ). Рассмотрение возможности ее назначения должно быть частью общей стратегии ведения женщин в этот период времени, включающей рекомендации в отношении образа жизни для поддержания ее качества, здоровья и работоспособности. В настоящее время все ведущие Международные общества по менопаузе, Российское общество акушеров-гинекологов и Эндокринологическое общество, занимающиеся проблемами здоровья женщин среднего возраста, рекомендуют придерживаться так называемой «временной» гипотезы: начинать МГТ в возрасте <60 лет и при длительности постменопаузы <10 лет, когда соотношение пользы/риска МГТ является наиболее благоприятным с целью купирования ВМС и других менопаузальных симптомов [13–17].

Причины интереса к изучению препарата Анжелик Микро в условиях рутинной клинической практики и преимущества дизайна исследования

Для лечения ВМС у женщин в постменопаузе эффективными являются как низкая (1 мг), так и ультранизкая дозы (0,5 мг) эстрадиола, прием которых можно начинать на стадиях ранней постменопаузы +1b и +1c по классификации STRAW+10, следующими за стадией +1a (завершение 12месячного периода аменореи, необходимого для подтверждения менопаузы) [18].

Согласно современным рекомендациям, в случае длительного сохранения умеренных или тяжелых менопаузальных симптомов, нарушающих качество жизни женщины, не следует накладывать произвольные ограничения на длительность МГТ, поскольку ее польза обычно перевешивает риски, в особенности это касается низко- и ультранизкодозированных препаратов [13–17, 19, 20].

Препарат МГТ Анжелик Микро является ультранизкодозированным и содержит 0,25 мг прогестина дроспиренона (ДРСП) и 0,5 мг эстрадиола гемигидрата. Препарат был одобрен Управлением по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными препаратами (FDA) в феврале 2012 г. для лечения ВМС климактерического синдрома. В России Анжелик Микро зарегистрирован в январе 2015 г. и с этого времени широко применяется по официально зарегистрированным показаниям: лечение ВМС средней и тяжелой степени выраженности, связанных с менопаузой, у женщин с интактной маткой.

Несмотря на наличие многих научных и клинических данных о благоприятном профиле эффективности и безопасности препарата Анжелик Микро [21, 22], сведения, полученные в результате исследований реальной клинической практики (РКП), представляют большой интерес. В последнее время все больше внимания ученых и медицинской общественности обращается к данным исследований, проводимых в условиях РКП, поскольку они помогают наиболее полно отражать разнородность пациенток и разнообразие клинических ситуаций, с которыми врачи ежедневно сталкиваются в своей работе [23]. Безусловно, рандомизированные клинические исследования занимают ведущее положение в «пирамиде доказательной медицины», но исследования РКП являются важным дополнительным источником информации о балансе пользы/риска избранного метода терапии или конкретного препарата.

В России было проведено многоцентровое наблюдательное (неинтервенционное) проспективное когортное исследование в РКП, результаты которого, несомненно, представляют интерес для клиницистов [24].

Дизайн наблюдательного исследования предполагает, что авторы собирают данные путем простого наблюдения за событиями в их естественном течении, не вмешиваясь в них активно. Проспективный дизайн позволяет оценивать число случаев заболевания, возникших в течение ограниченного времени в определенной популяции, т.е. инцидентность событий, а также их нарративность, когда результаты представлены в цепи взаимосвязанных последовательных событий, что позволяет делать предположения об их связи. Кроме того, проспективный дизайн лишен рисков, связанных с так называемыми «ошибками памяти» (recall bias), являющимися слабым звеном ретроспективных исследований.

Цель исследования: оценка удовлетворенности пациенток результатами применения препарата Анжелик Микро после 13 циклов применения в условиях РКП. Дополнительно оценивали удовлетворенность пациенток приемом препарата через 3–4 цикла применения, динамику симптомов менопаузы и качества жизни через 3–4 и 13 циклов применения, а также комплаентность пациенток, переносимость применения препарата, частоту, сроки и причины досрочного прекращения приема препарата.

Материалы и методы

Критерии включения: пациентки в возрасте 50–65 лет с ВМС климактерического синдрома средней и тяжелой степени выраженности и интактной маткой, которым назначена или будет назначена МГТ препаратом Анжелик Микро.

Все участницы были разделены на две подгруппы:

1) уже получающие другой препарат для МГТ (за исключением препарата Анжелик) в течение 3–5 лет, желающие продолжить лечение и которых решено перевести на терапию препаратом Анжелик Микро;

2) никогда не получавшие МГТ пациентки, у которых прошло ⩾3 лет после последней менструации, находящиеся на стадии +1c (3–6 лет постменопаузы) по классификации STRAW+10 в возрасте <60 лет на момент включения в исследование.

Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Характеристика популяции исследования

В исследовании приняли участие 1570 пациенток в возрасте 50–65 лет с умеренными или тяжелыми ВМС, имеющих показания для назначения препа-

рата Анжелик Микро, из них 1557 пациенток были признаны валидными для включения в анализ полного набора данных.

Количество женщин в двух изучаемых подгруппах, которые получали МГТ ранее и которым МГТ была назначена впервые, было неравным и составило примерно 1:5.

Период наблюдения за каждой зарегистрированной пациенткой составил 12 месяцев (примерно 13 циклов терапии препаратом Анжелик Микро).

Средний возраст всех участниц составил 55,0±2,9 года, средний вес – 75,2±12,0 кг, средний индекс массы тела (ИМТ) – 27,7±4,2 кг/м^2. Средний возраст наступления менопаузы во всей группе женщин составил 50,2±2,6 года и был сходным у женщин в обеих изучаемых подгруппах. Большинство участниц (98,6%) находились на стадии +1c по критериям STRAW+10. Всем участницам исследования на 1-м визите был назначен один препарат в одинаковой дозе (ДРСП 0,25 мг + эстрадиола гемигидрат 0,5 мг) и в одном режиме (1 раз в день).

Методы исследования

Оценка основной переменной (первичной конечной точки), а именно удовлетворенности пациенток приемом препарата Анжелик Микро на заключительном визите (примерно через 13 циклов терапии) проводилась с использованием опросника, содержащего 8 вопросов (доменов) с вариантами ответов: «весьма удовлетворена», «удовлетворена», «нейтральная оценка», «не удовлетворена» и «совсем не удовлетворена» по лечению симптомов менопаузы (Menopause Symptoms Treatment Satisfaction Questionnaire (MS-TSQ)).

Вторичные переменные (вторичные конечные точки) и используемые методы анкетирования (опросники):

- оценка удовлетворенности терапией пациенток через 3–4 цикла лечения (MS-TSQ);
- изменения выраженности менопаузальных симптомов по сравнению с исходными данными (менопаузальная рейтинговая шкала (Menopause Rating Scale (MRS)). Степень выраженности каждого клинического симптома оценивалась по 5-балльной шкале от «отсутствует» (0 баллов) до «резко выражен» (4 балла);
- изменения качества жизни по сравнению с исходными данными оценивались с помощью специального опросника, отражающего нарушения в 4 областях (Menopause-specific Quality of Life (MENQOL)) (всего 29 вопросов): вазомоторные (1–3), психосоциальные (4–10), физические (11–26) и сексуальные (27–29) расстройства; степень выраженности каждого клинического симптома оценивалась по 7-балльной шкале от «отсутствует» (0 баллов) до «резко выражен» (6 баллов);
- комплаентность препарата Анжелик Микро, кумулятивная частота прекращения терапии в течение первого года, время и причины этого прекращения, а также переносимость препарата (MS-TSQ).

Источники данных для проведения анализа включали информацию, ранее полученную из медицинской документации или в результате опроса участниц в ходе запланированных визитов согласно дизайну исследования.

Результаты

Проведенный анализ по категориям показал высокий уровень удовлетворенности пациенток препаратом Анжелик Микро после 13 циклов применения: доля пациенток, которые остались довольны лечением симптомов менопаузы, составила 99,3% в общей группе, 99,2% – в группе пациенток, которые получали МГТ ранее, и 99,4% – в группе пациенток, которым МГТ была назначена впервые. Различия среди респонденток между группой, которая ранее получала МГТ, и группой, которой МГТ была назначена впервые, не были клинически значимыми (разница в рисках (Risk difference, RD) -0,0020, 95% ДИ (доверительный интервал) -0,0103–0,0143) [24].

Вторичные результаты продемонстрировали высокий уровень удовлетворенности лечением препаратом Анжелик Микро после 3–4 циклов применения: 98,5% среди всех участниц, 97,8% в группе женщин, получавших лечение ранее, и 98,7% среди начавших лечение впервые. Во всей группе женщин средний показатель MS-TSQ после 3–4 циклов лечения составил 77,1±12,5 и был сходным в подгруппах женщин, получавших и не получавших лечения ранее: 76,9±13,1 и 77,1±12,5 соответственно. Медианный показатель MS-TSQ составил 75,0 (IRQ (interquartile range – межквартильный размах) 15,6) у получавших лечение ранее и 75,0 (IRQ 15,6) у тех, кому оно было назначено впервые; значимых отличий в двух изучаемых подгруппах женщин обнаружено не было (U-критерий Манна–Уитни, p=0,4517).

Изменения выраженности менопаузальных симптомов по данным суммарной оценки в баллах шкалы MRS после 3–4 циклов лечения составили -10,4±7,9 (95% ДИ, -10,9–-10,0); показатели улучшались в динамике и после 13 циклов лечения составили уже -14,0±8,9 (95% ДИ -14,4–-13,5). В подгруппе женщин, ранее не получавших терапию, изменения показателя MRS после 3–4 и 13 циклов лечения составили -11,3±7,9 (95% ДИ -11,7–-10,8) и -14,9±8,8 (95% ДИ -15,4–-14,4) соответственно. В подгруппе женщин, получавших терапию ранее, изменения показателя MRS после 3–4 и 13 циклов лечения были закономерно менее выраженными: -6,4±6,7 (95% ДИ -7,3–-5,6) и -9,4±8,2 (95% ДИ -10,4–- 8,3) соответственно.

Изменения качества жизни в лучшую сторону по сравнению с исходными данными отмечены после 3–4 и 13 циклов (во время 2-го и 3-го визитов) лечения препаратом Анжелик Микро по данным опросника MENQOL, в результате снижения выраженности менопаузальных симптомов во всех доменах (вазомоторные, психосоциальные, физические и сексуальные проявления). Улучшение показателей качества жизни прогрессировало в динамике, и во

время 3-го визита выраженность симптомов снизилась у абсолютного большинства участниц. Однако наиболее раннее и значительное улучшение наблюдалось в доменах вазомоторных проявлений опросника MENQOL. Во время 2-го и 3-го визитов оно наблюдалось у 94,2 и 96,2%, в домене «ночная потливость» – у 94,5 и 96,6% и в домене «потливость» – у 91,5 и 95,2% респонденток соответственно

Анализ ***показателей комплаентности*** показал высокую приверженность лечению препаратом Анжелик Микро среди всех участниц во время 2-го и 3-го визитов: 99,2%± 2,0 (95% ДИ 99,1–99,3) и 99,4±2,1 (95% ДИ 99,3–99,5) соответственно, при этом сходные результаты были получены в подгруппах женщин, которые получали МГТ ранее, и женщин, которым МГТ была назначена впервые. Медианный показатель комплаентности в обеих подгруппах лечения составил 100% (U-критерий Манна–Уитни, p=0,3092).

Число пациенток, ***прекративших лечение досрочно***, было низким среди всех участниц: во время 1-го визита – 1,8%, 2-го визита – 1,0% и 3-го визита – 0,6%. Среди всех женщин наиболее частыми причинами прекращения лечения после 1-го визита были неблагоприятные эффекты (33,3%), нежелание пациенток (29,2%), другие причины (33,3%); во время 2-го визита – нежелание пациенток (42,9%), другие причины (35,7%); во время 3-го визита – нежелание пациенток (75,0%), недостаточная эффективность (12,5%) и другие причины (12,5%).

Анализ ***переносимости*** продемонстрировал высокую приверженность лечению препаратом Анжелик Микро во время всех запланированных визитов. В общей группе женщин средний показатель переносимости (tolerability score) во время 2-го визита составил 1,7±0,6 (95% ДИ 1,7–1,7) и во время 3-го визита – 1,5±0,6 (95% ДИ 1,5–1,6). Сходные данные во время 3-го визита получены в подгруппах женщин, получавших и не получавших МГТ ранее: 1,5±1,6 (95% ДИ 1,5–1,6) и 1,5±0,6 (95% ДИ 1,5–1,6) соответственно. Медианный показатель переносимости в обеих подгруппах женщин составил 2,0 (U-критерий Манна–Уитни, p=0,4332).

Анализ безопасности лечения: среди всех участниц были зарегистрированы 116 нежелательных явлений (НЯ), из которых 108 были отнесены к несерьезным, 8 оценивались как серьезные. Всего 34 несерьезных НЯ (варикозная болезнь вен малого таза, приливы, гипертонический криз, инфекция верхних дыхательных путей и др.) наблюдались у 32 пациенток (2,04%) и могли быть не связаны с лечением. Такие НЯ, как маточное кровотечение или боли в молочных железах, находятся в этом перечне среди наиболее распространенных побочных реакций, в то время как повышение веса встречается нечасто. Серьезные НЯ: неоплазия яичника и гиперплазия эндометрия, сопровождавшаяся маточным кровотечением, были зарегистрированы у двух женщин (0,13%) [24].

Таким образом, представлены убедительные доказательства, касающиеся различных аспектов приема препарата Анжелик Микро в условиях РКП у женщин с ВМС в постменопаузе. Результаты исследования продемонстрировали высокую удовлетворенность пациенток лечением препаратом Анжелик Микро вследствие значительного снижения выраженности менопаузальных симптомов и улучшения качества жизни, а также благоприятного профиля переносимости и безопасности. Это подтверждает возможность назначения ультранизких доз МГТ так долго, как это необходимо при благоприятном балансе пользы и риска в отсутствие противопоказаний, согласно текущим рекомендациям ведущих международных и отечественных медицинских организаций [13–17, 19, 20].

Как и планировалось, популяция пациенток, принявших участие в данном исследовании, не была клинически однородной, что позволяет экстраполировать полученные результаты на общую популяцию женщин в постменопаузе, которым обычно российские врачи назначают низко- и ультранизкодозированные препараты МГТ в своей клинической практике.

Обсуждение

В России впервые проведено многоцентровое наблюдательное проспективное когортное исследование в РКП, в ходе которого врачами самостоятельно принималось решение о назначении терапии препаратом Анжелик Микро [24]. Результаты исследования показали, что пациентки с умеренными или тяжелыми вазомоторными симптомами были удовлетворены лечением в течение всего периода наблюдения. После 13 циклов лечения количество таких женщин во всей группе составило 99,3%, а в подгруппах пациенток, которые ранее получали МГТ и которым МГТ была назначена впервые, – 99,2 и 99,4% соответственно.

В последнее время изучению причин и последствий длительно персистирующих (до 7–10 лет) ВМС уделяется все больше внимания, учитывая их негативное влияние на качество жизни и корреляцию с возникновением хронических заболеваний в будущем [6–8]. Анализ характеристик менопаузальных ВМС в исследованиях, проведенных у женщин в пери- и в постменопаузе в различных странах (Австралия, Великобритании и США), показал четыре сходные траектории их развития в динамике с учетом времени появления, тяжести и продолжительности, причем в трех из них симптомы носили персистирующий характер [25, 26]. Обнаружено несколько генетических вариантов ферментов, связанных с метаболизмом эстрогенов, и эстрогеновых рецепторов, коррелирующих с тяжестью вазомоторной нестабильности с наступлением менопаузы [27]. Показано, что для женщин в постменопаузе с тяжелыми и/или поздними ВМС характерно ускорение эпигенетического старения по данным маркеров-предикторов биологического старения [28].

МГТ является наиболее эффективным лечением менопаузальных расстройств, и в случае длительного сохранения ВМС преимущества гормональной терапии обычно перевешивают риски, поэтому, согласно современным рекомендациям, не

следует накладывать произвольные ограничения на ее длительность [13–17, 19, 20]. Однако наилучший подход к прекращению МГТ продолжает обсуждаться, поскольку в случае резкой отмены лечения менопаузальные симптомы могут возобновляться в 50–55% случаев [19, 20]. В рекомендациях Эндокринологического общества по вопросам МГТ отмечается: «Как показывает опыт, некоторые женщины находят, что очень низкая доза гормонального препарата способна адекватно купировать симптомы и улучшать общее благополучие, и предпочитают получать такое лечение в течение длительного времени прежде, чем полностью его отменить» [13]. В этом плане удобство переключения пациентки с низкодозированного на ультранизкодозированный препарат трудно переоценить. С другой стороны, потребность в лечении может возникнуть спустя несколько лет постменопаузы, когда женщины решают не мириться с продолжающимися ВМС, снижающими качество жизни и работоспособность. Это подтверждают данные рассматриваемого исследования, показавшие, что в условиях рутинной практики врачи часто сталкиваются с такой проблемой и открыты к тому, чтобы назначать препарат впервые спустя 3–6 лет постменопаузы. Однако при выборе в пользу длительной МГТ пациентка должна быть информирована о возможных рисках лечения и находиться под тщательным врачебным наблюдением. С течением времени необходимы периодическая оценка изменений в состоянии здоровья женщины, пересмотр ожидаемых пользы и риска с учетом цели лечения.

Заключение

В последние годы в медицинском сообществе соблюдаются принципы лечения болезней, ориентированные на пациента (patient-centered disease management). Выбор наиболее подходящего типа, дозы, состава препарата, пути введения и продолжительности терапии у конкретной женщины может минимизировать риски МГТ при сохранении благоприятного профиля эффективности и безопасности. Применение ультранизкой дозы эстрогена в составе препарата МГТ, достаточной для лечения ВМС, улучшения качества жизни и работоспособности, приобретает особую актуальность в свете только что опубликованных экспертами EMAS рекомендаций Глобального консенсуса по соблюдению мер, направленных на поддержание благополучия работающих женщин в постменопаузе.

Результаты лечения препаратом Анжелик Микро пациенток в ранней постменопаузе с умеренными или тяжелыми ВМС в течение 13 циклов в условиях РКП, продемонстрировавшие высокие показатели удовлетворенности женщин этим методом лечения, расширяют возможности современного врача в оказании помощи женщинам среднего возраста.

Литература/References

1. *Юреневa С.В., Ермакова Е.И.* Менопауза и климактерическое состояние у женщины. Акушерство и гинекология. 2018; 7: 32-8. [Yureneva S.V., Ermakova E.I. Menopause and menopausal status in a woman. Obstetrics and Gynecology. 2018; 7: 32-8. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.7.32-38.
2. *Iliodromiti S., Wang W., Lumsden M.A.* et al., the International COMMA (Core Outcomes in Menopause) Consortium. Variation in menopausal vasomotor symptoms outcomes in clinical trials: a systematic review. BJOG. 2020; 127: 320-33. https://dx.doi.org/10.1111/1471-0528.15990.
3. *Santoro N., Roeca C., Peters B.A.* et al. The Menopause Transition: Signs, Symptoms, and Management Options. J Clin Endocrinol Metab. 2021;106(1): 1-15. https://dx.doi.org/10.1210/clinem/dgaa764.
4. *Paramsothy P., Harlow S.D., Nan B.* et al. Duration of the menopausal transition is longer in women with young age at onset: the multiethnic Study of Women's Health Across the Nation. Menopause. 2017; 24(2): 142-9. https://dx.doi.org/10.1097/GME.0000000000000736.
5. *Col N.F., Guthrie J.R., Politi M., Dennerstein L.* Duration of vasomotor symptoms in middle-aged women: a longitudinal study. Menopause. 2009; 16: 453-7. https://dx.doi.org/10.1097/gme.0b013e31818d414e.
6. *Maki P.M., Wu M., Rubin L.H.* et al. Hot flashes are associated with altered brain function during a memory task. Menopause. 2020; 27(3): 269-77. https://dx.doi.org/10.1097/GME.0000000000001467.
7. *Dam V., Dobson A.J., Onland-Moret N.C.* et al. Vasomotor menopausal symptoms and cardiovascular disease risk in midlife: a longitudinal study. Maturitas. 2020; 133: 32-41. https://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2019.12.011.
8. *Gray K.E., Katon J.G., LeBlanc E.S.* et al. Vasomotor Symptom Characteristics: Are They Risk Factors for Incident Diabetes? Menopause. 2018; 25(5): 520-30. https://dx.doi.org/10.1097/GME.0000000000001033.
9. *Converso D., Viotti S., Sottimano I.* et al. The Relationship Between Menopausal Symptoms and Burnout. A Cross-Sectional Study Among Nurses. BMC Women's Health. 2019; 19: 148. https://doi.org/10.1186/s12905-019-0847-6.
10. *Hashimoto K., Yoshida M., Nakamura Y.* et al. Relationship between number of menopausal symptoms and work performance in Japanese working women. Menopause. 2021; 28(2): 175-81. https://dx.doi.org/10.1097/GME.0000000000001698
11. Organisation for Economic Co-operation and Development OECD. Stat Labour force participation rate, by sex and age group. https://stats.oecd.org [Accessed 20 April 2021]
12. *Rees M., Bitze J., Cano A.* et al. Global consensus recommendations on menopause in the workplace: A European Menopause and Andropause Society (EMAS) position statement. Maturitas. 2021; 151: 55-62. https://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2021.06.006.
13. *Stuenkel C.A., Davis S.R., Gompel A.* et al. Treatment of Symptoms of the Menopause: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab. 2015; 100(11): 3975-4011. https://dx.doi.org/10.1210/jc.2015-2236.
14. *Baber R.J., Panay N., Fenton A.,* IMS Writing Group. IMS Recommendations on women's midlife health and menopause hormone therapy. Climacteric. 2016; 19(2): 109-50. https://dx.doi.org/10.3109/13697137.2015.1129166.
15. *Armeni E., Lambrinoudaki I., Ceausu I.* et al. Maintaining postreproductive health: A care pathway from the European Menopause and Andropause Society (EMAS). Maturitas. 2016; 89: 63-72. https://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2016.04.013.
16. The NAMS 2017 Hormone Therapy Position Statement Advisory Panel. The 2017 hormone therapy position statement of The North American Menopause Society. Menopause. 2017; 24: 728-53. https://dx.doi.org/10.1097/GME.0000000000000921.
17. Российское общество акушеров-гинекологов. Клинические рекомендации. Менопауза и климактерическое состояние у женщины. М.; 2021. [Russian Society of Obstetricians and Gynecologists. Clinical recommendations. Menopause and menopausal condition in women. Moscow; 2021. (in Russian)].
18. *Harlow S.D., Gass M., Hall J.E.* et al.; STRAW 10 Collaborative Group. Executive summary of the Stages of Reproductive Aging Workshop + 10:

addressing the unfinished agenda of staging reproductive aging. Menopause. 2012; 19(4): 387-95. https://dx.doi.org/10.1097/gme.0b013e31824d8f40.

19. ACOG Practice Bulletin No. 141: management of menopausal symptoms. Obstet Gynecol. 2014; 123: 202-16. https://dx.doi.org/10.1097/01.AOG.0000441353.20693.78.

20. *Gass M.L.S., Maki P., Shifren J.L.* et al. NAMS supports judicious use of systemic hormone therapy for women aged 65 years and older. Menopause. 2015; 22(7): 685-6. https://dx.doi.org/10.1097/GME.0000000000000491.

21. *Archer D.F., Schmelter T., Schaefers M.* et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of the lowest effective dose of drospirenone with 17 β-estradiol for moderate to severe vasomotor symptoms in postmenopausal women. Menopause. 2014; 21(3): 227-35. https://dx.doi.org/10.1097/GME.0b013e31829e1431.

22. *Genazzani A.R., Schmelter T., Schaefers M., Gerlinger C., Gude K.* One-year randomized study of the endometrial safety and bleeding pattern of 0.25 mg drospirenone/0.5 mg 17β-estradiol in postmenopausal women. Climacteric. 2013; 16: 490-8. https://dx.doi.org/10.3109/13697137.2013.783797.

23. *Heikinheimo O., Bitzer J., Rodríguez L.G.* Real-world research and the role of observational data in the field of gynaecology – a practical review. Eur J Contracept Reprod Health Care. 2017; 22(4): 250-9. https://dx.doi.org/10.1080/13625187.2017.1361528.

24. 19022; ANGEL; OS Report; v 2.0, 26 APR 2021.

25. *Tepper P.G., Brooks M.M., Randolph J.F. Jr* et al. Characterizing the trajectories of vasomotor symptoms across the menopausal transition. Menopause. 2016; 23: 1067-74. https://dx.doi.org/10.1097/GME.0000000000000676.

26. *Avis N.E., Crawford S.L., Greendale G.* et al. Duration of menopausal vasomotor symptoms over the menopause transition. JAMA Intern Med. 2015; 175: 531-9. https://dx.doi.org/10.1001/jamainternmed.2014.8063.

27. *Moyer A.M., Miller V.M., Faubion S.S.* Could personalized management of menopause based on genomics become a reality? Pharmacogenomics. 2016; 17(7): 659-62. https://dx.doi.org/10.2217/pgs.16.17.

28. *Thurston R.C., Carroll J.E., Levine M.* et al. Vasomotor symptoms and accelerated epigenetic aging in the Women's Health Initiative (WHI). J Clin Endocrinol Metab. 2020; 105(4): 1221-7. https://dx.doi.org/10.1210/clinem/dgaa081.

Поступила 09.11.2021
Принята в печать 16.11.2021
Received 09.11.2021
Accepted 16.11.2021

Сведения об авторах:
Юренева Светлана Владимировна, д.м.н., в.н.с. отделения гинекологической эндокринологии, профессор кафедры акушерства и гинекологии, НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России, syureneva@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-2864-066X, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.
Прокофьева Светлана Владимировна, врач акушер-гинеколог высшей категории, врач ультразвуковой диагностики, СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России.
Спиридонова Наталья Владимировна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии ИПО, СанГМУ Минздрава России.
Юрасова Елена Анатольевна, д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии, ДВГМУ Минздрава России.
Ильина Лилия Михайловна, к.м.н., медицинский советник по менопаузе Ассоциации гинекологов-эндокринологов.

Authors' information:
Svetlana V. Yureneva, Dr. Med. Sci., Leading Researcher, Department of Gynecological Endocrinology, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Centre for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, syureneva@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-2864-066X, 4 Oparina str., Moscow, 117997, Russia.
Svetlana V. Prokofieva, obstetrician-gynecologist of the highest category, ultrasound diagnostics doctor, I.I. Mechnikov Northwestern State Medical University, Ministry of Health of Russia, Saint Petersburg.
Natalya V. Spiridonova, Dr. Med. Sci., Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Institute of Professional Education, Samara State Medical University, Ministry of Health of Russia, Samara.
Elena A. Yurasova, Dr. Med. Sci., Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Far Eastern State Medical University, Ministry of Health of Russia, Khabarovsk.
Lilia M. Ilyina, PhD, Medical adviser on menopaus, Association of Gynecologists and Endocrinologists, Moscow.

Анжелик® Анжелик® Микро

Пусть легкими будут годы!

Анжелик® и Анжелик® Микро:

- **СПОСОБСТВУЮТ КУПИРОВАНИЮ ПРИЛИВОВ И СОХРАНЕНИЮ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ У ЖЕНЩИН В ПОСТМЕНОПАУЗЕ[1,2]**
- **ПРОФИЛАКТИКА ОСТЕОПОРОЗА[3]**
- **ВОЗМОЖНОСТЬ РЕГУЛИРОВАТЬ ДОЗУ[4,5]**

АНЖЕЛИК® (ANGELIQ®)

Лекарственная форма: таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 1 таблетка содержит эстрадиола гемигидрат, в пересчете на эстрадиол 1,000 мг, дроспиренон 2,000 мг. **Показания к применению:** Заместительная гормональная терапия (ЗГТ) расстройств, обусловленных дефицитом эстрогенов у женщин в постменопаузе с интактной маткой, не ранее чем через 12 месяцев после последней менструации. Профилактика остеопороза у женщин в постменопаузе с высоким риском переломов, при непереносимости или противопоказании к применению другие лекарственных препаратов для профилактики остеопороза. **Противопоказания:** Беременность и период грудного вскармливания; кровотечение из влагалища неуточненной этиологии; подтвержденный или предполагаемый диагноз рака молочной железы или рак молочной железы в анамнезе; подтвержденные или предполагаемый диагноз гормонозависимого предракового заболевания или гормонозависимой злокачественной опухоли; опухоли печени в настоящее время или в анамнезе (доброкачественные или злокачественные); тяжелые заболевания печени; тяжелые заболевания почек в настоящее время или в анамнезе или острая почечная недостаточность; острый артериальный тромбоз или тромбоэмболии, в том числе приводящие к инфаркту миокарда, инсульту; тромбоз глубоких вен в стадии обострения, венозные тромбоэмболии (в т.ч. тромбоэмболия легочной артерии) в настоящее время или в анамнезе; наличие высокого риска венозных и артериальных тромбозов; выявленная наследственная или приобретенная предрасположенность к артериальному или венозному тромбозу, включая резистентность к активированному протеину С, дефицит антитромбина III, дефицит протеина С, дефицит протеина S, гипергомоцистеинемии, антифосфолипидные антитела (антитела к кардиолипину, волчаночный антикоагулянт); состояния, предшествующие тромбозу (транзиторные ишемические атаки, стенокардия); нелеченная гиперплазия эндометрия; выраженная гипертриглицеридемия; порфирия; повышенная чувствительность к компонентам препарата Анжелик®; детский и подростковый возраст до 18 лет; врожденный дефицит лактазы, непереносимость лактозы, глюкозо-галактозная мальабсорбция. **Применение с осторожностью:** артериальная гипертензия, врожденные гипербилирубинемии (синдромы Жильбера, Дубина-Джонсона и Ротора), холестатическая желтуха или холестатический зуд во время предшествующей беременности, эндометриоз, миома матки, склероз, сахарный диабет. Эстрогены отдельно или в сочетании с гестагенами следует применять с осторожностью при: наличии факторов риска развития тромбозов или тромбоэмболий и эстрогензависимых опухолей в семейном анамнезе (родственники 1-й линии родства с тромбоэмболическими осложнениями в молодом возрасте или раком молочной железы), гиперплазия эндометрия в анамнезе, курение, гиперхолестеринемия, ожирение, системная красная волчанка, деменция, заболевания желчного пузыря, тромбоз сосудов сетчатки, умеренная гипертриглицеридемия, отеки при хронической сердечной недостаточности, тяжелая гипокальциемия, эндометриоз, бронхиальная астма, эпилепсия, мигрень, гемангиомы печени, гиперкалиемия, состояния, предрасполагающие к развитию гиперкалиемии, прием лекарственных средств, вызывающих гиперкалиемию – калийсберегающих диуретиков, препаратов калия, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), антагонистов рецепторов ангиотензина II и гепарина. **Побочное действие:** К наиболее часто встречающимся побочным реакциям относятся: болезненность молочных желез (включая дискомфорт в молочных железах), кровотечения из половых путей, желудочно-кишечные боли и боли в животе. Также часто отмечаются эмоциональная лабильность, депрессия, нервозность, головная боль, вздутие живота, тошнота, локальные отёки, астения, полип шейки матки, доброкачественные новообразования молочной железы, увеличение молочных желез, выделения из влагалища. **Способ применения и дозы:** Ежедневно следует принимать по одной таблетке. После окончания приема 28 таблеток из текущей упаковки, на следующий день начинают новую упаковку препарата Анжелик® (непрерывная ЗГТ), принимая первую таблетку в тот же день недели, что и первую таблетку из предыдущей упаковки. Таблетку проглатывают целиком, запивая небольшим количеством жидкости. Время суток, когда женщина принимает препарат, не имеет значения, однако, если она начала принимать таблетки в какое-либо конкретное время, она должна придерживаться этого времени и дальше. Забытую таблетку необходимо выпить как можно скорее. Если же после обычного времени приема прошло более 24 часов, дополнительную таблетку принимать не следует. При пропуске нескольких таблеток возможно развитие вагинального кровотечения. **Регистрационный номер:** П N016029/01. Актуальная версия инструкции от 17.09.2019. **Производитель:** Байер АГ, Германия. Отпускается по рецепту врача.

Подробная информация содержится в инструкции по применению препарата.

АНЖЕЛИК® МИКРО (ANGELIQ® MICRO)

Лекарственная форма: таблетки, покрытые пленочной оболочкой. Одна таблетка, покрытая пленочной оболочкой, содержит: дроспиренон (микронизированный) 0,250 мг, эстрадиола гемигидрат (микронизированный) в пересчете на эстрадиол 0,500 мг. **Показания к применению:** Заместительная гормональная терапия для лечения вазомоторных симптомов средней и тяжелой степени, связанных с менопаузой, у женщин с неудаленной маткой. **Противопоказания:** Прием препарата Анжелик® Микро: противопоказан при наличии любого из перечисленных ниже состояний/заболеваний. Если какое-либо из данных состояний/заболеваний возникнет во время приема препарата Анжелик® Микро, то следует немедленно прекратить применение препарата. Беременность или период грудного вскармливания; кровотечение из влагалища неуточненной этиологии; подтвержденный или предполагаемый диагноз рака молочной железы или рак молочной железы в анамнезе; подтвержденный или предполагаемый диагноз гормонозависимого предракового заболевания или гормонозависимой злокачественной опухоли; опухоли печени в настоящее время или в анамнезе (доброкачественные или злокачественные); тяжелые заболевания печени; тяжелые заболевания почек в настоящее время или в анамнезе или острая почечная недостаточность (до нормализации показателей почечной функции); острый артериальный тромбоз или тромбоэмболия (например, инфаркт миокарда, инсульт), стенокардия; тромбоз глубоких вен в стадии обострения; венозные тромбоэмболии (в т. ч. тромбоэмболия легочной артерии) в настоящее время или в анамнезе; наличие высокого риска венозных и артериальных тромбозов; выявленная предрасположенность к венозному или артериальному тромбозу, включая резистентность к активированному протеину С, дефицит антитромбина III, дефицит протеина С, дефицит протеина S, гипергомоцистеинемию, антитела к фосфолипидам (антитела к кардиолипину, волчаночный антикоагулянт); наследственную недостаточность, наследственную гиперлизинемию эндометрии; порфирию; выраженную гипертриглицеридемию; повышенную чувствительность к компонентам препарата Анжелик® Микро; детский и подростковый возраст до 18 лет; врожденный дефицит лактазы, непереносимость лактозы, глюкозо-галактозную мальабсорбцию. **С осторожностью:** Анжелик® Микро следует назначать с осторожностью при следующих заболеваниях: врожденные гипербилирубинемии (синдромы Жильбера, Дубина-Джонсона и Ротора), холестатическая желтуха или холестатический зуд во время предшествующей беременности, эндометриоз, миома матки, сахарный диабет, артериальная гипертензия. Необходимо принять во внимание, что эстрогены отдельно или в сочетании с гестагенами следует применять с осторожностью при следующих заболеваниях и состояниях: наличие факторов риска развития тромбозов и тромбоэмболий и эстрогензависимых опухолей в семейном анамнезе (родственники 1-й линии родства с тромбоэмболическими осложнениями в молодом возрасте или раком молочной железы), гиперплазия эндометрия в анамнезе, курение, гиперхолестеринемия, ожирение, системная красная волчанка, деменция, заболевания желчного пузыря, тромбоз сосудов сетчатки, умеренная гипертриглицеридемия, отеки при хронической сердечной недостаточности, тяжелая гипокальциемия, эндометриоз, бронхиальная астма, эпилепсия, мигрень, гемангиомы печени, гиперкалиемия, состояния, предрасполагающие к развитию гиперкалиемии, прием лекарственных средств, вызывающих гиперкалиемию – калийсберегающих диуретиков, препаратов калия, ингибиторов АПФ, антагонистов рецепторов ангиотензина II и гепарина. **Побочное действие:** К частым побочным реакциям относятся: эмоциональная лабильность, боли в области эпигастрия и боли в животе, ощущение дискомфорта в животе, боль в молочной железе (включая дискомфорт в области молочной железы, болезненность сосков молочной железы), кровотечения из половых путей. Нерегулярные кровотечения обычно исчезают при длительной терапии. Частота кровотечений снижается с увеличением длительности лечения. **Способ применения и дозы:** По 1 таблетке ежедневно в течение 28 дней (желательно в одно и то же время), без перерывов между упаковками. Подробная информация о способе применения и дозы содержится в инструкции по применению препарата. **Регистрационный номер:** ЛП-002845, актуальная версия инструкции от 04.07.2019 **Производитель:** Байер АГ, Германия. Отпускается по рецепту врача.

Подробная информация содержится в инструкции по применению препарата.

1. М. А. Геворкян. Роль гормонотерапии в профилактике менопаузального метаболического синдрома. Акушерство, гинекология, репродукция. 2009. **2.** Диагностика, лечение, профилактика ожирения и ассоциированных с ним заболеваний (национальные клинические рекомендации). Санкт-Петербург, 2017. **3.** Инструкция по применению лекарственного препарата Анжелик®. **4.** Возможность индивидуального подбора терапии: Анжелик® – низкодозированная МГТ с дополнительными преимуществами, содержащая 1 мг эстрадиола / 2 мг дроспиренона; Анжелик® Микро – ультранизкодозированная МГТ, содержащая 0,5 мг эстрадиола / 0,25 мг дроспиренона. **5.** Инструкция по применению лекарственного препарата Анжелик® Микро.

АО «БАЙЕР», 107113, Россия, Москва, 3-я Рыбинская ул., д. 18, стр. 2

Тел.: +7 (495) 234 2000, www.bayer.ru

Материал предназначен для специалистов здравоохранения

PP-ANG-RU-0086-1

©Коллектив авторов, 2021

Л.В. СУТУРИНА[1], Г.Б. ДИККЕ[2]

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ У МОЛОДЫХ ЖЕНЩИН НИЗКОДОЗИРОВАННОЙ ЛЕВОНОРГЕСТРЕЛ-СОДЕРЖАЩЕЙ ВНУТРИМАТОЧНОЙ СИСТЕМЫ LCS16 И КОМБИНИРОВАННОГО ОРАЛЬНОГО КОНТРАЦЕПТИВА, СОДЕРЖАЩЕГО 30 МКГ ЭТИНИЛЭСТРАДИОЛА И 3 МГ ДРОСПИРЕНОНА

[1]ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск, Россия
[2]ЧОУ ДПО «Академия медицинского образования имени Ф.И. Иноземцева», Санкт-Петербург, Россия

Цель: *Оценить удовлетворенность молодых нерожавших и рожавших женщин использованием низкодозированной левоноргестрел-содержащей внутриматочной системы (ЛНГ ВМС) или приемом комбинированного орального контрацептива (КОК), содержащего 30 мкг этинилэстрадиола и 3 мг дроспиренона (30ЭЭ/ДРСП), в течение 12 месяцев.*

Материалы и методы: *Женщины в возрасте 18–29 лет (n=147), использовавшие ЛНГ ВМС LCS16 (n=74) или КОК (30ЭЭ/ДРСП) (n=73). Изучались общая удовлетворенность методом контрацепции по шкале Лайкерта через 6 и 12 месяцев после начала использования одного из методов контрацепции, удовлетворенность по профилю кровотечения и боли, нежелательные явления во время лечения (НЯВЛ), предпочтения при выборе метода контрацепции, частота случаев выбывания из исследования.*

Результаты: *Через 12 месяцев процент ответов «очень довольна» и «довольна» методом контрацепции составил 90,3% (65/72) в группе пациенток, использовавших ВМС, и 97,3% (71/73) в группе принимавших КОК. Через 12 месяцев наблюдались уменьшение объема кровотечений и болевого синдрома при использовании обоих методов и снижение количества дней кровопотери в группе ВМС. Развитие аменореи наблюдалось у 7,7% (5/72) участниц в группе ВМС и ни у кого в группе КОК. Профилем кровотечений были «очень довольны» или «скорее довольны» 94,3% (66/72) и 95,8% (69/73) участниц соответственно. В группе ЛНГ ВМС НЯВЛ имели 50% женщин (36/72), в группе КОК – 38,4% (28/73). После 12 месяцев 81,4% (57/72) и 79,2% (57/73) женщин соответственно высказались за продолжение использования применявшегося ими метода контрацепции.*

Заключение: *Оба метода контрацепции – ЛНГ ВМС и КОК – характеризуются высокими показателями удовлетворенности пользователей.*

Ключевые слова: *низкодозированная левоноргестрел-содержащая внутриматочная система, левоноргестрел, комбинированный оральный контрацептив, этинилэстрадиол, дроспиренон, удовлетворенность, переносимость.*

Вклад авторов: Сутурина Л.В. – главный исследователь КИ № BAY 86-5028/17878, написание статьи; Дикке Г.Б. – анализ результатов, написание статьи.
Конфликт интересов: Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.
Финансирование: Работа выполнена в рамках КИ № BAY 86-5028/17878 (спонсор «Байер АГ», D-51368 Леверкузен, Германия).
Согласие пациентов на публикацию: Участники подписали информированное согласие на публикацию своих данных.
Обмен исследовательскими данными: Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Сутурина Л.В., Дикке Г.Б. Опыт применения у молодых женщин низкодозированной левоноргестрел-содержащей внутриматочной системы LCS16 и комбинированного орального контрацептива, содержащего 30 мкг этинилэстрадиола и 3 мг дроспиренона. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 230-236
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.230-236

© A group of authors, 2021

L.V. SUTURINA[1], G.B. DIKKE[2]

EXPERIENCE IN THE USE OF LOW-DOSED LEVONORGESTREL-CONTAINING INTRAUTERINE SYSTEM LCS16 AND COMBINED ORAL CONTRACEPTIVE CONTAINING 30 MCG ETHINYL ESTRADIOL AND 3 MG DROSPIRENONE IN YOUNG WOMEN

[1]Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia
[2]F.I. Inozemtsev Academy of Medical Education, Saint Petersburg, Russia

Objective: *To assess the satisfaction of young nulliparous and parous women using low-dosed levonorgestrel-releasing intrauterine system (LNG-IUS) or taking a combined oral contraceptive (COC) containing 30 mcg ethinyl estradiol and 3 mg drospirenone for 12 months.*

Materials and methods: *The study included women aged 18–29 years (n=147) who used LNG-IUS LCS16 (n=74) or took COC (30 mcg ethinyl estradiol and 3 mg drospirenone) (n=73). We studied general satisfaction of the patients using the contraceptive method and the Likert scale 6 and 12 months after applying one of the contraception methods. We assessed the satisfaction using the bleeding and pain profile, treatment-emergent adverse events (TEAE), preferences in contraception method and attrition rate.*

Results: *The percentage of patients who considered themselves to be 'very satisfied' and 'satisfied' with the contraception method was 90.3% (65/72) in the group using the IUD, and 97.3% (71/73) in the group taking the COC for 12 months. There was a decrease in bleeding and pain when patients used both methods and a decrease in the number of days of blood loss in the IUD group after 12 months. Amenorrhea was observed in 7.7% (5/72) of the participants of the IUD group and in no cases in the COC group. The patients' responses about the bleeding profile were 'very satisfied' or 'rather satisfied' in 94.3% (66/72) and 95.8% (69/73) of the cases, respectively. TEAE were revealed in 50% (36/72) of women in the LNG-IUS group and in 38.4% (28/73) of women in the COC group. After 12 months, 81.4% and 79.2% (57/73) women respectively wanted to continue using their method of contraception.*

Conclusion: *Both contraception methods, LNG-IUS and COC, are characterized by high satisfaction rates.*

Keywords: *low-dosed levonorgestrel-containing intrauterine system, levonorgestrel, combined oral contraceptive, ethinyl estradiol, drospirenone, satisfaction, tolerance.*

Authors' contributions: Suturina L.V. – main researcher of clinical studies No. BAY 86-5028/17878, writing the article; Dikke G.B. – analysis of the results, writing the article.
Conflicts of interest: The authors declare that they have no competing interests.
Funding: The research was carried out within the framework of clinical studies No. BAY 86-5028/17878 (sponsored by Bayer AG, D-51368 Leverkusen, Germany).
Patients' Consent to Publication: All patients provided informed consent for the publication of their data.
Authors' Data Sharing Statement: The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Suturina L.V., Dikke G.B. Experience in the use of low-dosed levonorgestrel-containing intrauterine system LCS16 and combined oral contraceptive containing 30 mcg ethinyl estradiol and 3 mg drospirenone in young women. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 230-236 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.230-236

Несмотря на доступность большого количества методов контрацепции, частота незапланированных беременностей во всем мире остается высокой [1]. 37% российских женщин, которые в период с января 2006 по 2011 гг. имели одну и более беременностей, отметили, что их последняя беременность была незапланированной, в равных пропорциях встречались случаи несвоевременной (18%) и нежелательной (18%) беременности. 92% абортов выполнены по причине несвоевременной (30%) или нежелательной (62%) беременности [2]. В России наибольшая частота абортов (до 37 на 1 тыс. женщин) приходится на женщин в возрасте 20–29 лет, а возраст рождения первенца увеличился до 26 лет [3]. Наиболее часто незапланированные беременности регистрируют у женщин в возрасте 20–29 лет [4, 5]. В большинстве случаев это связано с неправильным или нерегулярным использованием комбинированных оральных контрацептивов (КОК), которые являются предпочтительным методом контрацепции в этой популяции [6].

Несоблюдение режима приема снижает эффективность КОК, что подтверждается разницей в неэффективной контрацепции в течение первого года между «типичным» и «идеальным» использованием: 9 и 0,3% соответственно [7]. Обратимая контрацепция длительного действия (long-acting reversible contraception, LARC) является эффективным методом контроля рождаемости в течение продолжительного периода времени без необходимости ежедневного внимания со стороны женщины. Применение методов LARC, включая левоноргестрел-содержащие внутриматочные системы (ЛНГ ВМС), может снизить частоту незапланированной беременности. Ведущие международные организации выступают за использование ВМС (включая ЛНГ ВМС) у широкого круга женщин, независимо от их возраста или наличия родов в анамнезе [8–13]. Тем не менее в настоящее время типичным пользователем ВМС являются рожавшие женщины 35 лет и старше [14–16].

В исследовании III фазы [17] показана высокая эффективность низкодозированной ЛНГ ВМС, содержащей 19,5 мг ЛНГ, у рожавших и нерожавших женщин (n=1453) в возрасте 18–35 лет, где 5-летний индекс Перля составил 0,29 [17]. Использование данного контрацептивного метода в этой возрастной группе ассоциировалось с низкой частотой эктопических беременностей (5-летний индекс Перля – 0,18), воспалительных заболеваний органов малого таза (0,6%), перфораций (0,2%) и экспульсий ВМС (3,7%) [17].

В работе Hall A.M. et al. (2014) проводилась оценка удовлетворенности ЛНГ ВМС у молодых нерожавших женщин 18–30 лет при использовании в течение 13,4 месяца. Общая удовлетворенность была высокой – 83% «довольны» или «очень довольны» методом контрацепции. В течение года 89% пациенток продолжали использовать ЛНГ ВМС. Причинами выбывания были: экспульсии ВМС (3%), побочные эффекты (6%), отсутствие ожидаемой пользы (1%) и беременность (1%) [18].

Согласно Канадскому консенсусу о контрацепции, принятому в 2016 г., ВМС не увеличивают риск бесплодия. Женщины, которые прекращают

использование ВМС с целью наступления беременности, способны зачать сопоставимо с женщинами, никогда не использовавшими ВМС. Использование ВМС не связано с увеличением бесплодия трубного фактора у первородящих женщин [19].

Цель исследования: оценить удовлетворенность молодых нерожавших и рожавших женщин использованием низкодозированной ЛНГ ВМС или приемом КОК, содержащего 30 мкг этинилэстрадиола и 3 мг дроспиренона, в течение 12 месяцев.

Материалы и методы

Дизайн. Многоцентровое проспективное открытое клиническое исследование серии случаев (ClinicalTrials.gov: NCT03074045).

Исследование проходило в условиях реальной клинической практики с марта 2017 г. по сентябрь 2018 г. в 9 исследовательских центрах России (Москва, Смоленск, Барнаул, Иркутск, Санкт-Петербург, Новосибирск (2), Ярославль, Красноярск).

При проведении исследования руководствовались Хельсинкской декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации [20] и Руководством по надлежащей клинической практике Международной конференции по гармонизации (ICH GCP E6 R2) [21]. Все участницы подписали добровольное информированное согласие.

Объекты и исследуемые группы. 161 женщина прошла этап скрининга, 147 – были включены в исследование: 74 – в группу ЛНГ ВМС и 73 – в группу КОК.

Критерии включения: здоровые нерожавшие и рожавшие женщины в возрасте 18–29 лет (включительно), нуждающиеся в контрацепции, с регулярным менструальным циклом (интервалы 21–35 дней) и нормальным результатом цервикального мазка по Папаниколау.

Критерии исключения: патология матки, которая может представлять проблемы для установки, удержания или удаления ВМС (аномалии, миома матки); наличие противопоказаний к использованию ВМС или КОК; роды или аборт в течение 6 недель до включения в исследование; беременность или лактация; инфекции, передаваемые половым путем; неспецифические инфекции нижних половых и мочевыводящих путей (до успешного излечения).

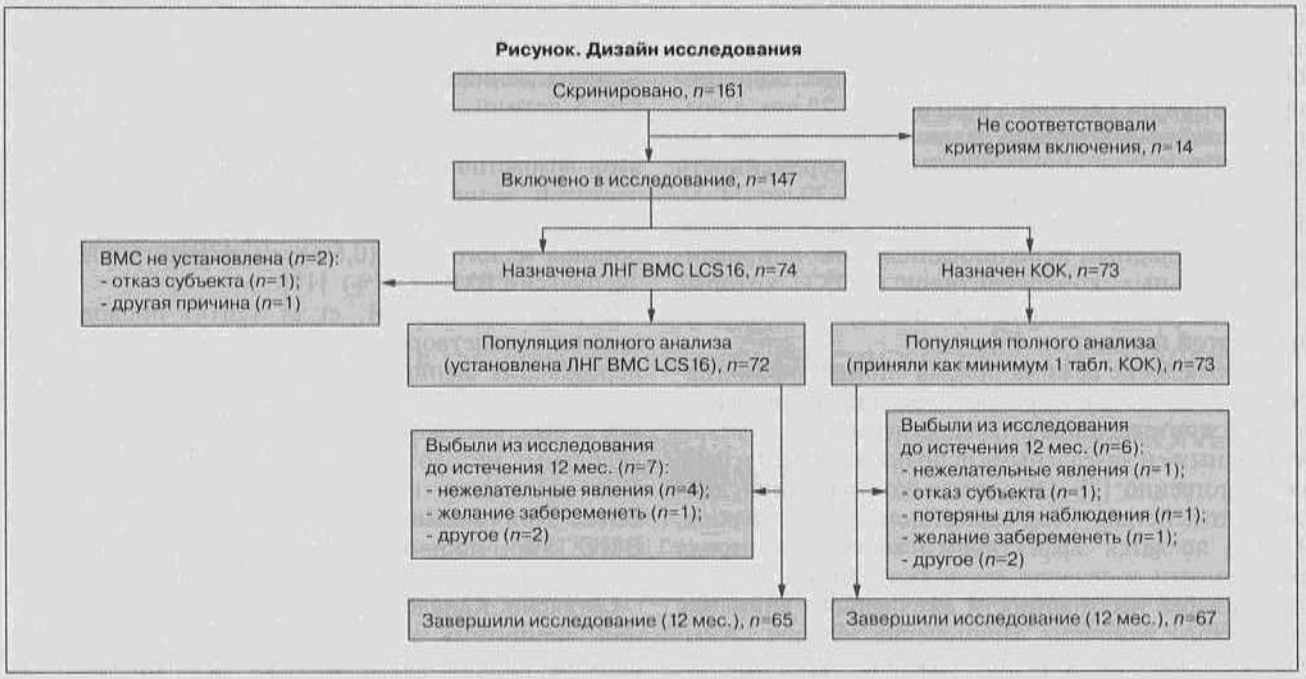
Не соответствовали критериям включения 14 пациенток, двоим женщинам, включенным в группу I, ЛНГ ВМС не вводилась, таким образом, популяцию для анализа составили 145 участниц: 72 и 73 в группах I и II соответственно. Завершили исследование 132 (91%) женщины (65 и 67 в группах I и II соответственно). Количество выбывших и завершивших исследование представлено на рисунке.

Исследуемые методы контрацепции. 1) ЛНГ ВМС LCS16, содержащая 19,5 мг ЛНГ, с первоначальной скоростью высвобождения *in vitro* 16 мкг ЛНГ/сут (группа I); 2) КОК в таблетках, содержащих 30 мкг этинилэстрадиола и 3 мг дроспиренона (30ЭЭ/ДРСП), с режимом приема с 1-го по 21-й дни менструального цикла включительно, с последующим 7-дневным перерывом (группа II).

Исследуемые переменные. Первичным критерием оценки была общая удовлетворенность пользователей методом контрацепции на момент окончания исследования или при досрочном завершении (до истечения 12 месяцев). Общая удовлетворенность пользователей оценивалась с помощью шкалы Лайкерта. Показатель общей удовлетворенности определялся как суммарный процент женщин, выбравших ответы «очень довольна» или «довольна».

Вторичные критерии эффективности: удовлетворенность пользователей по профилю менструальных кровотечений и боли (оценивалась с помощью специального вопросника через 6 и 12 месяцев), предпочтения при выборе метода контрацепции после

Рисунок. Дизайн исследования



завершения исследования, частота нежелательных явлений во время лечения (НЯВЛ). Дополнительно оценивали частоту случаев выбывания из исследования по причине НЯВЛ или по причине желания забеременеть.

Безопасность оценивалась по частоте НЯВЛ (экспульсия ЛНГ ВМС, перфорация матки, воспалительные заболевания, профиль кровотечения) и лабораторным показателям (общий анализ крови, глюкоза, липиды, ферменты печени).

Статистический анализ

Для обработки цифровых данных использовали программу Statistica 11.0 (StatSoft Inc., США) для Windows. Анализ выполнялся с помощью методов описательной статистики. Анализируемые признаки имели нормальное распределение (проверка проводилась с помощью W-критерия Шапиро–Уилка), значения приведены в виде среднего (M) и стандартного отклонения (SD). Для показателей, характеризующих качественные признаки, указывали абсолютное число (*n*) и относительную величину в процентах.

Результаты

Общая характеристика популяции. Средний возраст женщин, включенных в группы ЛНГ ВМС и КОК, составил 25,7 (2,7) и 25,0 (3,2) года соответственно. Исходные характеристики популяции, включая данные анамнеза, представлены в таблице 1.

Общая удовлетворенность пользователей. После окончания исследования показатель удовлетворенности методом контрацепции в обеих группах был высоким: большинство участниц исследования в общей популяции исследования (*n*=145) были «очень довольны» (57,9%) и «довольны» (35,9%) используемым методом контрацепции. Через 12 месяцев в группе ЛНГ ВМС процент ответов «очень довольна» и «довольна» составил 90,3% (65/72), в группе КОК – 97,3% (71/73) (табл. 2).

В группе ЛНГ ВМС дополнительно оценили показатель общей удовлетворенности у участниц с предшествующим опытом использования гормональной контрацепции и теми, кто ее ранее не использовал, при этом показатель составил 92,9% (39/42) у имевших такой опыт и 86,7% (26/30) – у не имевших.

Профиль кровотечений и боли. В группе ЛНГ ВМС уже через 6 месяцев 76,8% (53/69) женщин сообщили о снижении объема менструальных кровотечений; к окончанию 12-го месяца исследования эта цифра составила 80% (56/70). В группе КОК снижение объема менструальных кровотечений через 6 месяцев отметили 62,9% (44/70) пациенток, через 12 месяцев – 45,8% (33/72) (табл. 3).

Среднее количество дней кровотечений и кровомазаний снизилось в группе ЛНГ ВМС в среднем с 32,8 дня в 1-м 90-дневном периоде до 14 дней – в 4-м. В группе КОК количество дней кровотечений и кровомазаний оставалось относительно постоянным: в среднем 20,2 и 16,4 соответственно.

Таблица 1. Базовые характеристики популяции участниц исследования

Характеристика	ЛНГ ВМС, *n*=72	КОК, *n*=73
Возраст, лет, M (SD)	25,7 (2,7)	25,0 (3,2)
Образование		
– среднее спец. и высшее, *n* (%)	54 (75,0)	51 (69,9)
– среднее, *n* (%)	18 (25,0)	22 (30,1)
Употребление алкоголя*		
– не употребляет, *n* (%)	30 (41,7)	34 (46,6)
– редко, *n* (%)	42 (58,3)	39 (53,4)
Курение		
– никогда, *n* (%)	60 (83,3)	62 (84,9)
– в прошлом, *n* (%)	5 (6,9)	6 (8,2)
– в настоящее время, *n* (%)	7 (9,7)	5 (6,8)
Индекс массы тела, кг/м², M (SD)	22,14 (3,3)	22,30 (4,8)
Роды в анамнезе		
– нерожавшие, *n* (%)	23 (31,9)	33 (45,2)
– одни роды, *n* (%)	35 (48,6)	28 (38,4)
– 2–3 родов, *n* (%)	14 (19,5)	12 (16,5)
Применение гормональной контрацепции ранее		
– применяла, *n* (%)	42 (58,3)	42 (57,5)
– не применяла, *n* (%)	30 (41,7)	31 (42,5)

Примечание. Употребление алкоголя «редко»: не превышает двух раз в течение месяца.

Таблица 2. Показатели общей удовлетворенности методом контрацепции через 12 месяцев по шкале Лайкерта, *n* (%)

Оценка	ЛНГ ВМС, *n*=72	КОК, *n*=73	Общее число, *n*=145
– не оценивала	1 (1,4)	1 (1,4)	2 (1,4)
– очень довольна	38 (52,8)	46 (63,0)	84 (57,9)
– довольна	27 (37,5)	25 (34,2)	52 (35,9)
– ни довольна, ни недовольна	2 (2,8)	0	2 (1,4)
– недовольна	2 (2,8)	1 (1,4)	3 (2,1)
– очень недовольна	2 (2,8)	0	2 (1,4)

К окончанию 12-го месяца аменорея наблюдалась у 7,7% (5/65) участниц в группе ЛНГ ВМС и ни у кого в группе КОК; редкие кровотечения – у 27,7% (18/65) и 1,5% (1/67); частые – у 3,1% (2/65) и ни у кого; нерегулярные – у 15,4% (10/65) и 4,5% (3/67) соответственно; продолжительные кровотечения отмечались у 4,6% (3/65) женщин в группе ЛНГ ВМС и не были отмечены ни у одной пациентки в группе КОК. Спустя 12 месяцев в группе ЛНГ ВМС профилем кровотечений были «очень довольны» или «скорее довольны» 94,3% (66/72) участниц, в группе КОК – 95,8% (69/73).

Исходно около половины участниц не имели менструальной боли, около трети оценили свою боль как легкую. К концу исследования уменьшение интенсивности боли по сравнению с периодом до лечения отмечали 61,4% (43/72) женщин в группе I и 58,3% в группе II (42/73).

Доля участниц, удовлетворенных контрацепцией (отсутствие дискомфорта и неудобства метода), возросла в группе ЛНГ ВМС с 68,1 (47/72) до 77,1% (54/72) к концу исследования, но снизилась в группе КОК с 92,9% (65/73) до 79,2% (57/73).

Предпочтения участниц исследования. В конце 12-го месяца 81,4% (57/72) женщин в группе ЛНГ ВМС и 79,2% (57/73) в группе КОК высказались за продолжение использования тех же методов контрацепции, которые они использовали во время исследования.

Нежелательные явления и безопасность. НЯВЛ легкой и средней степени тяжести имели 50% (36/72) женщин в группе ЛНГ ВМС и 38,4% (28/73) в группе КОК. Во всех случаях эти явления были легкой или средней степени тяжести и включали в себя метроррагию, диарею, тошноту, увеличение веса и др., ни одно из них не было расценено как серьезное нежелательное явление. НЯВЛ были связаны с контрацептивом (13,9% (10/72) в группе ЛНГ ВМС и 5,5% (4/73) в группе КОК), с процедурами по протоколу (6,9% (5/72) и 2,7% (2/73) соответственно) и изредка требовали отмены исследуемого метода контрацепции (5,6% (4/72) в группе ЛНГ ВМС и 1,4% (1/73) в группе КОК).

Не было зарегистрировано ни одного случая серьезных НЯВЛ, смертельных исходов и беременностей. Частота межменструальных кровотечений составила 9,7% (7/72) в группе ЛНГ ВМС и 2,7% (2/73) в группе КОК. НЯВЛ, представляющие повышенный интерес с точки зрения безопасности (общая или частичная экспульсия ВМС, перфорация матки, эктопическая беременность и воспалительные заболевания органов малого таза), в ходе исследования не отмечались.

Лабораторные показатели безопасности (общий и биохимический анализ крови) были в пределах нормы у большинства женщин в обеих группах в момент включения в исследование и через 12 месяцев, ни в одной из групп не было клинически значимых отклонений.

Частота выбывания из исследования составила 9,7% (7/72) в группе ЛНГ ВМС и 8,2% (6/73) в группе КОК. НЯВЛ были причинами выбывания в группе ЛНГ ВМС в 4 наблюдениях, в группе КОК – в одном.

Таблица 3. Динамика показателей по профилю кровотечения и боли

Параметры	ЛНГ ВМС	КОК
Объем кровопотери (6-й месяц), n (%)		
Количество участниц	*n*=69	*n*=70
Снизился	53 (76,8)	44 (62,9)
Не изменился	12 (17,4)	24 (34,3)
Увеличился	4 (5,8)	2 (2,9)
Объем кровопотери (12-й месяц), n (%)		
Количество участниц	*n*=70	*n*=72
Снизился	56 (80)	33 (45,8)
Не изменился	13 (18,6)	37 (51,4)
Увеличился	1 (1,4)	2 (2,8)
Число дней кровотечения/кровомазания, M (SD)		
1-й 90-дневный период	32,8 (16,8)	20,2 (5,6)
4-й 90-дневный период	14,0 (9,1)	16,4 (4,0)
Различия между 1-м и 4-м периодами	-18,3 (7,7)	-3,8 (1,6)
Интенсивность менструальных болей (6-й месяц), n (%)		
Количество участниц	*n*=69	*n*=70
Снизилась	33 (47,8)	45 (64,3)
Не изменилась	31 (44,9)	25 (35,7)
Увеличилась	5 (7,2)	0
Интенсивность менструальных болей (12-й месяц), n (%)		
Количество участниц	*n*=70	*n*=72
Снизилась	43 (61,4)	42 (58,3)
Не изменилась	25 (35,7)	28 (38,9)
Увеличилась	2 (2,9)	2 (2,8)

Обсуждение

В качестве метода контрацепции ЛНГ ВМС LCS16 присутствует на мировом рынке с 2016 г. и успешно применяется в ряде стран (США, Канада, Австрия, Швейцария). Препарат зарегистрирован в Российской Федерации в 2021 г. Данная работа является первой по изучению этого контрацептива в российской популяции.

Исследование подтверждает, что женщины в возрасте 18–29 лет, примерно треть из которых были нерожавшими, демонстрируют высокий уровень удовлетворенности при использовании ЛНГ ВМС и КОК. В конце исследования 81,4% женщин в группе ЛНГ ВМС высказались за продолжение применения назначенного им контрацептива, что совпадает с данными европейского исследования III фазы (82%) [22].

В группе ЛНГ ВМС нежелательные явления имели 50% женщин, в группе КОК – 38,4%. Все явления были легкой или средней степени тяжести. Профиль безопасности ЛНГ ВМС и КОК соответствует ранее полученным данным из других исследований с этими препаратами [23, 24]. Таким образом, можно заключить, что ЛНГ ВМС и КОК хорошо переносились.

Прекращение участия в исследовании по причине изменений характера маточных кровотечений было низким – в группе ЛНГ ВМС (2,8%), в группе КОК такие случаи отсутствовали, что, вероятно, свидетельствует о хорошем консультировании в плане ожидаемых изменений профиля кровотечений до начала использования контрацепции. Среднее количество дней кровотечений или мажущих выделений в течение 90-дневных интервалов в группе ЛНГ ВМС снижалось, в то время как в группе КОК оставалось относительно постоянным. К окончанию исследования в группе женщин, использовавших ЛНГ ВМС, большее число пациенток имели тенденцию к уменьшению количества дней кровотечений и их объема, что соответствует ожидаемым изменениям профиля кровотечений при применении ВМС [23–26].

Показатель общей удовлетворенности через 12 месяцев использования ЛНГ ВМС составил 90,3%, что несколько ниже аналогичного показателя через 3 года по данным исследования III фазы (96%) [22]. Возможно, это связано с тем, что в исследовании [22] вопросник удовлетворенности пользователя начали применять в середине исследования, поэтому возможные оценки женщин, которые выбыли до начала использования вопросника, не были учтены. Кроме того, в исследовании III фазы участницы не знали, какой из двух низкодозированных ЛНГ ВМС (содержащих 13,5 или 19,5 мг ЛНГ) они будут получать, в то время как в настоящем исследовании женщины получали два контрацептива, отличающихся путями введения [26].

Сравнение результатов разных исследований КОК затруднительно ввиду различий в дизайне и изучаемых популяциях; удовлетворенность пользователей в исследованиях варьирует от высокой (94%) [27] до низкой (36%) [28].

Данное исследование призвано привлечь внимание к особенностям использования ЛНГ ВМС у молодых женщин, а также помочь врачам-гинекологам в их повседневной практике для формирования персонализированного подхода в подборе контрацептивных средств.

Заключение

Исследование показало, что оба метода контрацепции – ЛНГ ВМС и КОК – характеризуются высокими показателями удовлетворенности пользователей, составившими 90,3% (65/72) и 97,3% (71/73) соответственно. Через 12 месяцев при использовании обоих методов наблюдались уменьшение объема кровотечений и болевого синдрома и снижение количества дней кровопотери в группе ЛНГ ВМС. Развитие аменореи наблюдалось у 7,7% (5/72) участниц в группе ЛНГ ВМС и ни у кого в группе КОК. Профилем кровотечений были «очень довольны» или «скорее довольны» 94,3% (66/72) и 95,8% (69/73) участниц соответственно. В группе ЛНГ ВМС НЯВЛ легкой и средней степени имели 50% женщин (36/72), в группе КОК – 38,4% (28/73). Эти явления редко требовали отмены исследуемого метода контрацепции: 5,6% (4/72) и 1,4% (1/73) соответственно. Доля участниц, готовых продолжить использование ЛНГ ВМС после завершения исследования, составила 81,4% (57/72), КОК – 79,2% (57/73), что свидетельствует о привлекательности применения обоих методов среди молодых женщин, в том числе нерожавших.

Литература/References

1. *Sedgh G., Singh S., Hussain R.* Intended and unintended pregnancies worldwide in 2012 and recent trends. Stud. Fam. Plann. 2014; 45(3): 301–14. https://dx.doi.org/10.1111/j.1728-4465.2014.00393.x.
2. Federal State Statistics Service (ROSSTAT). Ministry of Health of the Russian Federation. Information and Publishing Center "Statistics of Russia". Russia Reproductive Health Survey 2011. Executive summary. 2012.
3. Федеральная служба государственной статистики. Здравоохранение в России. Статистический сборник. Росстат. М.; 2017. 170с. Доступно по: http://www.gks.ru/free_doc/doc_2017/zdrav17.pdf [Healthcare in Russia. Statistical compendium. Rosstat. M, 2017. 170 p. Electronic resource. Access mode http://www.gks.ru/free_doc/doc_2017/zdrav17.pdf (in Russian)].
4. *Montouchet C., Trussell J.* Unintended pregnancies in England in 2010: costs to the National Health Service (NHS). Contraception. 2013; 87(2): 149-53. https://dx.doi.org/10.1016/j.contraception.2012.06.008.
5. *Finer L.B., Zolna M.R.* Shifts in intended and unintended pregnancies in the United States, 2001-2008. Am. J. Public Health. 2014; 104(Suppl. 1): S43-8. https://dx.doi.org/10.2105/AJPH.2013.301416.
6. *Mosher W.D., Jones J.* Use of contraception in the United States: 1982-2008. Vital Health Stat. 23. 2010; (29): 1-44.
7. *Trussell J.* Contraceptive failure in the United States. Contraception. 2011; 83(5): 397-404. https://dx.doi.org/10.1016/j.contraception.2011.01.021.
8. NICE. National Institute for Health and Care Excellence. Long-acting reversible contraception (LARC). Clinical guideline. 2005. Available at: https://www.nice.org.uk/guidance/cg30
9. ACOG Committee Opinion No. 735: adolescents and long-acting reversible contraception: implants and intrauterine devices. Obstet. Gynecol. 2018; 131(5): e130-e139. https://dx.doi.org/10.1097/AOG.0000000000002632.

10. Committee Opinion No. 642: increasing access to contraceptive implants and intrauterine devices to reduce unintended pregnancy. Obstet. Gynecol. 2015; 126(4): e44-e48. https://dx.doi.org/10.1097/AOG.0000000000001106.
11. Committee on Practice Bulletins-Gynecology, Long-Acting Reversible Contraception Work Group. Practice Bulletin No. 186: long-acting reversible contraception: implants and intrauterine devices. Obstet. Gynecol. 2017; 130(5): e251-e269. https://dx.doi.org/10.1097/AOG.0000000000002400.
12. *Lohr P.A., Lyus R., Prager S.* Use of intrauterine devices in nulliparous women. Contraception. 2017; 95(6): 529-37. https://dx.doi.org/10.1016/j.contraception.2016.08.011.
13. WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee. Medical eligibility criteria for contraceptive use. 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2015.
14. *Heinemann K., Reed S., Moehner S., Minh T.D.* Comparative contraceptive effectiveness of levonorgestrel-releasing and copper intrauterine devices: The European Active Surveillance Study for Intrauterine Devices. Contraception. 2015; 91(4): 280-3. https://dx.doi.org/10.1016/j.contraception.2015.01.011.
15. *Кузнецова И.В.* Выбор комбинированной оральной контрацепции для подростков и молодых женщин. Акушерство и гинекология. 2018; 1: 35-40. [Kuznetsova I.V. Choice of combined oral contraception for adolescent girls and young women. Obstetrics and Gynecology. 2018; 1: 35-40. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.1.35-40.
16. *Довлетханова Э.Р., Мгерян А.Н., Абакарова П.Р.* Вопросы приемлемости и безопасности при выборе комбинированных оральных контрацептивов. Акушерство и гинекология. 2019; 4: 79-86. [Dovletkhanova E.R., Mgeryan A.N., Abakarova P.R. Issues of acceptability and safety when choosing combined oral contraceptives. Obstetrics and Gynecology. 2019; 4: 79-86. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.4.79-86.
17. *Gemzell-Danielsson K., Apter D., Dermout S., Faustmann T., Rosen K., Schmelter T.* et al. Evaluation of a new, low-dose levonorgestrel intrauterine contraceptive system over 5 years of use. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2017; 210: 22-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.11.022.
18. *Hall A.M., Kutler B.A.* Intrauterine contraception in nulliparous women: a prospective survey. J. Fam. Plann. Reprod. Health Care. 2016; 42(1): 36-42. https://dx.doi.org/10.1136/jfprhc-2014-101046.
19. *Black A., Guilbert E., Costescu D., Dunn S., Fisher W., Kives S.* et al. Canadian Contraception Consensus (Part 3 of 4): Chapter 7 - Intrauterine contraception. J. Obstet. Gynaecol. Can. 2016; 38(2): 182-222. https://dx.doi.org/10.1016/j.jogc.2015.12.002.
20. Ассоциация организаций по клиническим исследованиям. Хельсинкская декларация Всемирной медицинской ассоциации. Принята на 18-й Генеральной Ассамблее ВМА, Хельсинки, Финляндия, июнь 1964 г., изменения внесены на 64-й Генеральной Ассамблее ВМА, Форталеза, Бразилия, октябрь 2013 г. [Association of Clinical Research Organizations. Helsinki Declaration of the World Medical Association. Adopted at the 18th General Assembly of the VMA, Helsinki, Finland, June 1964, changes were made at the 64th General Assembly of the VMA, Fortaleza, Brazil, October 2013. (in Russian)].
21. Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии. Национальный стандарт Российской Федерации. ГОСТ Р 52379-2005. Надлежащая клиническая практика. Официальное издание. М.: Стандартинформ; 2006. 39с. [National standard of the Russian Federation GOST R 52379-2005 "Good clinical practice". Federal Agency for Technical Regulation and Metrology. Official publication. M.: Standardized, 2006. 39 p. (in Russian)].
22. *Nelson A.L., Apter D., Hauck B., Schmelter T., Rybowski S., Rosen K.* et al. Two low-dose levonorgestrel intrauterine contraceptive systems: a randomized controlled trial. Obstet. Gynecol. 2013; 122(6): 1205-13. https://dx.doi.org/10.1097/AOG.0000000000000019.
23. *Beatty M.N., Blumenthal P.D.* The levonorgestrel-releasing intrauterine system: safety, efficacy, and patient acceptability. Ther. Clin. Risk Manag. 2009; 5(3): 561-74. https://dx.doi.org/10.2147/tcrm.s5624.
24. *Gemzell-Danielsson K., Ink P., Heikinheimo O.* Safety and efficacy of the levonorgestrel-releasing intrauterine system. Expert Rev. Obstet. Gynecol. 2013; 8(3): 235-47. https://dx.doi.org/10.1586/eog.13.18.
25. *Borgatta L., Buhling K.J., Rybowski S., Roth K., Rosen K.* A multicentre, open-label, randomized phase III study comparing a new levonorgestrel intrauterine contraceptive system (LNG-IUS 8) with combined oral contraception in young women of reproductive age. Eur. J. Contracept. Reprod. Health Care. 2016; 21(5): 372-9. https://dx.doi.org/10.1080/13625187.2016.1212987.
26. *Прилепская В.Н., Абакарова П.Р., Межевитинова Е.А., Довлетханова Э.Р., Назарова Н.М.* Современные принципы консультирования в контрацепции. Гормональная контрацепция. Акушерство и гинекология. 2021; 3(Приложение): 17-22. [Prilepskaya V.N., Abakarova P.R., Mezhevitinova E.A., Dovletkhanova E.R., Nazarova N.M. Modern principles of counseling in contraception. Hormonal contraception. Obstetrics and gynecology. 2021; 3 (Suppl): 17-22. (in Russian)].
27. *Stephenson J., Shawe J., Panicker S., Brima N., Copas A., Sauer U.* et al. Randomized trial of the effect of tailored versus standard use of the combined oral contraceptive pill on continuation rates at 1 year. Contraception. 2013; 88(4): 523-31. https://dx.doi.org/10.1016/j.contraception.2013.03.014.
28. *Berenson A.B., Rahman M.* A randomized controlled study of two educational interventions on adherence with oral contraceptives and condoms. Contraception. 2012; 86(6): 716-24. https://dx.doi.org/10.1016/j.contraception.2013.03.014.

Поступила 06.10.2021
Принята в печать 12.11.2021
Received 06.10.2021
Accepted 12.11.2021

Сведения об авторах:
Сутурина Лариса Викторовна, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник, руководитель отдела охраны репродуктивного здоровья, Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, +7(3952)292207, Lsuturina@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-6271-7803, 664003, Россия, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, каб. 311.
Дикке Галина Борисовна, д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии с курсом репродуктивной медицины, Академия медицинского образования им. Ф.И. Иноземцева, +7(812)334-76-50, galadikke@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-9524-8962, 190013, Россия, Санкт-Петербург, Московский пр., д. 22, литер М.

Authors' information:
Larisa V. Suturina, Dr. Med. Sci., Professor, Chief Researcher, Head of the Department of Reproductive Health Protection, Scientific Center for Family Health and Human Reproduction, Irkutsk, +7(3952)292207, Lsuturina@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-6271-7803, 664003, Russia, Irkutsk, Timiryazev str., 6, office 311.
Galina B. Dikke, Dr Med. Sci., Associate Professor, Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology with a course of reproductive medicine, F.I. Inozemtsev Academy of Medical Education, St. Petersburg, +7(812)334-76-50, galadikke@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-9524-8962, 190013, Russia, St. Petersburg, Moskovsky Ave., 22M.

В ПОМОЩЬ ПРАКТИЧЕСКОМУ ВРАЧУ

©Коллектив авторов, 2021

Н.И. СТУКЛОВ[1,2], И.Г. БАСИЛАДЗЕ[1,3], Н.Д. КИСЛЫЙ[1]

ОСНОВНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ДЕФИЦИТА ЖЕЛЕЗА В РОССИИ, ВОЗМОЖНЫЕ ВАРИАНТЫ РЕШЕНИЙ

[1]ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Москва, Россия
[2]ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, Москва, Россия
[3]ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

В статье обсуждаются современные эпидемиологические проблемы дефицита железа (ДЖ) и анемии в России. Авторы делают акцент на женщинах репродуктивного возраста и беременных женщинах, как наиболее социально значимой группе населения. Подробно представлены показатели заболеваемости, популяционные характеристики проблемы. Важнейшую роль в статье уделяют глобальным медицинским и социальным вопросам и последствиям ДЖ, вопросам, связанным с качеством жизни, клиническими проявлениями, влиянием на репродуктивную функцию и последствия беременности. Авторами детально описывается современный взгляд на метаболизм железа, его регуляцию, механизмы всасывания и транспорта, возможные схемы формирования ДЖ. Авторы объясняют роль таких железорегуляторных белков, как двухвалентный металлотранспортер, ферропортин, гепцидин, и их взаимодействие, значения других металлов, участвующих в метаболизме железа, таких как медь и марганец. Детально рассматриваются патогенетические аспекты сидеропенического и анемического синдромов, их значение в репродуктивной функции и формировании плода. Приводятся как классические, так и самые современные алгоритмы и подходы. Особенное внимание авторы уделяют вопросам ранней диагностики и определению групп риска по развитию ДЖ, клиническим, лабораторным методам его выявления. Описаны способы определения и методы работы с данными категориями населения, представлены современные клинические рекомендации, возможные подходы к наиболее ранней и эффективной профилактике ДЖ. В статье приводятся современные алгоритмы лечения латентного ДЖ и железодефицитной анемии, возможные подходы и рекомендации разных медицинских специальностей. С учетом собственного опыта обсуждаются наиболее эффективные лекарственные препараты и подходы к их использованию у женщин с железодефицитной анемией. Описываются преимущества жидких лекарственных форм, обсуждаются наиболее эффективные дозы, схемы и продолжительность их использования. В итоге авторы обобщают представленную информацию, представляют наиболее простые схемы диагностики и лечения ДЖ на всех уровнях этой проблемы, предлагают новый подход к борьбе с ДЖ, акцентируя внимания на более раннем решении проблемы.

***Заключение:** Проблема ДЖ в России является тяжелой и нерешенной. Однако есть вероятность, что в ближайшее время будет решен вопрос о снижении заболеваемости ДЖ в нашей стране.*

***Ключевые слова:** дефицит железа, железодефицитная анемия, глюконат железа, лечение анемии, профилактика дефицита железа, женщины репродуктивного возраста, группы риска.*

Вклад авторов: Стуклов Н.И., Басиладзе И.Г., Кислый Н.Д. – разработка концепции статьи, обзор публикаций по теме статьи, написание текста, редактирование.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование: Статья подготовлена при поддержке компании «Иннотек».

Для цитирования: Стуклов Н.И., Басиладзе И.Г., Кислый Н.Д. Основные проблемы дефицита железа в России, возможные варианты решений. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 237-244
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.237-244

© A group of authors, 2021

N.I. STUKLOV[1,2], I.G. BASILADZE[1,3], N.D. KISLY[1]

IRON DEFICIENCY IN RUSSIA: MAIN PROBLEMS AND POSSIBLE SOLUTIONS

[1]Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University),
Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Moscow, Russia
[2]National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia
[3]A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow Health Department, Moscow, Russia

The paper reviews the current epidemiological problems of iron deficiency and anemia in Russia. The authors place emphasis on women of reproductive age and pregnant women who represent the most socially significant group of the population. Morbidity rates and population characteristics of the problem are presented in detail. The paper examines the significance of global medical and social issues and the consequences of iron deficiency, issues related to the quality of life, clinical manifestations, the impact on reproductive function and the consequences of pregnancy. The authors give a detailed description of the modern understanding of iron metabolism, its regulation, mechanisms of absorption and transportation, and possible schemes for the development of iron deficiency. The authors explain the role of such iron regulatory proteins as divalent metallotransporter, ferroportin, hepcidin and their interaction, the values of other metals involved in iron metabolism, such as copper and manganese. The pathogenetic aspects of sideropenic and anemic syndromes, their significance in reproductive function and fetal formation are considered in detail. Both classical and novel algorithms and approaches are given. The paper presents modern algorithms for the treatment of latent iron deficiency and iron deficiency anemia, possible approaches and recommendations of various medical specialists. This paper attempts to show the most effective medications and approaches to their use in women with iron deficiency anemia. The advantages of liquid medications are described; the most effective doses, regimens, and duration of their use are discussed. As a result, the authors summarize all the information, present the simplest schemes for the diagnosis and treatment of different stages of iron deficiency and suggest a new approach to the treatment of iron deficiency, using the previous solution of the problem.

Conclusion: *Iron deficiency remains a serious problem in Russia. However, there is a possibility that incidence of iron deficiency will be reduced in our country in the near future.*

Keywords: *iron deficiency, iron deficiency anemia, iron gluconate, anemia treatment, prevention of iron deficiency, women of reproductive age, risk groups.*

Authors' contributions: Stuklov N.I., Basiladze I.G., Kisly N.D. – development of the article concept, review of publications on the topic of the article, writing the text, editing.
Conflicts of interest: The authors declare that they have no competing interests.
Funding: The study was performed with the financial support of Innotech, LLC.

For citation: Stuklov N.I., Basiladze I.G., Kisly N.D.
Iron deficiency in Russia: main problems and possible solutions.
Akusherstvo i Ginekologiya / Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 237-244 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.237-244

К сожалению, с точки зрения проблем дефицита железа (ДЖ) и анемии Россия до настоящего времени отнесена к странам со значительными проблемами общественного здравоохранения. В данную категорию попадают регионы с выявленной частотой анемии в популяции более 20%. Сложившаяся ситуация требует обязательной разработки и внедрения национальной программы скрининга, дальнейшей профилактики и лечения данной патологии у лиц, находящихся в зоне риска [1, 2]. Учитывая отсутствие в настоящее время общегосударственных подходов в решении данной проблемы, в августе 2020 г. был проведен Экспертный совет с участием терапевтов, акушеров-гинекологов, гематологов и специалистов других областей «Актуальные вопросы железодефицита в Российской Федерации» и выпущена резолюция, определяющая дальнейшие направления развития медицины в сторону оптимизации раннего выявления и профилактики этих состояний [3]. В данной резолюции акцентировано внимание на том, что, рассматривая проблему ДЖ, необходимо прежде всего уделять внимание наиболее подверженной этой патологии группе – женщинам репродуктивного возраста. Причем данная категория населения должна рассматриваться не изолированно, а в совокупности с общим населением, так как именно она определяет глобальную проблему ДЖ, значимо влияет на всю социально-экономическую жизнь страны, определяет рождаемость и здоровье следующего поколения.

Глобальные причины развития дефицита железа у женщин репродуктивного возраста

Наиболее часто анемия и ДЖ выявляются у детей и женщин репродуктивного возраста. Основными причинами анемии, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), являются алиментарный фактор и бедность, то есть недоста-

точное потребление наиболее доступных форм железа, которыми богата исключительно животная пища [2]. На самом деле данный фактор имеет определяющее значение именно в группах населения, имеющих максимальные потребности в данном элементе. Если у детей – это повышенный расход железа в связи с быстрым ростом, то у женщин – значимая потеря железа с менструациями и беременность. Даже при наличии нормальной менструальной функции годовой объем кровопотери может превышать 1000 мл, или 500 мг железа. Даная ситуация определяет зависимость женского пола от правильного питания, регулярного потребления мясной пищи, что требует ежедневно в 2,5 раза большего количества экзогенного железа, чем у здоровых крепких мужчин [2, 4–6]. В современном мире и экономические, и социальные вопросы, влияющие на образ жизни и питания, к сожалению, не позволят в ближайшее время обеспечить всех женщин необходимыми продуктами в должном объеме. Мало того, как любые нарушения со стороны органов женской репродуктивной системы, будь то воспалительные процессы, подавляющие обмен железа, пролиферативные или дисгормональные заболевания, увеличивающие потери железа, так и любые заболевания органов желудочно-кишечного тракта, снижающие всасывание железа, могут сместить баланс в сторону дефицита данного элемента, сделать невозможной нормализацию его содержания в организме даже при условии правильного питания и образа жизни. Та же проблема касается и беременности. Несмотря на физиологический характер данного состояния, учитывая имеющийся своевременно не диагностированный «скрытый» ДЖ, оно очень часто приводит к выраженной нехватке железа, развитию железодефицитной анемии (ЖДА) со всеми вытекающими последствиями.

Последствия дефицита железа

Железо входит в состав гемоглобина, миоглобина, цитохромов, каталаз, пероксидаз и многих других гемовых белков. Первые участвуют в транспорте кислорода и углекислого газа во всем организме, накапливают кислород в мышцах, обеспечивая возможность их непрерывной работы, адекватного функционирования миокарда. Следующие позволяют осуществлять эффективный синтез молекул аденозинтрифосфата (АТФ) в митохондриях всех клеток.

При ДЖ последовательно изменяется энергетический обмен, при котором страдают наиболее энергопотребные быстро делящиеся ткани, нарушается целостность кожи и слизистых оболочек, снижается их барьерная функция, происходит нарушение образования эндометрия, придатков кожи, падает местный иммунитет. Нарушается продукция многих молекул (белков и гормонов), что приводит к снижению активности специфического иммунитета, развитию дисгормональных процессов, сдвигам функции щитовидной железы, подавлению выработки половых гормонов, нарушению репродуктивной функции, резкому снижению либидо и, в конечном итоге, рождаемости [7, 8].

Дефицит кислородной емкости мышц реализуется в развитии выраженной мышечной слабости, а у пожилых пациентов – в нарушении работы сердечной мышцы, слабости сфинктеров (непроизвольное мочеиспускание и т.д.).

Наконец, на последней стадии ДЖ, элемента становится недостаточно для образования гемоглобина, формируется ЖДА, снижение концентрации гемоглобина приводит к системной гипоксии и сдвигу функционирования всех жизненно важных органов вплоть до нарушения работы мозга и острой сердечной недостаточности [7, 9, 10]. В метаанализе 20 клинических исследований (97 699 пациентов), опубликованном в 2009 г., документирована статистически достоверная ассоциация анемии с низкой фракцией выброса и толерантностью к физической нагрузке, высоким риском летальных исходов при хронической сердечной недостаточности, что подтверждено и в других системных анализах [11, 12].

Отдельная проблема ДЖ и анемии связана с их негативным влиянием на течение беременности и развитие плода. Данные состояния могут приводить к преждевременному старению плаценты, гипоплазии плода, развитию непоправимых нарушений умственного и психического развития детей, увеличивают риск инфекционных послеродовых осложнений, материнской и младенческой смертности [8, 13–15].

Таким образом, ДЖ имеет значительные последствия для организма. Анемия и ДЖ снижают трудоспособность, качество жизни, нарушают репродуктивную функцию, вызывают изменения в течении беременности и развитии плода, снижают иммунную защиту, увеличивают проявления любых коморбидных заболеваний, что при условии высокой частоты в популяции негативно влияет не только на здравоохранение в целом, но и на социально-экономические показатели, рождаемость, материнскую и младенческую смертность, в частности.

Современные представление об обмене железа и его регуляции, способах коррекции

XXI век в гематологии многие называют «железным веком», так как именно в это время, начиная с 2001 г., стали известны многие механизмы, регулирующие обмен этого элемента в организме.

Всасывание пищевого железа в кровь происходит в основном в двенадцатиперстной кишке. Трехвалентное железо, содержащееся в больших количествах в растительной пище, имеет крайне незначительную возможность проникать в клетки кишечника. Для этого ему необходимо пройти процесс восстановления до двухвалентного состояния при участии фермента редуктазы на мембране энтероцита, что требует обязательной затраты энергии (молекулы АТФ). Этот процесс имеет значительные ограничения и не способен обеспечить адекватное поступление железа в организм, особенно в условиях ДЖ и нарушения продукции АТФ.

Двухвалентное железо является единственной формой, беспрепятственно проникающей через энтероциты в организм человека. Этот процесс обеспечивается специальным ферментом – двухвалентным

металлотранспортером (ДМТ-белком), причем он работает без затраты энергии. Двухвалентная форма железа является крайне нестабильной и недолговечной. Она образуется при расщеплении гемсодержащих белков (гемоглобина, миоглобина) в просвете желудка, а при смене кислой среды желудка на щелочную тонкого кишечника немедленно окисляется до трехвалентной формы. В связи с этим именно начальные отделы тонкого кишечника обеспечивают всасывание этой формы, пока она находится в легкодоступной двухвалентной форме, а степень всасывания зависит от концентрации элемента в просвете кишечника. Именно с этими особенностями связана разработка наиболее эффективных лекарственных форм, содержащих двухвалентное железо (глюконат, сульфат или фумарат) [9]. Есть отечественные работы, подтверждающие большую эффективность именно двухвалентного железа над трехвалентным [16].

Пройдя через клетки кишечника, железо поступает в кровь, причем регуляция высвобождения из энтероцитов осуществляется с помощью белка ферропортина. На выходе из клетки оно должно сменить свою валентность и превратиться в более безопасную для транспортировки и хранения в организме трехвалентную форму. Для этого существует несколько белков окислителей: мембранный белок гефестин и циркулирующий в крови церулоплазмин. После выхода железа в кровь и смены его валентности оно связывается с трансферрином и транспортируется в клетки-мишени, в которые поступает по мере их потребности через трансферриновые рецепторы [8, 9].

Надо заметить, что в подавляющем количестве белки, участвующие во всасывании железа в клетки кишечника и поступлении его в кровь, являются металлопротеиназами, содержащими медь и марганец. Так, ДМТ-белок содержит марганец, ферроредуктаза, гефестин и церулоплазмин – медь. Даже такой важный фермент, как супероксиддисмутаза, связывающий свободные радикалы кислорода, образующиеся при внутриклеточном окислении двухвалентного железа, также включает марганец. Таким образом, для адекватного всасывания и метаболизма железа жизненно необходимо полноценное содержание именно этих микроэлементов в организме. Понимание данной проблемы привело к появлению уникального SMART препарата Тотема, содержащего двухвалентную форму глюконата железа, а также глюконат меди и марганца, что позволяет обеспечивать непревзойденное всасывание. В Тотема – низкодозированное железо 50 мг в 1 ампуле и 100 мг – суточная доза для лечения ЖДА легкой степени тяжести, которое снижает лекарственную нагрузку. Тотема – это жидкая форма выпуска, которая обеспечивает лучшую переносимость и увеличивает площадь всасывания. В Тотема содержится органическая соль – глюконат, что обеспечивает лучшую переносимость железа.

Процесс поступления железа в кровь регулируется гормоноподобным белком гепцидином, образующимся в печени. При контакте гепцидина с ферропортином последний интернализуется в клетку энтероцита и прекращает свою работу, что останавливает поступление железа в организм. Подобные механизмы регуляции обмена железа имеются не только в клетках кишечника, но и в клетках селезенки и печени – основных органах, участвующих в его метаболизме. Гепцидин, открытый в 2001 г., вырабатывается в ответ на высокую концентрацию железа и воспаление, тем самым являясь отрицательным регулятором всасывания и поступления железа в кровь [9, 17, 18].

Наличие гепцидина в организме определяет «дозозависимый парадокс», характерный для железосодержащих лекарственных средств: с увеличением дозы от 40 до 400 мг количество всасываемого железа уменьшается с 30–35% до 5–7% [19]. Представляют интерес данные, опубликованные Jacobs et al., по исследованию биодоступности железа из препаратов, содержащих разное количество элементарного железа, где было показано, что биодоступность препаратов солей двухвалентного железа с содержанием элементарного железа 50 мг была 33%, т.е. организм усваивал примерно 15 мг железа. При увеличении содержания элементарного железа до 100 мг биодоступность солей железа снижалась до 11%, т.е. организм усваивал 11 мг железа [20]. Аналогичная закономерность была отмечена и для препаратов трехвалентного железа – чем выше было содержание элементарного железа, тем меньше становилась биодоступность. Парадокс ситуации состоит в том, что с меньшей дозой препарата в организм пациента поступает больше железа [21].

При наличии воспаления, различных системных заболеваний, опухоли и инфекции железо не поступает в кровь, накапливается в энтероцитах, вызывает их повреждение и развитие таких побочных эффектов, как боли в эпигастрии, тошнота, рвота, эрозии и язвы слизистой оболочки желудка и кишечника, запоры и поносы. Мало того, в таких ситуациях лечение не приводит к приросту гемоглобина, купированию симптомов сидеропении и анемии, то есть делает лечение не только неэффективным, но и небезопасным. Понимая данную проблему, необходимо постоянно соблюдать баланс клинической эффективности и адекватной переносимости лечения ЖДА. Данный баланс возможен при использовании препаратов с наиболее адекватной дозой железа, наличием микроэлементов, активирующих всасывание, и жидкой формы лекарственного препарата. Жидкая лекарственная форма препарата, с одной стороны, имеет лучшую всасываемость благодаря равномерному распределению по слизистой и большей поверхности всасывания, с другой стороны, препятствует повышенному раздражению слизистой, т.к. создаются меньшие локальные концентрации железа, поэтому жидкие препараты железа лучше переносятся, чем таблетированные формы [9, 22].

Состояние проблемы дефицита железа и анемии в России

Основное бремя ДЖ в России лежит на самых социально значимых слоях населения – это женщины и дети. К сожалению, практически отсутст-

вуют эпидемиологические работы по состоянию ДЖ в России у женщин репродуктивного возраста. Есть данные о 38% случаев анемии у гинекологических больных в Москве. Статистика, как правило, касается только беременных женщин, как обязательно подлежащих скринингу и учету. Распространенность анемии у беременных в России составляет в среднем 36,6% завершивших беременность (по данным МЗ РФ, 2018) с наиболее высокими показателями в Сибирском (37,3%), Приволжском (38,2%) и Северо-Кавказском (44,2%) федеральных округах [13]. По другим опубликованным данным, частота анемии у беременных в некоторых регионах Московской области может достигать 48%, средняя частота по Рязани – 36% [8, 23].

В этой связи следует помнить, что, по данным ВОЗ, при наличии анемии у 30–40% населения ДЖ в данной популяции может достигать 70–100% [24], а это значит, что требуется «тотальная» профилактика ДЖ в популяции женщин репродуктивного возраста в России. В этой ситуации необходимы, как уже было сказано, разработка государственной программы и выбор стратегии не только дотации железа населению, но и оптимальных диагностических алгоритмов.

Диагностика дефицита железа

ДЖ имеет большое количество негативных последствий для организма, поэтому требует как можно более раннего выявления.

По классическим представлениям имеется три основных стадии ДЖ: предлатентный ДЖ, когда нет значимого снижения запасов данного элемента, но увеличивается потребность в его поступлении, латентный ДЖ (ЛДЖ), связанный с абсолютным его дефицитом, и ЖДА, когда имеет место нарушение кроветворения и развивается анемия. Как было сказано выше, уже на стадии ЛДЖ часто имеет место выраженная клиническая картина заболевания, что требует незамедлительно лекарственной терапии [1, 2, 9].

По последним данным ВОЗ, ДЖ устанавливается при снижении содержания ферритина сыворотки (ФС) менее 30 мкг/л при наличии анемии или менее 15 мкг/л при нормальном гемоглобине. Соответственно, данные количественные показатели можно использовать для диагностики ЖДА и ЛДЖ, после чего требуются выявление и устранение причины развития ДЖ и назначение лекарственных препаратов железа. Для беременности нормальные цифры ФС определены как 15 мкг/л в I триместре, в другие сроки необходимо учитывать наличие факторов воспаления, которые могут повышать параметры данного показателя. Если есть воспалительные процессы, сопровождающиеся повышением С-реактивного белка, то ЛДЖ констатируется при ФС менее 70 мкг/л, а ЖДА – при ФС менее 100 мкг/л [25].

В России имеется дополнительная возможность устанавливать ДЖ на более ранних этапах. В «Федеральных клинических рекомендациях по диагностике и лечению железодефицитной анемии, 2015, 2021 гг.» есть понятие «группы риска» по развитию ДЖ, т.е. это состояние предрасположенности, которое появляется задолго до развития настоящего ДЖ. Действительно, если врач видит повышенную кровопотерю менструальной или другой природы, нарушение поступления железа в организм (например, вегетарианство) или ранее был установлен диагноз ЖДА, то данную пациентку он может отнести к категории больных с ДЖ и уже на данном этапе принять меры по устранению (профилактике) дальнейшего развития ДЖ. На данной стадии требуется использовать малые дозы железа в течение короткого времени, что позволит избежать любых побочных эффектов и максимально эффективно предотвратить как сам ДЖ, так и его последствия для организма матери и плода [26–28]. Популяризация данного направления в работе акушеров-гинекологов по борьбе с анемией видится нам наиболее перспективной и оправданной в условиях крайне высокого распространения ДЖ и анемии именно среди женщин репродуктивного возраста.

Лечебные мероприятия при дефиците железа

Коррекция ДЖ связана со своевременным выявлением, устранением причины его развития и назначением лекарственных препаратов железа. К последним относят те средства, которые содержат двухвалентную форму элемента [9, 26, 29]. Прием таких препаратов должен быть однократным при ЛДЖ или двух-/трехкратным при лечении ЖДА.

Продолжительность лечения ЛДЖ должна составлять от 6 недель и продолжаться до полной нормализации ФС. Лечение ЖДА – гораздо более длительный процесс. В этом случае использование пероральных препаратов должно проводиться до полной нормализации гемоглобина и еще 2–3 месяца до полного устранения ДЖ [27, 28]. Обычно длительность лечения ЖДА составляет 4–5 месяцев. В этих случаях требуется использовать максимальные дозы лекарств, что часто приводит к развитию побочных эффектов в виде тошноты, рвоты, диареи и т.д. Чтобы уменьшить данные проявления, нужно использовать так называемую трапециевидную схему. То есть начинать лечение с приема разовой дозы в сутки, проводить его 3–5 дней до полной адаптации и хорошей переносимости препарата, затем увеличивать кратность до 2–3 раз в день, проводить такое лечение до устранения анемии, затем опять снизить количество препарата до минимально эффективного [28].

Для лекарственных препаратов, содержащих железо, стандартной лечебной разовой дозой считается доза элементарного железа 100 мг, суточной – от 200 до 300 мг [9, 30]. Однако есть средства и с большей доказанной эффективностью, что позволяет использовать разовую дозу в 50 мг, а суточную всего в 100 мг железа и при этом добиваться полного устранения ДЖ всего за 3 месяца [22].

Применяя препарат Тотема у женщин с ЖДА в дозе 50 мг элементарного железа 2 раза в день, нам удалось получить более выраженный клинический

эффект, чем при использовании стандартной дозы сульфата железа в дозе 100 мг дважды в день [31]. После 3 месяцев лечения с использованием Тотемы был получен достоверно больший прирост ФС – 20±11,5 мкг/л ($p<0,05$) по сравнению с более высокими дозами сульфата железа (12,6±3,9 мкг/л). При этом количество побочных эффектов для пациентов без заболеваний органов желудочно-кишечного тракта (в нашем случае это были гинекологические больные с и без гиперполименореи) составило всего 2–3% в зависимости от исследуемой группы [31, 32]. Похожие результаты получены при использовании Тотемы у беременных с ЖДА в других исследованиях. На фоне терапии беременных женщин с ЖДА препаратом Тотема в дозе 100 мг/сут (2 ампулы в сутки) в течение одного месяца прирост гемоглобина составил 21%, через 3 месяца не только достигнута нормализация уровня гемоглобина, но и полное восстановление ФС. А именно повышение уровня ферритина в 7 раз по сравнению с началом терапии. При этом, как и в нашем исследовании, не было отмечено выраженных побочных эффектов, и все пациентки сумели закончить полный курс лечения. Для предотвращения рецидива ЖДА препарат должен применяться не менее 3 месяцев [32].

Высокий лечебный эффект Тотемы связан с несколькими особенностями – это жидкая форма, улучшающая распределение препарата по слизистой кишечника, и наличие в составе меди и марганца, которые играют важную роль в метаболизме железа и входят в активные центры супероксиддисмутаз. Наличие меди и марганца в препарате Тотема не только увеличивает биодоступность железа, что позволяет снизить эффективную профилактическую дозу до 50 мг, а лечебную дозу до 100–200 мг. Уникальный состав продукта также нормализует усвоение железа тканями и блокирует образование свободных радикалов как за счет быстрой элиминации двухвалентных ионов железа с помощью церулоплазмина (медь-зависимая феррооксидаза), так и за счет активации антиоксидантной защиты (в составе супероксиддисмутаз) [33].

Таким образом, современные пероральные препараты железа, обладающие высокой эффективностью и переносимостью, в амбулаторной практике являются препаратами выбора при лечении железодефицитных состояний и анемии.

Использование внутривенных препаратов железа должно быть обосновано только при тяжелой ЖДА, когда требуется госпитализация и стационарное лечение больной, при этом надо помнить о необходимости обязательного определения ФС до начала лечения, использовании только расчетной дозы и кратности введения согласно инструкции к препарату.

Учитывая сложности в диагностике и лечении ДЖ, особенно последней его стадии – ЖДА, когда речь идет не только о здоровье матери, но и будущего ребенка, необходимо и крайне важно использовать все имеющиеся возможности по предотвращению развития ДЖ. По мнению специалистов ВОЗ, только такой подход способен значимо снизить негативные последствия ДЖ для населения и государства в целом.

Возможные пути решения проблемы ДЖ: раннее выявление и своевременная адекватная профилактика, активное внедрение программ «менеджмента крови пациента».

Таким образом, есть несколько нерешенных проблем ДЖ, характерных для России. Большое количество женщин живут в условиях ДЖ, что приводит к огромному количеству негативных последствий для общественного здравоохранения и рождаемости в стране. Крайне высокая частота ДЖ именно у беременных женщин, когда это влияет не только на здоровье матери, но и на процесс органогенеза и формирования нервной системы плода, негативно сказывается и на исходе беременности, и на здоровье будущего ребенка. Наконец, частое наличие у больных крайней степени выраженности ДЖ – ЖДА требует использования большого количества лекарственных средств, длительного лечения, контроля его эффективности, что в отсутствие доступных современных препаратов также вызывает огромное количество проблем.

Все вышеизложенное требует создания междисциплинарных алгоритмов и государственных национальных программ по борьбе с ДЖ, основными аспектами которых должны стать своевременная диагностика (скрининг) и профилактика ДЖ. В качестве диагностических мероприятий рекомендуется использовать возможности наиболее раннего выявления ДЖ, т.е. определение групп риска, с одной стороны, и увеличение доступности скринингового использования показателя ФС как наиболее точного маркера ДЖ – с другой. В первом варианте не требуется дополнительного финансирования, но часть нагрузки ложится на врача, во втором – необходимо рассчитывать на некоторое увеличение затрат на обследование больных. Но во всех вариантах, а лучше в их сочетании, данные подходы позволят сократить количество больных женщин с ДЖ, а значит, улучшить ситуацию со здоровьем и рождаемостью в нашей стране.

Так как лечение ДЖ и особенно ЖДА – это длительный процесс, сопряженный с рядом издержек, наиболее правильным, на наш взгляд, представляется проведение профилактических мероприятий – выявление ДЖ на максимально ранних стадиях и назначение коротких курсов препаратов железа в малых дозах, что сделает их применение максимально безопасным и эффективным. Так, по рекомендациям ВОЗ, для первичной профилактики можно использовать 30–60 мг элементарного железа в день в течение 3 месяцев каждый год или 60 мг железа 1 раз в неделю в течение 3 месяцев каждые полгода, если в популяции имеет место высокая частота анемии [26, 29]. Данные схемы можно использовать и для вторичной профилактики, когда выявлены потенциальные носители ДЖ. Если учитывать все требования к препаратам железа, на наш взгляд, оптимальным выбором будет препарат Тотема, который позволяет применять его по 1 ампуле в неделю в течение 3 месяцев в группах риска по развитию ДЖ, по 1 ампуле в день 4–6 недель при доказанном ЛДЖ, по 1 ампуле 2 раза в день в течение 3 месяцев при доказанной

ЖДА. Такие свойства препарата, как двухвалентное железо в составе, жидкая форма, наличие активных синергистов всасывания (медь и марганец), оптимальная доза железа (50 мг в ампуле), делают его максимально адаптированным к использованию в качестве как профилактического, так и лечебного средства при любых формах ДЖ [33].

Заключение

Проблема ДЖ в России является тяжелой и нерешенной. Но на сегодняшний день есть возможности для решения данного вопроса. Во-первых, появилось адекватное представление о состоянии ДЖ, во-вторых, медицинское сообщество пришло к заключению о необходимости решать этот вопрос, в-третьих, уже предпринимаются попытки на междисциплинарном уровне представить возможные варианты решений, в-четвертых, есть алгоритмы ранней диагностики ДЖ даже без определения ФС, позиция врачебного сообщества о более широком внедрении лабораторных методов скрининга ДЖ, наконец, в широком доступе находятся современные лекарственные препараты и алгоритмы их использования, позволяющие в минимальные сроки максимально разрешить проблему железодефицита. Таким образом, есть вероятность, что в ближайшее время будет решен вопрос о снижении заболеваемости ДЖ в нашей стране.

Литература/References

1. World Health Organization. The World Health Report 2002: reducing risks, promoting healthy life. Geneva: WHO; 2002. 236p.
2. WHO/NHD/01.3. World Health Organization. Iron deficiency anaemia. Assessment, prevention, and control. A guide for programme managers. Geneva: WHO; 2001. 132p.
3. Резолюция совета экспертов по железодефицитной анемии у женщин. Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение. 2020; 8(4): 28-36. [Expert council resolution of the on iron-deficiency anemia in women. Akusherstvo i ginekologiya: novosti, mneniya, obuchenie/Obstetrics and Gynecology: News, Opinions, Training. 2020; 8(4): 28-36. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.24411/2303-9698-2020-14004.
4. *Beard J.L.* Iron requirements in adolescent females. J. Nutr. 2000; 130(2S Suppl.): 440S-2S. https://dx.doi.org/10.1093/jn/130.2.440S.
5. WHO. Food and Agriculture Organization of the United Nation. Human vitamin and mineral requirements. Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Bangkok, Thailand. Food and Nutrition Division FAO Rome; 2001. 303p.
6. *Fairweather-Tait S.* Iron requirements and prevalence of iron deficiency in adolescents. An overview. In: Hallberg L., Asp N.G., eds. Iron nutrition in heath and disease. John Libbey and Co. Ltd.; 1996. 137-48.
7. *Abbaspour N., Hurrell R., Kelishadi R.* Review on iron and its importance for human health. J. Res. Med. Sci. 2014; 19(2): 164-74.
8. *Демихов В.Г., Морщакова Е.Ф., Румянцев А.Г.* Патогенез и лечение анемии беременных. М.: Практическая медицина; 2015. 224с. [Demikhov V.G., Morshchakova E.F., Rumyantsev A.G. Pathogenesis and treatment of anemia in pregnant women. M.: Practical medicine; 2015. 224 p. (in Russian)].
9. *Стуклов Н.И., Козинец Г.И., Тюрина Н.Г.* Учебник по гематологии. М.: Практическая медицина; 2018. 336с. [Stuklov N.I., Kozinets G.I., Tyurina N.G. Hematology Tutorial. M.: Practical medicine; 2018. 336 p. (in Russian)].
10. *Стуклов Н.И.* Железодефицитная анемия в практике гинеколога. Алгоритмы диагностики, профилактики и лечения. Акушерство и гинекология. 2016; 7: 99-104. [Stuklov N.I. Iron-deficiency anemia in gynecological practice: Algorithms for diagnosis, prevention, and treatment. Obstetrics and Gynecology. 2016; 7: 99-104. (in Russian)]. http://dx.doi.org/10.18565/aig.2016.7.99-104.
11. *Шилов А.М.* Хроническая сердечная недостаточность и железодефицитная анемия в практике врача первичного звена здравоохранения. Лечебное дело. 2013; 3: 8-16. [Shilov A.M. Chronic Heart Failure and Iron-Deficiency Anemia in General Practice. Lechebnoe delo Journal. 2013; 3: 8-16. (in Russian)].
12. *Стуклов Н.И.* Дефицит железа и анемия у больных хронической сердечной недостаточностью. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2017; 13(5): 651-60. [Stuklov N.I. Iron Deficiency and Anemia in Patients with Chronic Heart Failure. Rational Pharmacotherapy in Cardiology. 2017; 13(5): 651-60. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.20996/1819-6446-2017-13-5-651-660.
13. *Дикке Г.Б., Стуклов Н.И.* Латентный дефицит железа и железодефицитная анемия у беременных. Алгоритмы диагностики и лечения. Фарматека. 2021; 28(6): 19-24. [Dikke G.B., Stuklov N.I. Latent iron deficiency and iron deficiency anemia in pregnant women. Diagnostic and treatment algorithms. Farmateka. 2021; 28(6): 19-24. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/pharmateca.2021.6.00-00.
14. *Means R.T.* Iron deficiency and iron deficiency anemia: implications and impact in pregnancy, fetal development, and early childhood parameters. Nutrients. 2020; 12(2): 447. https://dx.doi.org/10.3390/nu12020447.
15. *Blot I., Diallo D., Tchernia G.* Iron deficiency in pregnancy: effects of the newborn. Curr. Opin. Hematol. 1999; 6(2): 65-70. https://dx.doi.org/10.1097/00062752-199903000-00002.
16. *Лебедев В.В., Демихов В.Г., Дмитриев А.В., Аиари М., Фомина М.А.* Сравнительная эффективность и безопасность применения препаратов двух- и трехвалентного железа для лечения железодефицитной анемии. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2016; 15(4): 5-12. [Lebedev V.V., Demikhov V.G., Dmitriev A.V., Aiari M., Fomina M.A. A comparative efficacy and safety of using ferrous and ferric iron preparations for management of iron-deficiency anaemia. Pediatric Haematology/ Oncology and Immunopathology. 2016; 15(4): 5-12. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.24287/1726-1708-2016-15-4-5-12.
17. *Dallalio G., Law E., Means R.T.* Jr. Hepcidin inhibits in vitro erythroid colony formation at reduced erythropoietin concentrations. Blood. 2006; 107(7): 2702-4. https://dx.doi.org/10.1182/blood-2005-07-2854.
18. *Сахин В.Т., Маджанова Е.Р., Крюков Е.В., Казаков С.П., Рукавицын О.А.* Анемия хронических заболеваний: особенности патогенеза и возможности терапевтической коррекции (обзор литературы и результаты собственных исследований). Онкогематология. 2018; 13(1): 45-53. [Sakhin V.T., Madzhanova E.R., Kryukov E.V. et al. Anemia of chronic disease: features of pathogenesis and possible therapeutic correction (literature review and results of own research). Oncohematology. 2018;13(1): 45-53. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.17650/1818-8346-2018-13-1-45-53.
19. *Кирилюк А.А.* Железосодержащие лекарственные средства: от клинической фармакологии до фармацевтической помощи (Сообщение 1). Вестник фармации. 2020; 3: 81-97. [Kirilyuk A.A. Iron-containing Medicines: from Clinical Pharmacology to Pharmaceutical Assistance (Report 1). Bulletin of Pharmacy. 2020; 3(89): 81-97. (in Russian)].
20. *Jacobs P., Johnson G., Wood L.* Oral iron therapy in human subjects, comparative absorption between ferrous salts and iron polymaltose. J. Med. 1984; 15(5-6): 367-77.
21. *Ребров В.Г., Егорова Е.Ю., Громова О.А., Торшин И.Ю.* Парадокс лечения анемий: когда меньшее становится лучшим. Эффективная фармакотерапия. 2010; 3: 26-8. [Rebrov V.G., Egorova E.Yu., Gromova O.A., Torshin I.Yu. The paradox of anemia treatment: when less becomes better. Standards of treatment. 2010; 3: 26-8. (in Russian)].

22. *Семенова Е., Кунина М., Стуклов Н.* Роль меди и марганца в метаболизме железа. Врач. 2013; 12: 47-52. [Semenova E., Kunina M., Stuklov N. Role of copper and manganese in iron metabolism. Vrach/Doctor Journal. 2013; 12: 47-52. (in Russian)].
23. *Логутова Л.С.* Анемия у беременных: вопросы этиологии, диагностики и лечения. РМЖ. Мать и дитя. 2016; 5: 290-3. [Logutova L.S. Anemia in pregnant women: etiology, diagnosis and treatment. Russian Medical Journal Mother and Child. 2016; 5: 290-3. (in Russian)].
24. *Pizarro F., Yip R., Dallman P.R., Olivares M., Hertrampf E., Walter T.* Iron status with different infant regimens: relevance to screening and prevention of iron deficiency. J. Pediatr. 1991; 118(5): 687-92. https://dx.doi.org/10.1016/s0022-3476(05)80027-7.
25. WHO. WHO guideline on use of ferritin concentrations to assess iron status in individuals and populations. Geneva: World Health Organization; 2020. 72p.
26. WHO. Guideline: daily iron supplementation in adult women and adolescent girls. Geneva: World Health Organization; 2016.
27. *Gillespie S.R., Kevany J., Mason J.B.*, eds. United Nations. Administrative Committee on Coordination. Subcommittee on Nutrition. Controlling iron deficiency: a report based on an ACC/SCN Workshop. United Nations, Administrative Committee on Coordination/Subcommittee on Nutrition; 1991. 93p.
28. *Стуклов Н.И., Левакov С.А., Сушинская Т.В., Митченкова А.А., Ковальчук М.О.* Профилактика и лечение анемии у женщин репродуктивного возраста при гинекологических заболеваниях. Акушерство и гинекология. 2020; 3: 218-26. [Stuklov N.I., Levakov S.A., Sushinskaya T.V., Mitchenkova A.A., Kovalchuk M.O. Prevention and treatment of anemia in reproductive-aged women with gynecological diseases. Obstetrics and Gynecology. 2020; 3: 218-26. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.3.218-226.
29. Data, WHO. Guideline: intermittent iron and folic acid supplementation in menstruating women. Geneva: World Health Organization; 2011.
30. *DeMaeyer E.M., Dallman P., Gurney J.M., Hallberg L., Sood S.K., Srikantia S.G.* Preventing and controlling iron deficiency anaemia through primary health care. A guide for health administrators and programme managers. Geneva: World Health Organization; 1989. 61p.
31. *Кунина М.Ю., Семенова Е.Н., Стуклов Н.И.* Особенности ответа на терапию железодефицитной анемии препаратом Тотема в зависимости от этиологии. Вестник последипломного медицинского образования. 2014; 1: 74-5. [Kunina M.Yu., Semenova E.N., Stuklov N.I. Features of the response to therapy of iron deficiency anemia with a Totem preparation depending on the etiology. Bulletin of Postgraduate Medical Education. 2014; 1: 74-5. (in Russian)].
32. *Ковригина Е.С., Казанец Е.Г., Карапян Н.А., Айвазова Л.Х., Лукьянова Е.Г., Панфилова Е.Л.* Современные методы диагностики железодефицитной анемии у беременных и критерии оценки эффективности ферротерапии. Гинекология. 2005; 7(2): 90-2. [Kovrigina E.S., Kazanets E.G., Karamyan N.A. et al. Modern methods of diagnosis of iron deficiency anemia in pregnant women and criteria for evaluating the effectiveness of ferrotherapy. Gynecology. 2005; 7(2): 90-2. (in Russian)].
33. *Стуклов Н.И.* Мета-анализ данных переносимости питьевой формы глюконата железа (II), меди и марганца (препарат Тотема) при лечении железодефицитной анемии у детей и взрослых. Современная педиатрия. 2012; 7: 52-60. [Stuklov N.I. Meta-analysis of data on the tolerability of the drinking form of iron (II) gluconate, copper and manganese (Totem preparation) in the treatment of iron deficiency anemia in children and adults. Journal Zemsky doctor. 2012; 7(47): 52-60. (in Russian)].

Поступила 21.10.2021
Принята в печать 17.11.2021
Received 21.10.2021
Accepted 17.11.2021

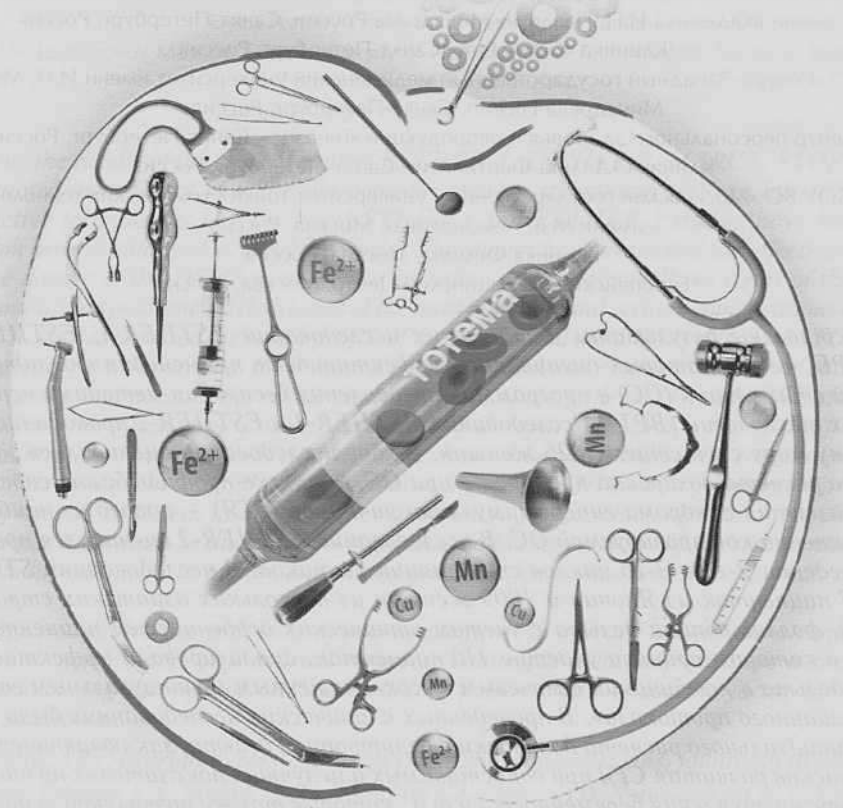
Сведения об авторах:
Стуклов Николай Игоревич, д.м.н., профессор кафедры госпитальной терапии с курсами эндокринологии, гематологии и клинической лабораторной диагностики Медицинского института РУДН, руководитель курса гематологии; главный научный сотрудник отделения высокодозной химиотерапии с блоком трансплантации костного мозга, МНИОИ им. П.А. Герцена, филиал НМИЦ радиологии, stuklovn@gmail.com, 117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.
Басиладзе Ираклий Гурамович, врач-гематолог отделения гематологии, МКНЦ им А.С. Логинова ДЗМ, 111123, Россия, Москва, Шоссе Энтузиастов, д. 86.
Кислый Николай Дмитриевич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии с курсами эндокринологии, гематологии и клинической лабораторной диагностики Медицинского института РУДН, 117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.
Автор, ответственный за переписку: Николай Игоревич Стуклов, stuklovn@gmail.com

Authors' information:
Nikolay I. Stuklov, Dr. Med. Sci., Professor at the Department of Hospital Therapy with Courses of Endocrinology, Hematology and Clinical Laboratory Diagnostics, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Head of the Course of Hematology; Senior Researcher at the Department of High-Dose Chemotherapy with a Bone Marrow Transplantation Unit, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiology Center, stuklovn@gmail.com, 6 Miklukho-Maklay str., Moscow, 117198, Russian Federation.
Irakli G. Basiladze, doctor-hematologist, Department of Hematology, A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific and Practical Center, Moscow Health Department, 86 Shosse Entuziastov str., Moscow, 111123, Russian Federation.
Nikolay D. Kisly, Dr. Med. Sci., Professor, Department of Hospital Therapy with Courses of Endocrinology, Hematology and Clinical Laboratory Diagnostics, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), 6 Miklukho-Maklay str., Moscow, 117198, Russian Federation.
Corresponding author: Nikolay I. Stuklov, stuklovn@gmail.com

тотема®

Уникальный[1] питьевой раствор железа с микроэлементами[2]

Fe^{2+} + Mn + Cu



- **Способствует повышению уровня гемоглобина в первый месяц терапии[3–5]**
- **Хорошо переносится[6, 7]**

РУ П N015590/01

Реклама Т. 00.08.19

1. Уникальный по форме выпуска. 2. grls.rosminzdrav.ru 3. Н.В. Зароченцева с соавт. Клиническая эффективность препарата Тотема в комплексной терапии гинекологических пациенток с постгеморрагической анемией в предоперационном периоде. Российский вестник акушера-гинеколога. 2010 (3): 58–61. 4. С.В. Семочкин. Клиническая эффективность применения препарата Тотема в лечении железодефицитных состояний у взрослых. Поликлиника 4 / 2013. 5. Casparis D. et al. Effectiveness and tolerability of oral liquid ferrous gluconate in iron-deficient anaemia during pregnancy and the immediate post-natal period: comparison with other liquid or solid formulations containing bivalent or trivalent iron. Minerva Ginec. 1996; 48 (11): 511–8. 6. N. Milchev et al. Оценка эффективности препарата Тотема в лечении анемии различной степени тяжести в акушерской и гинекологической практике. Медицинские аспекты здоровья женщины. 2012; 2 (53): 2–5. 7. Н.И. Стуклов. Мета-анализ данных переносимости питьевой формы глюконата железа (II), меди и марганца (препарат Тотема) при лечении железодефицитной анемии у детей и взрослых. Земский врач, 2012, №4 (15): 18–27.

INNOTECH russia

Для работников здравохранения

ООО «ИННОТЕК».
Тел.: +7 (495) 640 04 58. www.innotech.ru

©Коллектив авторов, 2021

А.А. КАЛУГИНА[1,2], К.Ю. БОЯРСКИЙ[3,4], А.А. МАКОЛКИН[5],
И.О. ЗВЕРЕВА[6,7], Ю.В. ВОЗНЕСЕНСКАЯ[8], Д.В. ХОЛОДОВ[7]

ОБЗОР РЕЗУЛЬТАТОВ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ФОЛЛИТРОПИНА ДЕЛЬТА В ПРОТОКОЛАХ ОВАРИАЛЬНОЙ СТИМУЛЯЦИИ. ПЕРВЫЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ В РОССИИ

[1]ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия
[2]Клиника «Сканферт», Санкт-Петербург, Россия
[3]ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия
[4]Центр персонального здоровья и репродукции «Генезис», Санкт-Петербург, Россия
[5]Клиника «Дельта Фертилити», Санкт-Петербург, Россия
[6]ФГБОУ ВО «Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия
[7]Клиника Фомина, Москва, Россия
[8]Европейский Медицинский Центр, Москва, Россия

В работе представлены результаты клинических исследований ESTHER-1, ESTHER-2, MARCS, STORK и GRAPE, в ходе которых оценивалась эффективность применения фоллитропина дельта при овариальной стимуляции (ОС) в программах преодоления бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Исследования ESTHER-1 и ESTHER-2 проводились в нескольких странах по всему миру с участием 1326 женщин. В ходе исследований оценивались эффективность индивидуального расчета дозировки препарата при ОС, а также профиль безопасности, особенно с точки зрения развития синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) – одного из наиболее частых и серьезных осложнений контролируемой ОС. В исследовании ESTHER-2 оценивался профиль безопасности при проведении 2-го и 3-го циклов стимуляции яичников. В исследованиях STORK и GRAPE с участием 347 пациенток из Японии и 1009 женщин из нескольких азиатских стран оценивалась эффективность фоллитропина дельта с учетом этнических особенностей пациентов. В исследовании MARCS, в котором приняли участие 110 пациенток, анализировали эффективность приема фоллитропина дельта в комбинации с мочевым высокоочищенным менопаузальным гонадотропином в формате «смешанного протокола». В проведенных клинических исследованиях были показаны преимущества индивидуального расчета дозировки фоллитропина дельта, заключающиеся в значительном снижении рисков развития СГЯ при сопоставимых или лучших показателях по числу полученных ооцитов, частоте наступления беременности и т.д., которые также позволяют использовать меньшие суммарные дозы фоллитропина дельта при сравнении со стандартными схемами стимуляции препаратами фоллитропинов. После обзора исследований приведены примеры клинического опыта применения фоллитропина дельта в моно- и смешанных протоколах у женщин с низким, нормальным и высоким овариальным резервом.

***Заключение:** Полученный опыт применения фоллитропина дельта подтверждает его эффективность как в моно-, так и в смешанных протоколах у пациенток с низким, нормальным и высоким овариальным резервом. Фоллитропин дельта помогает достигнуть предсказуемого овариального ответа с минимизированием риска развития СГЯ, включая пациенток с эндокринным фактором бесплодия (в том числе с синдромом поликистозных яичников).*

***Ключевые слова:** бесплодие, ВРТ, синдром гиперстимуляции яичников, гонадотропины, фоллитропин дельта.*

Вклад авторов: Калугина А.А., Боярский К.Ю., Маколкин А.А., Зверева И.О., Вознесенская Ю.В., Холодов Д.В. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста, редактирование.
Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование: Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Для цитирования: Калугина А.А., Боярский К.Ю., Маколкин А.А., Зверева И.О., Вознесенская Ю.В., Холодов Д.В. Обзор результатов клинических исследований фоллитропина дельта в протоколах овариальной стимуляции. Первый опыт применения в России. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 246-264
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.246-264

©A group of authors, 2021

A.A. KALUGINA[1,2], K.YU. BOYARSKY[3,4], A.A. MAKOLKIN[5],
I.O. ZVEREVA[6,7], YU.V. VOZNESENSKAYA[8], D.V. KHOLODOV[7]

REVIEW OF THE RESULTS OF CLINICAL STUDIES OF FOLLITROPIN DELTA IN OVARIAN STIMULATION PROTOCOLS. THE FIRST EXPERIENCE OF ITS USE IN RUSSIA

[1]Academician I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Ministry of Health of Russia, Saint Petersburg, Russia
[2]Scanfert Clinic, Saint Petersburg, Russia
[3]I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, Ministry of Health of Russia, Saint Petersburg, Russia
[4]Genesis Reproduction Center, Saint Petersburg, Russia
[5]Delta Fertility Clinic, Saint Petersburg, Russia
[6]M.V. Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies, Moscow, Russia
[7]Fomin Clinic, Moscow, Russia
[8]European Medical Center, Moscow, Russia

The paper presents the results of the clinical studies ESTHER-1, ESTHER-2, MARCS, STORK, and GRAPE, which have evaluated the efficacy of follitropin delta for ovarian stimulation (OS) in infertility programs with assisted reproductive technologies (ART). The ESTHER-1 and ESTHER-2 studies have been conducted on 1,326 women from several countries around the world. The studies have evaluated the effectiveness of individual calculation of the dosage of the OS drug, as well as its safety profile, especially in terms of the development of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS), one of the most common and serious complications of controlled OS. The ESTHER-2 study has assessed the safety profile of the second and third OS cycles. The STORK and GRAPE studies of 347 patients from Japan and 1009 women from several Asian countries have evaluated the efficacy of follitropin delta, taking into account the ethnic characteristics of the patients. The MARCS study enrolling 110 patients has analyzed the efficacy of a mixed protocol of follitropin delta and a highly purified urine-derived menopausal gonadotropin. The conducted clinical studies have shown that individual calculation of the dosage of follitropin delta offers benefits in a significant reduction in the risks of OHSS with comparable or better indicators for the number of oocytes collected, in the frequency of pregnancy, etc., which also allow the use of smaller total follitropin delta doses than those in the standard regimens. Following a review of the studies examples of clinical experience with follitropin delta in mono- and mixed protocols for women with low, normal, and high ovarian reserves are given.

Conclusion: *The gained experience with follitropin delta confirms its efficacy in both mono- and mixed protocols in patients with low, normal and high ovarian reserves. Follitropin delta helps achieve a predictable ovarian response while minimizing the risk of OHSS, including patients with endocrine factor infertility (including polycystic ovary syndrome).*

Keywords: *infertility, ART, ovarian hyperstimulation syndrome, gonadotropins, follitropin delta.*

Authors' contributions: Kalugina A.A., Boyarsky K.Yu., Makolkin A.A., Zvereva I.O., Voznesenskaya Yu.V., Kholodov D.V.: concept and design of the investigation; material collection and processing; writing the text; editing.
Conflicts of interest: The authors declare that there are no conflicts of interest.
Funding: The investigation has not been sponsored.

For citation: Kalugina A.A., Boyarsky K.Yu., Makolkin A.A., Zvereva I.O., Voznesenskaya Yu.V., Kholodov D.V. Review of the results of clinical studies of follitropin delta in ovarian stimulation protocols. The first experience of its use in Russia. Akusherstvo i Ginekologiya/ Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 246-264 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.246-264

Проблема бесплодия во всем мире является одной из самых актуальных. Согласно статистическим данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), около 48 млн пар и 186 млн людей страдают бесплодием [1], в России каждая шестая пара сталкивается с проблемами планирования семьи [2]. Овариальная стимуляция (ОС) является неотъемлемой частью экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), позволяющей получить достаточное количество ооцитов, которые затем оплодотворяются *in vitro* методами ЭКО/ИКСИ. К настоящему времени нет международного или общенационального консенсуса по проведению программ ОС, в результате чего подбор оптимальной дозы фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) для получения приемлемого количества ооцитов остается крайне сложным и субъективным, нередко решение о подборе необходимой дозы препарата принимается исходя из личного клинического опыта врача. Особенность ОС заключается в назначении гормональных препаратов, чаще всего фармацевтических аналогов человеческого ФСГ (чФСГ), при этом ответ яичников зависит от многих факторов: овариального резерва пациентки, массы тела, наличия различных сопутствующих заболеваний и т.д. При бедном ответе яичников

значительно снижаются шансы получить бластоцисты хорошего качества, которые впоследствии могут привести к беременности и рождению здорового ребенка; при чрезмерном ответе яичников на стимуляцию может развиться крайне опасная для здоровья женщины ситуация – синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ).

Фоллитропин дельта (Рековелль, Ferring Pharmaceuticals) представляет собой новый препарат рекомбинантного чФСГ (р-чФСГ), экспрессируемый с использованием клеточной линии человека (PER.C6), для которого разработан алгоритм индивидуального расчета дозировки с учетом концентрации антимюллерова гормона (АМГ) в сыворотке крови пациентки и ее массы тела. Использование алгоритма индивидуального дозирования позволяет уменьшить риск развития СГЯ без снижения эффективности стимуляции яичников.

В данной работе представлены обобщающие результаты клинических исследований ESTHER-1, ESTHER-2, MARCS, STORK и GRAPE, в ходе которых оценивались эффективность применения и профиль безопасности фоллитропина дельта при стимуляции яичников в программах преодоления бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в различных странах.

Доказательное исследование применения рчФСГ для контролируемой стимуляции яичников в Европе и мире (ESTHER-1)

Особенности фармакокинетического/фармакодинамического профиля и отсутствие релевантного эталонного соединения для оценки биоактивности фоллитропина дельта с помощью теста Стилмана–Поли (Sleelman–Pohley) предопределили расчет дозировки по массе фармацевтической субстанции. Алгоритм дозирования фоллитропина дельта подразумевает расчет индивидуальной дозировки в зависимости от массы тела и концентрации АМГ в сыворотке крови пациентки, которая ежедневно вводится подкожно на протяжении всей стимуляции суперовуляции яичников. Эффективность индивидуального расчета дозировки фоллитропина дельта по сравнению со стратегией стандартного дозирования фоллитропина альфа оценивалась в первом проспективном исследовании, получившем название ESTHER-1 (от англ. Evidence-based Stimulation Trial with Human Recombinant Follicle-Stimulating Hormone in Europe and Rest of the World-1) [3].

Исследование ESTHER-1 проводилось в 37 исследовательских центрах, расположенных в 11 странах по всему миру: Бельгии, Бразилии, Канаде, Чехии, Дании, Франции, Италии, Польши, Российской Федерации, Испании и Великобритании. Участниками исследования стали 1326 женщин в возрасте 18–40 лет с индексом массы тела от 17,5 до 32,0 кг/м^2 и регулярными менструальными циклами продолжительностью 24–35 дней, которые впервые обратились за помощью с применением методов ЭКО/ИКСИ, при этом причиной бесплодия был один из следующих диагнозов: бесплодие неясного генеза, трубный фактор бесплодия, эндометриоз I–II степени и мужское бесплодие. Дополнительными главными критериями включения в исследование были наличие обоих яичников и концентрация эндогенного ФСГ в сыворотке крови в ранней фолликулярной фазе не более 15 МЕ/л. Пациентки с эндометриозом III–IV степени, привычным невынашиванием беременности в анамнезе и использованием гормональных препаратов (за исключением гормонов щитовидной железы) во время последнего менструального цикла перед началом стимуляции не включались в состав участников исследования [3].

Женщины распределялись случайным образом в соотношении 1:1 в анализируемую и контрольную группы с учетом возраста: 35, 35–37 и 38–40 лет. Таким образом, в группу приема фоллитропина дельта и группу приема фоллитропина альфа были включены 665 и 661 пациентка соответственно. Сформированные группы пациенток были сопоставимы по возрасту, массе тела, индексу массы тела (ИМТ), количеству антральных фолликулов (КАФ) и концентрации АМГ (табл. 1).

Таблица 1. Базовые характеристики пациенток, включенных в исследование

Параметр	Фоллитропин дельта	Фоллитропин альфа
Возраст пациентки, лет	33,4±3,9	33,2±3,9
<35 лет	394 (59%)	392 (59%)
35–37 лет	161 (24%)	167 (25%)
38–40 лет	110 (17%)	102 (15%)
Вес, кг	64,7±10,7	63,4±10,4
ИМТ, кг/м^2	23,7±3,4	23,3±3,3
Количество антральных фолликулов от 2 до 10 мм	14,7±6,9	14,4±6,8
Концентрация АМГ, пмоль/л	16,3 (9,0–24,8) = 2,2 нг/мл	16,0 (9,1–25,5) = 2,2 нг/мл
АМГ <15 пмоль/л	280 (44%)	290 (45%)
АМГ ⩾15 пмоль/л	355 (56%)	353 (55%)

В группе приема фоллитропина дельта препарат вводился подкожно в дозировке, индивидуально рассчитанной на основании сывороточной концентрации АМГ и массы тела пациентки в течение всего цикла стимуляции. При концентрации АМГ менее 15 пмоль/л ежедневная доза фоллитропина дельта была максимально допустимой и составляла 12 мкг; при концентрации АМГ в сыворотке крови выше 15 пмоль/л дозировка препарата подбиралась из расчета 0,10–0,19 мкг/кг/сут, но не более максимально допустимой 12 мкг. В группе приема фоллитропина альфа препарат вводился подкожно в стандартной дозировке (150 МЕ/сут) в течение первых 5 дней, с 6-го дня стимуляции дозировка могла быть скорректирована в зависимости от ответа яичников на стимуляцию, с максимальной допустимой суточной дозой фоллитропина альфа 450 МЕ/сут. Во всех группах исследования стимуляция яичников препаратами р-чФСГ начиналась на 2–3-й день менструального цикла, а препарат антагониста гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) (Цетротид) назначался с 6-го дня ОС в дозировке 0,25 мг подкожно ежедневно. Триггер назначался при наличии трех и более фолликулов с диаметром от 17 мм. Женщинам с количеством фолликулов менее 25 с диаметром от 12 мм в качестве триггера вводили рекомбинантный хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) (хориогонадотропин альфа, Овитрель, EMD Serono) в дозировке 250 мкг, подкожно. Женщинам с 25–35 фолликулами, диаметр которых оценивался более 12 мм, вводили препарат агониста ГнРГ (трипторелина ацетат, Ferring Pharmaceuticals) в дозировке 0,2 мг. Цикл исключали из исследования при ожидаемом количестве фолликулов более 35 (с диаметром от 12 мм) и плохом ответе яичников на стимуляцию, когда были опасения не получить три или более фолликулов с диаметром ⩾7 мм к 20-му дню стимуляции. Пункцию фолликулов проводили через 36±2 ч после введения триггера, оплодотворение ооцитов проводили методами ЭКО или ИКСИ с использованием спермы партнера или донора. При введении в качестве триггера агониста ГнРГ все полученные эмбрионы криоконсервировали.

Для женщин, получивших ХГЧ, одна бластоциста была перенесена на 5-й день для всех женщин в возрасте ⩽37 лет, а для женщин в возрасте ⩾38 лет при наличии бластоцисты качества 3BB и выше. В остальных случаях было перенесено 2 бластоцисты. Оставшиеся бластоцисты криоконсервировали.

В качестве первичных конечных точек были выбраны частота продолжающейся беременности на 10–11-й неделе после переноса и частота имплантации эмбриона, определяемая как количество внутриутробных жизнеспособных плодов через 10–11 недель после переноса. Анализ полученных данных продемонстрировал сопоставимую эффективность стимуляции препаратами фоллитропина дельта и фоллитропина альфа в отношении первичных конечных точек (табл. 2).

Вторичными конечными точками стали исход беременности, частота живорождений (определяется как рождение по меньшей мере одного живого ребенка), целевой ответ яичников (8–14 ооцитов), диапазон ответа яичников ниже/выше целевого (<4, ⩾15 или ⩾20 ооцитов), эмбриологические показатели, безопасность и нежелательные явления, доля женщин с развитием раннего и позднего СГЯ (включая СГЯ средней/тяжелой степени, классифицированные с использованием системы Голана) и/или профилактическими вмешательствами в отношении раннего СГЯ (т. е. отмена цикла из-за избыточного ответа яичников, замена триггера на агонист ГнРГ или применение агониста дофамина у женщин с ⩾20 фолликулами диаметром ⩾12 мм).

Достижение целевого ответа яичников с получением 8–14 ооцитов во время пункции позволяет получить достаточное количество ооцитов для развития оптимального числа бластоцист и в то же время снизить риск чрезмерного ответа яичников и избежать СГЯ. Как показано в таблице 3,

Таблица 2. Первичные исходы и исходы беременности в группах приема препаратов фоллитропина альфа при стандартной схеме расчета дозировки и фоллитропина дельта при индивидуальном расчете дозировки в исследовании ESTHER-1

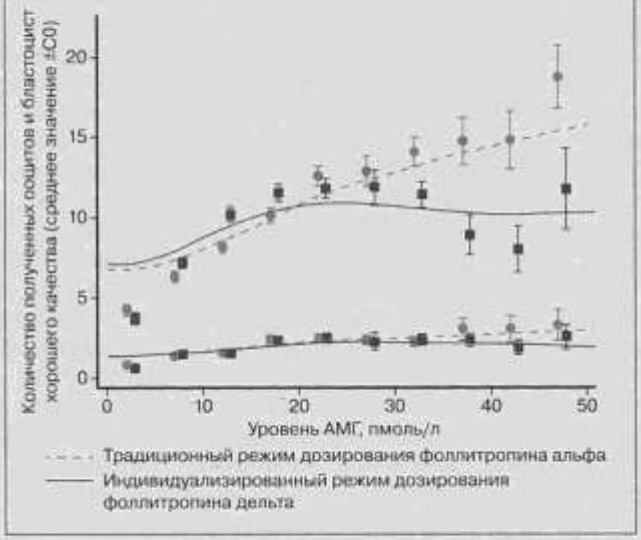
	Фоллитропин дельта (*n*=665)	Фоллитропин альфа (*n*=661)	Различия (95% ДИ)
Первичные конечные точки беременности			
Продолжающаяся беременность	204 (30,7%)	209 (31,6%)	-0,9 (-5,9–4,1)
Продолжающаяся имплантация	206/585 (35,2%)	209/584 (35,8%)	-0,6 (-6,1–4,8)
Вторичные конечные точки беременности			
Женщины, родившие живых детей	198 (29,8%)	203 (30,7%)	-0,9 (-5,8–4,0)
Клиническая беременность	232 (34,9%)	241 (36,5%)	-1,5% (-6,6–3,6)
Имплантация	233/585 (39,8%)	241/584 (41,3%)	-1,4 (-7,0–4,2)
Частота многоплодной беременности	4 (2,0%)	8 (3,8%)	-2,0 (-5,0–1,1)

Обозначения: ДИ – доверительный интервал.

Таблица 3. Вторичные конечные точки ответа яичников, эмбриологические показатели и оценка безопасности в группах приема препаратов фоллитропинов альфа и дельта в исследовании ESTHER-1

	Фоллитропин дельта (*n*=665)	Фоллитропин альфа (*n*=661)	*p*
Число полученных ооцитов	10,0±5,6	10,4±6,5	0,692
Целевой ответ яичников (8–14 ооцитов)	43,3%	38,4%	0,019
Число бластоцист хорошего качества (класса 3BB и выше)	2,0±2,2	2,1±2,4	0,580
% пациенток, снятых с протокола из-за плохого или чрезмерного ответа	плохой 3,8% триггер-агонист 1,5%	плохой 2,7% триггер-агонист 3,5%	0,302 0,019
% пациенток с экстремальным ответом (на триггер)	26,6% (<4 или >15) 14,5% (<4 или >20)	31,3% (<4 или >15) 18,4% (<4 или >20)	0,001 0,002
% пациенток с ранним СГЯ и/или с превентивными мерами	2,3%	4,5%	0,005

Рис. 1. Количество полученных ооцитов (две верхние кривые) и количество бластоцист хорошего качества для переноса (две нижние кривые) в зависимости от концентрации АМГ в сыворотке крови пациентов в двух группах лечения: группа стимуляции фоллитропином альфа (зеленый) и фоллитропином дельта (фиолетовый)



целевой ответ яичников чаще достигался в группе с индивидуальным расчетом дозировки фоллитропина дельта по сравнению со стандартным дозированием фоллитропина альфа (43,3 и 38,4% при p=0,019 соответственно). Стоит отметить, что целевой ответ с получением в среднем 8 ооцитов также был достигнут в группе пациенток с низким АМГ <15 пмоль/л.

Согласно представленным данным, в группе приема фоллитропина дельта во время пункции реже получали менее 4 ооцитов (18 и 12% случаев в группах приема фоллитропина альфа и дельта соответственно), а также значительно различалось количество пункций с большим количеством полученных ооцитов. Так, в 35 и 28% случаев в группах приема фоллитропина альфа и фоллитропина дельта соответственно во время пункции получали более 15 ооцитов, из которых в 16 и 10% случаев количество клеток достигало более 25 ооцитов. Анализ зависимости числа получаемых ооцитов и концентрации АМГ в сыворотке крови пациенток показал, что применение индивидуального протокола подбора дозировки фоллитропина дельта позволяет избежать резкого увеличения количества ооцитов при увеличении уровня АМГ, что снижает риски развития СГЯ, при этом снижения числа бластоцист хорошего качества не происходит (рис. 1).

Таким образом, в ходе исследования ESTHER-1 доказаны эффективность индивидуального расчета дозировки фоллитропина дельта по сравнению с обычным режимом дозирования фоллитропина альфа, а также сопоставимость исследуемых препаратов в отношении первичных конечных точек с достижением более целенаправленного ответа яичников с меньшими рисками развития СГЯ без значительного снижения количества бластоцист хорошего качества.

Доказательное исследование применения рчФСГ для контролируемой стимуляции яичников в Европе и мире (ESTHER-2)

Изучение профиля безопасности фоллитропина дельта было продолжено в рамках исследования, получившего название ESTHER-2 (от англ. Evidence-based Stimulation Trial with Human Recombinant Follicle-Stimulating Hormone in Europe and Rest of the World-2).

Участниками исследования стали пациентки, которые принимали участие в испытании эффективности препарата в рамках исследования ESTHER-1, но не достигли продолжающейся беременности. Для оценки иммунного ответа, а также эффективности фоллитропина дельта при повторных циклах стимуляции с точки зрения ответа яичников, частоты наступления беременности и живорождений пациенткам назначался второй курс приема фоллитропина дельта, а затем и третий, если в предыдущую стимуляцию не наступала беременность (рис. 2). Таким образом, исследование ESTHER-2 проводилось в 32 исследовательских центрах, расположенных в 10 странах: Бельгии, Бразилии, Канаде, Чехии, Дании, Италии, Польше, Российской Федерации, Испании и Великобритании [4].

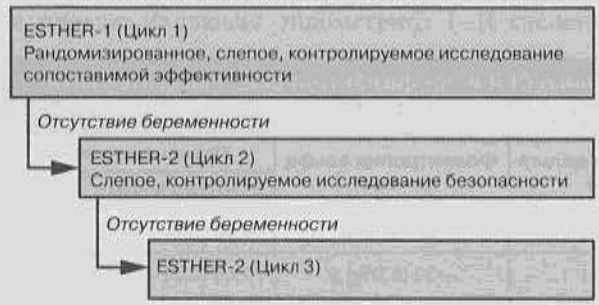
Женщины распределялись случайным образом в соотношении 1:1 в анализируемую и контрольную группы с учетом возраста. Пациенты с тяжелым СГЯ в предыдущем цикле или с любым клинически

значимым изменением любого из критериев отбора в рамках ESTHER-1 или клинически значимыми изменениями в истории болезни с момента предыдущего цикла исключались из исследования. Таким образом, в группу приема фоллитропина дельта и группу приема фоллитропина альфа были включены 252 и 261 пациенток соответственно при второй стимуляции; 95 и 93 пациентки – при третьей. В отличие от исследования ESTHER-1, в исследовании ESTHER-2 фоллитропин альфа назначался с учетом овариального ответа в предыдущем цикле (табл. 4).

Доля пациенток, которые сохранили ту же дозировку/начальную дозировку во 2-м цикле стимуляции, составила 40,9% против 33,3% при приеме фоллитропина дельта и фоллитропина альфа соответственно; в третьем цикле стимуляции – 43,2% против 41,9% соответственно.

В качестве первичной конечной точки была определена доля женщин с индуцированными лечением анти-ФСГ антителами после двух повторных циклов стимуляции яичников, вторичная конечная точка при исследовании иммуногенности фоллитропина дельта оценивала долю женщин с нейтрализующими антителами и антителами, индуцированными лечением, по циклам (общими и нейтрализующими). Антитела к ФСГ измеряли до и после введения препарата пациенткам, которым проводилось до трех повторных циклов лечения. Показано, что частота появления антител к ФСГ после стимуляции фоллитропином дельта составила 1,05% – в 1-м, 0,79% – во 2-м и 1,05% – в 3-м цикле. У всех пациентов с антителами к ФСГ титры были неопределяемыми или очень низкими и не имели нейтрализующей способности. Повторное лечение препаратом фоллитропина дельта пациентов с ранее существовавшими или вызванными лечением антителами к ФСГ не увеличивало титр антител, не было связано со снижением ответа яичников и не вызывало побочных эффектов, связанных с иммунитетом (табл. 5) [5].

Рис. 2. Схема исследований ESTHER-1 и ESTHER-2



Другими вторичными конечными точками исследования стали наступление беременности, частота живорождений, ответ яичников на стимуляцию, эмбриологические показатели, побочные явления, частота применения превентивных мер для предотвращения развития СГЯ и частота возникновения СГЯ.

Сравнение кумулятивных данных по частоте достижения продолжающейся беременности, родов и неонатальной выживаемости в течение 4 недель после родов в результате третьей стимуляции препаратами фоллитропина альфа и дельта показало сопоставимую эффективность (рис. 3) [4].

Индивидуальный подбор дозы фоллитропина дельта позволяет значительно снизить частоту развития СГЯ, а также минимизировать проведение профилактических вмешательств для его предотвращения на протяжении всех трех циклов контролируемой овариальной стимуляции (КОС). В частности, частота умеренного/выраженного СГЯ была стабильной во всех трех циклах КОС при использовании фоллитропина дельта (примерно 2,1%), тогда как в группе фоллитропина альфа имелась тенденция к повышению частоты развития СГЯ (рис. 4).

Кумулятивная частота умеренного/тяжелого СГЯ и профилактических вмешательств в трех циклах КОС представлена в таблице 6. Расчет индивидуальной дозы фоллитропина дельта по сравнению со стандартным протоколом фоллитропина альфа показал статистически значимые преимущества: развитие СГЯ средней/тяжелой степени составило 0,50 (95% ДИ 0,26–0,97 при p=0,036), необходимость профилактических вмешательств – 0,56 (95% ДИ

Таблица 4. Режимы дозирования фоллитропина дельта и фоллитропина альфа во 2-м и 3-м цикле стимуляции в рамках исследования ESTHER-2

Количество ооцитов, полученных в предыдущем цикле	Суточная доза фоллитропина дельта по сравнению с суточной дозой в предыдущем цикле*	Начальная доза фоллитропина альфа по сравнению с начальной дозой в предыдущем цикле**
<4***	+50%	+75 МЕ
4–7	+25%	+37,5 МЕ
8–14	Та же	Та же
15–19	-20%	-37,5 МЕ
⩾ 20****	-33%	-75 МЕ

* Назначается на протяжении всей стимуляции. Максимальная суточная доза во 2-м и 3-м циклах составляла 18 и 24 мкг соответственно.

** Назначается в течение первых 5 дней стимуляции, после чего может быть скорректирована на 75 МЕ в зависимости от индивидуального ответа. Максимальная суточная доза составляла 450 МЕ.

*** Также с включением женщин с отменой цикла вследствие низкого ответа яичников.

**** Также с включением женщин с отменой цикла из-за чрезмерной реакции яичников и женщин и приемом препаратов ГнРГ в качестве триггера.

Рис. 3. Кумулятивная частота продолжающейся беременности, родов и неонатальной выживаемости в течение 4 недель после родов в исследованиях ESTHER-1 и ESTHER-2

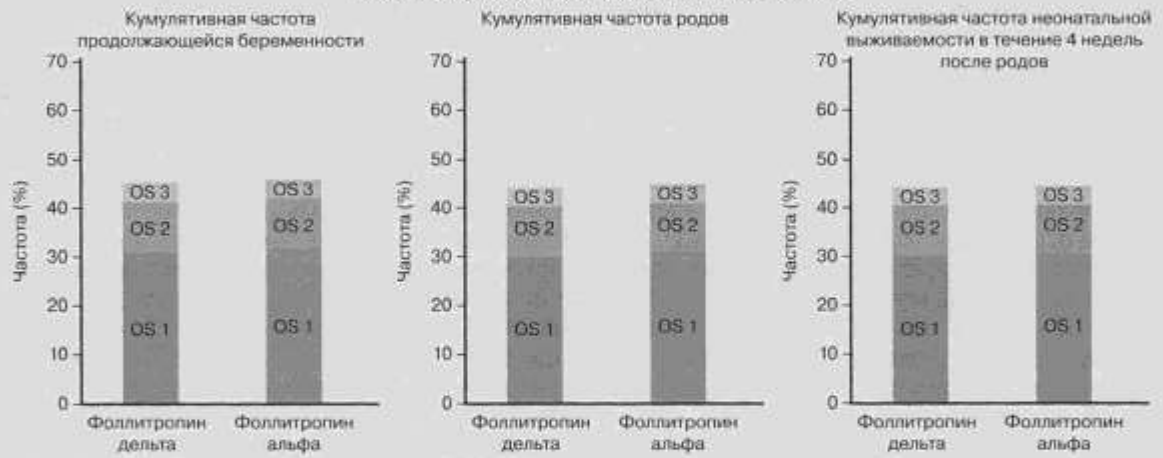


Таблица 5. Иммуногенность в трех циклах КОС в исследованиях ESTHER-1 и ESTHER-2

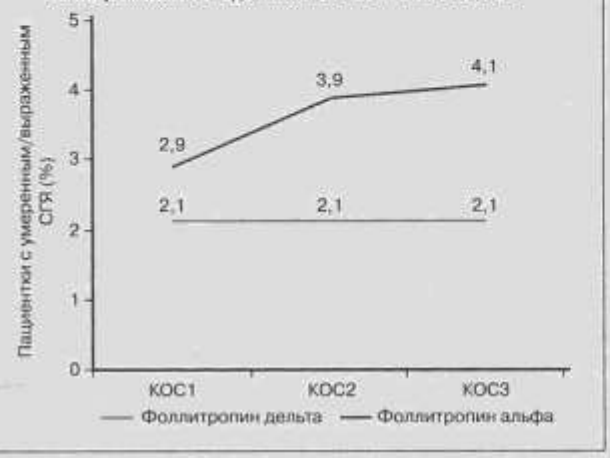
Параметр	Цикл 1		Цикл 2		Цикл 3	
	ФД *n*=665	ФА *n*=661	ФД *n*=252	ФА *n*=261	ФД *n*=95	ФА *n*=93
Существующие ранее антитела к ФСГ	9 (1,35%)	6 (0,91%)	4 (1,59%)	2 (0,77%)	0	0
Индуцированные лечением антитела к ФСГ, всего	7 (1,05%)	5 (0,76%)	2 (0,79%)	1 (0,38%)	1 (1,05%)	1 (1,08%)
Анти-ФСГ антитела, индуцированные лечением, новые	–	–	1 (0,40%)	1 (0,38%)	0	0
Индуцированные лечением анти-ФСГ антитела, нейтрализующая способность	0	0	0	0	0	0

Обозначения: ФА – фоллитропин альфа, ФД – фоллитропин дельта.

Таблица 6. Кумулятивная частота умеренного/тяжелого СГЯ и профилактических вмешательств в трех циклах КОС

Параметр	Фоллитропин дельта (*n*=665)	Фоллитропин альфа (*n*=661)	Разница в лечении	
			ОШ (95% ДИ)	*p*
СГЯ средней/тяжелой степени	14 (2,1%)	27 (4,1%)	0,50 (0,26–0,97)	0,036
Частота профилактических вмешательств	19 (2,9%)	33 (5,0%)	0,56 (0,31–0,99)	0,044
СГЯ средней/тяжелой степени и/или частота профилактических вмешательств	33 (5,0%)	54 (8,2%)	0,59 (0,38–0,92)	0,018

Рис. 4. Частота умеренного/выраженного СГЯ в трех циклах КОС в рамках исследований ESTHER-1 и ESTHER-2



0,31–0,99 при p=0,044), СГЯ средней/тяжелой степени и/или профилактические вмешательства – 0,59 (95% ДИ 0,38–0,92 при p=0,018). Наибольшая статистическая значимость наблюдается в группе пациенток с АМГ более 25,35 пмоль/л (рис. 5).

Таким образом, результаты исследования ESTHER-2 показали низкую иммуногенность, а также подтвердили эффективность и безопасность индивидуального расчета дозировки фоллитропина дельта в повторяющихся циклах стимуляции яичников.

Комбинированное исследование препаратов Менопур и Рековелль (MARCS)

Результаты исследования ESTHER-1 показали сопоставимую эффективность индивидуально подобранной дозировки фоллитропина дельта по

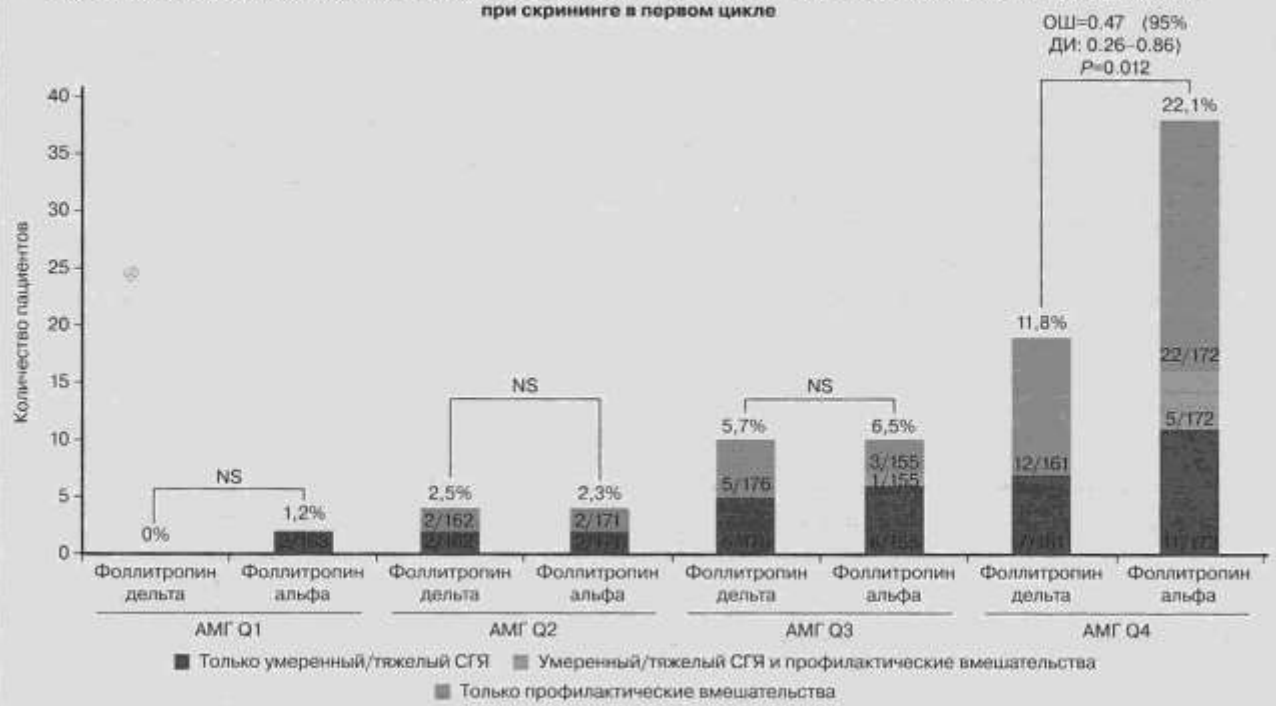
сравнению с традиционным режимом дозирования фоллитропина альфа в отношении частоты развивающейся беременности и живорождения, в то время как частота развития СГЯ была значимо ниже в группе индивидуального дозирования с помощью фоллитропина дельта. Однако есть данные, что у пациенток со сниженным овариальным резервом и неадекватным ответом в предыдущих циклах исходы контролируемой стимуляции яичников значительно улучшаются при добавлении лютеинизирующего гормона (ЛГ) во время стимуляции.

В комбинированном исследовании препаратов Менопур и Рековелль (MARCS, от англ. Menopur and Rekovelle Combination Study) авторы изучали новую схему, которая учитывала массу тела и сывороточную концентрацию АМГ каждой пациентки для определения подходящих доз гонадотропинов при стимуляции овуляции. Так называемые смешанные протоколы стимуляции яичников, в которых также дополнительно используют препараты человеческого мочевого высокоочищенного менопаузального гонадотропина (ЧМГ-ВО), как правило, применяются при попытке получить более качественные ооциты и эмбрионы и, следовательно, увеличить частоту наступления беременности по сравнению с использованием только рекомбинантного ФСГ у пациентов со сниженным овариальным резервом или у пациентов с неадекватным ответом яичников в предыдущих циклах стимуляции.

MARCS – многоцентровое открытое исследование, в которое были включены 110 пациенток в возрасте 18–40 лет с подтвержденным диагнозом «бесплодие» (включая эндометриоз I–II степени, трубный и мужской факторы бесплодия), регулярным менструальным циклом продолжительностью 24–35 дней, наличием обоих яичников и концентрацией ФСГ в ранней фолликулярной фазе менее 10 МЕ/л. Пациентки с эндометриозом III–IV степени, привычным невынашиванием беременности (более трех последовательных выкидышей) в анамнезе, высоким риском развития СГЯ (при концентрации АМГ⩾35 пмоль/л) и использованием гормональных препаратов (за исключением гормонов щитовидной железы) во время последнего менструального цикла перед началом стимуляции не включались в состав участников исследования.

Все участницы исследования ежедневно получали индивидуальную дозировку фоллитропина дельта подкожно, рассчитанную по алгоритму в зависимости от массы тела и сывороточной концентрации АМГ, а также ЧМГ-ВО (Менопур): 75 МЕ/сут при дозе фоллитропина дельта ниже 12 мкг, 150 МЕ/сут при дозе фоллитропина дельта 12 мкг и массе тела менее 100 кг и 225 МЕ/сут ЧМГ-ВО вводили пациенткам с массой тела более 100 кг (табл. 7). Стимуляцию начинали со 2-го дня цикла и на 6-й день оценивали ее эффективность по количеству растущих фолликулов и сывороточной концентрации эстрадиола. В зависимости от уровня эстрадиола могла быть скорректирована дозировка ЧМГ-ВО с 6-го дня стимуляции при максимально допустимой дозировке 225 МЕ/сут. Триггер овуляции назначался при наличии трех и более фолликулов с диаметром от 17 мм. В качестве триггера вводился препарат ХГЧ в дозировке 5000–10 000 МЕ при концентрации эстрадиола менее 10 000 пмоль/л или агонист ГнРГ в дозировке 0,2 мг

Рис. 5. Частота умеренного/тяжелого СГЯ и/или профилактических вмешательств в зависимости от концентрации АМГ при скрининге в первом цикле



Квартили АМГ: Q1: АМГ<8,99 пмоль/л, Q2: АМГ от 8,99 до <16,14 пмоль/л, Q3: АМГ от 16,14 до <25,35 пмоль/л, Q4: АМГ ⩾25,35 пмоль/л.
Обозначения: NS = не значимо, ОШ – отношение шансов

при больших значениях сывороточного эстрадиола. В качестве контрольной группы использовались данные из исследования ESTHER-1.

В качестве первичной конечной точки определяли количество бластоцист качества выше 3BB, полученных на 5-е и 6-е сутки культивирования эмбрионов. Вторичными конечными точками стали овариальный ответ, эмбриологические показатели и безопасность данного подхода стимуляции овуляции, включая оценку длительности стимуляции, суммарную дозу фоллитропина дельта, процент пациентов с вынужденной корректировкой дозировки, частоту использования препаратов агонистов ГнРГ в качестве триггера овуляции, количества полученных зрелых ооцитов при пункции, среднее количество эмбрионов на 3-и сутки культивирования, из которых впоследствии сформировались бластоцисты. Профиль безопасности стимуляции оценивался по частоте и серьезности развития раннего и позднего СГЯ (включая СГЯ средней/тяжелой степени, классифицированные с использованием системы Голана).

Сравнение основных показателей исследований ESTHER и MARCS показало, что в исследовании ESTHER пациентки были более молодыми и с более высоким уровнем АМГ, что, вероятно, стало причиной более высоких дозировок (общей и стартовой) фоллитропина дельта у пациенток в исследовании MARCS. В частности, максимально допустимая доза фоллитропина дельта (12 мкг/сут) в исследовании MARCS была назначена в 71% случаев, а также отмечалась более длительная продолжительность стимуляции и более высокая частота замены триггера. В то же время в исследовании MARCS было большее число полученных ооцитов и бластоцист. Интересно, что в отличие от исследования ESTHER-1 случаев СГЯ средней или тяжелой степени тяжести при применении комбинированного протокола Рековелль и Менопур отмечено не было (табл. 8).

Стоит отметить, что в исследовании MARCS во всех возрастных группах в среднем получали 4 бластоцисты хорошего качества, при этом средний возраст и вес были выше, а концентрация АМГ ниже, чем у пациентов в исследовании ESTHER-1. В среднем количество бластоцист хорошего качества в исследовании MARCS составило 4,9±3,9, что практически в 2 раза больше среднего числа полученных бластоцист по всем возрастным группам в исследовании ESTHER-1 (2,0±2,2), при этом частота отмены цикла из-за бедного ответа яичников на стимуляцию была ниже [6].

Таким образом, в исследовании MARCS показано статистически значимое увеличение количества бластоцист хорошего качества на 5-й или 6-й день стимуляции с чуть повышенным риском развития СГЯ, не требующего медицинского вмешательства или госпитализации, при использовании смешанного протокола стимуляции яичников препаратами фоллитропина дельта и ЧМГ-ВО. Данная схема стимуляции особенно актуальна для пациентов старшей возрастной группы в возрасте старше 35 лет, однако для подтверждения эффективности выбора дозировки ЧМГ-ВО для пациенток моложе 35 лет необходимы дополнительные исследования в соответствующей возрастной группе.

Исследование по установлению зависимости ответа яичников от дозы фоллитропина дельта в циклах контролируемой овариальной стимуляции у японских женщин (STORK)

Эффективность индивидуального расчета дозировки в основном доказана на данных испытаний, проведенных в странах Европы, Северной и Южной Америки. Исследования ESTHER и MARCS не проводились в азиатских странах, где характеристики

Таблица 7. Предполагаемый алгоритм назначения препаратов Рековелль (фоллитропин дельта) и Менопур (ЧМГ-ВО) в исследовании MARCS

А. Назначение стартовой дозировки препарата Рековелль согласно алгоритму. Протокол с антагонистами, ОС со 2-го дня цикла, измерение концентрации сывороточного эстрадиола на 6-й день цикла

Б. Назначение стартовой дозировки препарата Менопур

Дозировка фоллитропина дельта, мкг/сут	Концентрация АМГ, нг/мл		Вес, кг	Дозировка ЧМГ-ВО, МЕ/сут
<12	>2,0	и	Не имеет значения	75
12	>2,0	и	<100	150
12	<2,0	или	>100	225

В. Препарат Менопур: изменение дозы в соответствии с уровнем эстрадиола на 6-й день

<750 пмоль/л	750–999 пмоль/л	1000–3000 пмоль/л	>3000 пмоль/л
Увеличение до 225 МЕ	Увеличение дозы на 75 МЕ с 75 до 150 МЕ с 150 до 225 МЕ	Доза не меняется	Уменьшение дозы на 75 МЕ с 225 МЕ до 150 МЕ с 150 МЕ до 75 МЕ

Г. Критерии назначения триггера (> 3 фолликулов >17 мм в диаметре)

Менее 3 фолликулов >17 мм в диаметре на 20-й день стимуляции	Эстрадиол <10 000 пмоль/л	Эстрадиол >10 000 пмоль/л	Эстрадиол >15 000 пмоль/л или >20 фолликулов >12 мм в диаметре
Отмена цикла	ХГЧ 5000–10 000 МЕ	Декапептил 0,2 мг	Декапептил 0,2 мг и заморозка всех эмбрионов

пациентов и/или диагностические маркеры овариального резерва могут значительно отличаться. В частности, азиатские женщины обычно характеризуются более низкими значениями ИМТ и разным составом тела при одинаковом ИМТ по сравнению с европейскими женщинами. Кроме того, сообщалось о значительно более низких концентрациях АМГ у китайских женщин по сравнению с женщинами европеоидной расы [7] и европейскими женщинами того же возраста [8]. Кроме того, исследования, проведенные в США и Великобритании, выявили этнические различия в результатах лечения, что подтверждает необходимость дополнительных исследований в популяциях из разных географических регионов. Так, в исследовании STORK сравнивалась реакция яичников, связанная с индивидуальной дозировкой фоллитропина дельта, по сравнению с обычным дозированием фоллитропина бета у японских женщин в циклах КОС.

Исследование по установлению зависимости ответа яичников от дозы фоллитропина дельта при проведении стимуляции яичников у японских женщин проводилось в 2014–2015 гг. в 10 исследовательских центрах в Японии с участием 158 женщин в возрасте 20–39 лет, с индексом массы тела от 17,5 до 32,0 кг/м^2, регулярным менструальным циклом продолжительностью 24–35 дней, которые обратились за помощью с применением методов оплодотворения ЭКО/ИКСИ, при этом причиной бесплодия был один из следуюших диагнозов: бесплодие неясного генеза, трубный фактор бесплодия, эндометриоз I/II степени и мужское бесплодие. Дополнительными главными критериями включения в исследование были наличие обоих яичников и концентрация эндогенного ФСГ в сыворотке крови в ранней фолликулярной фазе 1–12 МЕ/л и концентрация АМГ в диапазоне 5,0–44,9 пмоль/л. Пациентки с эндометриозом III–IV степени, привычным невынашиванием беременности, тремя и более попытками с применением методов оплодотворения ЭКО/ИКСИ в анамнезе и использованием гормональных препаратов (за исключением гормонов щитовидной железы) во время последнего менструального цикла перед началом стимуляции не включались в состав участников исследования [9].

Женщины распределялись случайным образом в соотношении 1:1:1:1, в зависимости от сывороточной концентрации АМГ: группа с низким значением АМГ (5,0–14,9 пмоль/л) и группа с высоким значением АМГ (15,0–44,9 пмоль/л), в которых ежедневно подкожно вводили по 6, 9 или 12 мкг/сут фоллитропина дельта (Рековелль) или 150 МЕ/сут фоллитропина бета на протяжении всего периода стимуляции. Во всех группах исследования стимуляция яичников препаратами р-чФСГ начиналась на 2–3-й день менструального цикла, а препарат антагониста ГнРГ (торговое наименование Ganirest, MSD K.K) назначался с 6-го дня ОС в дозировке 0,25 мг подкожно ежедневно. В качестве триггера препарат мочевого ХГЧ в дозировке 5000 МЕ подкожно назначался при наличии трех и более фолликулов с диаметром от 17 мм. Женщинам с количеством фолликулов более 25 и их диаметром от 12 мм назначался препарат агониста ГнРГ (Suprecur, Sanofi/Mochida Pharmaceuticals Co.) в дозировке 300 мг. Цикл исключали из исследования при ожидаемом количестве фолликулов более 35 (с диаметром от 12 мм) и при плохом ответе яичников на стимуляцию, когда были опасения не получить три или более фолликула с диаметром ⩾10 мм к 10-му дню стимуляции.

Первичной конечной точкой данного исследования было число полученных ооцитов; вторичными конечными точками стали число зигот, особенность роста фолликулов, изменение сывороточной концентрации некоторых гормонов яичников, длительность стимуляции, частота наступления беременности и рождения. Профиль безопасности стимуляции оценивался по частоте и серьезности развития раннего и позднего СГЯ, наличию побочных реакций, в том числе в местах введения препаратов, а также появлению ассоциированным с лечением анти-ФСГ-антител [9].

При оценке параметров ответа яичников (число полученных ооцитов, число оплодотворенных ооцитов, концентрация эстрадиола, ингибина А

Таблица 8. Сравнительный анализ исследований MARCS и ESTHER-1

Параметр	MARCS (*n*=110)	ESTHER-1 (*n*=665)	*p* (MARCS vs. ESTHER-1)
Средний возраст пациенток, лет	34,0±3,5	33,4±3,9	0,076
Масса тела пациенток, кг	71,7±14,6	64,7±10,7	<0,0001
Концентрация АМГ, нг/мл	1,9 (1,3±2,9)	2,3 (1,3±3,0)	<0,001
Число бластоцист хорошего качества	4,9±3,9	2,0±2,2	<0,001
Продолжительность стимуляции, дни	11,3±1,3	8,9±1,9	<0,001
Плохой ответ, приведший к отмене цикла	3 (2,7%)	25 (3,8%)	0,289
Общая дозировка фоллитропина дельта, мкг	123,7±21,8	90,0±25,3	<0,001
Частота использования триггера а-ГнРГ	43,0%	1,5%	<0,001
Число полученных ооцитов	14,6±5,8	10,0±5,6	<0,001
Частота всех форм СГЯ	9,3%	2,6%	0,02
Частота средней/выраженной СГЯ	0%	1,4%	0,62

и прогестерона) отмечена положительная зависимость от дозировки фоллитропина дельта (табл. 9). В то же время у пациентов контрольной группы (фоллитропин бета 150 МЕ/сут) в среднем было получено 11 ооцитов, что сопоставимо с результатами в группах приема фоллитропина дельта в дозировке 9–12 мкг/сут. Разделение пациенток по группам в зависимости от сывороточной концентрации АМГ позволило зафиксировать получение от 3 до 6 дополнительных ооцитов у пациенток с высоким уровнем АМГ при сравнении с пациентками с более низкими концентрациями гормона на фоне приема одинаковых доз фоллитропина дельта.

При оценке продолжительности стимуляции также очевидна прямая зависимость от дозировки препарата фоллитропина дельта. В частности, средняя продолжительность стимуляции значительно уменьшалась в группах приема 9–12 мкг/сут фоллитропина дельта. Сывороточная концентрация АМГ также имела прямое влияние на длительность стимуляции (табл. 10) [9].

Частота наступления клинической беременности в ответ на начатый цикл в группе фоллитропина дельта варьировалась в группах приема, но была не ниже контрольной группы. Так, в группах приема 6, 9 и 12 мкг/сут частота наступления клинической беременности составила 24, 20 и 33% соответственно, в то время как в группе приема фоллитропина бета – 20%. Процент живорождения в группе фоллитропина дельта также незначительно превышал показатели в группе фоллитропина бета. Таким образом, максимально исследованная дозировка фоллитропина дельта 12 мкг/сут позволила достигнуть максимального ответа яичников, что было показано по частоте наступления беременности и живорождения (рис. 6).

Все случаи СГЯ регистрировались как нежелательные явления и классифицировались по степени тяжести. Частота СГЯ возрастала с увеличением дозировки фоллитропина дельта, причем в большинстве случаев (82%) развитие СГЯ наблюдалось у пациенток в группах с высокой концентрацией АМГ. Режим индивидуального расчета дозировки фоллитропина дельта привел к улучшенному профилю безопасности при сравнении с единой дозировкой в группе приема фоллитропина бета. В частности, в контрольной группе фоллитропина бета частота раннего СГЯ составляла 22%, при этом частота развития СГЯ в группах приема фоллитропина дельта составляла ниже 20% при любой дозировке, что ниже среднепопуляционной. Стоит отметить, что ни один из ранних случаев не был классифицирован как тяжелый (табл. 11).

Следующая фаза исследования STORK проходила в 2017–2019 гг. и проводилась в 17 исследовательских центрах Японии, ее участниками стали 347 женщин в возрасте 20–40 лет с аналогичными критериями включения и исключения [10].

Женщины распределялись случайным образом в соотношении 1:1 в зависимости от сывороточной концентрации АМГ: группа с низким значением АМГ (<15 пмоль/л) и группа с высоким значением АМГ (>15 пмоль/л). Ежедневная дозировка фолли-

Рис. 6. Показатели эффективности на начатый цикл при стимуляции препаратами фоллитропина дельта и бета в исследовании STORK

Таблица 9. Первичная конечная точка при стимуляции препаратами фоллитропина дельта и бета в исследовании STORK

	Фоллитропин дельта			Фоллитропин бета, 150 МЕ/сут (*n*=41)	*p*
	6 мкг/сут (*n*=37)	9 мкг/сут (*n*=40)	12 мкг/сут (*n*=40)		
Количество полученных ооцитов					
Общее количество	7,0±4,1	9,1±5,6	11,6±5,6	11,0±4,7	< 0,001
АМГ < 15 пмоль/л	5,3±3,7	5,6±3,5	9,5±3,0	9,3±4,3	0,004
АМГ ⩾ 15 пмоль/л	7,9±4,1	11,2±5,6	12,9±6,4	11,8±4,7	< 0,001

Таблица 10. Продолжительность овариальной стимуляции препаратами фоллитропина дельта и бета в исследовании STORK

	Фоллитропин дельта			Фоллитропин бета, 150 МЕ/сутки (*n*=41)	*p*
	6 мкг/сути (*n*=37)	9 мкг/сути (*n*=40)	12 мкг/сути (*n*=40)		
Продолжительность стимуляции, дни	9,8±2,2	8,9±1,4	8,7±1,4	8,9±1,8	0,002
АМГ < 15 пмоль/л	10,9±2,4	9,1±1,9	9,1±1,9	9,3±1,9	0,195
АМГ ⩾ 15 пмоль/л	9,3±2,0	8,4±1,0	8,4±1,0	8,7±1,8	0,005

тропина дельта составляла 12 мкг/сут в группе с низким значением АМГ и 0,10–0,19 мкг/кг/сут в зависимости от массы тела и концентрации АМГ в группе пациенток с высоким уровнем гормона. Стимуляция продолжалось от 6 до 12 дней, в контрольной группе пациенткам подкожно ежедневно вводили фоллитропин бета в дозировке 150 МЕ/сут в течение первых 5 дней, после чего дозировку могли корректировать с шагом 75 МЕ и максимально допустимой дозой 375 МЕ/сут.

Первичной конечной точкой данного исследования было число полученных ооцитов, вторичными конечными точками стали длительность стимуляции, суммарная доза гонадотропинов, распределение по группам числа полученных ооцитов, неадекватный ответ яичников (менее 4 ооцитов в группе с низкими значениями АМГ и более 15–20 ооцитов в группе с высокими значениями концентрации АМГ), частота наступления беременности и рождения. Профиль безопасности стимуляции оценивался по частоте и серьезности развития раннего и позднего СГЯ, превентивным мерам при риске развития СГЯ, отменам цикла или переноса эмбриона в свежем цикле, местной переносимости.

Одной из целей исследования было показать сопоставимую эффективность фоллитропина дельта и фоллитропина бета в отношении числа полученных ооцитов (при этом нижняя граница разницы между группами для демонстрации преимущества должна быть не менее 3 ооцитов), что и было продемонстрировано, как будет показано ниже. Общее количество ооцитов, полученных в группе фоллитропина дельта, составляло 9,3, тогда как в группе фоллитропина бета данный показатель составил 10,5. Что касается целевого ответа яичников, при котором получают 8–14 ооцитов, то в группе фоллитропина дельта его достигли в 40,8% случаев, тогда как в группе фоллитропина бета этот показатель составил 42,8% (табл. 12).

Среднее число ооцитов, полученных у пациенток с нормальным и высоким овариальным резервом, было в среднем на 2 меньше в группе фоллитропина дельта, чем в группе фоллитропина бета: 10,8±5,9 и 12,9±6,4 соответственно. Поскольку при высокой концентрации АМГ (>15 пмоль/л) повышается риск чрезмерного ответа яичников и СГЯ, пациенток, у которых получили больше 15 и больше 20 ооцитов, рассматривали по отдельности. Так, в группе приема фоллитропина дельта процент пациенток, у которых получили более 20 ооцитов, был значительно меньше. В группах приема препаратов пациентками с низким овариальным резервом в числе полученных ооцитов статистически значимых различий не зафиксировано. Данные по частоте наступления беременности и живорождения в группах приема фоллитропина дельта и бета были сопоставимыми и коррелировали

Таблица 11. Частота развития СГЯ при стимуляции препаратами фоллитропина дельта и бета в исследовании STORK

	Фоллитропин дельта			Фоллитропин бета, 150 МЕ/сут (*n*=41)
	6 мг/сут (*n*=37)	9 мг/сут (*n*=40)	12 мг/сут (*n*=40)	
Ранний СГЯ				
Любая степень	4/37 (11%)	3/40 (8%)	7/40 (18%)	9/41 (22%)
Умеренная/тяжелая степень	3/37 (8%)	3/40 (8%)	5/40 (13%)	8/41 (20%)
Поздний СГЯ				
Любая степень	1/37 (3%)	0	0	0
Умеренная/тяжелая степень	1/37 (3%)	0	0	0

Таблица 12. Параметры овариального ответа при стимуляции препаратами фоллитропина дельта и бета в исследовании STORK

	Фоллитропин дельта (*n*=170)	Фоллитропин бета, 150 МЕ/сут (*n*=177)	Отношение шансов [95% ДИ] Значение *p*
Количество полученных ооцитов			
Общее количество ооцитов	9,3±5,4	10,5±6,1	-1,2 [2,3–-0,1] Нижняя граница разницы между полученными ооцитами -3,0
АМГ < 15 пмоль/л	7,2±3,7	7,0±3,4	–
АМГ ≥ 15 пмоль/л	10,8±5,9	12,9±6,4	–
Доля женщин с количеством полученных 8–14 ооцитов, %	40,8%	42,8%	–
АМГ < 15 пмоль/л			
< 4 извлеченных ооцитов	11,6%	12,3%	0,893
АМГ ≥ 15 пмоль/л			
>15 извлеченных ооцитов	22,0%	42,0%	0,002
≥ 20 извлеченных ооцитов	8,0%	19,0%	0,021

с ранее полученными данными в предыдущем исследовании STORK: 23,5 и 18,6% в группах приема фоллитропина дельта и бета соответственно.

Несмотря на сравнительно одинаковую продолжительность стимуляции суперовуляции яичников и корректировки дозировки только в группе приема фоллитропина бета, ежедневная дозировка и общая суммарная дозировка в группе приема фоллитропина дельта были значительно ниже (табл. 13). Стоит отметить, что в группе приема фоллитропина бета стартовую дозу корректировали в 46,3% случаев.

Частота СГЯ по всем показателям (частота развития СГЯ, степени тяжести, с применением профилактических мероприятий и т.д.) была значительно ниже в группе приема фоллитропина дельта (табл. 14) [10].

Таким образом, данное рандомизированное контролируемое исследование доказало эффективность фоллитропина дельта в отношении количества полученных ооцитов при сравнении с фоллитропином бета. Индивидуальный подбор дозы позволяет получать сопоставимое количество ооцитов, при этом значительно (в некоторых группах до 50%) снизить риск развития СГЯ, а также использовать меньшие количества гонадотропинов, что делает лечение с применением методов ЭКО/ИКСИ экономически более дешевым, а значит, более доступным [7].

Исследование по изучению фоллитропина дельта с его новым индивидуальным режимом дозирования в популяции азиатских пациентов (GRAPE)

Помимо разнообразия популяционных характеристик, клинические практики, такие как день переноса, количество перенесенных эмбрионов и другие важные аспекты, потенциально влияющие на показатели успеха, различаются в зависимости от географических регионов, что еще больше подчеркивает необходимость индивидуальных региональных клинических испытаний. Целью другого крупного рандомизированного контролируемого исследования, получившего название GRAPE, стало изучение фоллитропина дельта с его новым индивидуальным режимом дозирования в популяции азиатских пациентов, а также сравнение его эффективности и безопасности с фоллитропином альфа при использовании стандартного подхода дозирования среди пациенток нескольких азиатских стран: Китая, Южной Кореи, Тайваня и Вьетнама [11].

В исследовании GRAPE приняли участие 1009 пациенток в возрасте 20–40 лет с подтвержденным диагнозом «бесплодие» (включая эндометриоз I–II степени, трубный и мужской факторы бесплодия, бесплодие неясного генеза), регулярным менструальным циклом продолжительностью 24–35 дней, наличием обоих яичников и концентрацией ФСГ в ранней фолликулярной фазе от 1 до 15 МЕ/л, которые раньше не обращались за лечением с использованием методов ВРТ. Пациентки с эндометриозом III–IV степени, привычным невынашиванием беременности в анамнезе и наличием одного или более фолликулов диаметром более 10 мм на момент рандомизации не включались в исследование.

Пациентки были разделены поровну на три возрастные группы: менее 35 лет, 35–37 лет и 38–40 лет: 499 пациенток в группе приема фоллитропина дельта и 510 пациенток в контрольной группе приема фоллитропина альфа. Расчет дозировки фоллитропина дельта проводился на основании сывороточной концентрации АМГ и массы тела на момент рандомизации: при концентрации АМГ менее 15 пмоль/л дозировка фоллитропина дельта составляла 12 мкг независимо от массы тела; при концентрации АМГ в сыворотке крови более 15 пмоль/л дозировка составляла

Таблица 13. Параметры терапии при стимуляции препаратами фоллитропина дельта и бета в исследовании STORK

	Фоллитропин дельта (*n*=170)	Фоллитропин бета, 150 МЕ/сут (*n*=177)	*p*
Продолжительность стимуляции, дни	8,9±1,9	8,8±1,7	0,694
Суммарная доза препарата, мкг	83,5±28,9	149,0±51,4 (1499±514 МЕ)	< 0,001
Ежедневная доза, мкг/день	9,4±2,5	16,7±2,5 (167±25 МЕ/день)	< 0,001
Доля пациентов с корректировкой дозы	0%	46,3%	< 0,001

Таблица 14. Частота развития СГЯ при стимуляции препаратами фоллитропина дельта и бета в исследовании STORK

	Фоллитропин дельта (*n*=170)	Фоллитропин бета, 150 МЕ/сут (*n*=177)	*p*
СГЯ			
Любой степени тяжести	11,2%	19,8%	0,021
Средней/тяжелой степени	7,1%	14,1%	0,027
Любой степени тяжести и/или профилактические вмешательства	11,8%	22,0%	0,008
Средней/тяжелой степени и/или профилактические вмешательства	8,2%	17,5%	0,007

0,10–0,19 мкг/кг/сут при минимально допустимой суточной дозировке 6 мкг и максимальной суточной дозировке 12 мкг. Стартовая дозировка в группе фоллитропина альфа составила 150 МЕ/сут, по истечении 5 дней стимуляции дозировка могла корректироваться в зависимости от индивидуального ответа яичников до максимально возможной суточной дозировки 450 МЕ/день. Все пациентки получали стандартный протокол с назначением антагонистов с 6-го дня стимуляции в дозировке 0,25 мг/сут до окончания стимуляции. Триггер назначали при наличии более трех фолликулов с диаметром от 17 мм. В качестве триггера выступали препараты ХГЧ при количестве фолликулов до 25 или агонисты рецептора ГнРГ при большем количестве. В случае бедного ответа яичников с визуализацией 1–2 фолликулов с диаметром от 17 мм при ультразвуковом исследовании или наличии более 35 фолликулов с диаметром более 12 мм пациента исключали из исследования.

Первичной конечной точкой данного исследования была частота продолжающейся беременности на сроке 10–11 недель после переноса эмбриона в свежем цикле, вторичными конечными точками стали частота наступления беременности, частота живорождения и неонатальная выживаемость в течение 4 недель, ответ яичников на стимуляцию (число ооцитов и зигот, достижение целевого ответа с получением 8–14 ооцитов, чрезмерный ответ яичников на стимуляцию с получением более 15 и 20 ооцитов у пациенток с концентрацией более 15 пмоль/л), изменения эндокринного профиля (эстрадиол, ингибины А и В, прогестерон), ежедневная дозировка и суммарная доза гонадотропинов. Профиль безопасности стимуляции оценивался по наличию побочных реакций, частоте и серьезности развития раннего и позднего СГЯ, наличию местных реакций в местах введения препаратов.

Средняя продолжительность стимуляции в группах приема фоллитропинов альфа и дельта составила 8,7±5,5 и 7,0±4,8 дня соответственно, с общей дозой препаратов 109,9±2,9 мкг (фоллитропин альфа) и 77,5±24,4 мкг (фоллитропин дельта) (табл. 15). Желаемый эффект по количеству полученных ооцитов (от 8 до 14 ооцитов) достигнут в 42,6 и 46,7% случаев при стимуляции фоллитропинами альфа и дельта соответственно. У женщин с риском развития СГЯ (с концентрациями АМГ >5 пмоль/л) после стимуляции фоллитропином альфа на пункции получали более 15 и 20 фолликулов в 39,1 и 18,5% соответственно; при стимуляции фоллитропином дельта – в 20,2 и 6,7% соответственно. Полученные данные коррелируют с результатами предыдущих исследований ESTHER-1 и STORK, которые показывают эффективность индивидуального расчета дозировки фоллитропина у пациентов с риском СГЯ. В ходе исследований ранняя степень СГЯ без обращения за медицинской помощью выявлена у 4,0% в группе приема фоллитропина дельта и 6,5% – в группе приема фоллитропина альфа; с превентивными мерами – 5,0 и 9,6% соответственно.

Таким образом, исследование GRAPE дополнительно доказывает, что, помимо снижения риска развития СГЯ на ранних стадиях, прием фоллитропина дельта в индивидуализированной схеме приема фиксированных доз позволяет повысить вероятность успеха в циклах ЭКО/ИКСИ для возрастных групп с более низким потреблением гонадотропина по сравнению с обычным дозированием фоллитропина альфа.

Фоллитропин дельта – рекомбинантный препарат чФСГ, продуцируемый с использованием линии клеток человека, показывает высокую эффективность и безопасность как в клинических исследованиях, так и в реальной клинической практике. Благодаря своим фармакокинетическим свойствам, а также четкому индивидуализированному алгоритму дозирования (основанному на уровне сывороточного АМГ и массе тела), использование фоллитропина дельта для ОС значительно снижает вероятность недостаточного или чрезмерного ответа яичников. Этот фактор имеет особенно важное значение при лечении таких пациенток, как женщины с низким овариальным резервом, с эндометриозом – группа риска по недостаточному ответу яичников, а также с высоким овариальным резервом и с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ) – группа риска по чрезмерному ответу.

Фоллитропин дельта показал свою эффективность при применении у различных групп пациенток: с низким, нормальным и высоким овариальным резервом, в моно- и в микст-протоколах.

Таблица 15. Показатели клинической эффективности при стимуляции фоллитропином альфа и дельта в исследовании GRAPE [11]

Параметр	Фоллитропин	
	альфа	дельта
Частота продолжающейся беременности	25,7%	31,3%
Частота живорождения в родах	24,7%	31,3%
Количество эмбрионов на 3-и сутки культивирования	8,7±5,5	7,0±4,8
Длительность стимуляции, дни	8,7±1,6	9,2±1,9
Общая доза препарата, мкг	109,9±32,9	77,5±24,4
Получение от 8 до 14 ооцитов	42,6%	46,7%
Получение более 15 ооцитов	39,1%	20,2%
Получение более 20 ооцитов	18,5%	6,7%

Таблица 16. Основные особенности анамнеза пациентов и результаты КОС при применении смешанного протокола с использованием ВО-чМГ и фоллитропина дельта

		Пациент 1	Пациент 2	Пациент 3	Пациент 4
Описание анамнеза					
Возраст, лет		43	42	43	39
Вес, кг		68	65	60	56
ИМТ		24,0	26,0	19,82	24
Концентрация АМГ, нг/мл		0,67	0,33	0,19	0,8
Особенности овариального резерва		экстремально низкий	экстремально низкий	экстремально низкий	низкий
Особенности менструального цикла		регулярный	регулярный	регулярный	регулярный
Циклы ЭКО в анамнезе		первый цикл ЭКО	повторный цикл ЭКО	повторный цикл ЭКО	повторный цикл ЭКО
Гинекологический анамнез		Беременности в анамнезе – 1 (аборт). Гистероскопия в 2018 г. (без патологии)	Беременности в анамнезе – 0. Правосторонняя аднексэктомия (овариальная киста)	Беременности в анамнезе – 0. 2019 г. – лапарогистероскопия, иссечение эндометриоидных узлов, удаление левой овариальной кисты (эндометриоз, эндометриома левого яичника); диеногест 2 мг/сутки – 6 месяцев	Беременности в анамнезе – 1. Неразвивающаяся беременность 7 недель
Наличие соматических заболеваний		нет	нет	нет	нет
Показатели биоматериала партнера		астенотератозооспермия	нормозооспермия	нормозооспермия	астенозооспермия I
Протоколы КОС					
Ранее проводимые протоколы	***Особенности стимуляции***				
	Особенности протокола		Flare-up	Протокол с антагонистами	Протокол с антагонистами
	Препарат ФСГ		Фоллитропин альфа	Фоллитропин альфа	Фоллитропин бета
	Стартовая доза		рФСГ альфа: 200 МЕ Менопур: 150 МЕ	рФСГ альфа: 150 МЕ Менопур: 150 МЕ	250 МЕ Менопур: 150 МЕ
	Общая доза		рФСГ альфа: 1475 МЕ Менопур: 1500 МЕ	рФСГ альфа: 975МЕ Менопур: 1050 МЕ	25000 МЕ
	Продолжительность стимуляции, дней		10	7	10
	Эмбриологические показатели				
	Количество фолликулов		6	4	5
	Количество ооцитов		3	4	4
	Количество клеток MII		3	4	3
	Количество зигот		1	2	2
	Количество биопсированных бластоцист		0	1	
	Количество эуплоидных бластоцист		–	0	

Смешанный протокол с фоллитропином дельта	***Особенности стимуляции***					
	Протокол	Flare-up	Flare-up	Протокол с антагонистами	Протокол с антагонистами	Протокол с антагонистами
	Стартовая доза	рФСГ дельта: 12 мкг/сут Менопур: 150 МЕ/сутки	рФСГ дельта: 12 мкг/сут Менопур: 150 МЕ/сут	рФСГ дельта: 12 мкг/сут Менопур: 150 МЕ/сут	18 мкг/сут 150 МЕ/сут	рФСГ дельта: 12 мкг/сут Менопур: 75 МЕ
	Общая доза	рФСГ дельта: 96 мкг Менопур: 1050 МЕ	рФСГ дельта: 96 мкг Менопур: 825 МЕ	рФСГ дельта: 120 мкг Менопур: 1350 МЕ	180 1050	рФСГ дельта: 108 мкг/сут Менопур: 750 МЕ
	Продолжительность стимуляции, дней	8	8	10	10	10
	Эмбриологические показатели					
	Количество фолликулов	5	3	7	8	
	Количество ооцитов	3	2	6	5	4
	Количество клеток MII	3	2	6	5	4
	Количество зигот	2	2	6	4	3
	Количество биопсированных бластоцист	1	1	1	2	3
	Количество эуплоидных бластоцист	0	1	0	1	2

Клинический опыт применения фоллитропина дельта

Клинический опыт применения фоллитропина дельта у пациенток при низком овариальном резерве в смешанных протоколах

По данным исследований, ЛГ-активность в протоколах ОС необходима для того, чтобы обеспечить лучшее качество ооцитов и эмбрионов, а также более высокий уровень живорождения, особенно у пациенток старшего репродуктивного возраста или с низким показателем АМГ. Ниже представлен опыт применения фоллитропина дельта в смешанных протоколах у пациенток, установленным первичным и вторичным бесплодием с уровнем АМГ 0,67 нг/мл и ниже, с регулярным менструальным циклом и индексом массы тела в диапазоне 19,82–26,0. Возраст пациенток составил 42–43 года, у двух женщин в анамнезе отмечены проводимые ранее циклы ЭКО, в дополнение у двух пациенток были проведены хирургические вмешательства гинекологического профиля: правосторонняя аднексэктомия у одной пациентки и лапарогистероскопия, иссечение эндометриоидных узлов, удаление левой овариальной кисты – у другой (табл. 16). Назначенная терапия включала применение ЧМГ-ВО (Менопур) и фоллитропина дельта в комбинации с 1-го дня стимуляции. Стартовая доза ЧМГ-ВО составляла 150 МЕ и корректировалась при необходимости на 5–6-й день стимуляции по итогам ультразвукового исследования; доза фоллитропина дельта подбиралась в соответствии с алгоритмом и оставалась постоянной на протяжении всего протокола.

Полученные результаты дополнительно подтверждают эффективность применения фоллитропина дельта в комбинации с препаратами ЧМГ-ВО для индивидуализации ОС в рамках смешанного протокола, что позволяет получить эмбрионы хорошего качества, в том числе у пациенток с экстремально низким овариальным резервом и отягощенным анамнезом, в частности, с эндометриозом.

Клинический опыт применения фоллитропина дельта у пациенток с нормальным овариальным резервом в моно- и в смешанных протоколах

Ниже представлен опыт применения фоллитропина дельта в смешанных и моно- протоколах у пациенток с нормальным уровнем АМГ. Назначенная терапия включала применение ЧМГ-ВО (Менопур) и фоллитропина дельта в комбинации с 1-го дня стимуляции либо только фоллитропина дельта в дозировке, подобранной в соответствии с алгоритмом (табл. 17).

Клинический опыт применения фоллитропина дельта у пациенток с высоким овариальным резервом в монопротоколах

Ниже представлен опыт применения фоллитропина дельта в монопротоколах у пациенток с высоким уровнем АМГ (6,2 нг/мл и выше). Назначенная терапия включала применение фоллитропина дельта с первого дня стимуляции, в дозировке, подобранной в соответствии с алгоритмом (табл. 18).

Таблица 17. Основные особенности анамнеза пациентов с нормальным овариальным резервом и результаты КОС при применении в моно- и смешанных протоколах с использованием ВО-чМГ и фоллитропина дельта

	Пациент 1	Пациент 2	Пациент 3	Пациент 4
Описание анамнеза				
Возраст, лет	31	35	42	27
Вес, кг	62	65	80	51
ИМТ	23,0	22,8	31,25	19,68
Концентрация АМГ, нг/мл	4,1	3,31	3,26	4,4
Особенности овариального резерва	нормальный	нормальный	нормальный	нормальный
Особенности менструального цикла	регулярный	регулярный	нерегулярный	регулярный
Циклы ЭКО в анамнезе	первый цикл ЭКО	первый цикл ЭКО	повторный цикл ЭКО	повторный цикл ЭКО
Гинекологический анамнез	Беременности в анамнезе – 0	Беременности в анамнезе – 0. Гистерорезектоскопия, полипэктомия (январь 2021 г.)	Беременности в анамнезе – 0. СПКЯ	Беременность в анамнезе – 0
Наличие соматических заболеваний	не отягощен	хронический гастрит	нет	нет
Фактор бесплодия	мужской фактор	трубно-перитонеальный фактор	эндокринный фактор	идиопатическое бесплодие
Особенности стимуляции				
Протокол	Монопротокол с антагонистом	Монопротокол с антагонистом	Flare-up	Монопротокол с антагонистом
Стартовая доза	рФСГ дельта: 7,66 мкг/сутки	рФСГ дельта: 8,66 мкг/сутки	рФСГ дельта: 11,33 мкг/сутки Менопур: 75 МЕ/сутки	рФСГ дельта: 6 мкг/сут
Общая доза	рФСГ дельта: 84,26 мкг	рФСГ дельта: 103,92 мкг	рФСГ дельта: 101,97 мкг Менопур: 600 МЕ	66 мкг
Продолжительность стимуляции, дней	11	12	9	11
Эмбриологические показатели				
Количество фолликулов			8	9
Количество ооцитов	14	13	4	7
Количество клеток MII			3	6
Количество зигот	6	7	3	5
Количество бластоцист	2: одну перенесли в свежем цикле (исход – прогрессирующая беременность), и одну криоконсервировали	4: одну перенесли в свежем цикле (исход – прогрессирующая беременность), и три криоконсервировали	1 (криоконсервирована)	3 (произведена биопсия трофэктодермы, образцы отправлены на исследование)

Таблица 18. Основные особенности анамнеза пациентов с высоким овариальным резервом и результаты КОС при применении в монопротокола с использованием фоллитропина дельта

	Пациент 1	Пациент 2	Пациент 3
Описание анамнеза			
Возраст, лет	33	29	32
Вес, кг	59	59	60
ИМТ	24,0	23,63	24,2
Концентрация АМГ, нг/мл	10,4	6,2	5,3
Особенности овариального резерва	высокий	высокий	высокий
Особенности менструального цикла	регулярный	50–100 дней	нерегулярный, задержки до 14 дней
Циклы ЭКО в анамнезе	0	3	1
Беременности в анамнезе	0	0	0
Наличие соматических заболеваний	нет	гипергонадотропный гипогонадизм	нет
Фактор бесплодия	неясного генеза	мужской (криптозооспермия) и эндокринный фактор	СПКЯ
Особенности стимуляции			
Протокол	Монопротокол с антагонистом	Монопротокол с антагонистом	Монопротокол с антагонистом
Стартовая доза рФСГ дельта, мкг/сутки	5,3	10,0	6,6
Общая доза рФСГ дельта, мкг	58,3	90,0	66,0
Продолжительность стимуляции, дней	11	9	10
Эмбриологические показатели			
Количество ооцитов	12	13	11
Количество бластоцист	4 (2 из них – на 5-е сутки). Одну перенесли в свежем цикле, исход – биохимическая беременность. Перенос 1 эмбриона в криоцикле (исход – прогрессирующая беременность)	8	5 Перенос эмбриона в свежем цикле – исход клиническая беременность. 4 бластоцисты криоконсервированы

Заключение

Полученный опыт применения фоллитропина дельта подтверждает эффективность фоллитропина дельта как в моно-, так и в смешанных протоколах у пациенток с низким, нормальным и высоким овариальным резервом. Фоллитропин дельта помогает достигнуть предсказуемого овариального ответа с минимизированием риска развития СГЯ, включая пациенток с эндокринным фактором бесплодия (в том числе с СПКЯ).

Литература/References

1. World Health Organization. Infertility. Available at: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility
2. *Гусаров Д.А., Государев А.И., Гусарова В.Д., Бырихина Л.В., Ижаева Ф.М.* Создание промышленной технологии биосинтеза фолликулостимулирующего гормона в культуре клеток CHO. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016; 2: 80-4. [Gusarov D.A., Gosudarev A.I., Gusarova V.D., Byrikhina D.V., Izhaeva F.M. The development of a production scale technology of recombinant follicle stimulating hormone bioprocess in CHO cell line. Drug development & registration. 2016; 2: 80-4. (in Russian)].
3. *Andersen A.N., Nelson S.M., Fauser B.C.J.M., García-Velasco J.A., Klein B.M., Arce J.-C.*; ESTHER-1 study group. Individualized versus conventional ovarian stimulation for in vitro fertilization: a multicenter, randomized, controlled, assessor-blinded, phase 3 noninferiority trial. Fertil. Steril. 2017; 107(2): 387-396.e4. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.10.033.

4. *Fernández-Sánchez M., Visnova H., Yuzpe A., Klein B.M., Mannaerts B., Arce J.-C.*; ESTHER-1 and ESTHER-2 Study Group. Individualization of the starting dose of follitropin delta reduces the overall OHSS risk and/or the need for additional preventive interventions: cumulative data over three stimulation cycles. Reprod. Biomed. Online. 2019; 38(4): 528-37. https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.12.032.
5. *Bosch E., Havelock J., Martin F.S., Rasmussen B.B., Klein B.M., Mannaerts B.* et al.; ESTHER-2 Study Group. Follitropin delta in repeated ovarian stimulation for IVF: a controlled, assessor-blind Phase 3 safety trial. Reprod. Biomed. Online. 2019; 38(2): 195-205. https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.10.012.
6. *Bissonnette F., Masip J.M., Kadoch I.-J., Librach C., Sampalis J., Yuzpe A.* Individualized ovarian stimulation for in vitro fertilization: a multicenter, open label, exploratory study with a mixed protocol of follitropin delta and highly purified human menopausal gonadotropin. Fertil. Steril. 2021; 115(4): 991-1000. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.09.158.
7. *Bleil M.E., Gregorich S.E., Adler N.E., Sternfeld B., Rosen M.P., Cedars M.I.* Race/ethnic disparities in reproductive age: an examination of ovarian reserve estimates across four race/ethnic groups of healthy, regularly cycling women. Fertil. Steril. 2014; 101(1): 199-207. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.09.015.
8. *Nelson S.M., Aijun S., Ling Q., Tengda X., Wei X., Yan D.* et al. Ethnic discordance in serum anti-Müllerian hormone in healthy women: a population study from China and Europe. Reprod. Biomed. Online. 2020; 40(3): 461-7. https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2019.11.013.
9. *Ishihara O., Klein B.M., Arce J.-C.*; Japanese Follitropin Delta Phase 2 Trial Group. Randomized, assessor-blind, antimüllerian hormone–stratified, dose-response trial in Japanese in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection patients undergoing controlled ovarian stimulation with follitropin delta. Fertil. Steril. 2021; 115(6): 1478-86. https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.10.059.
10. *Ishihara O., Arce J.-C.*; Japanese Follitropin Delta Phase 3 Trial (STORK) Group. Individualized follitropin delta dosing reduces OHSS risk in Japanese IVF/ICSI patients: a randomized controlled trial. Reprod. Biomed. Online. 2021; 42(5): 909-18. https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2021.01.023.
11. *Qiao J., Zhang Y., Liang X., Ho T., Huang H.-Y., Kim S.-H.* et al. A randomised controlled trial to clinically validate follitropin delta in its individualised dosing regimen for ovarian stimulation in Asian IVF/ICSI patients. Hum. Reprod. 2021; 36(9): 2452-62. https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deab155.

Поступила 14.10.2021
Принята в печать 21.10.2021
Received 14.10.2021
Accepted 21.10.2021

Сведения об авторах:
Калугина Алла Станиславовна, репродуктолог, д.м.н., профессор кафедры акушерства, гинекологии и неонатологии, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Минздрава РФ; клиника «Сканфорт», Санкт-Петербург, Alla19021962@gmail.com, 191186, Россия, Санкт-Петербург, Невский пр., д. 22-24.
Боярский Константин Юрьевич, репродуктолог, к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии им. С.Н. Давыдова педиатрического факультета, СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава РФ; Центр персонального здоровья и репродукции «Генезис», Санкт-Петербург, konstantinboyarsky@icloud.com, 191015, Россия, Санкт-Петербург, Кирочная ул., д. 64, лит.А.
Маколкин Александр Алексеевич, репродуктолог, клиника «Дельта Фертилити», Санкт-Петербург, 199034, Россия, Санкт-Петербург, 13-я линия Васильевского острова, д. 10.
Зверева Ирина Олеговна, эмбриолог, к.х.н., доцент кафедры аналитической химии им. И.П. Алимарина отделения фундаментальной и инженерной химии, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова; Клиника Фомина, Zvereva.sochi2014@gmail.com, 127006, Россия, Москва, Долгоруковская ул., д. 17 стр. 1.
Вознесенская Юлия Владимировна, репродуктолог, руководитель школы репродуктологии EMC Medical School, клиника EMC, Москва, klimka7@yahoo.com, 125040, Россия, Москва, ул. Правды, д. 15 стр.1.
Холодов Дмитрий Владимирович, репродуктолог, Клиника Фомина, dmitrykholodov@gmail.com, 127006, Россия, Москва, Долгоруковская ул., д. 17 стр. 1.

Authors' information:
Alla S. Kalugina, reproductologist, Dr. Med. Sci., Professor of the Department of Obstetrics, Gynecology and Neonatology, Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation; Skanfert Clinic, St. Petersburg, Alla19021962@gmail.com, 191186, Russia, St. Petersburg, Nevskiy Ave., 22-24.
Konstantin Yu. Boyarsky, reproductologist, Ph.D., Associate Professor of the S.N. Davydov Department of Obstetrics and Gynecology, Pediatric Faculty, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation; Genesis Reproduction Center, St. Petersburg, konstantinboyarsky@icloud.com, 191015, Russia, St. Petersburg, Kirochnaya str., 64A.
Alexander A. Makolkin, reproductologist, Delta Fertility Clinic, St. Petersburg, 199034, Russia, St. Petersburg, 13th Line of Vasilevsky Island, 10.
Irina O. Zvereva, embryologist, Ph.D., Associate Professor of the Department of Analytical Chemistry named after I.P. Alimarin, Department of Fundamental and Engineering Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies; Fomin Clinic, Zvereva.sochi2014@gmail.com, 127006, Russia, Moscow, Dolgorukovskaya str., 17-1.
Julia V. Voznesenskaya, reproductologist, Head of the EMC Medical School of Reproduction, EMC Clinic, Moscow, klimka7@yahoo.com, 125040, Russia, Moscow, Pravdy str., 15-1.
Dmitry V. Kholodov, reproductologist, Fomin Clinic, dmitrykholodov@gmail.com, 127006, Russia, Moscow, Dolgorukovskaya str., 17-1.

Рековелль®
фоллитропин дельта

РЕКОВЕЛЛЬ®

Рекомбинантный фолликулостимулирующий гормон, полученный из линии клеток человека (рчФСГ).

• Аминокислотная последовательность двух субъединиц фоллитропина дельта идентична последовательности аминокислот в эндогенном рчФСГ человека. Синтез фоллитропина дельта осуществляется и использованием клеток человека линии PER.C6, поэтому профиль гликозилирования отличен от фоллитропина альфа и фоллитропина бета.

• Режим дозирования препарата Рековелль® подбирается индивидуально для каждой пациентки и должен быть направлен на получение ответа яичников при благоприятных показателях эффективности и безопасности. Доза препарата указывается в микрограммах. Режим дозирования и доза препарата Рековелль® не могут применяться к другим лекарственным препаратам гонадотропинов.

• В первом цикле терапии суточная доза препарата определяется на основании концентрации антимюллерова гормона (АМГ) в плазме крови и массы тела пациентки. На протяжении первого цикла лечения доза препарата не должна меняться.

• Предназначен для контролируемой гиперстимуляции яичников с целью индукции роста множественных фолликулов при проведении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ): экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) или интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида (ИКСИ).*

ФОРМА ВЫПУСКА:

Раствор для подкожного введения. 1 картридж содержит действующее вещество:
фоллитропин дельта 12,0 мкг, 36,0 мкг или 72,0 мкг.
Рековелль в РФ: ЛП-006142.

*Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Рековелль.

Подробную инструкцию по препарату Рековелль® можно найти на сайте:
www.ferring.ru

FERRING
PHARMACEUTICALS

Реклама
RU-RMW-5100009

ООО «Ферринг Фармасетикалз», 115054, Москва, Космодамианская наб., д. 52, стр. 4. Тел.: + 7 (495) 287-03-43, факс: + 7 (495) 287-03-42. e-mail: info@ferring.ru. www.ferring.ru

ИНФОРМАЦИЯ ПРЕДНАЗНАЧЕНА ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ РАБОТНИКОВ.
ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ.

ПОДПИСКА

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
акушерство и гинекология

www.bionika-media.ru

Уважаемые читатели!
Предлагаем вам оформить подписку с любого выпуска непосредственно в Издательском доме «Бионика Медиа»!
Это удобная своевременная доставка и выгодные условия.

Стоимость подписки на 2022 год:
Годовая подписка: 5 808 руб.
Первое полугодие: 3 234 руб.

Ознакомиться с журналом и оформить подписку Вы можете на сайте **https://ag.ahs.su/**
или обратившись по телефону: **8 (495) 786-25-41**
и по e-mail: **podpiska@bionika.ru**

Наши менеджеры помогут подобрать вам удобную форму доставки издания, подготовят необходимые документы.

Оформить подписку вы также можете в любом почтовом отделении:

В каталоге «Почта России»
ПР282 Полугодовая

В объединенном каталоге «Пресса России»
38762 Полугодовая

И в альтернативных подписных агентствах:

ООО «Урал Пресс»
http://www.ural-press.ru

ООО «СЗА ПРЕССИНФОРМ»
http://pinform.spb.ru/

16+ Реклама

bionika media — АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

©Костава М.Н., 2021

М.Н. КОСТАВА

ВПЧ-АССОЦИИРОВАННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ В ВОПРОСАХ И ОТВЕТАХ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

Вирус папилломы человека (ВПЧ) – наиболее распространенная инфекция, передающаяся половым путем, две трети женщин заражаются в течение 2 лет после начала половой жизни. Генетический материал ВПЧ обнаруживается почти во всех формах рака шейки матки и в некоторых случаях других форм рака аногенитальной области и ротоглотки. Проблема ВПЧ-ассоциированных заболеваний и рака шейки матки более чем серьезна в связи с тем, что распространенность ВПЧ чрезвычайно высока. Общая инфицированность людей ВПЧ приближается к 700 млн. Однако, исходя из имеющихся статистических данных о благоприятном исходе ВПЧ-ассоциированных заболеваний преимущественно у молодых женщин, мы можем их наблюдать достаточно длительный период времени. Учитывая особенности развития ВПЧ-ассоциированных заболеваний, возможно применение иммуномодулирующих препаратов, в том числе инозин пранобекса (Гроприносина). Это дает возможность активировать локальный иммунитет, а также создает более благоприятные условия для хирургического лечения и предотвращения рецидивов.

Ключевые слова: *папилломавирусная инфекция (ПВИ), ВПЧ, инозин пранобекс, Гроприносин.*

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование: Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Для цитирования: Костава М.Н. ВПЧ-ассоциированные заболеванияв вопросах и ответах. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 267-276
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.267-276

©Kostava M.N., 2021

M.N. KOSTAVA

HPV-ASSOCIATED DISEASES: QUESTIONS AND ANSWERS

Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Human papillomavirus (HPV) is the most common sexually transmitted infection. Two thirds of women become infected within 2 years after the onset of sexual activity. HPV genetic material can be found in almost all forms of cervical cancer and in some cancers of the anogenital region and oropharynx. The problem of HPV-associated diseases and cervical cancer is very serious, due to the fact that the prevalence of HPV is extremely high. The total number of people infected with HPV is approaching 700 million. According to the available statistical data, favourable outcome of HPV-associated diseases can be observed mainly in young women, however, the diseases may run for quite a long period of time. Taking into account the characteristics of HPV-associated diseases, it is possible to use immunomodulatory drugs, such as inosine pranobex (Groprinosin). It can contribute to the activation of local immunity, as well as the creation of more favorable conditions for surgical treatment and prevention of relapses.

Keywords: *papillomavirus infection (PVI), HPV, inosine pranobex, Groprinosin.*

Conflicts of interest: The author declares that there are no competing interests.
Funding: The study was performed without any financial support.

For citation: Kostava M.N. HPV-associated diseases: questions and answers. Akusherstvo i Ginekologiya / Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 267-276 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.267-276

Для российского здравоохранения рак шейки матки сегодня представляет серьезную проблему и угрозу. Ежегодно в нашей стране выявляется около 15 тыс. новых случаев заболевания [1]. В России рак шейки матки занимает 2-е место по распространенности среди злокачественных новообразований у женщин до 45 лет и 1-е место по количеству потерянных лет жизни (продолжительность жизни заболевших женщин снижается в среднем на 26 лет). Заболеваемость неуклонно растет – за последние 10 лет увеличилась приблизительно на 26% [2].

Демографические потери по причине этого заболевания очень велики. Каждый год умирают около 8,5 тыс., а каждый день – около 17 россиянок [2, 3].

Больше трети (32%) первичных диагнозов рака шейки матки ставится уже на запущенных (III и IV) стадиях [4].

По прогнозу, сделанному на основании изучения динамики рака шейки матки в России в течение почти 30 лет (с 1989 по 2018 гг.), к 2028 г. в нашей стране будет диагностировано 29 новых случаев рака шейки матки на 100 тыс. населения.

В мире ежегодно фиксируется около 604 тыс. случаев цервикального рака и 349 тыс. случаев смертей, вызванных этим онкологическим заболеванием [1].

Данная проблема тем более серьезна, что распространенность вируса папилломы человека (ВПЧ) чрезвычайно высока. Достаточно сказать, что, по данным ВОЗ, именно ВПЧ считается самой частой инфекцией, передаваемой половым путем (ИППП) [5]. Общая инфицированность людей ВПЧ приближается к 700 млн.

Папилломавирусная инфекция (ПВИ) – единственная ИППП, которая постоянно инфицирует все большее число людей, живущих половой жизнью, и, по заключению ВОЗ, является проблемой номер один среди ИППП [6, 7].

Изучение ВПЧ позволило подтвердить его роль в развитии рака шейки матки (100%), рака полового члена у мужчин – в 40% случаев, рака ануса и у женщин, и у мужчин – в 90% случаев [1]. Поражение кожи, ротоглотки, головы и шеи диагностируется с каждым годом все чаще.

Врачам амбулаторно-поликлинического звена приходится решать проблемы, обусловленные ВПЧ-ассоциированными заболеваниями, ежедневно. Вопросы адекватной диагностики, лечения, профилактики рака и рецидивов заболеваний, обусловленных ВПЧ, имеют свои особенности [8, 9]. На этом пути множество подводных течений и сложностей, которые приходится преодолевать и пациентам, и врачам.

Попытаемся разобраться в сложных переплетениях реальных проблем и мифов, которыми переполнены информационные сервисы.

Что из себя представляет ВПЧ?

ВПЧ – это ДНК-вирусы, поражающие стратифицированный плоскоклеточный эпителий человека. Папилломавирусы – небольшие круглые ДНК-вирусы без оболочки, обладающие видовой и тканевой специфичностью, которые заражают млекопитающих, птиц и рептилий. Являются представителями одного из старейших, крупнейших и самых разнообразных из известных вирусных семейств. ВПЧ, как и все папилломавирусы, нацелены на стратифицированный плоскоклеточный эпителий. Некоторые типы ВПЧ также способны инфицировать железистый эпителий шейки матки. Современная статистика позволяет говорить о том, что инфекция чрезвычайно распространена, возможно, универсальна, в основном существует на скрытом уровне, не вызывая заметных изменений в тканях. ВПЧ распределяются по всему телу, но с различными анатомическими пристрастиями, что позволяет выделить три основные группы ВПЧ-ассоциированных заболеваний и вирусов: (1) обнаруживаемые в кожных бородавках, таких как подошвенные, общие и плоские бородавки; (2) ассоциированные с эпидермодисплазией, редким генодерматозом; (3) ассоциированные с поражениями гениталий или слизистых оболочек. Последняя группа типов ВПЧ и есть объект нашего внимания, в частности в этой статье.

Чем опасен ВПЧ? Канцерогенез

Основные принципы молекулярного и клеточного онкогенеза вируса папилломы были изучены к началу 1990-х гг. Это десятилетие ознаменовалось быстрым развитием многих эпидемиологических исследований, которые укрепили и дополнили доказательства того, что некоторые генитальные типы ВПЧ вызывают рак шейки матки. С более ограниченными, но растущими доказательствами к этому списку добавились и другие виды рака, такие как рак вульвы, влагалища, пениса, заднего прохода и ротоглотки.

Активная фаза ВПЧ-инфицирования начинается с заражения «базальной или стволовой» клеточной популяции зоны трансформации шейки матки [10].

В клетках, приверженных плоскоклеточной дифференцировке, существует упорядоченная программа созревания по всей толщине эпителия как на морфологическом, так и на молекулярном уровне.

Канцерогенез шейки матки можно разделить на следующие этапы:

1) первичная инфекция ВПЧ;

2) персистенция генома ВПЧ в эписомальной форме и возможная продукция вирусных частиц;

3) интеграция ДНК ВПЧ в клеточный геном (на II и III стадиях начинают проявляться функции генов *E6*, *E7*, нарушающих контроль деления клеток);

4) индукция мутаций в клеточной ДНК, вызывающей нестабильность клеточного генома;

5) селекция клона клеток с мутантной ДНК, содержащих интегрированную ДНК ВПЧ;

6) активное размножение данного клона клеток и рост опухоли.

Многие аспекты клеточной иммунологии ВПЧ-инфекций плохо изучены. Данные литературы показывают, что по крайней мере 50% мужчин и женщин подвергаются воздействию ВПЧ в течение 3 лет после начала сексуальной активности и что даже моногамные женщины «низкого риска» обычно заражаются ВПЧ-инфекцией. Самоэлиминация ВПЧ возможна в 90% случаев. Этот механизм не совсем понятен, но он позволяет избежать онкотрансформации клеток в большинстве случаев. Для развития раковых процессов необходима длительная персистенция (2–3 года), причем именно высокоонкогенными типами ВПЧ.

ВПЧ высокого онкогенного риска могут иметь более длительную персистенцию по сравнению с ВПЧ низкого онкогенного риска, хотя очень длительная персистенция ВПЧ низкого онкогенного риска не является редкостью [11, 12].

Как выявить ВПЧ?

ПЦР-диагностика является на сегодня единственной возможностью определить наличие ВПЧ в мазках с кожи и слизистых [13].

При ПЦР-диагностике очень часто возникает вопрос и у пациентов, и у врачей: почему не выяв-

ляется ВПЧ при явных изменениях слизистой в виде остроконечных кондилом?

Необходимо понимать, что вирус персистирует локально и поражает клетки, рядом расположенные, а не переносится через кровь по всему организму. Поэтому, если наблюдается поражение слизистой вульвы, не обязательно будет иметь место поражение слизистой шейки матки [11].

Мазки принято брать с шейки матки, и если она не инфицирована, результат будет отрицательным. Если необходимо определить поражение ВПЧ в области роста кондилом, то и мазок необходимо брать из этой области [14]. Однако считается, что отсутствует необходимость определять тип вируса остроконечных кондилом, если нет подозрения на возможное озлокачествление (легкая ранимость, кровоточивость, участки некроза и т.д.) [15]. По данным различных исследователей, типы 6 и 11 ВПЧ в 90% случаев ответственны за развитие кондилом. В последнее время установлено, что причиной появления кондилом могут быть и такие типы ВПЧ, как 30, 42, 43, 44, 45, 51, 54, 55, 70, которые относятся к высокоонкогенным. Низкоонкогенные типы 6 и 11 нередко могут сочетаться с высокоонкогенными типами ВПЧ, поэтому при выявлении кондилом обязательно определение ВПЧ в эпителиальном покрове шейки матки [14].

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) позволяет проводить качественно-количественный анализ ВПЧ. Знания о типе вируса позволяют врачу прогнозировать опасность поражения слизистых и необходимость проведения динамического наблюдения за пациенткой, расширенной диагностики и возможного лечения. Очень важными факторами в диагностике ВПЧ являются качество забора материала, правильная его транспортировка, условия хранения и качественное оборудование для ПЦР-диагностики.

В ходе наблюдения можно определять вирусную нагрузку и ее изменения, которые могут свидетельствовать о возможной элиминации вируса, а длительная персистенция может указать на высокий риск развития злокачественных процессов. Но бывают случаи, когда при явном ВПЧ-ассоциированном поражении слизистой вирус не выявляется.

ВПЧ может располагаться в клетке хозяина эписомально. В таких случаях вирус будет определяться при ПЦР-диагностике, но при цитологии и кольпоскопии изменения могут отсутствовать. Самостоятельная элиминация вируса позволяет полностью ликвидировать возможность развития тяжелых поражений эпителия. Большинство исследователей свидетельствуют именно о таком преимущественном течении ВПЧ-инфицирования (до 90%). Персистенция ВПЧ в 10% случаев приводит к развитию заболеваний, причем доминирующими являются кондиломатозные поражения, и только около 10% пациентов могут иметь предраковые и раковые поражения слизистых и кожи. Интегрирование ДНК ВПЧ в ДНК клеток хозяина провоцирует развитие патологических изменений эпителиального покрова [1, 14].

Активная ВПЧ-инфекция начинается с заражения базальных или стволовых клеток зоны трансформации шейки матки. Эти клетки обладают потенциалом дифференцировки по плоскоклеточным железистым или нейроэндокринным линиям и отвечают за физиологию эпителия в клетках. В базальных клетках, инфицированных ВПЧ, экспрессия генов папилломавируса подавляется до уровня, близкого к поддерживающему [11, 12].

Продуктивная экспрессия генов ВПЧ жестко регулируется и возможна только в клетках, начавших плоскоклеточное созревание с сопутствующей потерей пролиферативной способности [1].

В непосредственной парабазальной зоне происходят экспрессия ранних участков вирусного генома и по мере дифференцировки клеток – индукция всех вирусных генов, а также синтез вирусной ДНК. Это приводит к сборке и продуцированию вирионов в клетках промежуточных слоях эпителия.

В шейке матки такие поражения распознаются как низкодифференцированные плоскоклеточные интраэпителиальные поражения – биологический эквивалент того, что было названо легкой плоскоклеточной дисплазией (L-SIL), или койлоцитарной атипией.

Как можно заразиться ВПЧ? Защищает ли презерватив?

ВПЧ поражает базальные клетки эпителия. Микротравма, или микроскопические разрывы, эпителиального барьера обеспечивают доступ вируса к чувствительным клеткам. В шейке матки это происходит главным образом через проникающий половой акт. Для вульвовагинальной передачи инфекции может быть достаточно непроникающего абразивного контакта гениталий с гениталиями [16].

Последовательное использование презервативов обеспечивает относительную степень защиты от передачи ВПЧ в эпителий шейки матки, однако кумулятивная заболеваемость, связанная с последовательным использованием презервативов, все еще высока (37,8% в год). Оральное и анальное поражение ВПЧ, вероятно, приобретается путем прямого полового контакта (оральный и анальный секс).

Данные естественной истории свидетельствуют о том, что повторное заражение между партнерами встречается редко, вероятно, представляя собой развитие некоторого уровня естественного иммунитета против повторного заражения.

Этот вопрос чаще всего интересует пациенток, так как их волнует, не могут ли они постоянно заражаться от партнера или заразить его сами?

Очень много исследований последних лет показали значимость сопутствующих ИППП в прогрессивном воздействии ВПЧ на клетки эпителиального покрова влагалища и шейки матки. Уреа/микоплазменная инфекция, особенно хламидийная, усиливает риск развития предрака и рака шейки матки в 1,5–5 раз. Как следствие, применение презерватива для защиты от ко-факторов в виде ИППП, безусловно, актуально.

Как диагностировать ВПЧ-ассоциированные заболевания?

ВПЧ-ассоциированные заболевания: остроконечные кондиломы, поражения эпителиального покрова в виде L-SIL, H-SIL, рак шейки матки, VAIN, VIN, AIN.

Значимую роль в диагностике играет визуальный осмотр, при котором можно определить кондиломы, а иногда и онкоэкзофиты, отражающие злокачественное перерождение [17]. Отдельные очаги поражения обычно имеют размеры от нескольких миллиметров до 2 см в диаметре, но могут достигать и очень больших размеров, превышающих 10 см в диаметре, образуя гигантские кондиломы.

У большинства пациенток присутствует от 3 до 8 поражений, но общее число может иногда превышать 50, особенно у иммунодискордантных пациентов [18]. Отдельные поражения могут также объединяться в бляшки. Генитальные бородавки имеют цвет окружающих тканей с просветлением на гиперкератизированных участках, различную степень гиперпигментации. Откровенно пигментированные бородавки заслуживают особого внимания, поскольку на самом деле они могут быть интраэпителиальными неоплазиями, связанными с онкогенными типами ВПЧ.

Пациенту с генитальными бородавками может быть рекомендовано аноскопическое исследование при наличии перианальных бородавок, анамнезе анального рецептивного полового акта или наличии анальных симптомов.

Три четверти пациентов с аногенитальными бородавками не испытывают никаких симптомов. Наиболее частыми проявлениями могут быть зуд, жжение, иногда боль, болезненность или дискомфорт, которые лишь изредка мешают половому акту [18]. Психологическое воздействие болезни несет наибольшую нагрузку по крайней мере у половины больных.

Дифференциальная диагностика наружных генитальных бородавок должна осуществляться с множеством заболеваний: папилломатозные поражения, контагиозный моллюск, кондиломы Латум (сифилис) эпидермоидные кисты, обычные бородавки, плоскоклеточный рак, лимфогранулема венерическая, плоские папулы, пигментные поражения, невусы, себорейный кератоз, интраэпителиальная неоплазия (включая боуэноидный папулез, болезнь Боуэна).

Остроконечные кондиломы диагностируются большей частью визуально и редко требуют использования кольпоскопии и биопсии, особенно когда речь идет о поражении вульвы и перианальной области [18, 1]. Определение кондилом на поверхности шейки матки требует использования кольпоскопа, так как свежие мелкие папиллярные образования видны только при уксусной пробе. Учитывая, что женщины, у которых наиболее часто определяются кондиломы шейки матки, находятся в молодом возрасте (±20 лет), у большинства из них впоследствии наблюдается спонтанный регресс. При необходимости абляционную терапию (криотерапию, лазерную абляцию) можно проводить в случаях стойкого симптоматического заболевания.

Трудность заключается в степени воздействия на многие складки стенки влагалища, которые могут оставить часть кондилом недоступными. Ограниченный доступ в сочетании со склонностью к рецидивированию этих поражений у лиц с ослабленным иммунитетом приводит к необходимости проведения скорее иммуноподдерживающей терапии, чем постоянного удаления кондилом.

Цитология, гистология

Цитология – обязательное скрининговое исследование.

Первый этап – взятие цитологического мазка с экзо/эндоцервикса (при необходимости с боковых стенок влагалища, ануса, мазков-отпечатков с вульвы).

Очень важно обратить внимание на методику забора материала для цитологического исследования состояния эпителия. Забор материала необходимо производить цитобрашем (цервикс-браши) или щеточками для ПЦР, но ни в коем случае не шпателями. Шпатели не позволяют осуществить полноценный забор материала и, кроме того, нанести забранный материал на стекла [19]. Забор материала шпателем переносит менее 10% отобранных клеток, а эффективность забора цервикс-брашем приближается к 95%.

Более информативным методом цитологического исследования является жидкостная цитология, поскольку собранный материал практически полностью будет оценен цитологом [20]. Жидкостная цитология улучшила забор клеток для исследования, тем самым уменьшив ошибку отбора проб в 4 раза по сравнению с традиционным методом.

Цитологическая классификация Bethesda, модифицированная в 2014 г. (табл. 1), дает градацию клеточных изменений постадийно [21].

ASC-US демонстрирует неэффективный (в смысле клеточного деления онкобелков E6/E7) и опосредованный синтез ДНК хозяина, который производит увеличенные ядра и увеличенное ядерно-цитоплазматическое соотношение, что распознается как аномальное. Если процесс не полностью развит или, возможно, регрессирует, то клетки, полученные с поверхности, часто имеют меньшую ядерную аномалию (атипичные плоскоклеточные клетки неопределенного значения или ASC-US), чем те, которые наблюдаются при классической дисплазии [22].

Увеличение ядра и гиперхромазия, признанные патологами атипией, являются прямым результатом опосредованной активации синтеза ДНК хозяина онкобелками E6/E7. При ASC-US ни цитологически, ни кольпоскопически мы не можем четко определить, насколько вероятно дальнейшее патологическое изменение эпителия у конкретной пациентки. Наличие ВПЧ высокоонкогенных типов говорит о большей вероятности дальнейшего развития патологии.

В связи с этим современные изыскания, направленные на поиск маркеров для неинвазивных методов определения рисков развития рака для каждой конкретной пациентки, весьма актуальны [23].

Все белки ВПЧ являются иммуногенными и способны вызывать как гуморальные, так и клеточные иммунные реакции. В естественном течении ВПЧ контроля вирусной экспрессии генов нет, также отсутствует и возможность свести к минимуму воздействие антигенов в инфицированных клетках. L-SIL обычно регрессирует в течение короткого времени и редко сохраняется в течение длительного периода. Но персистенция вируса и клеточные изменения, обусловленные ими, могут привести к развитию H-SIL [11].

Клеточный иммунный ответ имеет специфичность, о чем свидетельствует наличие у пациентов с ВПЧ-поражением лимфопролиферативного ответа, системного и локального, на вирусные белки, особенно E6 и E7. Цитотоксический ответ также может быть обнаружен. Эти наблюдения послужили основой для разработки лечебных терапевтических препаратов. Естественные клетки-киллеры также присутствуют в CIN, но важность их роли неизвестна.

Гуморальный ответ на ВПЧ-инфекцию лучше понятен. Ранние вирусные белки генерируют очень слабый иммунный ответ, который не обнаруживается у большинства пациентов. Однако около половины пациентов с инвазивным раком шейки матки имеют антитела к белкам E6 и E7. Самый сильный иммунный ответ во время естественной инфекции направлен на белок L1 в его нативной конформации. Он выявляется примерно у 50–70% пациентов и является хорошим маркером прошлой или настоящей инфекции.

В структуре патологии шейки матки CIN составляют 17–29%. Распространенность в мире CIN I степени, по данным ВОЗ, составляет 30 млн случаев, а CIN II–III степени – 10 млн. Наиболее часто диагностируют CIN II степени, частота перехода CIN в карциному *in situ* (CIS) варьирует от 40 до 64% [1].

На сегодня сложность представляет возможность воспроизводимого определения дифференцировки стадий поражения эпителия цитологически, гистологически и кольпоскопически. Поэтому для полноценной диагностики необходимо проведение максимального набора возможно доступных методов обследования: визуальный, цитология, ВПЧ-типирование, кольпоскопия, биопсия, гистология, определение маркеров p16/ki67 [24].

В марте 2012 г. Колледж американских патологов и Американское общество по кольпоскопии и цервикальной патологии в сотрудничестве с 35 организациями заинтересованных сторон созвали консенсусную конференцию под названием «Проект по аномальной плоскоклеточной терминологии (LAST)» [25]. Рекомендации этого проекта включают использование единой двухуровневой терминологии для описания гистологии, связанной с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями во всех тканях аногенитального тракта: вульвы, влагалища, шейки матки, пениса, перианальной области и ануса, вместо трехуровневой, которой пользуются сегодня.

Рекомендуемая терминология – «низкосортная», или «полноценная плоскоклеточная интраэпителиальная патология (SIL)». Она соответствует терминологии цитологических отчетов Bethesda System.

Трехуровневая классификация внутриэпителиальной неоплазии (CIN), используемая для гистопатологии связанных с ВПЧ плоских поражений (CIN I, CIN II, CIN III), иногда представляет некоторые проблемы в интерпретации результатов. Хотя CIN II и CIN III считаются высокосортными поражениями, диагноз промежуточной категории CIN II имеет гораздо более низкую воспроизводимость среди патологов, чем CIN III.

Экспертная группа рекомендовала использовать термины, знакомые клиницистам, и приняла решение о двухуровневой системе, аналогичной той, которая используется для отчетности по цервикальной цитологии. Поражения будут относиться к категории высокого или низкого класса, за которыми следует фраза «плоское внутриэпителиальное поражение». Используются такие же сокращения, как в системе Bethesda (L-SIL и H-SIL).

При переходе на новую терминологию и по просьбе клинициста диагноз может быть дополнен текущей терминологией «(CIN)». Если используется спецификатор CIN, он будет указан в скобках после основного диагноза. Например, биопсия шейки матки, ранее определяемая как «CIN II», теперь будет обозначена как «H-SIL» или «H-SIL (CIN II)».

Если клетки имеют правильные количество и форму экспрессии цитокератин-связывающего белка ВПЧ E4, то они выглядят как койлоциты. Клетки с хорошо развитой койлоцитарной атипи-

Таблица 1. Соотношение классификаций предраковых поражений шейки матки

Система Папаниколау	Описательная система ВОЗ	CIN	Терминологическая система Bethesda (ТБС)
Класс 1 (норма)	Отсутствие злокачественных клеток	Отсутствие неопластических изменений	Норма
Класс 2 (метаплазия эпителия, воспалительный тип)	Атипия, связанная с воспалением		Реактивные изменения клеток ASC, ASC-US, ASC-H
Класс 3 (дискариоз)	Слабая дисплазия	CIN I койлоцитоз	L-SIL
	Умеренная дисплазия	CIN II	H-SIL
	Тяжелая дисплазия	CIN III	
Класс 4 (клетки, подозрительные на рак или карциному *in situ*)	Карцинома *in situ*		
Класс 5 (рак)	Инвазивная карцинома	Карцинома	Карцинома

ей классифицируются как производные от легкой дисплазии (L-SIL) [25].

Выделяя пациентов с более низким риском развития рака (p16-отрицательный CIN II) и позволяя им избежать потенциального вреда от ненужного лечения, пересмотренная терминология делает важный шаг на пути к оптимизации лечения и улучшению результатов лечения.

Консервативное ведение молодых женщин с H-SIL имеет некоторый риск прогрессирования поражения (как и консервативное управление CIN II или CIN II–III), поэтому решение возможного лечения и наблюдения потребует индивидуализации и клинического обсуждения. Клиницист должен сбалансировать потенциал потерь от последующего наблюдения с опасностью чрезмерных повреждений ткани шейки матки.

Консультация патоморфолога может дать клиницисту дополнительную информацию для принятия окончательного решения.

Важной составляющей наблюдения пациентов с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями является цитологический скрининг.

Цитологический скрининг основывается на возрасте пациенток (табл. 2).

Однако в последние годы предлагается заменить скрининговое проведение цитологии у молодых женщин с 25 до 29 лет ПЦР-диагностикой на определение ВПЧ.

«Нет ВПЧ – нет рака шейки матки!»

Кроме того, как оказывается, *достоверность и информативность цитологии не столь велики, и даже гистология биоптата шейки матки не является однозначно золотым стандартом*. Все они могут зависеть от множества сопутствующих факторов.

В нашей стране цитология рекомендована 1 раз в год.

Выявление ВПЧ методом ПЦР является важным моментом, особенно для понимания наличия реактивных изменений, обусловленных воспалительным процессом; для решения вопроса об активной тактике ведения пациенток с ASC-US, L-SIL или возможном динамическом наблюдении. Определение ВПЧ в динамике определит наличие персистенции вируса, рост вирусной нагрузки или ее снижение. Эти параметры помогут в диагностике, прогнозировании и оценке эффективности лечения ВПЧ-ассоциированных заболеваний.

Кольпоскопия

Очень важное место в диагностике патологии шейки матки, слизистой вульвы, влагалища и ануса занимает кольпоскопия. Но при всей своей значимости она субъективна. Эффективность кольпоскопии зависит от очень многих факторов: наличия оборудования, врача, хорошо владеющего данной методикой и знающего все современные достижения в цитологии, гистологии, молекулярных методах диагностики и последние достижения в проблеме канцерогенеза шейки матки. Важно разбираться в роли множества факторов и ко-факторов, позволяющих максимально достоверно интерпретировать кольпоскопическую картину у пациенток разных возрастов [26, 27]. Необходимо понимать, что кольпоскопических признаков, специфичных только для ВПЧ, нет. При кольпоскопии мы оцениваем совокупность изменений и предполагаем, что они могут быть обусловлены ВПЧ, хотя это могут быть хронические воспалительные процессы различной этиологии, нарушения гормонального гомеостаза [28]. На сегодняшний день необходимо понимать, что кольпоскопически выявленная атипия не всегда будет подтверждена гистологической атипией. Поэтому для полноценного обследования пациентки необходима совокупность всех исследований и особенно цитологии, ПЦР, кольпоскопии, морфологии и цито/гистохимии [29]. Кольпоскопия зависит от достижений морфологии, и в зависимости от ее понимания меняется интерпретация кольпоскопических картин и, соответственно, классификация кольпоскопических терминов.

Последняя классификация была принята в 2011 г. и дополнена в 2017 г. [30, 31], сейчас она выглядит, как в таблице 3.

Обязательным в протоколе кольпоскопического исследования должно быть исследование слизистой влагалища по тому же алгоритму, что и шейки матки.

Кольпоскопия не дает возможности поставить диагноз, но позволяет сделать заключение о степени выраженности тяжести поражения эпителия, поэтому в протоколе заключение может быть: «нормальная кольпоскопическая картина», «слабовыраженные изменения», «выраженные изменения», «подозрение на инвазию» и «разное».

Основная роль кольпоскопии заключается в выявлении наиболее пораженного эпителия, чтобы затем провести прицельную биопсию. Очень важно, чтобы

Таблица 2. Цитологический скрининг

Возраст	Метод скрининга	Дополнение
Моложе 21 года	Скрининг не рекомендуется	–
21–29 лет	Только цитология каждые 3 года	Тестирование только на ВПЧ не рекомендуется
30–65 лет	Предпочтительно тестирование на ВПЧ + цитология каждые 5 лет, приемлемо цитология каждые 3 года	Чаще только у женщин с ВИЧ, трансплантацией органов, CIN II–III в анамнезе
Старше 65 лет	В скрининге нет необходимости при наличии ранее последовательно полученных 3 нормальных результатов	–
После тотальной гистерэктомии	В скрининге нет необходимости	–

место взятия биоптата было правильно определено и затем качественно проведен забор материала для исследования. Если полученное морфологическое исследование биоптата не дает уверенной оценки изменений эпителия, необходимо их дополнить определением маркеров p16/ki67.

Особая группа пациентов – беременные. Остроконечные кондиломы в I триместре у беременных женщин могут разрастаться. Объясняется это естественной иммуносупрессией, направленной на сохранение плода. Со II триместра, как правило, отмечается уменьшение роста кондилом и даже полное их исчезновение к родам. В противном случае при необходимости проводят криодеструкцию, лазерную вапоризацию, химическую коагуляцию (нельзя использовать препараты на основе подофилотоксина).

Кольпоскопическая, цитологическая картина могут демонстрировать реактивные изменения на уровне и L-SIL, и H-SIL. Беременных наблюдают с использованием цитологии (1 раз в триместр), ПЦР для определения уровня вирусной нагрузки, определение маркеров p16/ki67. Биопсия и особенно цервикальный кюретаж не показаны, если речь не идет о раке. Первый осмотр после родов рекомендован через 6 недель после родов.

Вопросы, которые беспокоят беременных

1. Опасен ли ВПЧ для ребенка?

Крайне редко бывает респираторный кондиломатоз у новорожденных. В нашей стране не описан ни один случай.

2. Обязательно ли родоразрешение путем кесарева сечения, если есть ВПЧ, остроконечные кондиломы?

Показанием к кесареву сечению является только наличие крупных кондилом, которые могут мешать прохождению плода через естественные родовые пути.

3. Нужно ли прерывать беременность, если выявили поражения эпителия шейки матки на уровне L-SIl и H-SIL?

Нет, возможно даже родоразрешение через естественные родовые пути, что решается в каждом конкретном случае индивидуально.

Анальная интраэпителиальная неоплазия

Серьезной проблемой сегодняшнего дня становится анальная интраэпителиальная неоплазия (АИН). Частота АИН в последнее время нарастает, особенно у женщин. Симптомы сходны с симптомами анальных кондилом, и, соответственно, оценка состояния пациента такая же. Как и в случае с шейкой матки, поражения могут быть обнаружены с помощью анальной цитологии, с использованием кольпоскопа (аноскопия высокого разрешения), при необходимости – в сочетании с биопсией, позволяющей оценить тяжесть поражения. Женщины чаще всего обращаются к гинекологу. Поэтому при подозрении на поражение ануса (анальный секс, кондиломы в около-анальной области, зуд, наличие H-SIL) возни-

Таблица 3. Кольпоскопическая терминология для оценки шейки матки (IFCPC, 2011, дополнена в Орландо, Флорида, 5 апреля 2017 г.)

Общие сведения		Шейка матки: полностью видимая; полностью невидимая. Стыки между многослойным плоским и цилиндрическим эпителием: полностью видимые; полностью невидимые	
Нормальная кольпоскопическая картина		Оригинальный многослойный плоский эпителий: зрелый; атрофичный. Цилиндрический эпителий; эктопия. Метаплазированный эпителий: наботовы кисты; открытые устья желез. Децидуоз при беременности	
Общие сведения		Локализация повреждения: внутри или вне зоны трансформации (ЗТ). Расположение повреждения по часам. Размер повреждения по числу занимаемых квадрантов шейки матки. Размер повреждения в процентном соотношении	
Аномальная кольпоскопическая картина	Слабовыраженные изменения	Тонкий ацетобелый эпителий. Нечеткая граница. Медленное проявление ацетобелости эпителия	Нежная пунктуация. Нежная мозаика
	Выраженные изменения	Плотный ацетобелый эпителий. Быстрое проявление ацетобелого эффекта. Измененное устье открытой железы	Грубая мозаика. Грубая пунктуация. Граница поражения четкая, внутренняя бровка. Симптом «горного хребта»
	Неспецифические изменения	Лейкоплакия (кератоз, гиперкератоз). Эрозия. Проба Шиллера: йод-негатив/йод-позитив	
Подозрение на инвазию	Атипичные сосуды. Дополнительные признаки: хрупкие сосуды. Неоднородная поверхность, экзофит, некроз, некротическая язва, опухоль		
Разное	Врожденная ЗТ, кондилома, полип экзоцервикса/эндоцервикса. Воспаление	Стеноз, врожденные аномалии, последствия лечения, эндометриоз	

кает необходимость проведения аноскопии высокого разрешения. Взятие цитологического мазка, мазка для выявления ВПЧ не представляет больших трудностей для врача, который занимается кольпоскопией. А вот биопсия и дальнейшее хирургическое лечение – прерогатива проктолога.

Лечение

Самый сложный вопрос на сегодня – вопрос лечения ВПЧ-ассоциированных заболеваний. Современные реалии хорошо продемонстрировали, что препаратов направленного действия на вирусы в мире не существует. Основная идея борьбы с вирусами – общественный иммунитет. Для ВПЧ показательными являются достижения Австралии, где вакцинировано более 70% мужского, женского и детского населения, резко снизилось число раков, обусловленных ВПЧ, а также практически исчезли остроконечные кондиломы. Минздрав Австралии считает, что к 2030 г. полностью избавит население страны от ВПЧ [32].

Но сегодня такой уровень вакцинации от ВПЧ практически недостижим, поскольку страны несут большие финансовые затраты на вакцинацию от COVID-19. А пациентов необходимо лечить от ВПЧ-ассоциированных заболеваний здесь и сейчас. Врач должен быть вооружен эффективными, безопасными препаратами с большой долей доказательности их действия.

Одним из таких препаратов является инозин пранобекс, широко известный как Гропринозин, Инозин ацедобен димепранол, Изопринозин или Метизопринол. Представляет собой синтетическое соединение п-ацетамидобензоатной соли N-N-диметиламино-2-пропанол с инозином в молярном соотношении 3:1, обладающий иммуномодулирующими и противовирусными свойствами. Препарат был первоначально разрешен в 1971 г. и в настоящее время продается более чем в 70 странах мира для лечения вирусных заболеваний.

Инозин пранобекс – синтетическое иммуномодулирующее соединение, предназначенное для применения при заболеваниях, ассоциированных с ВПЧ [33].

Множественные исследования показали, что иммуномодулирующая активность инозина пранобекса характеризуется усиленной пролиферацией лимфоцитов, продукцией цитокинов и цитотоксичностью NK-клеток. Активация передачи сигналов NKG2D на NK-клетках, $CD8^+$ Т-клетках и γδ Т-клетках также приводит к этим результатам. Инозин пранобекс изменяет клеточный иммунитет за счет индукции экспрессии лиганда NKG2D на клетках-мишенях, тем самым усиливая активацию иммунных клеток через рецептор NKG2D.

В августе 2019 г. группа чешских исследователей опубликовала аналитический обзор с говорящим названием «Инозин пранобекс: ключевой игрок в игре против широкого спектра вирусных инфекций и неинфекционных заболеваний» [34]. Авторы заключили, что это вещество усиливает пролиферацию Т-лимфоцитов и повышает активность NK-клеток, что наряду с повышением выработки провоспалительных цитокинов позволяет преодолеть иммуносупрессию. Клинический эффект – подавление репликации некоторых вирусов, в том числе ВПЧ.

Естественные киллерные клетки – это тип врожденных лимфоидных клеток, которые играют важную роль в 1-й линии иммунной защиты от любой вирусной инфекции. Они представляют собой первичную быструю врожденную иммунную атаку на инфицированные вирусом клетки.

Сегодня в лечении ВПЧ-ассоциированных заболеваний доминирующее место занимают методы хирургического удаления пораженного участка ткани для предотвращения развития ее злокачественной трансформации. Однако при таком подходе мы сталкиваемся практически в 30% случаев с рецидивами заболеваний. Удаление измененной ткани не всегда способствует полной элиминации вируса, и возможно снижение локального иммунитета, что провоцирует дальнейшую персистенцию ВПЧ.

Эффективность лечения остроконечных кондилом с применением инозина пранобекса уже практически не вызывает сомнений, поскольку эти схемы апробированы во многих странах мира [34]. Во многих руководствах по лечению кондилом инозин пранобекс включен в основные схемы лечения.

Инозин пранобекс (Гропринозин) можно назначать как монотерапию для лечения кондилом, особенно когда видны нежные образования, без ороговения. Мы наблюдаем их исчезновение даже с поверхности шейки матки без каких-либо последствий для здоровья женщины. Обширные, длительно существующие кондиломы, безусловно, требуют хирургического удаления (радиоволна, лазер, криодеструкция) и параллельно назначения терапии инозина пранобексом (Гропринозином). Три 14-дневных курса с интервалом 1 месяц дают хороший результат. У таких пациентов мы практически не наблюдаем рецидива в отличие от хирургического лечения без иммуномодулирующей терапии.

Исходя из имеющихся статистических данных о благоприятном исходе ВПЧ-ассоциированных заболеваний преимущественно у молодых женщин, мы можем их наблюдать достаточно длительный период времени. Но если пациентка более старшего возраста (30 лет и старше), то, вероятно, есть необходимость использовать терапию и на раннем этапе. Это позволит предотвратить дальнейшую патологическую трансформацию эпителиального покрова и, возможно, обойтись без травмирующего ткань шейки хирургического воздействия. Таким образом, сохраняется в полном объеме репродуктивная функция многих женщин.

В нашей стране нередко доминирует агрессивная тактика ведения пациенток при практически незначительных изменениях, а зачастую даже без наличия патологии шейки матки. За рубежом принята максимально щадящая тактика, к хирургии прибегают только на уровне поражения H-SIL [35].

Пересматривается отношение к L-SIL, поскольку зачастую такое изменение клеток возможно преимущественно при хронических воспалительных процессах. Адекватная нормализация биоценоза влагалища с учетом результатов его исследования

приводит к улучшению состояния шейки матки. Кроме этого, L-SIL может наблюдаться на фоне атрофических процессов различной этиологии (лактационная аменорея, перименопаузальный период, раннее истощение яичников, хирургическая аменорея и т.д.).

Чаще всего в этой ситуации и врача, и пациентку волнует вопрос: не будет ли потеряно время? Нет ли опасности резкого ухудшения состояния?

Никакой опасности нет, молниеносного развития рака под действием ВПЧ не описано с учетом особенностей развития вируса и течения самого процесса.

Применение иммуномодулирующих препаратов, в том числе инозина пранобекса (Гроприносина) дает возможность активировать локальный иммунитет, а также создает более благоприятные условия для хирургического лечения и предотвращения рецидивов [36, 37].

Надеяться на полноценный результат лечения H-SIL, H-SIL in situ только применяя инозин пранобекс, конечно, не приходится. Но комбинированное лечение с применением иммуномодулирующих препаратов однозначно позволяет избежать рецидивов и прогнозировать быструю эпителизацию в постэксцизионном периоде.

Несмотря на существование рекомендаций по ведению некоторых ВПЧ-ассоциированных заболеваний, личный опыт врача и наличие инструментария играют важную роль в выборе того или иного метода лечения [38, 39]. Инозин пранобекс – один из инструментов, который доступен врачу для использования как в виде монотерапии, так и в комбинации с другими методами. Врач при этом может быть уверен в безопасности и высокой эффективности препарата в процессе лечения ВПЧ-ассоциированных заболеваний, опираясь на данные исследований в 70 странах, демонстрирующих положительные результаты лечения ВПЧ-ассоциированных заболеваний препаратом инозин пранобекс (Гроприносин).

Инозин пранобекс (Гроприносин) не является строго специфичным против конкретного вируса. Его механизм действия универсален против различных возбудителей. Он проявляет свою активность в отношении вируса простого герпеса, цитомегаловируса, вируса кор, вируса Т-клеточной лимфомы человека, поливирусов, вирусов гриппа А и В, энтероцитопатогенного вируса, вирусов энцефаломиокардита и конского энцефалита.

Появляются сообщения о возможности влияния инозина пранобекса на вирус COVID-19 с положительными результатами. С учетом распространенности этих вирусов, дальнейшие исследования в этом направлении чрезвычайно важны.

Литература/References

1. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Biological agents. Volume 100 B. A review of human carcinogens. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum. 2012; 100(PtB): 1-441.
2. *Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О.*, ред. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. М.; 2020. [Kaprin A.D., Starinsky V.V., Shakhzadova A.O., ed. State of oncological assistance to the population of Russia in 2019. M.; 2020. (in Russian)].
3. *Bruni L., Albero G., Serrano B., Mena M., Collado J.J.* et al. IARC/ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human papillomavirus and related diseases in Russian Federation. Summary Report 22 October 2021. [Электронный ресурс] Available at: http://www.hpvcentre.net/statistics/reports/RUS.pdf?t=1548009998402
4. *Грецова О.П., Костин А.А., Самсонов Ю.В., Петрова Г.В., Простов М.Ю., Простов Ю.И.* Заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований, ассоциированных с вирусом папилломы человека. Исследования и практика в медицине. 2017; 4(3): 33-50. [Gretsova O.P., Kostin A.A., Samsonov Yu.V., Petrova G.V., Prostov M.Yu., Prostov Yu.I. Morbidity and mortality from malignant neoplasms associated with human papillomavirus. Research'n Practical Medicine Journal. 2017; 4(3): 33-50. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.17709/2409-2231-2017-4-3-4.
5. Workowski K.A., Bachmann L.H., Chan P.A., Johnston C.M., Muzny C.A., Park I. et al. Sexually transmitted infections treatment guidelines, 2021. MMWR Recomm. Rep. 2021; 70(4): 1-187. https://dx.doi.org/10.15585/mmwr.rr7004a1.
6. WHO. Global health sector strategy on sexually transmitted infections 2016–2021 towards ending STIS (document WHA69/2016/REC/1).
7. *Rowley J., Vander Hoorn S., Korenromp E., Low N., Unemo M., Abu-Raddad L.J.* et al. Global and regional estimates of the prevalence and incidence of four curable sexually transmitted infections in 2016. WHO Bulletin. June 2019.
8. *Прилепская В.Н., Сухих Г.Т.*, ред. Диагностика, лечение и профилактика цервикальных интраэпителиальных неоплазий. М.: МЕДпресс-информ; 2020. 80с. [Prilepskaya V.N., Sukhikh G.T., ed. Diagnosis, treatment and prevention of cervical intraepithelial neoplasias. M.: MEDPress-inform; 2020. 80 p. (in Russian)].
9. *Довлетханова Э.Р., Прилепская В.Н.* Дифференцированная тактика ведения пациенток с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями гениталий. Акушерство и гинекология. 2015; 10: 118-24. [Dovletkhanova E.R., Prilepskaya V.N. A differentiated approach to treating papillomavirus-associated genital diseases in women. Obstetrics and Gynecology. 2015; 10: 118-24. (in Russian)].
10. *Гусаков К.И., Назарова Н.М., Прилепская В.Н., Стародубцева Н.Л., Франкевич В.Е.* Перспективы профилактики рака, ассоциированного с вирусом папилломы человека. Акушерство и гинекология. 2019; 8: 33-9. [Gusakov K.I., Nazarova N.M., Prilepskaya V.N., Starodubtseva N.L., Frankevich V.E. Prospects for the prevention of HPV-associated cancer. Obstetrics and Gynecology. 2019; 8: 33-9. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.8.33-39.
11. *Ribeiro A.L., Caodaglio A.S., Sichero L.* Regulation of HPV transcription. Clinics (Sao Paulo). 2018; 73(Suppl. 1): e486s. https://dx.doi.org/10.6061/clinics/2018/e486s.
12. *Egawa N., Doorbar J.* The low-risk papillomaviruses. Virus Res. 2017; 231: 119-27. https://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2016.12.017.
13. *Koliopoulos G., Nyaga V.N., Santesso N., Bryant A., Martin-Hirsch P.P., Mustafa R.A.* et al. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population. Cochrane Database Syst. Rev. 2017; 8(8): CD008587. https://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD008587.pub2.
14. *Bhatla N., Singhal S.* Primary HPV screening for cervical cancer. Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2020; 65: 98-108. https://dx.doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2020.02.008.
15. *Medeiros R., Vaz S., Rebelo T., Figueiredo-Dias M.* Prevention of human papillomavirus infection. Beyond cervical cancer: a brief review. Acta Med. Port. 2020; 33(3): 198-201. https://dx.doi.org/10.20344/amp.12259.
16. Генитальная ВПЧ-инфекция — информационный бюллетень центра по контролю и профилактике заболеваний, CDC, USA [электронный ресурс]. [Global health sector strategy on sexually transmitted infections 2016–2021 towards ending STIS (document WHA69/2016/REC/1)]. Available at: https://www.cdc.gov/std/russian/stdfact-hpv-russian.htm
17. *Jain M.A., Limaiem F.* Cervical intraepithelial squamous cell lesion. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan.

18. *Brianti P., De Flammineis E., Mercuri S.R.* Review of HPV-related diseases and cancers. New Microbiol. 2017; 40(2): 80-5.
19. *Ngo-Metzger Q., Adsul P.* Screening for cervical cancer. Am. Fam. Physician. 2019; 99(4): 253-4.
20. *Nayar R., Wilbur D.C.* The Bethesda system for reporting cervical cytology: a historical perspective. Acta Cytol. 2017; 61(4-5): 359-72. https://dx.doi.org/10.1159/000477556.
21. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Письмо Министерства здравоохранения РФ от 2 ноября 2017 г. N 15-4/10/2-7676. О направлении клинических рекомендаций (протокола лечения) «Доброкачественные и предраковые заболевания шейки матки с позиции профилактики рака». [Ministry of Health of the Russian Federation. Letter of the Ministry of Health of the Russian Federation dated November 2, 2017 N 15-4/10/2-7676. On the direction of clinical recommendations (treatment protocol) "Benign and precancerous cervical diseases from the perspective of cancer prevention." (In Russian)].
22. *Saraiya G.F., Smith-McCune K., Kuppermann M.* Cervical cancer screening: More choices in 2019. JAMA. 2019; 321(20): 2018-9. https://dx.doi.org/10.1001/jama.2019.4595.
23. *Гусаков К.И., Назарова Н.М., Франкевич В.Е., Стародубцева Н.Л., Бурменская О.В., Прилепская В.Н., Сухих Г.Т.* Результаты генотипирования вируса папилломы человека у женщин репродуктивного возраста, вакцинированных от вируса папилломы человека. Акушерство и гинекология. 2020; 9: 114-9. [Gusakov K.I., Nazarova N.M., Frankevich V.E., Starodubtseva N.L., Burmenskaya O.V., Prilepskaya V.N., Sukhikh G.T. Human papillomavirus genotyping results of human papillomavirus vaccinated women of reproductive age. Obstetrics and Gynecology. 2020; 9: 114-9. (in Russiab)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.9.114-119.
24. *Chrysostomou A.C., Stylianou D.C., Constantinidou A., Kostrikis L.G.* Cervical cancer screening programs in Europe: The transition towards HPV vaccination and population-based HPV testing. Viruses. 2018; 10(12): 729. https://dx.doi.org/10.3390/v10120729.
25. *Darragh T.M., Colgan T.J., Cox J.T., Heller D.S., Henry M.R., Luff R.D.* et al.; Members of LAST Project Work Groups. The lower anogenital squamous terminology standardization project for HPV-associated lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. Arch. Pathol. Lab. Med. 2012; 136(10): 1266-97. https://dx.doi.org/10.5858/arpa.LGT200570. Erratum in: Arch. Pathol. Lab. Med. 2013; 137(6):738.
26. *Tatti S., Bornstein J., Prendiville W.* Colposcopy: a global perspective: introduction of the new IFCPC colposcopy terminology. Obstet. Gynecol. Clin. North Am. 2013; 40(2): 235-50. https://dx.doi.org/10.1016/j.ogc.2013.02.002.
27. *Жирарди Ф., Райх О., Тамуссино К., Пикел Х.* Кольпоскопия и патология шейки матки по Бургхардту; Пер. с англ. Прилепская В.Н., ред. М.: МЕДпресс-информ; 2018. 224с. [Girardi F., Reich O., Tamussino K., Pikel H. Burghardt's colposcopy and cervical pathology; transl from English [E.V. Kovalev], V.N. Prilepskaya, eds. M.: MEDPress-inform; 2018. 224 p. (in Russian)].
28. *Khan M.J., Werner C.L., Darragh T.M., Guido R.S., Mathews C., Moscicki A.B.* et al. ASCCP colposcopy standards: role of colposcopy, benefits, potential harms, and terminology for colposcopic practice. J. Low. Genit. Tract. Dis. 2017; 21(4): 223-9. 10. https://dx.doi.org/1097/LGT.0000000000000338.
29. *Bornstein J., Bentley J., Bösze P., Girardi F., Haefner H., Menton M.* et al. 2011 Colposcopic terminology of the international federation for cervical pathology and colposcopy. Obstet. Gynecol. 2012; 120(1): 166-72. https://dx.doi.org/10.1097/AOG.0b013e318254f90c.
30. IFCPC 2017 World Congress for Cervical Pathology and Colposcopy. April 4-7, 2017; Orlando, Florida; 2017.
31. *Korostil I., Ali H., Guy R., Donovan B., Law M.G., Regan D.G.* Near elimination of genital warts in Australia predicted with extension of human papillomavirus vaccination to males. Sex. Transm. Dis. 2013; 40(11): 833-5. https://dx.doi.org/10.1097/OLQ.0000000000000030.
32. *Kovachev S.M.* A review on inosine pranobex immunotherapy for cervical HPV-positive patients. Infect. Drug Resist. 2021; 14: 2039-49. https://dx.doi.org/10.2147/IDR.S296709.
33. *Silva J., Pantzartzi C.N., Votava M.* Inosine pranobex: a key player in the game against a wide range of viral infections and non-infectious diseases. Adv. Ther. 2019; 36(8): 1878-905. https://dx.doi.org/10.1007/s12325-019-00995-6.
34. *D'Alessandro P., Arduino B., Borgo M., Saccone G., Venturella R., Di Cello A., Zullo F.* Loop electrosurgical excision procedure versus cryotherapy in the treatment of cervical intraepithelial neoplasia: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Gynecol. Minim. Invasive Ther. 2018; 7(4): 145-51. https://dx.doi.org/10.4103/GMIT.GMIT_56_18.
35. *Дикке Г.Б.* Современные подходы к вторичной профилактике рака шейки матки. Акушерство и гинекология. 2018; 4: 131-7. [Dikke G.B. Modern approach in secondary preventive measures in treatment of cervical cancer. Obstetrics and Gynecology. 2018; 4: 131-7. (in Russian). https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.4.131-137.
36. *Прилепская В.Н., Новикова Е.П., Суламанидзе Л.А., Мзарелуа Г.М.* Папилломавирусная инфекция. Возможности лечения и профилактики с применением инозин пранобекса. Акушерство и гинекология. 2013; 10: 99-103. [Prilepskaya V.N., Novikova E.P., Sulamanidze L.A., Mzarelua G.M. Papillomavirus infection. Possibilities for the treatment and prevention with inosine pranobex. Obstetrics and Gynecology. 2013; 10: 99-103. (in Russian)].
37. *Абакарова П.Р., Прилепская В.Н.* ВПЧ-ассоциированные заболевания шейки матки. Возможности комплексной терапии. Гинекология. 2017; 19(5): 4-9. [Abakarova P.R., Prilepskaya V.N. HPV-associated diseases of the cervix. Complex therapy options. Gynecology. 2017; 19(5): 4-9. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.26442/2079-5696_19.5.4-9.
38. *Бурменская О.В., Назарова Н.М., Сычева Е.Г., Прилепская В.Н., Трофимов Д.Ю., Сухих Г.Т.* Применение молекулярно-генетических методов для диагностики и прогноза развития дисплазии тяжелой степени и рака шейки матки. Акушерство и гинекология. 2021; 10: 85-92. [Burmenskaya O.V., Nazarova N.M., Cysheva E.G., Prilepskaya V.N., Trofimov D.Yu., Sukhikh G.T. Application of molecular genetic methods for the diagnosis and prediction of severe dysplasia and cervical cancer. Obstetrics and Gynecology. 2021; 10: 85-92. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.10.
39. *Гаспарян С.А., Овчинникова О.С.* Оптимизация противовирусной терапии инозин пранобексом начальных поражений ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки. Акушерство и гинекология. 2015; 9: 94-7. [Gasparyan S.A., Ovchinnikova O.S. Optimization of antiviral therapy with inosine pranobex for early injuries due to HPV-associated diseases of the cervix uteri. Obstetrics and gynecology. 2015; 9: 94-7. (in Russian)].

Поступила 10.10.2021
Принята в печать 10.11.2021
Received 10.10.2021
Accepted 10.11.2021

Сведения об авторе:
Костава Марина Несторовна, к.м.н., врач научно-поликлинического отделения, НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова МЗ РФ, секретарь международной общественной организации «Ассоциация по патологии шейки матки и кольпоскопии».

Author's information:
Marina N. Kostava, Ph.D., doctor of the scientific and polyclinic department, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, secretary of the international public organization "Association for Cervical Pathology and Colposcopy".

ГРОПРИНОСИН®

Инозин пранобекс, **таблетки 500 мг № 50**

Инозин пранобекс в комплексной терапии ВПЧ-ассоциированных заболеваний[2,3]

- Подавляет репликацию ДНК и РНК вирусов[1]
- Снижает вероятность персистенции вирусов и частоту рецидивов[2,3]
- Спектр иммуномодулирующего действия соответствует специфике иммунных нарушений при ВПЧ[2,3]

1. Инструкция по применению препарата Гроприносин®.
2. ЖЕНСКАЯ КОНСУЛЬТАЦИЯ №2, 2013. С.И. Роговская, кафедра акушерства и гинекологии РМАПО, Москва.
3. ВПЧ-инфекция: комбинированная терапия. Эффективные стратегии комбинированного лечения ВПЧ-ассоциированных генитальных заболеваний: информационный бюллетень / С.И. Роговская, А.В. Ледина, И.Д. Ипастова; под ред. В.Е. Радзинского. – М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2017. – 16 с.

Гедеон Рихтер

Здоровье — наша миссия

ООО «ГЕДЕОН РИХТЕР ФАРМА» г. Москва, 119049, 4-й Добрынинский пер., д.8.
Тел.: +7 (495) 987-18-80 e-mail: GRFarma@g-richter.ru
Представительство ОАО «Гедеон Рихтер» (Венгрия) г. Москва
г. Москва, 119049, 4-й Добрынинский пер., д.8. Тел.: +7 (495) 987-15-55 e-mail: centr@g-richter.ru www.g-richter.ru

Реклама

ЗАМЕТКИ ИЗ ПРАКТИКИ

©Коллектив авторов, 2021

О.В. ПРИБУШЕНЯ, А.А. ЛАЗАРЕВИЧ

МОНОХОРИАЛЬНАЯ ТРОЙНЯ С СИНДРОМОМ ОБРАТНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ПЕРФУЗИИ БЛИЗНЕЦОВ

ГУ «Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»
Министерства здравоохранения Республики Беларусь, Минск, Республика Беларусь

Актуальность: *Монохориальные тройни относятся к редким клиническим случаям, и сочетание такого типа плацентации с врожденными аномалиями развития у одного из плодов вызывает затруднения при выборе акушерской тактики.*

Описание: *Представлены три клинических наблюдения монохориальной тройни с синдромом обратной артериальной перфузии близнецов. В одном случае беременность наступила после применения экстракорпорального оплодотворения и трансфера двух пятидневных эмбрионов, что затруднило своевременную постановку диагноза. В двух других — беременность была самопроизвольной. Все случаи завершились прерыванием беременности в связи с высоким риском неблагоприятных акушерских осложнений. Патологоанатомическое исследование постабортного материала подтвердило пренатально установленный диагноз. Проведено молекулярно-генетическое исследование зиготности, которое установило монозиготное происхождение близнецов.*

Заключение: *Синдром обратной артериальной перфузии близнецов ассоциируется с высоким риском неблагоприятных перинатальных исходов и высокой частотой диагностических ошибок при двойне. При трехплодной беременности прогноз более неблагоприятный в связи с высокой частотой акушерских осложнений.*

Ключевые слова: *монохориальная тройня, синдром обратной артериальной перфузии близнецов, плод-акардиус, исходы беременности, экстракорпоральное оплодотворение.*

Вклад авторов: Прибушеня О.В. – концепция и дизайн, написание текста и редактирование; Прибушеня О.В., Лазаревич А.А. – сбор клинического материала.
Конфликт интересов: Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.
Финансирование: Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Согласие пациентов на публикацию: Пациентки подписали информированное согласие на публикацию своих данных и изображений.
Обмен исследовательскими данными: Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Прибушеня О.В., Лазаревич А.А. Монохориальная тройня с синдромом обратной артериальной перфузии близнецов. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 278-285
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.278-285

©A group of authors, 2021

O.V. PRIBUSHENYA, A.A. LAZAREVICH

MONOCHORIONIC-TRIPLET PREGNANCY WITH TWIN REVERSE ARTERIAL PERFUSION SYNDROME

"Mother and Child" Republican Research and Practical Center,
Ministry of Health of the Republic of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Background: *Monochorionic-triplet pregnancies are rare clinical cases and this placentation type concurrent with congenital malformations in one of the fetuses causes difficulties in choosing obstetric tactics.*

Case report: *The paper describes three clinical cases of monochorionic-triplet pregnancy with twin reversed arterial perfusion syndrome. In one case, the pregnancy occurred after in vitro fertilization and transfer of two five-day embryos, which made it difficult to timely diagnose. The pregnancy was spontaneous in the other two cases. Two other pregnancies were spontaneous. All pregnancy cases were terminated due to the high risk of adverse obstetric complications. Pathological examination of the post-abortion material confirmed the prenatally established diagnosis. A molecular genetic study of the zygosity of the twins revealed that they were monozygotic.*

Conclusion: *Twin reversed arterial perfusion syndrome is associated with the high risk of adverse perinatal outcomes and the high rate of diagnostic errors for twins. In triplet pregnancies, the prognosis is poorer due to the high incidence of obstetric complications.*

Keywords: *monochorionic-triplet pregnancy, twin reversed arterial perfusion syndrome, fetus acardius, pregnancy outcomes, in vitro fertilization.*

Authors' contributions: Pribushenya O.V. – concept and design, writing the text and editing; Pribushenya O.V., Lazarevich A.A. – clinical material collection.
Conflicts of interest: The authors declare that there are no manifest and potential conflicts of interest, which are related to the publication of this article.
Funding: The investigation has not been sponsored.
Patient Consent for Publication: All patients provided informed consent for the publication of their data and associated images.
Authors' Data Sharing Statement: The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Pribushenya O.V., Lazarevich A.A. Monochorionic-triplet pregnancy with twin reversed arterial perfusion syndrome.
Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 278-285 (in Russian)
https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11. 278-285

Беременность тройней относится к группе высокого риска и связана с осложнениями со стороны матери в виде преэклампсии (50%), анемии (44%), холестаза беременных (95,6%), послеродовых кровотечений (44%) [1]. Частота неонатальной смертности достоверно выше в группе трехплодных беременностей, по сравнению с одноплодной и двухплодной [2]. Применение вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и увеличение среднего возраста беременных женщин значительно повысили частоту многоплодия, в том числе беременностей тремя и более плодами [3]. В последние годы стремление к переносу только одного эмбриона привело к снижению частоты трехплодной беременности, которая колеблется от 0,3 до 0,7% [4, 5]. Однако в клинической практике стали встречаться многоплодные беременности со сложными вариантами плацентации возникшие в результате деления единственного перенесенного эмбриона [6–8]. Следует сказать, что и при спонтанной многоплодной беременности происходит поэтапное многократное деление эмбриона с формированием трех и более плодной беременности с разнообразными вариантами плацентации [9]. Монохориальная (МХ) тройня относится к редкой ситуации и встречается, по разным данным, с частотой 1:45 500–1:100 000 рождений, вызывая определенные трудности в диагностике [10]. На ранних стадиях деления бластоцисты в первые 15 дней может сформироваться такая патология многоплодной беременности, как синдром обратной артериальной перфузии (СОАП), относящаяся к бластопатиям. Частота встречаемости СОАП составляет 1:35 000 беременностей, 1:100 МХ двоен и 1:30 МХ троен.

При СОАП двойня представлена нормальным плодом, который является донором и часто в литературе называется плодом-помпой, и вторым плодом (акардиальный монстр, аморфус, акардиус и др.), который не имеет сердца либо имеет аномальное сердце, например, двухкамерное. Спектр описываемых пороков развития плода-акардиуса разнообразен: частичное или полное отсутствие свода черепа, голопрозэнцефалия, отсутствие лицевых структур, анофтальм, микрофтальм, расщелины губы и неба, отсутствующие или рудиментарные конечности, диафрагмальные дефекты, отсутствие легких и сердца, атрезия пищевода, дефекты передней брюшной стенки, асцит, отсутствие печени и желчного пузыря, отек кожи. Единственная артерия пуповины наблюдается в 75% случаев. В зависимости от аномалий развития существует несколько классификаций плода-акардиуса: гемиакардиус (*hemiacardius*), если сердце сформировано не полностью, и холокардиус (*holocardius*), если сердце отсутствует. Другая классификация: ацефалюс (*acephalus*), если голова отсутствует; анцепс (*anceps*), если голова плохо сформирована; акормус (*acormus*), если присутствует только голова и аморфус (*amorphous*), если плод представлен аморфной массой. Кровоснабжение акардиуса осуществляется через артериальные и венозные анастомозы за счет плода-помпы. Достаточно часто обе пуповины впадают в плаценту рядом, что подтверждается при морфологических исследованиях. Иногда пуповина акардиуса впадает прямо в пуповину плода-помпы [11]. СОАП ассоциируется с высокой перинатальной смертностью, прежде всего в связи с сердечной недостаточностью и неврологической патологией «нормального» плода. Среди акушерских осложнений часто встречаются многоводие, преждевременный разрыв плодных оболочек, преждевременные роды. Перинатальная смертность для здорового плода составляет 35–55% [12, 13].

Мы представляем собственный клинический опыт ведения двухплодных беременностей, осложненных СОАП, а также три клинических наблюдения МХ тройни с СОАП близнецов. В одном случае беременность наступила после применения экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и трансфера двух пятидневных эмбрионов, что затруднило постановку диагноза. В двух других клинических наблюдениях беременность наступила самопроизвольно.

Описание клинических наблюдений

Мы имеем собственный клинический опыт ведения беременностей с СОАП. В настоящее время это 25 случаев двойни и 4 – тройни. Все ультразвуковые исследования (УЗИ) проводились на сканерах Voluson 730 (GE) с использованием трансабдоминального конвексного (5 МГц) и трансвагинального (7 МГц) датчиков.

При всех двойнях беременность наступила самопроизвольно без применения ВРТ. Среди троен в 2 случаях было проведено ЭКО.

В 12 (41,4%) случаях диагноз СОАП был определен в I триместре. В 3 (10,3%) случаях плод-акардиус был пропущен и диагноз многоплодной беременности в I триместре не был установлен. В 9 (31,0%) случаях в I триместре плод-акардиус был принят за неразвивающуюся беременность и верный диагноз установлен только во II и III триместрах. В одном наблюдении правильный диагноз установлен в 27 недель, а ранее выявленные множественные врожденные пороки развития у второго плода (плода-акардиуса) правильно интерпретированы. Наш опыт ведения многоплодной беременности с СОАП включает оценку массы плодов с использованием формулы, предложенной Moore T.R. et al. (1990) [14], и хирургическое разделение кровообращения путем лазерной коагуляции пуповины плода-акардиуса [15]. Хирургическое разделение кровообращения плодов выполнено нами в 3 наблюдениях.

Согласно литературным данным, СОАП встречается в случаях как моноамниотической (МА) (25%), так и диамниотической (ДА) двойни [16]. В нашем наблюдении в 7 из 25 беременностей была МХ МА двойня, что составляет 28%.

Несмотря на редкость СОАП при наличии 3 и более плодов [17], мы также имеем четыре наблюдения. В одном случае установлена дихориальная триамниотическая (ДХТА) тройня после применения ЭКО. При динамическом наблюдении в 9, 10 и 12 недель на амбулаторно-поликлиническом этапе допущена диагностическая ошибка и установлен неверный диагноз внутриутробной гибели одного плода из МХ пары. При этом копчико-теменной размер (КТР) этого плода в динамике был 11, 24, 34 мм. Увеличение толщины воротникового пространства (ТВП) второго плода из МХ пары 4,5 мм оценено как риск по врожденному пороку сердца, в то время как увеличение ТВП было связано с сердечной недостаточностью у плода-помпы.

Однако особенно сложно выбирать акушерскую тактику при МХ тройне, и таких наблюдений у нас три.

Клиническое наблюдение № 1

Пациентка К., белоруска, 26 лет направлена в РНПЦ «Мать и дитя» для проведения консультации в связи с диагностикой врожденного порока развития (ВПР), выявленного у одного плода из двойни при ДХДА двойне. Настоящая беременность первая, наступила самопроизвольно. Беременность осложнилась кровянистыми выделениями из половых путей в 6 недель гестации. Брак первый, неродственный. Акушерско-гинекологический и семейный анамнез не отягощены. При УЗИ КТР 1 плода – 58 мм, ТВП 1 плода – 10,5 мм, КТР 2 плода – 70 мм, ТВП 2 плода – 0,9 мм. В описании указано, что в области шеи 1 плода визуализируется эхонеоднородное образование с жидкостным содержимым размерами 13×12 мм. Установлены два раздельных амниотических мешка с тонкой межамниотической перегородкой. Маловодие у 1 плода. Срок беременности по дате последней менструации 12 недель 6 дней. Установлен диагноз: ДХДА двойня. Гигрома шеи у одного плода. Проведено медико-генетическое консультирование, в ходе которого предложено прерывание беременности, от которого семья воздержалась. При контрольном УЗИ в 16 недель беременности в области шеи плода определялось многокамерное эхонеоднородное образование размерами 55×27 мм. Установлен диагноз: ДХДА двойня. Тератома шеи у одного плода. Резко выраженное маловодие. И только при УЗИ в сроке гестации 19 недель был правильно определен тип многоплодной беременности, которая оказалась МХДА тройней. Третий плод представлен частью позвоночника, грудной клетки и единственной бедренной костью длиной 16 мм (плод-акардиус, аморфус). При допплерометрическом исследовании фиксировался кровоток. После проведенного медико-генетического консультирования беременность была прервана во II триместре. При патоморфологическом исследовании: первый и второй плоды женского пола без ВПР, третий – акардиус, аморфус. Патоморфологическое исследование плодов массой менее 500 г проводилось в научно-исследовательской лаборатории цитогенетических, молекулярно-генетических и морфологических исследований РНПЦ «Мать и дитя». При проведении морфологического исследования плоды II триместра вскрывались по методике, описанной Шором Г.И., с полной эвисцерацией. Данное клиническое наблюдение является самым ранним (2007 г.). Аудит клинических случаев и диагностических ошибок при СОАП был выполнен нами позднее, результаты представлены в наших ранних публикациях [15].

Клиническое наблюдение № 2

Пациентка К., белоруска, 31 год. Постоянно проживает в Москве. Настоящая беременность первая, наступила в результате проведения ЭКО в одном из медицинских центров г. Москвы. Супруг пациентки чеченец, 36 лет страдает сахарным диабетом II типа. Со слов семьи, бесплодие связано с трубным фактором. При проведении ЭКО выполнен перенос двух эмбрионов на 5-е сутки. При УЗИ в 9 недель гестации диагностированы МХ МА тройня, анэнцефалия и саморедукция одного из плодов.

В сроке беременности 10 недель с признаками угрожающего самопроизвольного выкидыша, клинически проявившимися мажущими кровянистыми выделениями, пациентка была госпитализирована в гинекологическую больницу Минска. Для уточнения диагноза беременная была направлена в РНПЦ «Мать и дитя». При УЗИ определялись единственный хорион, расположенный по передней стенке матки, и три отдельные амниотические полости. Два плода соответствовали сроку беременности 11 недель 2 дня, третий плод имел сформированное туловище, головной конец, единственную нижнюю конечность. Сердце плода не визуализировалось. При допплерометрическом исследовании определялся кровоток в туловище и пуповине плода-акардиуса. В динамике осмотра четко фиксиро-

валась двигательная активность плода-акардиуса. Таким образом, установлен диагноз: беременность 11 недель. Тройня. Монохориальная триамниотическая (МХТА). СОАП. Данное состояние при МХ тройне является исключительно редким событием, и подобных клинических наблюдений в мире описано мало [18–20].

В нашем случае беременность трехплодная, прогноз для жизни и здоровья плодов и тактика ведения беременности были не однозначны. В целом, учитывая установленный диагноз и продолжающиеся кровянистые выделения, высокий риск по акушерским осложнениям во II триместре, прогноз для беременности оценен как неблагоприятный. В связи с этим предложено прерывание беременности в I триместре, от которого семья отказалась.

Контрольное УЗИ выполнено в 14 недель, ранее декларированного срока (16 недель) по настоянию семьи. Установлено что два плода соответствуют сроку гестации 14 недель 6 дней (массой 89 г) и 15 недель 1 день (массой 102 г) и не имеют признаков сердечной недостаточности. Максимальная длина акардиуса – 53 мм, масса – 24 г. Поскольку определиться, какой из плодов является так называемой помпой, до момента появления эхографических признаков сердечной недостаточности невозможно, проведен расчет соотношения массы плода-акардиуса к обоим другим плодам, и оно составило 27 и 24% соответственно (рис. 1).

В сроке беременности 16 недель начали подтекать амниотические воды. При УЗИ установлено, что один из плодов массой 120 г соответствует сроку 15 недель 5 дней, ВПР не выявлено, второй плод массой 105 г по фетометрии выглядит на 15 недель 3 дня, третий плод-акардиус длиной 63 мм имеет массу 38 г. У второго плода определяется максимальный вертикальный карман 12 мм, что соответствует выраженному маловодию. При УЗИ через неделю установлено выраженное маловодие уже у двух плодов (рис. 2).

Учитывая неблагоприятный акушерский прогноз, повторно рекомендовано прерывание беременности, которое было выполнено одномоментно в 18–19 недель. Проведено патоморфологическое исследование постабортного материала (материал разрушен при кюретаже). Установлено, что первый и второй плоды женского пола без ВПР и соответствуют 17 неделям беременности; третий плод – холокардиус (*holocardius*), анцепс (*anceps*): свод черепа сформирован, анофтальм, носовые структуры и небо сформированы, рудиментарные верхние конечности, олигодактилия (слева – 2 пальца, справа – 3), монодактилия нижних конечностей. Отмечена деформация (полупозвонки) в грудном отделе позвоночника. Сердце в доставленном материале не обнаружено, имеются петли тонкого кишечника. При проведении молекулярно-генетического тестирования зиготности установлено монозиготное происхождение близнецов, что доказывает, что после трансфера двух пятидневных эмбрионов в период с 5-х по 8-е сутки, один из них поделился на три эмбриона с формированием МХТА тройни с бластопатией – СОАП, а второй не имплантировался. Молекулярно-генетическое исследование зиготности выполнялось в «Научно-практическом центре Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь» и заключалось в генотипировании ДНК с помощью STR-маркеров.

Клиническое наблюдение № 3

Пациентка К., белоруска, 33 лет обратилась в РНПЦ «Мать и дитя» для проведения комбинированного скрининга беременных для выявления группы высокого риска по синдрому Дауна. Настоящая беременность первая, наступила самопроизвольно. Брак для женщины первый, неродственный. Для супруга брак второй. В первом браке он имеет двоих здоровых сыновей. Акушерско-гинекологический и семейный анамнез не отягощены. Применение ЭКО и индукции овуляции семья категорически отрицает. Срок беременности по дате последней менструации 12 недель 1 день. При

Рис. 1. Ультразвуковое изображение тройни с плодом-акардиусом в 14 недель беременности. А – в едином УЗ-скане представлены срезы обеих головок двух плодов (1 и 2) и сагиттальный срез туловища третьего плода-акардиуса (3); Б – плод-акардиус (указан стрелкой)

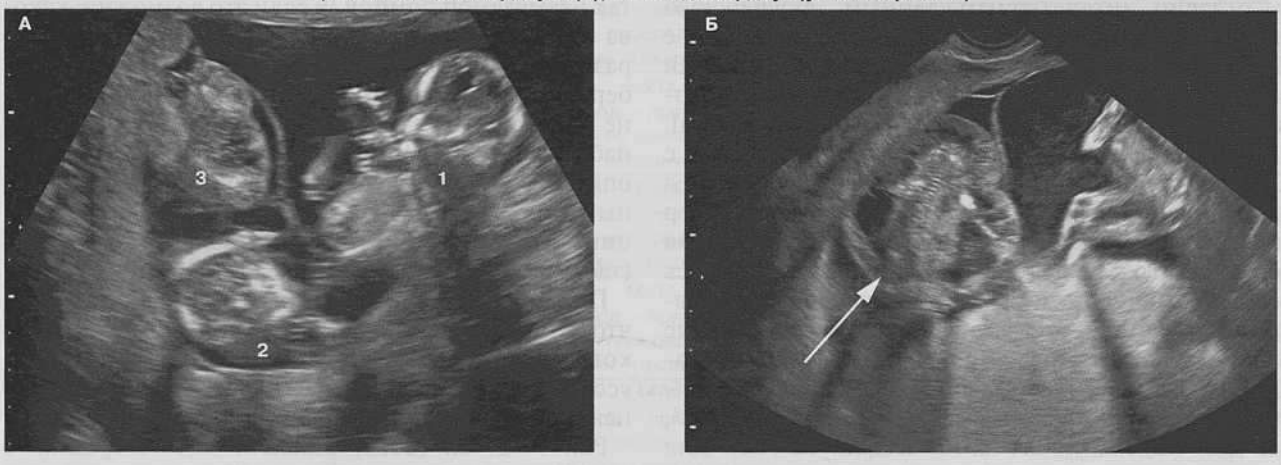
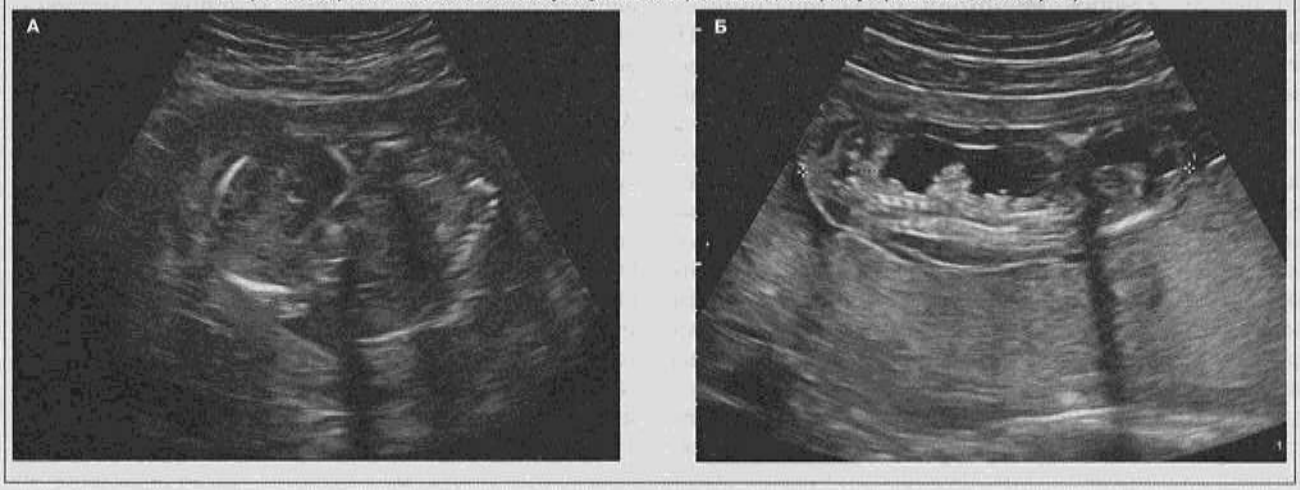


Рис. 2. Ультразвуковое изображение тройни с плодом-акардиусом в 17 недель беременности. А – резко выраженное маловодие у двух плодов; Б – плод-акардиус (сагиттальный срез)



УЗИ установлен единственный хорион, расположенный по задней стенке матки, и три раздельных амниотических мешка с тонкими межамниотическими перегородками. Определялись два правильно сформированных плода, каждый из которых был расположен в отдельном амниотическом мешке, с КТР 1 плода – 64 мм, КТР 2 плода – 68 мм, и третий плод, представленный туловищем с головным и тазовым концом, единственной нижней конечностью. У всех трех плодов отсутствовало сердцебиение. Установлен диагноз: МХТА тройня. СОАП. Внутриутробная гибель плодов. Проведено медико-генетическое консультирование, и беременность прервана. При патоморфологическом исследовании установлено, что тройня была МХ. Первый и второй плоды женского пола без ВПР соответствовали сроку гестации 9 недель. Третий плод – гемикардиус, анцепс. Лицевые структуры не сформированы, анофтальм, аплазия верхних конечностей, сиреномиелия нижних конечностей. Имелось рудиментарное двухкамерное сердце с единственным сосудом, не имеющим клапанов. Другие внутренние органы не дифференцировались (рис. 3).

Рис. 3. Макропрепарат прерванной беременности в 11 недель гестации (клиническое наблюдение 3) демонстрирует единственную плаценту и три плода, один из которых является плодом-акардиусом (указан стрелкой)

Обсуждение

Согласно литературным данным, акушерскую тактику ведения многоплодной беременности с СОАП следует планировать на основании оценки рисков для здорового плода (плода-помпы) и возможных акушерских осложнений. Moore T.R. et al. (1990) провели анализ исходов 49 случаев двойни с СОАП и установили, что в 18% случаев произошел спонтанный выкидыш, в 12% – плод-помпа замер внутриутробно, в 14% – проведена селективная редукция. Только 24% беременностей завершились рождением живого и зрелого ребенка, что составляет только 36% от всех беременностей, которые были пролонгированы. Прогноз для здоровья плода-помпы зависит от массы акардиуса и рассчитывается по формуле: масса (г)=-1,66×L+1,21×L², где L – максимальная длина акардиуса (см). Для оценки рисков имеет значение отношение массы акардиуса к массе плода-«помпы», выраженное в процентах [14].

При планировании акушерской тактики и оценке рисков для плодов при МХТА тройне ключевым моментом было определить, кто из плодов является плодом-помпой. Могут ли оба плода без ВПР быть так называемой помпой, и если это возможно, какова целесообразность проведения хирургического разделения кровообращения? Оценивать прогноз беременности при тройне, осложненной СОАП, не просто в связи с ограниченностью клинических наблюдений. К настоящему моменту в литературе описаны 15 клинических наблюдений, посвященных этому вопросу. Из них с МХ типом плацентации – 8 публикаций, включающих 9 наблюдений (таблица).

При анализе представленных публикаций видно, что авторы вводят понятия «прямой» помпы (плода, который непосредственно связан с плодом-акардиусом) и «опосредованной» (плода, имеющего плацентарные анастомозы с «прямой» помпой).

Pan P. et al. (2018) описали МХТА тройню с СОАП, диагностированную в 17 недель гестации.

В 24 недели беременность осложнилась многоводием у одного из плодов («опосредованная» помпа) и завершилась родами в 32 недели мальчиками 1350 г и 1390 г и мертворожденным акардиусом с генерализованной водянкой массой 1460 г. При исследовании плаценты установлено, что пуповина акардиуса впадала в плаценту на расстоянии 0,5 см от пуповины первого плода («прямой» помпы) [18]. Yildirim E. (2019) описал МХДА тройню с СОАП, где плод-акардиус и плод-помпа имели общую амниотическую полость [20]. Как и в предыдущем случае, беременность была предоставлена естественному течению.

Учитывая неблагоприятный прогноз при МХ тройне с СОАП, в качестве тактик ведения рассматриваются прерывание беременности и хирургическое разделение кровообращения близнецов. В наших клинических случаях беременности завершились прерыванием до 22 недель гестации в связи с серьезными акушерскими осложнениями.

По данным литературы, частота благоприятных исходов беременности при двойне, осложненной СОАП, лучше у пациенток с внутриутробным разделением кровообращения [25]. Однако при обсуждении хирургического разделения кровообращения при трех и более плодах следует информировать пациентов, что при тройне, в отличие от двойни, технические сложности в ходе операции могут сделать ее невыполнимой. Кроме того, при окклюзии пуповины плода-акардиуса может произойти перераспределение кровотоков, что приведет к внутриутробной гибели всех трех плодов.

При планировании тактики ведения беременности необходимо понимать, а по возможности, прогнозировать, кто из плодов без ВПР может являться плодом-помпой. При анализе опубликованных 7 клинических наблюдений, где данный вопрос был исследован, установлено, что оба здоровых плода были помпой в одном случае; только один из здоровых плодов – также в одном случае; в 5 наблюдениях один из плодов направлял свою кровь по анастомозам («опосредованная» помпа) ко второму плоду без структурных аномалий («прямая» помпа), который затем – к плоду-акардиусу (таблица) [18, 22]. Таким образом, в 6 из 7 наблюдений, что составляет 85,6%, были задействованы оба плода без аномалий. В случае проведения коагуляции пуповины акардиуса вероятность внутриутробной гибели всех трех плодов велика, что в свою очередь говорит о необходимости с осторожностью применять данную технологию при МХ тройне. Именно поэтому в нашем клиническом наблюдении №2 при проведении медико-генетического консультирования в 11 недель мы не планировали внутриутробное хирургическое вмешательство в 16 недель, опасаясь гибели всех плодов. Как видно из таблицы, из

Таблица. Клинические наблюдения МХ тройни, осложненной СОАП (литературные данные)

№	Источник литературы	Год публикации	Срок гестации при выявлении (недели)	Тип тройни (тип анастомозов)	Тактика ведения беременности	Исход беременности
1	Sepuveldа et al. [21]	2009	12	МХДА (нет данных)	Наблюдение	Роды 31 неделя (кесарево сечение). Новорожденные массой 1320 г и 1640 г
2			10	МХТА (нет данных)	Антенатальная гибель двух здоровых плодов в 12 недель	Прерывание беременности. Патологоанатомическое исследование не проводилось
3	Argoti et al. [22]	2013	21	МХТА (один плод – прямая помпа, один – опосредованная, один – акардиус)	Радиочастотная абляция в 23–24 недели	Роды 32 недели (кесарево сечение). Новорожденные массой 1515 г и 1275 г
4	Lopez-Perez et al. [23]	2015	20	МХ (два плода – прямая помпа, один – акардиус)	Наблюдение	Роды 32 недели (кесарево сечение). Новорожденные массой 1821 г и 1521 г
5	Pan et al. [18]	2017	17	МХТА (один плод – прямая помпа, один – опосредованная, один – акардиус)	Наблюдение	Роды 32 недели (кесарево сечение). Новорожденные массой 1350 г и 1390 г
6	Takahashi et al. [26]	2018	13	МХТА (один плод – прямая помпа, один – не помпа, один – акардиус)	Радиочастотная абляция в 16 недель	Роды 29 недель (кесарево сечение). Новорожденные массой 1167 г и 1237 г
7	Yildirim [20]	2019	31	МХДА (один плод – прямая помпа, один – опосредованная, один – акардиус)	наблюдение	Роды 34 неделя (кесарево сечение). Новорожденные массой 2010 г и 2150 г.
8	Takano et al. [24]	2019	16	МХТА (один плод – прямая помпа, один – опосредованная, один – акардиус)	Фетоскопическая фотокоагуляция анастомозов	Роды 29 недель (кесарево сечение). Новорожденные массой 917 г и 773 г
9	Kobori et al. [19]	2019	10	МХТА (один плод – прямая помпа, один – опосредованная, один – акардиус)	Радиочастотная абляция в 18 недель	Роды 37 недель (кесарево сечение). Новорожденные массой 2664 г и 2030 г

8 клинических случаев пролонгирования МХ беременности, в 4 оперативные лечебные мероприятия не проводились.

Тем не менее описаны наблюдения, где коагуляция пуповины при МХ тройне с СОАП выполнялась [22, 26]. В одном клиническом случае проведена фотокоагуляция артерио-артериальных и веновенозных анастомозов между «прямой» помпой и акардиусом и четырех артерио-венозных анастомозов между прямой и опосредованной помпами. В данном клиническом наблюдении (№ 8 таблицы), через два дня после проведения лечебной процедуры начали подтекать воды. Подтекание околоплодных вод повторилось в 29 недель [24].

Kobori S. et al. (2019) описали МХТА тройню с СОАП. Плод-акардиус был представлен только нижней частью туловища. Авторы прибегли к методике ультразвуковой оценки допплерометрических кривых акардиуса и здоровых плодов, предложенной Takahashe Y. et al. (2018) [26]. При использовании допплерометрического исследования были установлены анастомозы между плодом-акардиусом и только одним из плодов без структурных аномалий, который был плодом-помпой. Проводилась оценка массы плода-акардиуса по описанной выше методике и установлено прогрессивное ее увеличение. Радиочастотная абляция сосудов пуповины плода-акардиуса выполнена в 18 недель, когда отношение масс акардиуса и «помпы» составило 70%, и появились признаки сердечной недостаточности и многоводие у плода-помпы. Беременность завершилась в 37 недель рождением мальчиков массой 2662 г и 2031 г. Исследование плаценты подтвердило анастомозы между пупочной артерией и пупочной веной плода-акардиуса и плода-помпы и сосудистые анастомозы между обоими плодами без структурных аномалий [19].

Как видно из таблицы, из 8 пролонгированных беременностей преждевременными родами завершились 7 (87,5%). Основной причиной для досрочного родоразрешения в 5 из 7 случаев стало преждевременное излитие околоплодных вод.

Заключение

Таким образом, несмотря на общее снижение частоты трехплодных беременностей, в клинической практике акушера-гинеколога стали появляться беременные женщины с тройнями с МХ типом плацентации и бластопатиями, к которым относится СОАП. В целом прогноз для течения и благополучного завершения беременности тройней с СОАП следует рассматривать как неблагоприятный. При продолжении беременности необходимо проводить расчет массы плода-акардиуса и его отношение к массам двух других плодов. Активный рост плода-акардиуса значительно ухудшает течение беременности и сопровождается многоводием и сердечной недостаточностью у плода-помпы, что является показанием для внутриутробного вмешательства. При планировании подобного вмешательства следует провести попытку допплерометрической оценки анастомозов по методике, предложенной в литературе [26], что позволит уточнить прогноз для здоровья и плода-помпы, и третьего плода и избежать рождения двух детей с кистозной энцефаломаляцией. В представленных нами клинических наблюдениях все МХТА тройни, осложненные СОАП, были прерваны до 22 недель гестации в связи с серьезными акушерскими осложнениями. Молекулярно-генетическое тестирование подтвердило монозиготное происхождение близнецов, а патоморфологическое исследование – тип плацентации, установленный при УЗИ.

Литература/References

1. *Mazhar S.B., Rahim F., Furukh T.* Fetomaternal outcome in triplet pregnancy. J. Coll. Physicians Surg. Pak. 2008; 18(4): 217-21.
2. *Garg P., Abdel-Latif M.E., Bolisetty S., Bajuk B., Vincent T., Lui K.* Perinatal characteristics and outcome of preterm singleton, twin and triplet infants in NSW and the ACT, Australia (1994–2005). Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed. 2010; 95(1): F20-24. https://dx.doi.org/10.1136/adc.2009.157701.
3. *Pereira N., Cozzubbo T., Cheung S., Rosenwaks Z., Palermo G.D., Neri Q.V.* Identifying maternal constraints on fetal growth and subsequent perinatal outcomes using a multiple embryo implantation model. PLoS One. 2016; 11(11): e0166222. https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0166222.
4. *Sunderam S., Kissin D.M., Zhang Y., Folger S.G., Boulet S.L., Warner L.* et al. Assisted reproductive technology surveillance - United States, 2016. MMWR Surveill. Summ. 2019; 68(4): 1-23. https://dx.doi.org/10.15585/mmwr.ss6804a1.
5. *De Geyter C., Calhaz-Jorge C., Kupka M.S., Wyns C., Mocanu E., Motrenko T.* et al. ART in Europe, 2015: results generated from European registries by ESHRE. Hum. Reprod. Open. 2020; 2020(1): hoz038. https://dx.doi.org/10.1093/hropen/hoz038.
6. *Iwamoto H., Yoshida A., Suzuki H., Wyns C., Mocanu E., Motrenko T.* et al. Monochorionic triamniotic triplet pregnancies with assisted reproductive technology: two case reports. J. Obstet. Gynaecol. Res. 2010; 36: 872-5. https://dx.doi.org/10.1111/j.1447-0756.2010.01235.x.
7. *Петрушко М.П., Пиняева В.И., Правдина С.С., Подуфалий В.В., Чуб Н.Н.* Монозиготная моноамниотическая тройня после переноса одной бластоцисты (клинический случай). Проблемы репродукции. 2013; 3: 47-8. [Petrushko M.P., Pinyaeva V.I., Pravdina S.S. et al. Monozygotic monoamniotic triplets after transfer of one blastocyst (case report). Problems of Reproduction. 2013; 3: 47-8. (in Russian)].
8. Калинина Е.А., Владимирова И.В., Сухих Г.Т. Монохориальная триамниотическая тройня в программе ВРТ: клиническое наблюдение. Акушерство и гинекология. 2016; 4: 151-3. [Kalinina E.A., Vladimirova I.V., Sukhikh G.T. Monochorionic triamniotic triplets in the ART program: a clinical case. Obstetrics and Gynecology. 2016; 4: 151-3. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2016.4.151-153.
9. *Прибушеня О.В., Хурс О.М., Котова С.А., Рыбакова В.И., Цыбовский И.С.* Определение зиготности при многоплодии. Обзор литературы и собственные клинические наблюдения самопроизвольно наступивших беременностей тройней. Пренатальная диагностика. 2016; 15(4): 318-27. [Pribushenya O.V., Khurs O.M., Kotova S.A. and al. Determination of zygosity in multiple pregnancies. Literature review and own clinical cases of spontaneous triple pregnancies. Prenatal diagnosis. 2016; 15: 318-27. (in Russian)].
10. *Imaizumi Y.F.* A comparative study of zygotic twinning and triplet rates in eight countries, 1972-1999. J. Biosoc. Sci. 2003; 35(2): 287-302. https://dx.doi.org/10.1017/S002193003002876.
11. *Wong A.E., Sepulveda W.* Acardiac anomaly: current issues in prenatal assessment and treatment. Prenat. Diagn. 2005; 25(9): 796-806. https://dx.doi.org/10.1002/pd.1269.
12. *Diehl W., Hecher K.* Selective cord coagulation in acardiac twins. Semin. Fetal Neonatal Med. 2007; 12(6): 458-63. https://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2007.06.008.

13. *Kaliany R., Bindra M.S.* Twin reversed arterial perfusion syndrome (TRAP or acardiac twin) – a case report. J. Clin. Diagn. Res. 2014; 8(1): 166-7. https://dx.doi.org/10.7860/JCDR/2014/7012.3965.
14. *Moore T.R., Gale S., Benirschke K.* Perinatal outcome of forty-nine pregnancies complicated by acardiac twinning. Am. J. Obstet. Gynecol. 1990; 163(3): 907-12. https://dx.doi.org/10.1016/0002-9378(90)91094-s.
15. *Прибушеня О.В., Новикова И.В., Семенчук В.Л., Лазаревич А.А., Белуга М.В.* Синдром обратной артериальной перфузии близнецов: медико-генетическое консультирование, акушерская тактика и методы коррекции. Пренатальная диагностика. 2015; 14(3): 215-23. [Pribushenya O.V., Novikova I.V., Semenchuk V.L., Lazarevich A.A., Beluga M.V. Reverse arterial perfusion syndrome in twins: medical genetic counseling, obstetric management and methods of correction. Prenatal Diagnosis. 2015; 14: 215-23. (in Russian)].
16. *Petersen B.L., Broholm H., Skibsted L., Graem N.* Acardiac twin with preserved brain. Fetal Diagn. Ther. 2001; 16(4): 231-3. https://dx.doi.org/10.1159/000053916.
17. *Malinowski W., Szwałki J.* Ciaża trojacza jednokosmówkowa dwuowodniowa powikłana wystąpieniem zespołu "odwroconego kierunku przepływu krwi". Badanie patomorfologiczne płodu "bez serca" i popłodu. [Monochorionic, diamniotic triplet pregnancy complicated by twin reversed arterial perfusion sequence. Postpartum autopsy of placenta and acardiac fetus]. Ginekol. Pol. 2004; 75(11): 863-8.
18. *Pan P., Luo G., Tang L., Rolle J.D., Qin Y., Zeng Q.* et al. Monochorionic-triamniotic triplet pregnancy complicated by twin reversed arterial perfusion sequence: case report and literature review. AJP Rep. 2017; 7(2): e106-e110. https://dx.doi.org/10.1055/s-0037-1603917.
19. *Kobori S., Toshimitsu M., Nagaoka S., Murotsuki J.* A case of monochorionic-triamniotic triplet pregnancy with TRAP sequence successfully treated with radiofrequency ablation with a parallel circuit consisting of anastomosed blood vessels between the direct pump fetus and the indirect pump fetus. Case Rep. Obstet. Gynecol. 2019; 2019: 5319028. https://dx.doi.org/10.1155/2019/5319028.
20. *Yildirim E.* Spontaneous triplet pregnancy and trap sequence, case report. BMC Pregnancy Childbirth. 2019; 19(1): 328. https://dx.doi.org/10.1186/s12884-019-2484-3.
21. *Sepulveda W., Wong A.E., Bustos J.C., Flores X., Alcalde J.L.* Acardiac fetus complicating a triplet pregnancy: management and outcome. Prenat. Diagn. 2009; 29(8): 794-9. https://dx.doi.org/10.1002/pd.2291.
22. *Argoti P.S., Bebbington M.W., Johnson A., Moise K.J. Jr.* Indirect pump: unique presentation of a monochorionic-triamniotic triplet gestation complicated by TRAP sequence and successfully managed with radiofrequency ablation of the acardiac fetus. Ultrasound Obstet. Gynecol. 2013; 42(1): 115-7. https://dx.doi.org/10.1002/uog.12354.
23. *Lopez-Perez R., Lorente M., Martinez-Uriarte J., Rivero I.M., García-Izquierdo O., Jódar M.Á.* et al. Twin-reversed arterial perfusion sequence in a triple monochorionic pregnancy with two direct pump fetuses results in significant cyclic Doppler waveform. Fetal Diagn. Ther. 2015; 37(2): 157-60. https://dx.doi.org/10.1159/000361019.
24. *Takano M., Nakata M., Rikitake T., Nagasaki S., Hayata E., Morita M.* Successful use of fetoscopic laser surgery as treatment for a monochorionic-triamniotic triplet pregnancy complicated by twin-reversed arterial perfusion sequence and severe selective fetal growth restriction: a case report. J. Obstet. Gynaecol. Res. 2019; 45(8): 1584-7. https://dx.doi.org/10.1111/jog.13994.
25. *Костюков К.В., Гладкова К.А., Тетруашвили Н.К.* Тактика ведения беременности при синдроме обратной артериальной перфузии. Акушерство и гинекология. 2018; 11: 44-9. [Kostyukov K.V., Gladkova K.A., Tetruashvili N.K. Pregnancy management in patients with reverse arterial perfusion syndrome. Obstetrics and Gynecology. 2018; 11: 44-9. (in Russian)]. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.11.44-49.
26. *Takahashi Y., Iwagaki S., Chiaki R., Asai K., Matsui M., Kawabata I.* Ultrasonic identification of pump twin by dual-gate Doppler in a monochorionic-triamniotic triplet twin reversed arterial perfusion sequence before preventative radiofrequency ablation: a case report. J. Med. Ultrason. (2001). 2018; 45(1): 185-7. https://dx.doi.org/10.1007/s10396-017-0792-7.

Поступила 11.05.2021
Принята в печать 23.06.2021
Received 11.05.2021
Accepted 23.06.2021

Сведения об авторах:
Прибушеня Оксана Владимировна, д.м.н., доцент, заведующий лабораторией медицинской генетики и мониторинга ВПР, РНПЦ «Мать и дитя» МЗ РБ; профессор кафедры репродуктивного здоровья и медицинской генетики, БелМАПО, (37517)254-62-53, (37517)233-85-13 (факс), +375296231255, pribushenya@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0001-8186-2849; eLibrary SPIN: 2707-1880, 220053, Орловская ул., 66, Минск, Беларусь.
Лазаревич Анастасия Анатольевна, научный сотрудник лаборатории медицинской генетики и мониторинга ВПР, РНПЦ «Мать и дитя» МЗ РБ, ассистент кафедры репродуктивного здоровья и медицинской генетики, БелМАПО, +375296484485, Lazilkn@mail.ru, eLibrary SPIN 6962-7502, 220053, Орловская ул., 66, Минск, Беларусь.

Authors' information:
Oksana V. Pribushenya, MD, PhD, Head of the Scientific Laboratory for Medical Genetics, Republic Scientific and Practical Center «Mather and Child», Ministry of Heath of the Republic of Belarus; Professor of the Department of Reproductive Health and Medical Genetic, BelMAPE, (37517)254-62-53, (37517) 233-85-13(Fax), +375296231255, pribushenya@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0001-8186-2849, eLibrary SPIN: 2707-1880, 220053, Orlovskaya str., 66, Minsk, Belarus.
Nastassia A. Lazarevich, Researcher at the Scientific Laboratory for Medical Genetics, Republican Scientific and Practical Centre «Mother and Child», Ministry of Heath of the Republic of Belarus; Assistant of the Department of the Reproductive Health and Medical Genetics, BelMAPE, +375296484485, Lazilkn@mail.ru, eLibrary SPIN: 6962-7502, 220053, Orlovskaya str., 66, Minsk, Belarus.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

1. Статьи принимаются на двух языках: русском и английском. Статья должна иметь официальное направление от учреждения, в котором выполнена работа, и визу руководителя на первой странице, заверенную круглой печатью. Помимо документов сопровождения и самой статьи, оформленной в соответствии с правилами журнала, необходимо прислать статью без ФИО авторов, названия учреждения, сведений об авторах и другой идентифицирующей информации. Название файла «ослепленной» статьи должно содержать первое слово названия статьи и «для рецензии».

1.1. Статья печатается шрифтом Times New Roman № 14 через 1,5 интервала, 60–62 знака в строке, 30 строк на страницу. Страницы должны быть пронумерованы. Статья направляется в редакцию по электронной почте. Сопроводительные документы могут быть направлены в отсканированном виде или обычной почтой.

1.2. На первой странице вначале пишут инициалы и фамилию автора (авторов), название статьи, полное название учреждения (учреждений), в котором выполнена работа, город, страну. Обязательно следует указать, в каком учреждении работает каждый из авторов.

1.3. К каждой статье прилагается резюме. Резюме к оригинальной статье должно быть структурировано следующим образом: цель исследования; материал и методы; результаты; заключение. Резюме к обзорной статье должно содержать краткое изложение и соответствовать структуре статьи. Резюме к статье «Заметки из практики» включает актуальность, описание клинического наблюдения и заключение. После резюме следуют ключевые слова (при выборе ключевых слов рекомендуем руководствоваться словарем ключевых слов MeSH). Резюме и ключевые слова печатаются курсивом, без отступа, рубрики отделяются абзацем, названия рубрик выделяются жирным шрифтом, объемом 1500 знаков.

1.3.1. Реферат и аннотацию формируют по ГОСТ Р 7.0.99-2018 Реферат и аннотация. Общие требования. Объем реферата, как правило, не превышает 250 слов

Ключевые слова (словосочетания) должны соответствовать теме статьи и отражать ее предметную, терминологическую область. Как правило, не применяют обобщенные и многозначные слова, а также словосочетания, содержащие причастные обороты.

Количество ключевых слов (словосочетаний), как правило, не должно превышать 10–15 слов (словосочетаний). Их приводят, предваряя словами «Ключевые слова:» («Keywords:») и отделяют друг от друга запятой. После ключевых слов точку не ставят.

1.4. После резюме должны быть представлены данные о каждом из авторов: фамилия, имя и отчество; ученая степень и звание; должность; название учреждения, в котором работает автор; служебный почтовый адрес с индексом; телефон; e-mail (на русском и английском языке.

1.4.1. Основные сведения об авторе содержат:

- имя, отчество, фамилию автора (полностью);
- наименование учреждения или организации, ее подразделения, где работает или учится автор (без обозначения организационно-правовой формы юридического лица: ФГБУН, ФГБОУВО, ПАО, АО и т. п.);
- адрес учреждения или организации, ее подразделения, где работает или учится автор (город и страна);
- электронный адрес автора (e-mail);
- Открытый идентификатор ученого (Open Researcher and Contributor ID – ORCID) (при наличии).

Адрес организации или учреждения, где работает или учится автор, может быть указан в полной форме.

Электронный адрес и телефон автора приводят без слов «e-mail», «тел», после электронного адреса точку не ставят.

ORCID приводят в форме электронного адреса в сети «Интернет» (https://orcid.org/0000-0002-9166-9361). В конце ORCID точку не ставят.

Вариант 1

Бурменская Ольга Владимировна, д.б.н., заведующая лабораторией онкологической генетики, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии, перинатологии имени академика В.И. Кулакова Министерства здравоохранения Российской Федерации, +7(495)438-22-92, o_bourmenskaya@oparina4.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Olga V. Burmenskaya, Dr. Sci. (Bio), Head of the Laboratory of Oncological Genetics, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, +7(495)438-22-92, o_bourmenskaya@oparina4.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparin str., 4.

Вариант 2

Светлана Юрьевна Барсукова[1], Сергей Николаевич Левин[2]

[1] Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва, Россия, svbars@mail.ru,
https://orcid.org/0000-0002-2696-4882
[2] Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия, levin.sergey.n@gmail.com,
https://orcid.org/0000-0003-3881-3579

Возможно приведение электронного адреса только одного автора, с которым планируется переписка, или отдельное указание автора для корреспонденции по форме: «Автор, ответственный за переписку:» («Corresponding author:»).

Это указание рекомендуется размещать после всех сведений об авторах на отдельной строке.

Пример

Автор, ответственный за переписку: Иван Васильевич Перов, ivp@mail.ru
Corresponding author: Ivan V. Perov, ivp@mail.ru

Авторам, публикующимся впервые, рекомендуется использовать стандарт BSI (Британский Институт Стандартов / British Standards Institution). Для транслитерации можно использовать сервис транслитерации на сайте https://translit.ru/ru/.

1.5. Объем оригинальных статей, обзоров литературы и статей раздела «В помощь практическому врачу» не должен превышать 12 стр., заметок из практики – 5. В статье должно быть не более 3 рисунков и/или 3 таблиц. Редакция оставляет за собой право сокращать статьи.

1.6. Оригинальные статьи должны иметь следующие разделы: краткое введение, материал и методы исследования, результаты исследования и обсуждение, заключение или выводы. Для написания оригинальных статей используются рекомендации по представлению результатов конкретных видов исследований, размещенных в сети EQUATOR Network, например, CONSORT для рандомизированных испытаний, TRIPOD, STROBE и STARD для прогностических, обсервационных и диагностических исследований, соответственно, систематических обзоров и метаанализов – стандарты PRISMA. Также рекомендуется воспользоваться учебным пособием Н.Г. Поповой, Н.Н Коптяевой «Академическое письмо: статьи IMRAD» (Попова Н.Г., Коптяева Н.Н. Академическое письмо: статьи IMRAD. Учебное пособие для аспирантов и научных сотрудников естественнонаучных специальностей. Екатеринбург: ИФиП УрО РАН, 2015. 160 с.).

Серела А.П., Андрианова М.А. Рекомендации по оформлению дизайна исследования. Травматология и ортопедия России. 2019;25(3):165-184. doi: 10.21823/2311-2905-2019-25-3-165-184

- Обратить внимание на введение, в частности, обоснование исследования
- Обратить внимание на представление методов исследования, в частности статистических

1.7. Авторам следует пользоваться современной русскоязычной научной терминологией и не употреблять «кальки» терминов, транскрибированных с иностранных слов. Сокращение слов и названий (не более 3), кроме общепринятых сокращений мер, физических и математических величин и терминов, допускается только с первоначальным указанием полного названия. Узкоспециальные термины должны быть расшифрованы. Не рекомендуем использовать сокращения в названии статьи.

1.8. Статья должна быть тщательно выверена автором. В математических формулах необходимо четко разметить все элементы: латинские и греческие буквы, надстрочные и подстрочные индексы, прописные и строчные буквы, сходные по написанию буквы и цифры.
1.9. Названия микроорганизмов прописываются на латыни и курсивом.
1.10. Требования к представлению статистического анализа:

Методы статистического анализа, использованные в исследовании, должны быть описаны в подразделе «Статистический анализ» в конце раздела «Материалы и методы». Необходимо описать статистические методы настолько подробно, насколько требуется для оценки их адекватности и для подтверждения полученных результатов знающими читателями при условии доступа к соответствующим данным. Описание и представление результатов статистического анализа должны соответствовать Руководству "Статистический анализ и методы в публикуемой литературе" (САМПЛ).

2. Список литературы, прилагаемый к статье, должен включать работы отечественных и зарубежных авторов за последние 5–7 лет. В оригинальных статьях цитируется не более 30 источников, в обзорах – не более 50.
2.1. Список составляют по правилам оформления пристатейных списков литературы (библиография) для авторов с учетом «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» Международного комитета редакторов медицинских журналов (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals) (см. приложение).
2.2. Библиографические ссылки должны быть пронумерованы, в тексте они даются в квадратных скобках в соответствии со списком литературы.
2.3. Автор несет полную ответственность за точность данных списка литературы.
2.4. Ссылки на диссертации, рефераты и авторефераты не признаются международным сообществом, поэтому давать их не следует.
3. Таблицы должны содержать обобщенные и статистически обработанные данные. Каждая таблица должна иметь номер и заголовок. Единицы измерения даются в системе СИ.
4. Иллюстративный материал (фотографии, рисунки, схемы, диаграммы) прилагается по тексту и отдельным файлом.
4.1. К рисунку дается общая подпись, затем объясняют все цифровые и буквенные обозначения. В подписях к микрофотографиям необходимо указать метод окраски и увеличение.
4.2. Фотографии должны быть предоставлены в оригинальном виде без применения ретуши и цветокоррекции.
4.3. Изображения должны быть представлены в форматах TIFF, JPG (самого высокого качества).
4.4. Размер снимка должен быть не менее 1500*1500 пикселей.
4.5. Объект съемки должен быть в фокусе.
5. Авторство.
5.1. Автор обязательно подписывает статью. Коллективная статья должна быть подписана всеми авторами с указанием роли каждого.

Пример:

- Концепция и дизайн исследования– И.И. Иванов, С.С. Сидоров
- Сбор и обработка материала– П.П. Петров
- Статистическая обработка данных– П.П. Петров
- Написание текста– С.С. Сидоров
- Редактирование– И.И. Иванов

Ставя под статьей свою подпись, автор тем самым передает редакции право на ее издание, гарантирует ее оригинальность и удостоверяет, что ни сама статья, ни рисунки к ней не были опубликованы ранее и не посланы для публикации в другие издания.

5.2. При определении авторства рекомендуется руководствоваться критериями ICJME.
6. Корректура авторам не высылается.
7. Автор должен иметь точную и полную информацию по исследованию, описанному в статье, которая может быть представлена по запросу.
8. Автор не имеет право представлять одну статью на публикацию в нескольких научных изданиях. В случае использования в статье информации, которая была ранее опубликована, автор обязан указать источник и автора цитируемой информации. Кроме того, автор обязан предоставить редактору копию цитируемой статьи.
9. Автору необходимо подтвердить, что его статья оригинальна, и указать источники цитируемой информации.
10. Автор несет ответственность за соблюдение национальных и местных законов при проведении исследований с участием людей и животных (например, Хельсинская Декларация ВМА; политика НИЗ по проведению исследований на животных; ЕС по использованию животных). Автор должен получить разрешение на публикацию от человека (людей), который принимал участие в исследовании, и соблюдать конфиденциальность.

Одобрение Этического комитета для всех статей с изучением людей. Авторы должны указать, что исследование было одобрено Этическим Комитетом организации/учреждения

Согласие пациентов на публикацию. Пациент(ы) подписал(и) информированное согласие на публикацию своих данных и изображений.

11.1. Благодарности. Авторы могут выразить благодарности персонам и организациям, способствовавшим подготовке статьи.
11.2. Информация об источниках финансирования. Необходимо указывать источник финансирования исследования, подготовки обзора или лекции (название выполняемой по госзаданию плановой НИР, номер гранта и наименование фонда, коммерческой или государственной организации и др.). Указывать размер финансирования не требуется.
11.3. Информация о конфликте интересов. Необходимо заявить о наличии или отсутствии потенциального конфликта интересов (например, конкурирующие интересы, которые, по мнению автора, могут иметь прямое или опосредованное влияние на публикационный процесс) (см. рекомендации ICJME).
12. При идентификации значительной ошибки в публикации автор обязан незамедлительно сообщить об этом редактору. На протяжении всего процесса публикации автор обязан сотрудничать с редактором и издателем, добавляя, убавляя и исправляя статью, в случае необходимости. При выявлении значительной ошибки, неточности данных и др. после публикации редакция оставляет за собой право изъять опубликованную статью.
13. Автор полностью берет на себя ответственность за возможный плагиат текста, рисунков и др. Редакционная коллегия журнала при рассмотрении статьи может произвести проверку материала с помощью системы Антиплагиат. В случае обнаружения многочисленных заимствований редакция действует в соответствии с правилами COPE.
14. При рассмотрении полученных авторских материалов Редакция руководствуется «Едиными требованиями к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» (Intern. committee of medical journal editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals // Ann. Intern. Med. 1997; 126: 36–47), принципами EASE и «Singapore Statement on Research Integrity».
15. Авторам рекомендуем предоставлять ссылку на свой цифровой профиль в ORCID.
16. При получении рецензии следует внимательно ознакомиться и отвечать по пунктам, вносить исправления в полученный от редакции вариант статьи и выделять цветом измененный фрагмент.

Обмен исследовательскими данными. Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку после одобрения ведущим исследователем.

17. Статьи, представленные с нарушением правил оформления, не рассматриваются.

Статьи направлять по адресу:
117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4
ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России
Редакция журнала «Акушерство и гинекология»
E-mail: aig@oparina4.ru

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ ПРИСТАТЕЙНЫХ СПИСКОВ ЛИТЕРАТУРЫ

Правила оформления пристатейных списков литературы (библиография) для авторов составлены с учетом «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» Международного комитета редакторов медицинских журналов (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals).

Правильное описание используемых источников в списках литературы является залогом того, что цитируемая публикация будет учтена при оценке научной деятельности ее авторов и организаций, где они работают.

В списке литературы все работы перечисляются в порядке цитирования (ссылок на них в тексте, не по алфавиту). **В оригинальных статьях допускается цитировать не более 30 источников, в обзорах литературы — не более 50, в лекциях и других материалах — до 15.** Библиографическое описание отечественных журналов полное, иностранные должны соответствовать стилю PubMed или MEDLINE.

Порядок составления списка: 1) автор(ы) книги или статьи (при авторском коллективе до 6 человек включительно упоминаются все, при больших авторских коллективах — 6 первых авторов «и др.», в иностранных — «et al.»; 2) если в качестве авторов книг выступают редакторы, после фамилии следует ставить «ред.», в иностранных «ed.»; 3) название книги и статьи; 4) выходные данные.

Если цитируемая статья имеет индекс DOI, необходимо указать его в списке литературы.

Примеры оформления ссылок на литературу

Журнальные статьи

Кедрова А.Г., Левакоv С.А., Челнокова Н.Н., Кожурина Е.В., Левакова С.Е., Саркисова А.А. Роль профилактических осмотров и первичного приема врача в женской консультации в выявлении субклинических и латентных форм папилломавирусной инфекции шейки матки и их мониторинг. Гинекология. 2011; 14 (1): 56-62.

Пальцев М.А., Франк Г.А., Мальков П.Г. Стандартные технологические процедуры при морфологическом исследовании биопсийного и операционного материала. Архив патологии. 2011; Приложение.

CerqueiraD.M., CamaraG.N., daMCruz.R., SilvaE.O., BridigoMdeM., CarvalhoL.G. etal. Variants of human papillomavirus types 53, 58 and 66 identified in Central Brazil. Virus Genes. 2003; 26(1): 83—7.

Wiley D.J., Douglas J., Beutner K., Cox T., Fife K., Moscicki A.B. et al.External genital warts: diagnosis, treatment, and prevention. Clin. Infect. Dis. 2002; 35(suppl.2): S210—24.

Книги

Кулаков В.И., Селезнева И.Д., Белоглазова С.Е. Руководство по оперативной гинекологии. М.:МИА; 2006. 640с.

Макацария А.Д., ред. Тромбогеморрагические осложнения в акушерско-гинекологической практике. М.: МИА; 2011. 496с.

Воробьев А.И., ред. Руководство по гематологии. 3-е изд. т. 3. М.: Ньюдиамед; 2005. 416 с.

Радзинский В. Е., ред. Перинеология: Учебное пособие. Радзинский В.Е., Шалаев О.Н., Дурандин Ю.М., Семятов С.М., Токтар Л.Р., Салимова Л.Я.М.: РУДН; 2008. 256с.

Altchek A., Deligdisch L., eds. Pediatric, adolescent and young adult gynecology. New York: Wiley—Blackwell; 2009. 520p.

Keshav S., Culver E. Gastroenterology: Clinical cases uncovered. New York: Wiley—Blackwell; 2011. 192p.

Главы в книге

Киселев В.И., Аполихина И.А., Муйжнек Е.Л., Денисова Е.Д. Патогенетические подходы к лечению ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки. В кн.: Прилепская В.Н., ред. Патология шейки матки и генитальные инфекции. М.: МЕД-пресс-информ; 2008: 87—93.

AbuhamadA.Z. Obstetric ultrasound. In: Evans A.T., ed. Manual of obstetrics. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2007: 562—76.

Материалы научных конференций

Итоги эпидемии гриппа AH1/N1: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Чита, 26—27 октября 2010 г. Чита: ЧГМА; 2010.

Роговская С.И., Прилепская В.Н., Бебнева Т.Н., Межевитинова Е.А., Иванов Р.А., Солодахин А.В. Лечение плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки низкой степени, ассоциированных с вирусом папилломы вируса человека, препаратом «Генферон». В кн.: Сухих Г.Т., Серов В.Н., Аполихина И.А., ред. Материалы IV съезда акушеров—гинекологов России. Москва, 30 сентября—2 октября 2008г. М.; 2008: 463—4.

European meeting on hypertension. Milan, Jine 15—19, 2007. Milan; 2007.

Harnden P., Joffe J.K., Jones W.G., eds. Germ cell tumours V: Proceedings of the 5th Germ cell tumour conference. 2001, sept. 13—15; Leeds; UK. New York: Springer; 2001.

Электронные источники

Всемирная организация здравоохранения. База данных «Здоровье для всех». http://www.euro.who.int/ru/what-we-do/data-and-evidence/databases/european-health-for-all-database-hfa-db2

Образец оформления транслитерации и перевода статьи для русскоязычных ссылок:

Демидов В.Н., Машинец Н.В., Подуровская Ю.Л., Буров А.А. Врожденная диафрагмальная грыжа плода – возможности ультразвуковой диагностики и прогнозирование постнатального исхода. Акушерство и гинекология. 2014; 4: 38-45. [Demidov V.N., Mashinets N.V., Podurovskaya Yu.L., Burov A.A. Fetal congenital diaphragmatic hernia: ultrasound diagnosis possibilities and prediction of postnatal outcome. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2014; 4: 38-45. (in Russian)]

НОВАРИНГ®

**15 мкг этинилэстрадиола/
120 мкг этоногестрела в сутки**

Контрацепция один раз в месяц[1]

Контрацептивная эффективность
(согласно проведенным клиническим исследованиям) **примерно 99%[2]**

Высокая приверженность и удовлетворенность женщин[3*]

Оптимальный контроль цикла у 95% женщин[4]**

1. Инструкция по медицинскому применению препарата Новаринг®. 2. Madden T., Blumenthal P. Contraceptive Vaginal Ring Clinical Obstetrics and Gynecology: December 2007 - Volume 50 - Issue 4 - p. 878-885. 3. Novak A. et al., Contraception. 2003; 67: 187-194. 4. Bjarnadottir R et al. Am J Obstet Gynecol. 2002; 186:389-395. *В исследовании с участием 1950 женщин, использовавших Новаринг, 96% женщин были удовлетворены использованием кольца и 97% женщин рекомендовали бы его другим **В группе Новаринга частота межменструальных кровотечений была ≤ 5% во всех циклах
Перед назначением любого препарата, упомянутого в данном материале, пожалуйста, ознакомьтесь с полной инструкцией по применению, предоставляемой компанией-производителем.
Компания MSD не рекомендует применять препараты компании способами, отличными от описанных в инструкции по применению.

КЛЮЧЕВАЯ ИНФОРМАЦИЯ ПО БЕЗОПАСНОСТИ ПРЕПАРАТА НОВАРИНГ® (этинилэстрадиол + этоногестрел)

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ • Венозный тромбоз или тромбоэмболия (ВТЭ), в том числе, тромбоз глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА), в настоящее время или в анамнезе. • Артериальный тромбоз или тромбоэмболия (АТЭ), в том числе инфаркт миокарда и инсульт; или продромальные состояния (транзиторная ишемическая атака, стенокардия), в настоящее время или в анамнезе. • Выявленная наследственная или приобретенная предрасположенность к ВТЭ или АТЭ, включая резистентность к активированному протеину С, гипергомоцистеинемию, дефицит антитромбина III, дефицит протеина С, дефицит протеина S, антифосфолипидные антитела (антитела к кардиолипину, волчаночный антикоагулянт). • Наличие множественных факторов высокого риска ВТЭ или АТЭ, или наличие одного такого серьезного фактора риска, как: сахарный диабет с диабетической ангиопатией; неконтролируемая артериальная гипертензия; тяжелая дислипопротеинемия. • Объемные оперативные вмешательства с длительной иммобилизацией или обширная травма. • Панкреатит с тяжелой гипертриглицеридемией в настоящее время или в анамнезе. • Острые или хронические заболевания печени тяжелой степени (до нормализации показателей функции печени). • Наличие опухолей печени (злокачественных или доброкачественных) в настоящее время или в анамнезе. • Наличие гормонозависимых злокачественных заболеваний, в том числе в анамнезе (например, молочной железы или матки), или подозрение на них. • Мигрень с очаговой неврологической симптоматикой в настоящее время или в анамнезе. • Кровотечения из влагалища неясной этиологии. • Гиперчувствительность к этоногестрелу, этинилэстрадиолу и/или к какому-либо из вспомогательных веществ в составе препарата. • Беременность, в том числе предполагаемая. • Период грудного вскармливания. • Возраст до 18 лет (в связи с отсутствием данных по безопасности и эффективности п НоваРинга® у девочек-подростков в возрасте до 18 лет). • Совместное применение с противовирусными препаратами прямого действия, содержащими омбитасвир/паритапревир/ритонавир и дасабувир. В случае выявления или развития впервые какого-либо из этих заболеваний/состояний или факторов риска на фоне применения НоваРинга®, вагинальное кольцо должно быть немедленно удалено.

С ОСТОРОЖНОСТЬЮ • факторы риска развития тромбоза и тромбоэмболий: наследственная предрасположенность (тромбозы, инфаркт миокарда или нарушение мозгового кровообращения в возрасте менее 50 лет у братьев/сестер или у родителей), курение, ожирение, дислипопротеинемия, адекватно контролируемая артериальная гипертензия, мигрень без очаговой неврологической симптоматики, заболевания клапанов сердца, нарушения сердечного ритма; • тромбофлебит поверхностных вен; • сахарный диабет без сосудистых осложнений; • хронические заболевания печени при нормальных показателях функции печени; • желтуха и/или зуд, вызванные холестазом; • желчекаменная болезнь; • порфирия; • системная красная волчанка; • гемолитико-уремический синдром; • хорея Сиденгама (малая хорея); • потеря слуха вследствие отосклероза; • (наследственный) ангионевротический отек; • хронические воспалительные заболевания кишечника (болезнь Крона и язвенный колит; • серповидноклеточная анемия; • хлоазма; • послеродовой период; • состояния, которые могут затруднять применение вагинального кольца: выпадение шейки матки, грыжа мочевого пузыря, грыжа прямой кишки, тяжелые хронические запоры.

ОСОБЫЕ УКАЗАНИЯ Риск развития ВТЭ и АТЭ. Риск развития опухолей. Ангионевротический отек и анафилаксия. Гепатит С. Применение НоваРинга® следует прекратить до начала терапии комбинацией препаратов омбитасвир/паритапревир/ритонавир с дасабувиром или без него и может быть возобновлено приблизительно через 2 недели после завершения лечения комбинацией этих лекарственных препаратов. Другие состояния: гипертриглицеридемия (или наличие в семейном анамнезе), развитие стойкого клинически значимого повышение АД. Состояния, которые развиваются или ухудшаются во время беременности, болезнь Крона и язвенный колит, острые или хронические заболевания печени, рецидив холестатической желтухи и/или зуда, вызванного холестазом, хлоазма. Состояния женщины, при которых она не сможет правильно ввести кольцо или при которых кольцо может выпасть, непреднамеренное введение НоваРинга® в уретру, в мочевой пузырь, вагинит. Требуется медицинское обследование/консультация. НоваРинг® не защищает от ВИЧ-инфекции (СПИДа) и других заболеваний, передаваемых половым путем. Снижение эффективности, изменения характера менструаций, повреждение, выпадение кольца.

ПОБОЧНЫЕ ДЕЙСТВИЯ Наиболее часто встречающиеся/клинически значимые нежелательные явления: вагинальная инфекция, депрессия, снижение либидо, головная боль, мигрень, боль в животе, тошнота, акне, нагрубание и болезненность молочных желез, генитальный зуд у женщин, болезненные менструальноподобные кровотечения, боль в области малого таза, выделения из влагалища, дискомфорт при применении вагинального кольца, выпадение вагинального кольца.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ Контрацепция. Препарат НоваРинг® предназначен для женщин репродуктивного возраста (безопасность и эффективность препарата изучалась у женщин в возрасте от 18 до 40 лет).

НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

MSD
INVENTING FOR LIFE®

ООО «МСД Фармасьютикалс»
Россия, 119021, Москва, ул. Тимура Фрунзе, д. 11, стр.1, БЦ «Демидов».
Тел.: +7 (495) 916 7100, факс +7 (495) 916 7094
www.msd.ru
RU-TRL-00138; 07-2020

Pfizer

ОРИГИНАЛЬНЫЙ КАБЕРГОЛИН

ДОСТИНЕКС®

ЭФФЕКТИВНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ВСЕЙ ШИРОТЫ СИМПТОМОВ ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИИ[1,2]

Любое нарушение менструального цикла может быть связано **с повышенным уровнем пролактина**[3,4]

До 30% случаев бесплодия вызваны повышенным уровнем пролактина у одного из партнёров в паре[2-4]

2 года НЕПРЕРЫВНОГО ПРИЕМА

Оптимальный курс, рекомендованный ведущими специалистами[6]

Краткая инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата ДОСТИНЕКС®
Международное непатентованное название: каберголин. **Лекарственная форма:** таблетки. **Состав:** каждая таблетка содержит действующее вещество: каберголин 0,5 мг. Достинекс® (каберголин) - дофаминергическое производное эрголина - характеризуется выраженным и длительным пролактинснижающим действием, обусловленным прямой стимуляцией D2-дофаминовых рецепторов лактотропных клеток гипофиза. **Показания к применению:** предотвращение и подавление физиологической лактации; лечение нарушений, связанных с гиперпролактинемией, включая аменорею, олигоменорею, ановуляцию, галакторею; пролактинсекретирующие аденомы гипофиза (микро- и макропролактиномы); идиопатическая гиперпролактинемия, синдром «пустого» турецкого седла в сочетании с гиперпролактинемией. **Противопоказания:** гиперчувствительность к каберголину и/или любому вспомогательному веществу в составе препарата, а также к любым алкалоидам спорыньи. Фиброзные изменения в легких, перикарде или забрюшинном пространстве в анамнезе. При длительной терапии: анатомические признаки патологии клапанного аппарата сердца, подтвержденные ЭхоКГ, проведенным до начала терапии. Применение у детей и подростков до 16 лет (безопасность и эффективность препарата не установлены). Непереносимость лактозы, дефицит лактазы, глюкозо-галактозная мальабсорбция. Беременность и период грудного вскармливания. С осторожностью назначают при следующих состояниях и/или заболеваниях: артериальная гипертензия, развившаяся на фоне беременности, например, преэклампсия или послеродовая артериальная гипертензия; тяжелые сердечно-сосудистые заболевания, синдром Рейно; пептическая язва, желудочно-кишечные кровотечения; печеночная недостаточность тяжелой степени (рекомендовано применение более низких доз); тяжелые психотические или когнитивные нарушения (в т.ч. в анамнезе), одновременное применение с препаратами, оказывающими гипотензивное действие (из-за риска развития ортостатической артериальной гипотензии). Назначение Достинекса® во время беременности возможно только в случаях крайней необходимости, с учетом соотношения польза/риск для женщины и плода. Сведений о выведении препарата с молоком нет, но Достинекс® противопоказан пациенткам, планирующим грудное вскармливание. **Способ применения и дозы:** внутрь, во время еды. Для предотвращения лактации - 1 мг (2 таблетки по 0,5 мг) однократно в первый день после родов. Для подавления лактации - по 0,25 мг (1/2 таблетки) 2 раза в сутки через каждые 12 часов в течение 2 дней. Лечение нарушений, связанных с гиперпролактинемией - начальная доза составляет 0,5 мг в неделю в один прием (1 таблетка 0,5 мг) или в два приема (по ½ таблетки 0,5 мг, например, в понедельник и четверг). Повышение недельной дозы должно проводиться постепенно - на 0,5 мг с месячным интервалом до достижения оптимального терапевтического эффекта. Терапевтическая доза обычно составляет 1 мг в неделю, но может колебаться от 0,25 до 2 мг в неделю. Максимальная доза не должна превышать 4,5 мг в неделю. Побочное действие: при приеме препарата Достинекс® наиболее часто встречаются следующие побочные явления: головная боль, головокружение/вертиго, мастодиния, поражение клапанов сердца (вальвулопатия), в том числе регургитация, и сопутствующие нарушения (перикардит и выпот в перикард), тошнота, диспепсия, гастрит, боль в животе, запор, рвота, "приливы", астения, повышенная утомляемость, депрессия, сонливость, при длительном применении каберголин обычно оказывает гипотензивное действие, в некоторых случаях может иметь место ортостатическая артериальная гипотензия, возможно бессимптомное снижение АД в течение первых 3-4 дней после родов (систолического - не менее чем на 20 мм рт.ст, диастолического - не менее чем 10 мм рт. ст.). Срок годности: 2 года. Условия отпуска: по рецепту. **Форма выпуска:** по 2 или 8 таблеток во флаконе темного стекла или во флаконе из полиэтилена высокой плотности. 1 флакон с инструкцией по применению в картонной пачке с контролем первого вскрытия. Перед назначением препарата ознакомьтесь с полной инструкцией по медицинскому применению. **Регистрационный номер:** П № 013905/01.

Лицо на изображении не является реальным пациентом

1. Webster J. et al. A comparison of cabergoline and bromocriptine in the treatment of hyperprolactinemic amenorrhea. The New England Journal of Medicine. 1994; 331 (14):904-909. 2. Ипсиайская И.А. Гиперпролактинемия в акушерско-гинекологической практике. Акушерство и гинекология. № 4/2017. 3. Вагапова Г.Р. Репродуктивные нарушения у женщин с гиперпролактинемией: патогенез, клинические проявления, диагностика. Акушерство и гинекология, № 2/2018. 4. Мельниченко Г.А., Марова Е.И., Дзеранова Л.К., Ваис В.В. Гиперпролактинемия у женщин и мужчин. Пособие для врачей. М., 2007. С.-57.5. Инструкция по медицинскому применению препарата Достинекс® N13905/01. 6. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Клинические рекомендации Российской Ассоциации Эндокринологов "Гиперпролактинемия: клиника, диагностика, дифференциальная диагностика, методы 2016".

Реклама

Служба Медицинской Информации:
Medinfo.Russia@Pfizer.com
Доступ к информации о рецептурных препаратах Pfizer на интернет-сайте www.pfizermedinfo.ru

ООО «Пфайзер Инновации»,
123112, Москва, Пресненская наб., д. 10,
БЦ «Башня на Набережной» (блок С)
Тел.: +7 (495) 287 50 00,
факс: +7 (495) 287 53 00

PP-DOS-RUS-0613 от 25.10.2021

Download on the App Store

Google play

Приложение «Пролактин»