

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«УРАЛЬСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ИНСТИТУТ ОХРАНЫ МАТЕРИНСТВА И МЛАДЕНЧЕСТВА  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ»**

На правах рукописи

**Чермянинова Ольга Валерьевна**

**ОЦЕНКА ПРОГНОСТИЧЕСКИХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ИССЛЕДОВАНИЯ  
ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ  
СОСУДИСТЫЕ РЕАКЦИИ, В РАЗВИТИИ СИНДРОМА  
ГИПЕРСТИМУЛЯЦИИ ЯИЧНИКОВ**

14.01.01 - Акушерство и гинекология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук,  
профессор **В.В. Ковалев**

Казань  
2015

**СОДЕРЖАНИЕ**

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>	4
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	6
<b>ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭТИОЛОГИИ, ПАТОГЕНЕЗЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИИ СИНДРОМА ГИПЕРСТИМУЛЯЦИИ ЯИЧНИКОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)</b>	13
1.1. Терминология и эпидемиология синдрома гиперстимуляции яичников	13
1.2. Классификация и осложнения синдрома гиперстимуляции яичников	15
1.3. Особенности патогенеза синдрома гиперстимуляции яичников	19
1.4. Критерии прогнозирования и профилактика синдрома гиперстимуляции яичников	28
<b>ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКИХ ГРУПП. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	33
2.1. Дизайн исследования	33
2.2. Клиническая характеристика исследуемых групп	36
2.3. Методы исследования	47
2.4. Статистические методы исследования	51
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ</b>	53
3.1. Особенности распределения частот аллелей и генотипов по полиморфным маркерам генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и оксида азота у пациенток с синдромом гиперстимуляции яичников и беременных методом ЭКО без признаков синдрома гиперстимуляции яичников	54
3.2. Значение иммунологических маркеров ренин-ангиотензин-альдостероновой системы у пациенток исследуемых групп	70
3.3. Способ прогнозирования синдрома гиперстимуляции яичников у пациенток программ экстракорпорального оплодотворения	73

<b>ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ</b>	85
<b>ВЫВОДЫ</b>	95
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ</b>	96
<b>СПИСОК ОСНОВНОЙ ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ</b>	97

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

- АгГнРг – агонист гонадотропин рилизинг гормона
- АМГ – антимюллеровый гормон
- АнтГнРг – антагонист гонадотропин рилизинг гормона
- АПФ – ангиотензин-превращающий фермент
- ВАК – Высшая аттестационная комиссия
- ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения
- ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ИКСИ – интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида
- ИЛ - интрелейкины
- ИППП – инфекции, передающиеся половым путем
- ИФА – иммуноферментный анализ
- КОС – контролируемая овариальная суперстимуляция
- ЛГ – лютеинизирующий гормон
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- ПЭ –перенос эмбрионов
- РААС – ренин – ангиотензин - альдостероновая система
- РАРЧ – Российская Ассоциация Репродукции Человека
- РДСВ – респираторный - дистресс синдром взрослых
- РКИ – рандомизированные контролируемые исследования
- РФ – Российская Федерация
- СПКЯ – синдром поликистозных яичников
- СЭФР – сосудисто-эндотелиальный фактор роста
- ТВП – трансвагинальная пункция
- ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии
- УЗИ – ультразвуковое исследование

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

ХГЧ – хорионический гонадотропин человека

ЭКГ – электрокардиограмма

ЭКО - экстракорпоральное оплодотворение

ЮГА – юктагломерулярный аппарат

AGT - ген ангиотензиногена

AGTR1 - ген рецептора 1-го типа к ангиотензинуII

AGTR2 - ген рецептора 2-го типа к ангиотензинуII

CYP 11B2 – ген альдостеронсинтазы

ESHRE - European Society of Human Reproduction and Embryology

NOS3 – ген эндотелиальной синтазы окиси азота

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность проблемы

Бесплодный брак остаётся одной из важнейших проблем человечества. По данным ВОЗ частота бесплодного брака составляет 15% от числа супружеских пар и не имеет тенденции к снижению.

По данным Министерства Здравоохранения Российской Федерации в стране зарегистрировано более пяти миллионов супружеских пар, из них более половины нуждаются в применении методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

Основой для этих методов является процедура экстракорпорального оплодотворения преовуляторных фолликулов и перенос дробящихся эмбрионов в полость матки (ЭКО и ПЭ).

Несмотря на то, что с момента рождения первого ребенка «из пробирки» Луизы Браун прошло всего 37 лет, а с момента получения физиологом Робертом Эвардсом Нобелевской премии за открытие методики экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов – всего пять лет, сегодня ЭКО является самым эффективным методом преодоления многих форм бесплодия.

Этот метод применяется при следующих формах бесплодия: трубно-перитонеальное, эндокринное, эндометриоз-ассоциированное, бесплодие неясного генеза, а также при некоторых формах мужского бесплодия.

Количество циклов ЭКО во всем мире неуклонно растёт. Так, по данным РАРЧ за 2012 год Россия вышла на третье место среди европейских стран по общему количеству циклов ВРТ. За 2012 г. было выполнено 62760 циклов ВРТ, то есть на один миллион населения выполнено 438,7 циклов ВРТ (в 2011 – 398,3 цикла).

Частота наступления беременности в циклах ВРТ за последние пять лет практически не изменилась. В программе ЭКО частота наступления беременности

в 2012 г. составила в расчете на цикл – 33% (2011 – 32,7%), на пункцию фолликулов – 34,3% (2011-34,2%), на перенос эмбрионов – 38,5% (2011 – 37,1%).

Нельзя оспорить, что метод оплодотворения «in vitro», созданный Р. Эдвардсом и П. Стептом, является революционным открытием в репродуктологии. Тысячи супружеских пар, обреченных ранее на бездетность, сегодня могут иметь здоровых детей. При этом метод ЭКО постоянно совершенствуется и оптимизируется с целью повышения его эффективности и, конечно, безопасности.

С увеличением циклов ЭКО во всем мире, в том числе в связи с расширением показаний к её проведению, растёт и процент ятрогенных осложнений, связанных с проведением процедуры. К сожалению, в России с 2008 года зарегистрировано четыре летальных исхода, связанных с проведением программы ЭКО. В связи с этим вопросы прогнозирования и профилактики осложнений программ ВРТ являются весьма актуальными.

Как и на заре становления репродуктивных технологий, наиболее серьезным и трудно предсказуемым осложнением является синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ). СГЯ – ятрогенное состояние, в основе которого лежит гиперергический неконтролируемый ответ яичников на экзогенное введение индукторов овуляции. Заболевание протекает с различной степенью тяжести и может заканчиваться летальными исходами, в связи с развившимися тромбоэмболическими осложнениями или респираторным-дистресс синдромом взрослых (РДСВ). Частота этой патологии варьирует от 0,5% до 33%, а уровень летальности составляет 1/450000-500000 женщин.

Профилактика развития синдрома гиперстимуляции яичников является неоспоримо чрезвычайно важной проблемой не только в связи с гибелью пациенток, но и по причине снижения эффективности процедуры ЭКО, формирования отдалённых последствий, ощутимыми экономическими потерями. До настоящего времени не предложено ни одного достаточно эффективного метода предупреждения этой патологии. Не существует абсолютно надежных способов, позволяющих полностью предотвратить развитие СГЯ у каждой

конкретной пациентки, поэтому определение степени риска синдрома являются приоритетными направлениями для научных исследований. Сложность в прогнозировании данного синдрома во многом определяется отсутствием ясности в патогенезе СГЯ.

Успехи молекулярной генетики, сделанные за последние десятилетия, открывают новые возможности для клинической медицины. В частности, с помощью молекулярно-генетических инструментов можно по-новому взглянуть не только на проблему бесплодия в целом, но и на роль фундаментальных генетических факторов в реализации программ ЭКО.

Особенностью многих вариантных генов является то, что они могут долгое время никак себя не проявлять. Патологические симптомы могут возникнуть при дополнительных условиях (гормональная стимуляция в протоколе ЭКО и ПЭ, беременность, образ жизни и т.д.). Выяснение этих дополнительных условий (средовых факторов) помогает эффективно предотвращать развитие заболеваний и их осложнений у носителей вариантных генов.

С начала XXI стали изучаться генетические предикторы ответа яичников на стимуляцию суперовуляции, как одного из важных звеньев успешного исхода программы ЭКО. Известны работы по исследованию полиморфизмов генов рецепторов фолликулостимулирующего гормона, лютеинизирующего гормона, эстрогенов, цитохрома P450, трансформирующих факторов роста (антимюллерового гормона и BMP15). Однако роль генетического фактора в развитии СГЯ по настоящее время остаётся малоизученной.

Особый интерес, с нашей точки зрения, представляют генетические полиморфизмы ренин-ангиотезин-альдостероновой системы (РААС) и метаболизма оксида азота, изменения, в которых играют ведущую роль в патогенезе данного синдрома. Исследуя полиморфизм генов, как фактор генетической предрасположенности к СГЯ, открываются новые горизонты в выявлении групп риска по развитию данного синдрома и оптимизации программ ЭКО и ПЭ для каждой пациентки.



### **Цель исследования**

Разработать метод прогнозирования синдрома гиперстимуляции яичников на основе изучения роли полиморфных вариантов генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и метаболизма оксида азота для повышения эффективности и безопасности программ вспомогательных репродуктивных технологий.

### **Задачи исследования**

1. Провести клинико-статистический анализ особенностей соматического и акушерско-гинекологического статуса пациенток исследуемых групп.
2. Изучить распространенность полиморфизмов генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и эндотелиальной дисфункции у пациенток исследуемых групп.
3. Провести сравнительный анализ уровней ренина, ангиотензина II, альдостерона в плазме крови у пациенток исследуемых групп.
4. На основании полученных данных разработать метод прогнозирования развития синдрома гиперстимуляции яичников в программах экстракорпорального оплодотворения.

### **Научная новизна**

Расширены знания о влиянии факторов риска, в том числе генетических предикторов, на риск развития синдрома гиперстимуляции яичников в программах экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов. Выявлены наиболее значимые прогностические факторы в плане вероятного развития синдрома гиперстимуляции яичников в программах вспомогательных репродуктивных технологий. В работе впервые проведена оценка прогностических возможностей полиморфизмов генов, регулирующих сосудистые реакции, в развитии синдрома гиперстимуляции яичников. Обнаружена ассоциация гетерозиготного генотипа -344СТ гена альдостеронсинтазы (CYP 11B2) с поздней формой СГЯ. В то же время выявлено, что носительство вариантного аллеля 1675 А гена AGTR2 (рецептора 2-го типа к

ангиотензину II) в гетеро - или гомозиготном состоянии уменьшает риск развития тяжёлой формы синдрома гиперстимуляции яичников практически в два раза. У пациентов с синдромом гиперстимуляции яичников выявлено достоверное повышение уровня ангиотензина II по сравнению с группой контроля.

### **Практическая значимость**

Оценена роль полиморфизмов генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и метаболизма оксида азота в развитии синдрома гиперстимуляции яичников, а также содержание ренина, ангиотензина II и альдостерона в плазме крови пациенток исследуемых групп. Разработан алгоритм прогнозирования синдрома гиперстимуляции яичников в программах экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов на основании решающего правила прогноза и предложены возможные пути его ранней профилактики.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты диссертационного исследования внедрены в работу отделений гинекологии и вспомогательных репродуктивных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации, МГБУ «Клинико-диагностический центр охраны здоровья матери и ребенка» Минздрава Свердловской области. Материалы диссертации используются в преподавании данного раздела на кафедре акушерства и гинекологии ФПК и ПП ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

### **Апробация работы**

Основные положения диссертационной работы доложены на научно-практической конференции «Инновационные технологии в охране здоровья матери и ребёнка» (5-6 декабря 2012г, Екатеринбург); III международной

научно-практической конференции ЭКО: неординарная клиническая практика (28 сентября 2013г, Екатеринбург); III конгрессе акушеров-гинекологов Уральского федерального округа, V Российско-Германский конгрессе акушеров-гинекологов «Репродуктивное здоровье в центре внимания медицинского сообщества» (14-16 октября 2013г, Екатеринбург); научно-практической конференции с международным участием «Нерешенные вопросы акушерства, гинекологии и перинатологии» (14-15 октября 2014г, Екатеринбург).

Получена премия Берлин-Бранденбургской академии наук «Sigrid und Heinz Hannse-Preis der Berlin-Brandenburgischen Academie der Wissenschaften» (28.11.2014, Германия, Потсдам). Оформлено заявления на патент «Способ прогнозирования синдрома гиперстимуляции яичников у пациенток программ экстракорпорального оплодотворения» (№ 2014124098/14, дата приоритета 11.06.2014).

Положения диссертации были представлены также на совместном заседании кафедр акушерства и гинекологии №1 ГБОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, акушерства и гинекологии №1 и №2 ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Казань, 2015).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано шесть печатных работ, из них три в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, для публикации результатов диссертационных работ.

### **Объём и структура исследования**

Диссертация изложена на 111 страницах машинописного текста, содержит 27 таблиц и 12 рисунков. Состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка

литературы. Список литературы включает 141 источник, из которых 116 зарубежных и 25 отечественных.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Наличие генетических полиморфизмов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы предрасполагает к развитию поздней формы синдрома гиперстимуляции яичников тяжёлой степени тяжести.

2. Учёт значимых факторов риска наряду с определением полиморфизмов генов альдостеронсинтазы, ангиотензиногена, рецепторов второго типа к ангиотензину II, способствует выявлению групп риска по развитию синдрома гиперстимуляции яичников в программах вспомогательных репродуктивных технологий.

3. У пациенток с синдромом гиперстимуляции яичников имеется повышение уровня ангиотензина II по сравнению с группой контроля ( $p=0,029$ ).

4. Использование правила прогнозирования синдрома гиперстимуляции яичников в программах экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов позволяет предвидеть возникновение данного осложнения с чувствительностью - 66,17% и специфичностью - 77,89%.

### **Личное участие автора**

Автор лично участвовал в отборе и ведении пациентов с синдромом гиперстимуляции яичников на амбулаторном и стационарном этапах, получении исходных данных и их интерпретации, проведении статистической обработки, подготовке публикаций по выполненной работе.

## ГЛАВА 1.

# СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭТИОЛОГИИ, ПАТОГЕНЕЗЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИИ СИНДРОМА ГИПЕРСТИМУЛЯЦИИ ЯИЧНИКОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

### 1.1. Терминология, эпидемиология и классификация синдрома гиперстимуляции яичников

В последние годы большое внимание уделяется безопасности проведения циклов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и снижению риска развития синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ).

Проводя индукцию суперовуляции и добиваясь одновременного созревания нескольких фолликулов, клиницисты сознательно выходят за рамки физиологических параметров, обеспечивающих фолликулогенез в яичниках. В норме организм женщин запрограммирован, как правило, на созревание только одного преовуляторного ооцита и моноовуляцию. Таким образом, выход за рамки физиологических параметров процесса роста и созревания фолликулов у части пациенток в циклах индукции суперовуляции создаёт условия для развития СГЯ.

СГЯ можно охарактеризовать как системное заболевание, развивающееся в результате активации продукции вазоактивных медиаторов яичниками, на фоне стимуляции их функции в программах вспомогательных репродуктивных технологий [108]. В некоторых случаях синдром может манифестировать после индукции овуляции кломифеном или при наступлении беременности в спонтанном цикле. Считается, что пусковым фактором развития СГЯ является введение овуляторной дозы хорионического гонадотропина (ХГ), хотя в некоторых исследованиях сообщено о развитии СГЯ после стимуляции гонатотропинами без назначения ХГ [11].

#### Эпидемиология

Частота СГЯ варьирует от 0,5% до 33% при различных схемах стимуляции овуляции и не имеет тенденции к снижению. Тяжелые формы синдрома, требующие госпитализации в стационар встречаются в 0,2-10% случаев [31].

Заболевание протекает с различной степенью тяжести и может заканчиваться летальными исходами, в связи с развившимися тромбоэмболическими осложнениями или респираторно-дистресс синдромом взрослых (РДСВ) [60, 63]. Ожидаемая летальность 1/450000-500000 женщин [45].

В основе клинических проявлений СГЯ лежит резкое повышение сосудистой проницаемости, приводящее к массивному выходу жидкости в «третье» пространство [39].

Активная экссудация плазмы крови обуславливает формирование полисерозитов (асцита, гидроторакса, гидроперикарда), провоцирует развитие гиповолемии, осложняющейся снижением артериального давления, нарушениями микроциркуляции и снижением почечной фильтрации, а также способствует нарастанию гемоконцентрации, повышающей риск тромбозов.

В особенно тяжёлых случаях проявления СГЯ сопровождаются тромбоэмболиями магистральных сосудов, острой почечной недостаточностью, печеночной дисфункцией, острым респираторным дистресс-синдромом взрослых (РДСВ), что может стать причиной летального исхода [41, 42].

Помимо опасности для женщины, средние и, в особенности, тяжелые проявления СГЯ создают неблагоприятные условия и для развития имплантировавшегося эмбриона.

Следствием этого становится и возрастание частоты ранних репродуктивных потерь, что особенно заметно у беременных с тяжелой формой СГЯ. Так, по наблюдению отдельных специалистов, репродуктивные потери у пациенток программ ЭКО с СГЯ средней и тяжёлой степени могут достигать 26,7% или даже доходить до 67,4%, тогда как у женщин без СГЯ или с его лёгкой формой они не превышают 10-15% [16, 18].

## 1.2. Классификация синдрома гиперстимуляции яичников

Первая детальная классификация СГЯ, предложенная и описанная в научной литературе Rebau и соавт. в 1967 г., была основана главным образом на ответе яичников. Дальнейшие классификации, предложенные ВОЗ (1973), Shenker и Weinstein (1978), уделяли большое внимание клиническим симптомам СГЯ с развитием ВРТ. Golan A. и соавт. предложили новую систему, которая стала применяться наиболее часто.

Следующее обновление классификации было проведено D. Navot и соавт. в 1992 г. с целью разграничить тяжёлую и критическую формы СГЯ. Это было очень важным для определения тяжести течения данного синдрома, а также для подбора терапии. Согласно данной классификации СГЯ лёгкой степени тяжести включает пациенток со слабыми проявлениями СГЯ, не требовавшими лечения и госпитализации (абдоминальный дискомфорт, незначительное вздутие живота, увеличение размеров яичников до 8 см). Общее состояние больных удовлетворительное. Лабораторные показатели в норме или незначительно отклонены от нормы. Существует общее мнение, что в циклах ВРТ развитие лёгкой формы СГЯ является обычной клинической ситуацией. Хотя эта форма и включена в классическую классификацию СГЯ, но она наблюдается в той или иной степени практически во всех циклах стимуляции суперовуляции.

У пациенток с СГЯ средней степени тяжести развиваются такие клинические симптомы, как вздутие живота, дискомфорт, тянущая боль в животе, тошнота, рвота и диарея. Инструментально-лабораторные проявления СГЯ средней степени тяжести: асцит (наличие свободной жидкости под печенью и/или в левом подреберье), размер яичников 8-12 см, гематокрит  $<45\%$ , лейкоцитоз  $<15000 \cdot 10^9/\text{л}$ , гиперкоагуляция (гиперфибриногенемия  $> 5,5$  г/л, увеличение концентрации Д-димеров. Пациентки с СГЯ средней степени тяжести требуют госпитализации в стационар.

СГЯ тяжёлой степени тяжести. Присутствуют клинические признаки, характерные для СГЯ средней степени тяжести. Пациентки жалуются на сухость во рту, затруднение дыхания, сухой кашель, редкое мочеиспускание, ухудшение

памяти. При объективном исследовании отмечаются бледность и сухость кожных покровов, одышка, тахикардия. Живот увеличен в объеме за счет выраженного асцита, в ряде случаев – умеренно болезненный при пальпации. Симптомов раздражения брюшины нет. Расстройства гемодинамики органов малого таза может проявляться отёком наружных половых органов. Асцит, как правило, сочетается с выпотом в плевральные или перикардальную полости, вплоть до развития анасарки. Размер яичников при ультразвуковом исследовании составляет более 12 см. По лабораторным показателям отмечают гемоконцентрацию, гипопроотеинемию, электролитный дисбаланс. Величина гематокрита  $> 45\%$ , число лейкоцитов  $> 15000 \cdot 10^9/\text{л}$ . Отмечаются признаки дисфункции печени: повышение уровня трансаминаз в 2 и более раз (АЛТ, АСТ), щелочной фосфатазы, билирубина. Всегда изменяются коагуляционные параметры крови в сторону гиперкоагуляции.

Клинические проявления при критической степени СГЯ: выраженные болевые ощущения в полости живота или перитонеальные симптомы, неустраняемые тошнота и рвота, тяжёлая олигурия или анурия, напряженные асцит и/или гидроторакс, диспноэ или тахипноэ, гипотензия, головокружение или обмороки, неврологическая симптоматика, тяжёлые нарушения электролитного баланса, гемоконцентрация и отклонения параметров печеночной функции. Лабораторные изменения: гематокрит  $> 55\%$ , лейкоцитоз  $> 25000 \cdot 10^9/\text{л}$  и креатинин  $> 1,5$  мкмоль/л [136]. С учётом начала клинических проявлений выделяют раннюю и позднюю формы СГЯ, которые по критерию ряда предрасполагающих факторов и связанных с ними особенностей патогенеза рассматриваются как два различных состояния [21].

Клинические проявления раннего СГЯ ассоциируются с последовательным введением индукторов фолликулогенеза и назначением овуляторной дозы человеческого хорионического гонадотропина (чХГ). Лёгкая степень раннего СГЯ, как правило, регистрируется уже к моменту введения чХГ у большинства пациенток. Важно отметить, что симптомы раннего СГЯ средней и тяжёлой степени возникают в первые 9 дней после пункции фолликулов и лишь в очень



редких случаях – до введения чХГ. В случае наступления беременности спровоцированные ранним СГЯ расстройства имеют тенденцию к последующему усугублению. Однако если беременность не наступает, симптомы раннего СГЯ при любой степени его выраженности исчезают резко и спонтанно к моменту начала очередной менструации. Лишь у отдельных пациенток на фоне отсутствующей беременности может иметь место задержка разрешения симптоматики раннего СГЯ или даже прогрессирование.

Диагноз позднего СГЯ принято подтверждать при развитии данного синдрома на сроках более 9 дней после пункции фолликулов. Данная форма начинает манифестировать в ранние сроки беременности и связывается с началом активной продукции эндогенного ХГ [9].

Считается, что самые тяжёлые формы СГЯ возникают на фоне наступившей беременности, однако в литературе описано три случая летальных исходов при раннем СГЯ, где перенос эмбриона был отменён - выполнена их криоконсервация [44].

Согласно предложенным классификациям, Golan (1989 г) и J. Schenker (1995г), основными критериями для установления степени тяжести синдрома, являются размер яичников, клинические и ультразвуковые признаки асцита и гидроторакса. Однако размер яичников может не коррелировать со степенью тяжести СГЯ в программах вспомогательных репродуктивных технологий в связи с проведением пункции фолликулов. Известно, что у 70% женщин с СГЯ средней и тяжелой степени тяжести на фоне асцита появляется плевральный выпот. Асцитическая жидкость способна проникать в плевральную полость по ходу грудного лимфатического протока, следующего в средостение через аортальную щель диафрагмы. Таким образом, асцит также не является обязательным проявлением СГЯ, так как в некоторых случаях синдром протекает только с явлениями гидроторакса. Впервые случай манифестации СГЯ в виде изолированного гидроторакса был описан в 1975 г. [91].

Сегодня классификация СГЯ требует усовершенствования и создания более четких критериев степени тяжести синдрома. Это представляется непростой задачей, поскольку клиническая картина синдрома столь многообразна, что

постоянно вводит в заблуждение врачей многих специальностей. Необходимо дальнейшее изучение синдрома, его патогенеза и клинических проявлений, так как, несмотря на все возможные методы его профилактики, СГЯ остаётся серьёзным осложнением программ ВРТ.

### **Осложнения СГЯ**

СГЯ характеризуется широким спектром клинических и лабораторных проявлений: от лёгких биохимических изменений, связанных с увеличением секреции половых стероидных гормонов, до выраженных нарушений гомеостаза.

С момента применения гонадотропинов для стимуляции овуляции в литературе описано несколько летальных случаев, связанных с СГЯ [107, 50]. Впервые летальные исходы при СГЯ описаны Cotzshe в 1951 г. [66] и Figueroa-Casas в 1958 г. [69]. Так, Serour G. описал случай смерти при СГЯ средней степени тяжести от почечно-печеночной недостаточности [130]; Semba S. - случай смерти 28-летней жительницы Японии от отека легких, на аутопсии были обнаружены отек легких и двусторонний плевральный выпот, без каких-либо признаков ТЭЛА [129].

СГЯ может протекать с развитием тромбоэмболических осложнений. Причина возникновения тромбоза при СГЯ остается неизвестной, однако основную роль в патогенез этого состояния играет высокая концентрация эстрогенов, гемоконцентрация и снижение объема циркулирующей плазмы. Длительные сроки госпитализации, ограничение двигательной активности, снижение венозного возврата в связи с увеличением яичников, повышение активности факторов свертывающей системы, ингибиторов фибринолиза и тромбоцитов вносят дополнительный вклад в высокий риск развития тромботических осложнений в связи с СГЯ. Продемонстрировано, что у женщин с тромбоэмболическими осложнениями, возникшими после проведения стимуляции суперовуляции в программах ВРТ, их развитие у 84% происходило на фоне беременности. В 84% тромбообразование отмечали в венозном русле с преимущественной локализацией в сосудах верхней конечности, шеи и головы

(60%), однако у ряда больных был диагностирован спонтанный артериальный тромбоз с локализацией в сосудах головного мозга. Реже отмечали образование тромбов в бедренно-подколенных, сонных, подключичных, подвздошных, локтевых, брыжеечных артериях и аорте. В литературе представлен случай развития у женщины с СГЯ окклюзии центральной артерии сетчатки с не восстановившейся впоследствии потерей зрения. Частота развития эмболии легочной артерии у пациенток с СГЯ и тромбозом глубоких вен нижних конечностей составляет 29%, в то время как у женщин с СГЯ и тромбозом глубоких вен верхних конечностей и артериальным тромбозом риск этого осложнения значительно ниже и составляет 4% и 8%, соответственно [37].

При ранней форме СГЯ, в отсутствии переноса эмбриона в стимулированном цикле, описаны нефротический синдром и случай перфорации язвы при язвенной болезни желудочно-кишечного тракта [1].

### **1.3. Особенности патогенеза синдрома гиперстимуляции яичников**

В литературе обсуждается множество гипотез формирования СГЯ [123, 100]. В то же время факторы, играющие ведущую роль в генерализованном повреждении эндотелия и увеличении сосудистой проницаемости при СГЯ, до сегодняшнего дня четко не определены, что затрудняет разработку патогенетических подходов к лечению.

В настоящее время патофизиология синдрома изучается в трёх основных направлениях:

1. активация ренин-ангиотензиновой системы;
2. взаимосвязи иммунной системы и яичников;
3. роль сосудисто-эндотелиального фактора роста (СЭФР).

Предпосылкой для изучения роли ренин-ангиотензиновой системы (РАС) в патогенезе СГЯ послужили исследования, в которых было обнаружено высокое содержание проренина, ангиотензина I, ангиотензинконвертирующего фермента (АПФ) и ангиотензина II в фолликулярной жидкости человека и высокая активность ренина плазмы при СГЯ. Известно, что ангиотензины, особенно

ангиотензин II, активизируют вазоконстрикцию, биосинтез альдостерона и простагландинов, участвуют в стероидогенезе, усиливают проницаемость сосудов и неоваскуляризацию [31, 110, 124].

Компоненты ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) относятся к основным регуляторам сосудистого тонуса, артериального давления, функционального состояния сердца электролитного и кислотно-основного равновесия, а также баланса натрия. Основными компонентами РААС являются ренин, ангиотензиноген (ренин-субстрат), ангиотензинпревращающий фермент, ангиотензин I, ангиотензин II и альдостерон.

Ренин – высокоспецифический протеолитический фермент, который синтезируется и секретируется специфическими клетками юкта гломерулярного аппарата (ЮГА) почек. Секреция ренина ЮГА регулируется четырьмя механизмами: артериальным давлением в почечных артериях, активностью симпатической нервной системы, балансом натрия и негативным фидбек-механизмом ангиотензина II. Высвобождение ренина увеличивается в ответ на ограничение поступления натрия, уменьшение объема плазмы, снижение перфузионного давления в почках и при переходе в вертикальное положение тела. Следствием активации симпатической нервной системы считают опосредованное  $\beta$ -адренорецепторами высвобождение ренина почками, что, в свою очередь, повышает уровень ангиотензина.

Ренин встречается в двух основных формах: обыкновенный ренин с молекулярной массой около 40 000 Да и связанный, или «большой», ренин с молекулярной массой около 60 000 Да. Обе формы ренина обнаружены в плазме крови и экстрактах почечной ткани. «Большой» ренин (проренин) представляет собой неактивную форму фермента при физиологических значениях pH, он приобретает активность после воздействия среды с кислой pH или кислыми протеазами. Ренин свободно фильтруется почками и почти полностью реабсорбируется почечными канальцами. Инактивируется этот фермент главным образом в печени.

Ангиотензиноген – гликопротеин с молекулярной массой 57 000 Да, который синтезируется в печени и поступает в кровоток. Активный ренин воздействует на

циркулирующий в плазме крови ангиотензиноген и расщепляет его с образованием декапептида ангиотензина I с молекулярной массой около 1300 Да.

Последний не обладает вазопрессорной активностью, так как является физиологически неактивным прогормоном. Концентрация ангиотензина I в крови зависит от уровня секреции ренина ЮГА. Установлен факт преобразования неактивного ангиотензина I в активный сосудосуживающий фактор – ангиотензин II, которое осуществляется с участием ангиотензинпревращающего фермента (АПФ). Угнетение АПФ сопровождается уменьшением образования ангиотензина II, секреции альдостерона и деградации брадикинина. АПФ представляет собой цинксодержащий гликопротеин (дипептидил-карбокси-пептидаза), который образуется в поверхностной мембране эндотелиальных клеток сосудов легких и почек, инактивирует ангиотензин I. В результате отщепления двух С-терминальных аминокислот ангиотензин I превращается в стойкий биологически активный октапептид – ангиотензин II.

Ангиотензин II – гормональный продукт системы ренин-ангиотензин с коротким периодом полужизни в организме (15–20 с). Это наиболее сильный вазопрессорный фактор, осуществляющий свое действие через гладкие мышечные волокна сосудистой стенки. Ангиотензин II обладает мощным вазоконстрикторным действием, в почках он вызывает более выраженную констрикцию эфферентных артериол, чем афферентных, благодаря чему способствует повышению гломерулярного давления и усилению фильтрации жидкости из крови.

Альдостерон – основной минералокортикоидный гормон, синтезируемый в клубочковой зоне коркового вещества надпочечных желез, высвобождается под действием ангиотензина II и калия, действует через соответствующие минералокортикоидные рецепторы. Главная физиологическая роль альдостерона состоит в регуляции водно-солевого обмена, он задерживает натрий и воду в организме, повышает выделение из организма калия. Альдостерон стимулирует транспорт ионов калия и натрия через клеточные мембраны, усиливает фильтрацию в клубочках почек (рис. 1).



Рисунок 1. Взаимосвязь объемной и калиевой петель обратной связи в их действии на секрецию альдостерона

На долю альдостерона приходится 70 % минералокортикоидной активности [25]. Среди гормонов на втором месте по выраженности минералокортикоидного действия – дезоксикортикостерон, биологическая активность которого значительно меньше, чем альдостерона. Он секретируется корковым веществом надпочечных желез.

Многочисленными исследованиями установлена ведущая роль ренина и ангиотензина II в развитии асцитов при тяжелой форме СГЯ. Повышение данных гормонов обнаружено в плазме крови и асцитической жидкости у пациенток с данной патологией [109].

Накоплено достаточно данных, указывающих на локальную активность системы ренин-ангиотензин в яичниках. Известно, что 90% циркулирующего ренина в плазме крови представлено проренином. Синтез проренина, высокомолекулярного предшественника ренина, осуществляется в различных органах, первую очередь, в почках [115], а также в яичниках и плаценте [114]. Исследования, выполненные в рамках программы экстракорпорального оплодотворения, показали, что в стимулированных циклах в ответ на введение ХГ уровень проренина повышается. Пик этого повышения наблюдается дважды –

через 36 ч и на 4-6 день после введения ХГ. В случаях с наступившей беременностью наблюдали падение уровня проренина на 3-5 день после переноса эмбриона с дальнейшим повышением его на 8-12 день - в срок, соответствующий началу секреции эндогенного ХГ [57, 106]. Предполагают, что протеазы асцитической жидкости способны активировать конверсию проренина в ренин. R. Haning и соавт. [84] при СГЯ обнаружили высокий уровень альдостерона и ренина в плазме крови, а также выявили его связь с антидиуретическим гормоном. Авторами установлена прямая коррелятивная зависимость между рениновой активностью плазмы и тяжестью синдрома. Аналогичная зависимость установлена также между увеличением концентрации проренина и тяжестью синдрома [113]. В ряде работ было описано, что у больных с СГЯ восстановление объёма циркулирующей крови не приводит к снижению повышенной концентрации альдостерона и активности ренина плазмы, что может свидетельствовать о первичности этих изменений и указывает на их яичниковое происхождение [90].

Таким образом, ренин, воздействуя на ангиотензин, высвобождает ангиотензин I, который расщепляется ангиотензинконвертирующим ферментом с образованием ангиотензина II. Ангиотензин II, являясь мощным вазоконстриктором, вызывает сокращение артерий, что приводит к повышению систолического и диастолического давления. Кроме того, ангиотензин II напрямую воздействует на кору надпочечников, повышая секрецию альдостерона, и на периферические адренергические нейроны, способствуя синтезу и высвобождению катехоламинов. В артериях ангиотензин II увеличивает проницаемость сосудистой стенки, способствует образованию новых сосудов (неоваскуляризации), стимулирует высвобождение простагландинов [11].

Особенности иммунного гомеостаза у пациенток с СГЯ интенсивно исследуются. Высокий уровень интерлейкинов (ИЛ)-1, -2, -6, -8, фактора некроза опухоли (ФНО) и СЭФР обнаружен в фолликулярной жидкости, плазме крови и перитонеальной жидкости женщин с СГЯ. Тем не менее составить чёткие представления о причинно-следственной взаимосвязи яичникового ответа и

иммунной системы пока не представляется возможным. А. Glianaroli и соавт. (1997) высказывают предположение, что секретируемые гиперстимулированными яичниками интерлейкины могут проникать из фолликулярной жидкости во внутреннюю среду организма (кровь, лимфу, тканевую жидкость) и оказывать своё влияние на неоангиогенез. В пользу этого предположения свидетельствует положительный терапевтический эффект аспирации асцитической жидкости, содержащей большое количество цитокинов [22].

Одним из звеньев патогенеза как раннего СГЯ, так и позднего СГЯ является усиление эффектов ряда системных регулирующих биологически активных веществ, избыточно продуцируемых гормонально-зависимыми структурами яичников в случае повышения чувствительности рецепторного аппарата таких структур к стимулирующему влиянию фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и/или ХГ [59, 74]. При этом для раннего СГЯ на фоне быстрого нарастания уровня эстрадиола типично увеличение чувствительности яичников одновременно к ФСГ и ХГ. Для позднего СГЯ характерно увеличение чувствительности только к ХГ.

Причиной избыточной чувствительности гормонально-зависимых структур яичников к ФСГ и/или к ХГ, вероятно, является увеличение плотности экспрессии или конформационные изменения соответствующих типов рецепторов, усиливающие их воспринимающую и трансмиттерную функции [94]. Последствием этого становится гиперергическая реакция яичников на повышения уровня ФСГ и/или ХГ, которая проявляется в виде активной продукции системных регулирующих биологически активных веществ (БАВ), потенцирующих увеличение проницаемости сосудистого эндотелия в оболочках серозных полостей. К таким БАВ относят многие интерлейкины (ИЛ-1, -6, -8, -10), ангиотензин III [48, 36], а также сосудисто-эндотелиальный фактор роста (СЭФР/VEGF). Перечисленные субстанции способствуют усилению экссудации за счёт активации локального образования простагландинов, гистамина, оксида азота и других медиаторов воспаления, непосредственно увеличивающих



порозность эндотелия сосудов серозных оболочек, в особенности в перитонеальной полости [100, 134, 74].

Исследования, посвященные изучению роли СЭФР в патогенезе СГЯ, многочисленны и противоречивы [7]. По данным ряда авторов развитие тяжелых форм СГЯ сопровождается повышенной концентрацией СЭФР в сыворотке крови. Другие исследователи обнаружили высокий уровень СЭФР у пациенток как с развившимся синдромом гиперстимуляции яичников, так и без него [9].

СЭФР – мультифункциональный цитокин, обладающий высокой специфичностью к эндотелиальным клеткам [68, 80]. Он является не только медиатором ангиогенеза в репродуктивной системе, но и важным стимулятором сосудистой проницаемости. В физиологических условиях этот белок плазмы крови, присутствующий в фолликулярной жидкости, играет важную роль в моделировании процесса овуляции и поддержании функционирования жёлтого тела, благодаря наличию рецепторов к СЭФР на тека-клетках здоровых фолликулов [79]. Известно, что синтезировать оксид азота способны многие клетки организма. Так, оксид азота синтезируется в трофобласте, плаценте и миометрии [28]. Существуют данные, что полиморфизмы этого гена играют роль при невынашивании беременности, особенно, в сочетании с другими неблагоприятными полиморфизмами (в генах тромбофилии и генах артериальной гипертензии) [13]. Также существует ассоциация между полиморфизмами в гене NOS3 и акушерскими осложнениями, например преэклампсией [2].

До недавнего времени предполагали, что повышенная концентрация СЭФР является специфическим биохимическим маркером высокого риска развития СГЯ, однако в исследованиях В. McElhinney и соавт. эта гипотеза была опровергнута. Высокий уровень СЭФР был обнаружен у пациенток как с развившимся СГЯ, так и без него, в связи с чем, авторы предположили, что существует вещество-ингибитор СЭФР, блокирующее его связывание с рецепторами, и, как показали исследования, этим веществом является  $\alpha$ 2-макроглобулин. Различия в концентрациях этого естественного ингибитора могут объяснить различную вероятность развития СГЯ при одинаковом яичниковом ответе [102, 125].

В последнее время исследуется генетическая предрасположенность к развитию СГЯ. Существуют работы по исследованию генов рецепторов фолликулостимулирующего гормона, лютеинизирующего гормона, эстрогенов, цитохрома P450, трансформирующих факторов роста (антимюллерового гормона и BMP15) [32].

Особое внимание уделяется структуре рецепторов фолликулостимулирующего гормона (ФСГ). ФСГ играет ведущую роль в оогенезе человека, стимулируя пролиферацию клеток гранулёзы и способствуя трансформации ткани, окружающей фолликул, в слой текаклеток, регулируя, таким образом, дифференцировку и организацию стероидпродуцирующих тканей фолликула [38].

Действие ФСГ опосредуется через рецепторы ФСГ, поэтому изучение мутаций в данном гене представлялось интересным в плане выявления возможных причин бесплодия. Активирующие мутации (Asp567>Asn, Thr449>Ile, Thr449>Ala, Ile545>Thr) придают рецепторам ФСГ более высокую чувствительность к ФСГ, что делает их активными даже в отсутствии лиганда, вызывая неспецифическую реакцию на другие гонадотропные гормоны (тиреотропный гормон, хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) и другие). Эти мутации могут обуславливать предрасположенность к СГЯ [55, 56, 105]. Результаты исследований продемонстрировали, что генотип рецептора ФСГ ответственен за развитие преимущественно спонтанного СГЯ, в то время как полиморфизм Asn 680 в гене рецептора ФСГ ассоциируется с риском ятрогенного СГЯ тяжёлой степени тяжести [51, 99].

В работах Binder и др. описан полиморфизм Ile160Thr рецептора ФСГ, характерный для пациентов с СГЯ [42]. Интересный факт был обнаружен в ходе двух независимых исследований, что для пациентов с СГЯ характерно сочетание аллелей 680 Ser и 307 Ala. [27, 52]. Так, женщины-носители аллеля 307 Ala имеют большее количество антральных фолликулов и более угрожаемые на развитие СГЯ, чем носители аллеля 680 Ser. Основываясь на этих данных, авторы подчеркнули различия в патогенезе спонтанного и ятрогенного СГЯ и представили хронологические модели развития двух форм синдрома. При

ятрогенном СГЯ процессы роста и развития фолликулов инициируются в программах стимуляции с помощью экзогенного ФСГ, в то время как при спонтанном развитии синдрома активация роста фолликулов в яичниках происходит позднее под действием продуцируемого на фоне беременности хорионического гонадотропина человека, стимулирующего рецепторы ФСГ. Массивная лютеинизация и интенсивный выброс вазоактивных медиаторов приводит к развитию клинической картины СГЯ в обоих вариантах [138].

Известен ряд работ по изучению генов рецептора лютеинизирующего гормона. Одни из них описывают ассоциацию между полиморфизмами 18insLeuGln, Asn291Ser, Ser312Asn гена рецептора лютеинизирующего гомона и риском развития СГЯ [117, 118, 119, 132], другие – опровергают эту связь [94].

Предполагая роль гена гидроксилазы CYP11A1, фермента коры надпочечников, преобразующего холестерол в прегненолон [20], в патогенезе СГЯ, Ferk с соавт. изучали полиморфизм TTTTAn гена CYP11A1 у больных СГЯ [67]. Несмотря на взаимосвязь данного полиморфизма с гиперандрогенией и синдромом поликистозных яичников [75], достоверных данных о роли полиморфизмов гена CYP11A1 в развитии СГЯ получено не было.

Перспективным является исследование генетических полиморфизмов представителей семейства трансформирующих факторов роста, антимюллерового гормона, BMP 15 и других [42]. Представляют они собой протеины, синтезируемые яичником и играющие важную роль в росте фолликулов и созревании яйцеклетки [96]. Наиболее изучен антимюллеровый гормон (АМГ) как представитель семейства трансформирующих факторов роста, синтезируемый гранулёзными клетками примордиальных и антральных фолликулов, и оказывающий своё влияние через рецепторы АМГ второго типа [140].

Существует только одно исследование, подтверждающее влияние полиморфизмов генов АМГ (Ile49Ser) и рецепторов АМГ второго типа (-482A/G) на уровень эстрадиола в фолликулярную фазу и повышенную чувствительность фолликулов к фолликулостимулирующему гормону [95]. В работах Hanevik с

соавт. не была обнаружена связь между генетическими полиморфизмами АМГ и ответом яичников на стимуляцию суперовуляции [82].

Фактор BMP15 продуцируется ооцитом на ранних стадиях фолликулогенеза [26]. Описано, что аллели гена BMP15 (-673C/T, -9C/G, IVS1+, 905A/G) связаны с ростом большего количества фолликулов во время стимуляции суперовуляции. Однако взаимосвязь между риском развития СГЯ и полиморфизмами BMP15 не была выявлена [32].

Условно патогенез развития СГЯ можно представить следующим образом: в результате активации системы ренин-ангиотензин при участии цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, фактора некроза опухолей и СЭФР) в яичниках образуется новая сосудистая сеть с высокой порозностью стенок, через которое и происходит массивный выход плазмы из сосудистого русла в третье пространство, что ведет к гиповолемии и гемоконцентрации, большим потерям белка, формированию полисерозитов, нарушению почечной перфузии, развитию РДСВ и тромбоэмболическим осложнениям [3, 76, 126].

#### **1.4. Критерии прогнозирования синдрома гиперстимуляции яичников**

Не существует абсолютных критериев, позволяющих предотвратить развитие СГЯ у каждой пациентки, поэтому прогнозирование и проведение ранней профилактики являются приоритетными направлениями для дальнейших исследований [22].

В основе прогнозирования и профилактики СГЯ лежит динамический ультразвуковой и гормональный мониторинг в циклах индукции овуляции, определяющий индивидуальное ведение каждой конкретной пациентки с учётом фоновых факторов риска развития синдрома и ответа яичников на гонадотропную стимуляцию.

Для практической деятельности особое значение имеет определение факторов риска развития СГЯ. К ним относятся:

Факторы риска до начала стимуляции функции яичников.

- Возраст до 30 лет [64].

- Масса тела. Избыточная масса тела может снижать риск развития синдрома у женщин старше 30 лет, однако у пациенток молодого возраста (до 30 лет) этот фактор прогностически не значим [110].

- Мультифолликулярные яичники объёмом более 15 см<sup>3</sup> при числе антральных фолликулов более 10 и уровне эстрадиола в раннюю фолликулиновую фазу цикла более 190 пмоль/л [104].

- Синдром поликистозных яичников [46].

- Наличие большого количества незрелых фолликулов, сопутствующих доминантному в момент введения овуляторной дозы хорионического гонадотропина (ХГ).

- Схема стимуляции суперовуляции с применением агониста гонадотропин-рилизинг гормонов (а-ГнРГ), так как в таком случае происходит рост и развитие более значительного количества фолликулов, продуцирующих эстрадиол [47].

- СГЯ в анамнезе [141].

Факторы риска в период стимуляции функции яичников.

- Развитие 10 фолликулов и более в каждом яичнике размером > 12 мм [43].

- Высокий уровень эстрадиола [83].

- Быстрый рост фолликулов [21].

- Количество полученных при трансвагинальной пункции яйцеклеток [92].

- уровень СЭФР-А в сыворотке крови в дни введения триггера овуляции и проведения трансвагинальной пункции фолликулов в период программы ВРТ; по данным научной литературы, целесообразность и эффективность определения СЭФР для раннего прогнозирования синдрома гиперстимуляции яичников позволяет снизить в 1,6 раза частоту развития СГЯ в программе ЭКО и ПЭ [6].

Первым шагом на пути профилактики СГЯ является правильная подготовка пациентов к программе ЭКО и ПЭ.

Ввиду возможных осложнений в программах ВРТ, одним из которых является СГЯ, считается необходимым проводить комплексное обследование

пациенток ещё до начала стимуляции суперовуляции и их тщательный отбор для программы ЭКО и ПЭ.

Следующим шагом в профилактике СГЯ является распределение пациенток по группам риска развития СГЯ на основе предварительной оценки исходного функционального состояния репродуктивной системы, эндокринного статуса и правильного выбора схемы стимуляции суперовуляции [11].

Наиболее высок риск развития СГЯ при применении гонадотропин-рилизинг-гормона (а-ГнРГ) в длинном протоколе, на фоне которого частота средних и тяжёлых проявлений СГЯ может достигать соответственно 33 и 10% [14]. Существующие более «мягкие» схемы стимуляции овуляции могут в той или иной мере снижать (но не устранять) риск СГЯ, однако при этом они одновременно увеличивают вероятность бедного ответа, то есть созревание менее 4 фолликулов более 18 мм в диаметре к моменту введения триггера овуляции чХГ. Возрастание частоты бедного ответа крайне негативно влияет на терапевтическую эффективность ЭКО, то есть на показатель частоты наступления беременности, из-за частой невозможности получения (для последующего переноса в матку) хотя бы двух или даже единственного эмбриона хорошего качества из-за слишком малого числа выделенных ооцитов [10].

На современном этапе при стимуляции суперовуляции многие авторы рекомендуют следующие методы профилактики:

1. Отмену или снижение овуляторной дозы ХГ в качестве триггера овуляции при высоких значениях эстрадиола в сыворотке крови (более 1500 пг/мл) [111];

2. Прекращение стимуляции суперовуляции при наличии большого количества (более 15) мелких и средних фолликулов [70, 121];

3. Индивидуальное сокращение дозы вводимого препарата чМГ (пациентки, у которых имеется склонность к развитию СГЯ, очень чувствительны к стимуляции препаратами чМГ).

4. Отмена «овуляторной» дозы ХГ и его «поддерживающих» доз при развитии гиперстимуляции, так как введение препаратов ХГ является критическим моментом для запуска развития СГЯ [45].

5. Замена триггера овуляции на а-ГнРГ, что приводит к более низкой частоте развития СГЯ по сравнению с таковой при использовании более длительно действующего ХГ. В группе пациентов с высоким риском развития СГЯ применение а-ГнРг является оправданным, несмотря на некоторое снижение промежуточных исходов ВРТ (частота оплодотворения, дробления, выхода бластоцист) [1]. Несмотря на то, что, по мнению ряда авторов, замена триггера овуляции позволит решить проблему СГЯ, в литературе описаны случаи формирования СГЯ тяжёлой степени в виде стойкого нефротического синдрома после использования агониста гонадолиберина в качестве триггера овуляции [65].

6. Трансвагинальная пункция и аспирация максимального количества фолликулов и кист, возникших во время стимуляции [71].

7. «Coasting» является одним из наиболее эффективных методов профилактики СГЯ [131, 62]. Он заключается в отмене введения экзогенных гонадотропинов и чХГ до снижения уровня эстрадиола ниже критического. Этот метод широко используется во многих клиниках. Преимуществами «coasting» является: цикл не отменяется; метод позволяет переносить свежие эмбрионы; не требуется выполнения каких-либо процедур или дополнительного лечения; экономичная целесообразность [22]. По данным литературы, частота клинической беременности в циклах применения «coasting» составляет от 24 до 35%.

8. Отмена переноса эмбрионов, криоконсервация эмбрионов с дальнейшим переносом в полость матки в последующем менструальном цикле. Эта методика предотвращает развитие позднего СГЯ, ассоциированного с беременностью, однако введение триггера овуляции может всё же привести к развитию тяжёлого СГЯ у пациенток с «экстремальным» ответом яичников на проводимую стимуляцию [135].

9. Применение селективных агонистов дофаминовых D2-рецепторов, к числу которых относятся такие препараты, как каберголин (достинекс) и

хинаголид (норпролак). Их профилактический эффект объясняют способностью блокировать взаимодействие СЭФР, усиленно образующегося при СГЯ, с его специфическими рецепторами 2-го типа (VEGF-R2), расположенными на эндотелии [34, 35]. Обеспечиваемая таким путём блокада эффектов СЭФР сопровождается уменьшением сосудистой проницаемости, то есть способствует устранению нарушения, имеющего ключевое значение в патогенезе клинических проявлений СГЯ. Так, по сообщению С. Alvarez и соавт., назначение каберголина сразу после инъекции чХГ в дозе 0,5 мг орально в течение 8 дней лицам с угрозой СГЯ (с 20-30 растущими фолликулами диаметром более 12 мм) в сравнении с плацебо обеспечивало двухкратное уменьшение частоты среднего и тяжёлого СГЯ (с 5 до 24,1%), а у пациенток с асцитом – в 2 раза сокращало объем перитонеального выпота.

К сожалению, данные, касающиеся вклада различных факторов в развитие СГЯ, противоречивы, а главной проблемой, затрудняющей прогнозирование, является отсутствие коррелятивной зависимости между развитием СГЯ и параметрами яичникового ответа. В то же время использование низкодозовых протоколов индукции овуляции с помощью рекомбинантных гонадотропинов, замена триггера овуляции чХГ на рекомбинантный ЛГ или а-ГнРг, перенос одного эмбриона, программа криоконсервации эмбрионов без их переноса в циклах с риском развития СГЯ позволяет в некоторой мере предотвратить развитие СГЯ [7].

На сегодняшний день основные усилия исследователей сосредоточены на улучшении результатов экстракорпорального оплодотворения и предупреждении развития различных осложнений, в том числе СГЯ. Несмотря на все достижения науки, СГЯ остаётся серьёзным осложнением программ ВРТ, угрожающим жизни и здоровью пациента [5]. Необходимы дальнейшие исследования, в частности, по изучению генетической предрасположенности к СГЯ с целью поиска новых методов прогнозирования и профилактики СГЯ.



## ГЛАВА 2.

### ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКИХ ГРУПП. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 2.1. Дизайн исследования

Работа выполнена на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства Здравоохранения Российской Федерации в период с 2011 по 2014 гг.

С целью оценки роли полиморфизмов генов РААС и оксида азота в развитии СГЯ, было проведено контролируемое ретроспективное когортное исследование. Обследовано 105 женщин, которым выполнена программа ЭКО, ИКСИ (интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида в яйцеклетку). Основная группа представлена 49 женщинами, у которых программа ЭКО, ИКСИ осложнилась развитием СГЯ средней и тяжёлой степени тяжести. В дальнейшем, в ходе анализа, основная группа была разделена на четыре подгруппы: 1а – женщины с ранним началом СГЯ (17 человек), 1б – женщины с поздним началом СГЯ (32 женщины), 2а – пациентки со средней степенью тяжести СГЯ (38 человек) и 2б – с тяжёлой степенью СГЯ (11 пациенток).

Для верификации диагноза и определения степени тяжести за основу была взята классификации СГЯ (Golan (1989г), Navot (1995 г.)). Все пациентки с СГЯ были госпитализированы и проходили лечение в гинекологическом отделении ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ (г. Екатеринбург). Группа контроля представлена 56 женщинами, у которых программа ЭКО, ИКСИ и ПЭ завершилась наступлением клинической беременности без признаков СГЯ. Критерий включения в основную группу: наличие проявлений раннего или позднего СГЯ средней, тяжёлой или критической степени тяжести.

Контролируемая овариальная суперстимуляция (КОС) в программе ЭКО проводилась с применением различных протоколов: с антагонистами

гонадотропин–рилизинг гормонов (АнтГнРг), в том числе модифицированных с АнтГнРг, коротких с агонистами гонадотропин–рилизинг гормонов (АгГнРг) и длинных. В качестве АгГнРг применялись следующие препараты: Бусерелин-спрей назальный дозированный (1 доза – 150мкг) (производитель ООО Фарм-Синтез, Россия), декапептил (трипторелин) - 0,1 мг (производитель Ferring GmbH, Германия), диферелин (трипторелин) – 0,1 мг (производитель IPSEN Pharma, Франция). В качестве АнтГнРг применялись: Цетротид (цетрореликс) – 0,25мг (производитель SERONO Europe Ltd, Великобритания) и Оргалутран (ганиреликс) – 0,25мг (производитель Organon, Нидерланды). Для стимуляции роста фолликулов применялись мочевые и рекомбинантные гонадотропины: Пурегон (фоллитропин-бета), (производитель Organon, Нидерланды), Гонал-Ф (фоллитропин альфа) (производитель SERONO Europe Ltd, Великобритания), Перговерис (фоллитропин альфа + лутропин альфа), производитель SERONO Europe Ltd, Великобритания), Менопур (менотропин) (производитель Ferring GmbH, Германия), а также клостилбегит (кломифена цитрат), (производитель «Фармацевтический завод ЭГИС»). В качестве триггера овуляции применялись: Прегнил (гонадотропин хорионический) (производитель Organon, Нидерланды) в дозе 10000 ЕД, Овитрель (хориогонадотропин альфа) 6500 ЕД, (производитель SERONO Europe Ltd, Великобритания), Декапептил в дозе 0,2 мг (производитель Ferring GmbH, Германия).

Контролируемая овариальная суперстимуляция производилась в соответствии со стандартными протоколами. Агонисты гонадотропин рилизинг гормона назначались со второго дня менструального цикла до момента введения триггера овуляции, в ежедневной дозе: Бусерелин по 150мкг четыре – шесть раз в день назально или Декапептил/Диферелин по 0,05-0,1мг в день подкожно.

Антагонисты гонадотропин рилизинг гормона назначались с шестого – седьмого дня менструального цикла до момента введения триггера овуляции, в ежедневной дозе: Цетротид – 0,25мг подкожно или Оргалутран – 0,25мг подкожно.

Гонадотропины вводились со второго - третьего дня менструального цикла в протоколах с АгГнРг и со 2-го дня менструального цикла в протоколах с АнгГнРг.

Триггер овуляции вводился на 10-15 день цикла, при наличии лидирующего фолликула более 17мм в диаметре и хотя бы двух фолликулов более 15 мм в диаметре. Введение препарата ХГ осуществлялось за 36 - 38 часов до предполагаемой пункции.

По ходу стимуляции проводился УЗИ мониторинг с целью оценки состояния фолликулов и эндометрия. Мониторинг выполнялся на второй - четвертый, шестой - восьмой, 10 - 12 дни цикла, перед трансвагинальной пункцией фолликулов и перед переносом эмбрионов.

Аспирацию ооцитов и фолликулярной жидкости выполняли через 36 - 38 часов после введения овуляторной дозы ХГ отдельно из правого и левого яичника. С целью получения ооцитов и фолликулярной жидкости из фолликулов яичников производили трансвагинальную пункцию с помощью влагалищного пункционного датчика ультразвукового аппарата В-К Medical Sandtoften 9.

Для переноса эмбрионов использовали одноразовые катетеры фирмы Cook Sydney IVF K-JETS-7019. Для работы с эмбриологическим материалом использовались среды Sydney IVF, COOK (Австралия).

Сперму мужа подвергали градиентному центрифугированию с использованием сред Cook Sperm Gradient и Gamete Buffer, после чего производили инсеминацию ооцитов. Культивацию ооцитов осуществляли в специальных инкубаторах при температуре 37°C и концентрации в смеси 5% CO<sub>2</sub>, с использованием питательных сред Cook Sydney IVF Fertilisation medium, Cleavage medium и Blastocyst medium.

Перенос эмбрионов производился на третьи-пятые сутки после трансвагинальной пункции фолликулов.

Через 10 - 14 дней после переноса эмбрионов у пациенток проводился анализ на β - ХГЧ (мочевая тест – полоска или определение уровня β – ХГЧ в крови), и

через 21 день после переноса эмбрионов выполнялось УЗИ для подтверждения клинической беременности.

## 2.2. Клиническая характеристика исследуемых групп

Пациентки основной и контрольной групп имели славянское происхождение и являлись жительницами регионов России, большая часть - городов Свердловской области ( $p < 0,05$ ). По району проживания получены следующие различия (табл. 1).

Таблица 1

Распределение пациенток по месту проживания (абс. %)

Место жительства	Группы		p
	основная группа (n=49)	контрольная группа (n=56)	
	абс. (%)	абс. (%)	
г. Екатеринбург	14 (28,6)	15 (26,8)	0,420
города Свердловской области	23 (46,9)	38 (67,9)	0,015
Города других областей России	12 (24,5)	4 (7,1)	0,007

Примечание: n – число женщин в группах, p – достоверность различий.

Возраст женщин варьировал от 25 до 42 лет. Средний возраст в основной группе составил  $32,204 \pm 0,52$ , в контрольной -  $32,375 \pm 0,57$  ( $p = 0,413$ ), что указывает на отсутствие различий по возрасту среди групп (табл. 2). Распределение женщин по возрастным категориям представлено в таблице 2. Как видно из таблицы 2 женщины в обследуемых группах были молодые, от 25 до 34 лет ( $p < 0,05$ ).

Возрастные категории в сравниваемых группах (абс. %)

Возраст женщин (лет)	Группы		p
	основная группа (n=49)	контрольная группа (n=56)	
	абс. (%)	абс. (%)	
25-29 лет	11 (22,4)	19 (33,9)	0,099
30-34 лет	26 (53,1)	16 (32,1)	0,015
35-39 лет	9 (18,4)	16 (28,6)	0,112
40-42 лет	3 (6,3)	3 (5,4)	0,424

Примечание: n – число женщин в группах, p – достоверность различий.

По частоте и спектру сопутствующей экстрагенитальной патологии (болезни органов кровообращения, мочевыделительной, нервной, эндокринной систем) группы были сопоставимы ( $p > 0,05$ ), (табл. 3). Исключение составляют болезни органов пищеварения. В основной группе они встречались с частотой 2% (n=1), в контрольной – 10,7% (n=6),  $p = 0,038$ .

Таблица 3

Экстрагенитальные заболевания в исследуемых группах (абс. %)

Исследуемые параметры	Группы		p
	Основная (n=49)	Контрольная (n=56)	
	абс. (%)	абс. (%)	
Класс IV. Болезни эндокринной системы ожирение	5 (10,2)	10 (17,9)	0,134
Болезни щитовидной железы	5 (10,2)	8 (14,3)	0,265
Сахарный диабет 1 типа	2 (4,1)	0 (0)	0,065
Класс IX. Болезни органов кровообращения	2 (4,1)	1 (1,8)	0,243
Гипертоническая болезнь	1 (2)	1 (1,8)	0,462
Нейроциркуляторная дистония	6 (12,2)	8 (14,3)	0,402
Класс XI. Болезни органов пищеварения:	1 (2)	6 (10,7)	0,038
Класс VI. Болезни нервной системы	0 (0)	3 (5,4)	0,051
Класс XIV Болезни мочевыделительной системы	4 (8,2)	3 (5,4)	0,285

Примечание: Примечание: n – число женщин в группах, p – достоверность различий.

Выявлены различия между группами по генезу бесплодия. Для пациенток основной группы характерно бесплодие эндокринного генеза, (32,7% (n=16) против 10,7% (n=6),  $p=0,003$ ), обусловленное, как правило, синдромом поликистозных яичников (27,8% (n=10) против 9,1%, (n=3),  $p=0,021$ ). В контрольной группе преобладает бесплодие трубно-перитонеального генеза (75% (n=42) против 45% (n=29),  $p=0,043$ ), (табл. 4).

Таблица 4

## Причина бесплодия в исследуемых группах (абс. %)

Генез бесплодия	Группы		p
	основная (n=49)	контрольная (n=56)	
	абс. (%)	абс. (%)	
Трубно-перитонеальный	29 (59,2)	75 (42)	0,043
Эндокринный	16 (32,7)	6 (10,7)	0,003
Мужской	11 (22,4)	14 (25)	0,381
Смешанный	6 (12,2)	11 (19,6)	0,155
Идиопатический	3 (6,1)	2 (3,6)	0,272
Бесплодие, обусловленное эндометриозом	1 (2)	4 (7,1)	0,112

Примечание: Примечание: n – число женщин в группах, p – достоверность различий.

В ходе исследования выявлен интересный факт, что СГЯ развивался, как правило, у первобеременных пациенток ( $p=0,001$ , рис. 2). Распределение женщин по группам в зависимости от паритета и наличия беременности в анамнезе представлено в табл. 5.

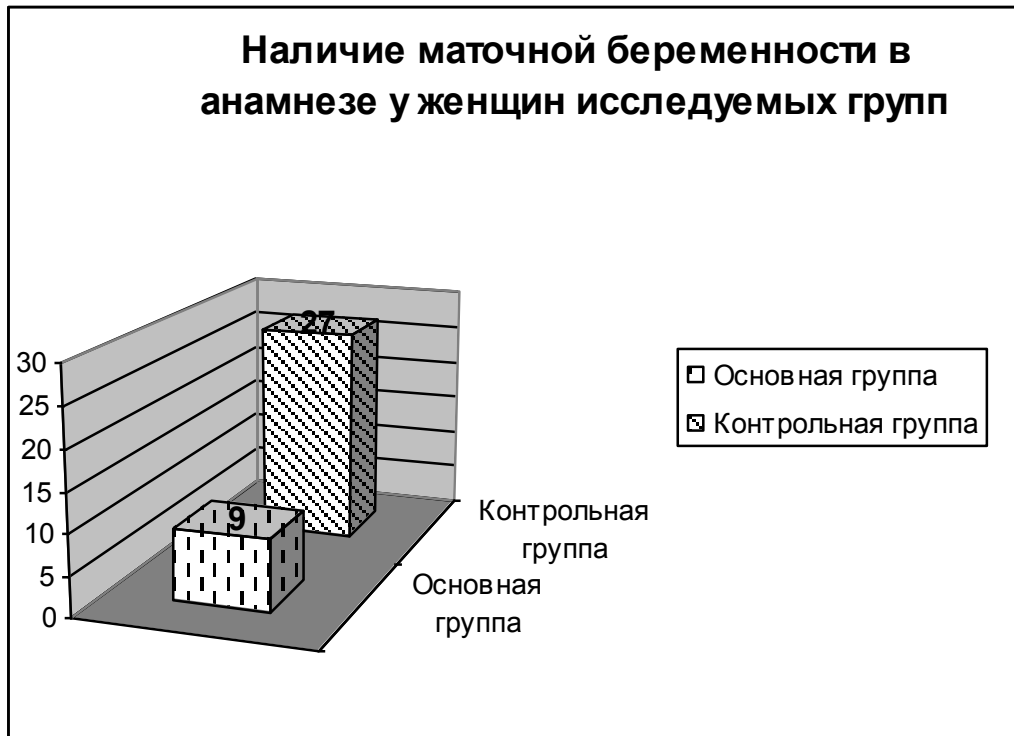


Рисунок 2. Наличие маточной беременности у женщин исследуемых групп

Таблица 5

Распределение женщин по группам в зависимости  
от наличия беременности в анамнезе (абс. %)

Исследуемые параметры	Группы		p
	основная группа (n=49)	контрольная группа (n=56)	
	абс. (%)	абс. (%)	
Беременности в анамнезе	21 (42,9)	33 (58,9)	0,051
Маточная беременность	9 (18,4)	27 (48,2)	0,001
Самопроизвольный выкидыш	5 (10,2)	10 (17,9)	0,134
Внематочная беременность	10 (20,4)	13 (23,2)	0,386
Медицинское прерывание беременности	9 (18,4)	14 (25)	0,209

Примечание: Примечание: n – число женщин в группах, p – достоверность различий.

Из представленных данных видно, что обследуемые нами группы женщин по возрастной характеристике, соматическому статусу, акушерской и гинекологической патологии были сопоставимы.

Проанализированы особенности акушерского и гинекологического анамнеза. Основное внимание уделялось гинекологическим заболеваниям, предшествующим операциям, попыткам ЭКО.

Из основной группы 15 (30,6%) пациенток имели в анамнезе попытки ЭКО, которые у четырех (8,2%) осложнились развитием СГЯ. У двух пациенток (4,1%) основной группы яйцеклетки оплодотворялись методом интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ). Восемь пациенток (16,3%) имели в прошлом попытки искусственного оплодотворения спермой мужа (ИОСМ).

Данные о предшествующих попытках ЭКО, ИОСМ, СГЯ в анамнезе представлены в табл. 6.

Таблица 6

Наличие попыток вспомогательных репродуктивных технологий, синдрома гиперстимуляции яичников в анамнезе у женщин сравниваемых групп (абс. %)

Параметр	Группы		p
	основная группа (n=49)	контрольная группа (n=56)	
	абс. (%)	абс. (%)	
ЭКО	15 (30,6)	22 (39,3)	0,179
ЭКО, ИКСИ	2 (4,1)	8 (14,3)	0,038
Индукция овуляции	12 (24,5)	8 (14,3)	0,094
Искусственное оплодотворение спермой мужа (ИОСМ)	8 (16,3)	5 (8,9)	0,128
СГЯ при прошлых попытках ЭКО	4 (8,2)	2 (3,6)	0,158

Примечание: n – число женщин в группах, p – достоверность различий.

Гинекологический анамнез пациенток сравниваемых групп характеризовался различными заболеваниями. Мы проанализировали частоту перенесенных инфекций, передающихся половым путем (хламидиоз,



микоплазмоз, уреоплазмоз, гонорея), частоту встречаемости миомы матки, эндометриоза, синдрома поликистозных яичников. Данные представлены в таблице 7.

Таблица 7

Особенности гинекологического анамнеза у пациенток сравниваемых групп (абс. %)

Характер заболеваний	Группы		p
	основная группа (n=49)	контрольная группа (n=56)	
	абс. (%)	абс. (%)	
Миома матки	1 (2)	7 (12,5)	0,022
Эндометриоз	2 (4,1)	18 (32,1)	0,015
СПКЯ	12 (24,2)	4 (7,1)	0,007
ИППП в анамнезе	24 (49)	36 (64,3)	0,058

Примечание: n – число женщин в группах, p – достоверность различий.

Исходя из данных таблицы 7 пациентки основной группы практически не имели гинекологических заболеваний: миома матки наблюдалась у 1 пациентки (2%),  $p=0,022$ , эндометриоз половых органов у 2 (4,1%),  $p=0,015$ . СПКЯ у женщин основной группы встречалась достоверно чаще, у 12 (24,2%) против 4 (7,1%),  $p=0,007$ , что закономерно, так как СПКЯ является фактором риска СГЯ.

Проанализирована структура оперативных вмешательств у пациенток исследуемых групп. Результаты представлены в таблице 8.

Исходя из частоты встречаемости гинекологических заболеваний у пациенток группы с СГЯ, среди оперативных вмешательств чаще наблюдались манипуляции на яичниках. Кистэктомия, резекция яичников встречалась у 12 пациенток (24,5%) против 6 (10,7%),  $p=0,031$ . Не встречались в анамнезе у женщин основной группы миомэктомия, овариоэктомия ( $p<0,05$ ), реже наблюдался спаечный процесс органов малого таза, 14 (28,6%) против 28 (50%),  $p=0,013$ . Однако с одинаковой частотой у женщин обеих групп выполнялись операции по поводу восстановления проходимости маточных труб ( $p=0,083$ ).

Структура оперативных вмешательств у женщин  
сравниваемых групп (абс. %)

Оперативное вмешательство	Группы		p
	основная группа (n=49)	контрольная группа (n=56)	
	абс. (%)	абс. (%)	
Лапароскопические операции	33 (67,3)	70 (125)	0,139
Лапаротомные операции	10 (20,4)	13 (23,2)	0,366
Гистероскопии	22 (44,9)	29 (51,8)	0,243
Консервативная миомэктомия	0 (0)	3 (5,4)	0,051
Оперативное лечение эндометриоза	1(2)	7 (12,5)	0,022
Кистэктомия, резекция яичников	12 (24,5)	6 (10,7)	0,031
Удаление яичника	0 (0)	4 (7,1)	0,029
Оперативное восстановление проходимости труб	20 (41,7)	33 (51,4)	0,083
Удаление труб	14 (28,6)	27 (48,2)	0,020
Спаечный процесс органов малого таза	14 (28,6)	28 (50)	0,013

Примечание: n – число женщин в группах, p – достоверность различий.

Нами были проанализированы протоколы стимуляции суперовуляции, применяемые у женщин обеих групп и средние дозы гонадотропинов в программах ЭКО (табл. 9, 10). Достоверных отличий получено не было, что позволяет нам говорить о том, что развитие СГЯ не связано с протоколом контролируемой овариальной стимуляции (КОС) и дозой использованных препаратов.

Таблица 9

Протоколы стимуляции суперовуляции у женщин основной и контрольной групп  
(абс. %)

Протокол стимуляции суперовуляции	Группы		p
	основная группа (n=49)	контрольная группа (n=56)	
	абс. (%)	абс. (%)	
Короткий	3 (6,1)	6 (10,7)	0,203
Длинный	3 (6,1)	3 (5,4)	0,413
С АнТГн-Рг	27 (55,1)	30 (53,6)	0,438
Модифицированный с АнТГн-Рг	13 (26,5)	11 (19,6)	0,203
Мини – ЭКО (с применением клостилбегита)	3 (6,1)	4 (7,1)	0,418

Примечание: n – число женщин в группах, p – достоверность различий.

Таблица 10

Средняя доза препаратов, применяемых для стимуляции суперовуляции  
в программах экстракорпорального оплодотворения у пациенток  
сравниваемых групп

Протокол стимуляции суперовуляции	Группы		p
	основная группа (n=49)	контрольная группа (n=56)	
Рекомбинантные гонадотропины (МЕ)	985,204±97,48	1195,313±110,92	0,082
Мочевые гонадотропины (количество ампул)	1,347±0,50	19,942±17,28	0,150

Примечание: n – число женщин в группах, p – достоверность различий.

В зависимости от использования триггера овуляции среди групп были получены следующие различия (табл. 11).

Таблица 11

Триггер овуляции в программах экстракорпорального оплодотворения, интрацитоплазматической инъекции сперматозоида

Триггер овуляции	Группы		p
	основная группа (n=49)	контрольная группа (n=56)	
	абс. (%)	абс. (%)	
Овитрель	24 (49)	41 (73,2)	0,009
Прегнил	11 (22,4)	15 (26,8)	0,306
Декапептил/Диферелин 0,2 мг	8 (16,3)	2 (3,6)	0,013

Примечание: n – число женщин в группах, p – достоверность различий.

В контрольной группе в качестве триггера овуляции достоверно чаще, чем в основной, использовали препарат рекомбинантного ХГЧ ( $p=0,009$ ). АгГнРг преимущественно назначали у женщин основной группы, 8 (16,3%) против 2 (3,6%),  $p=0,013$ . Несмотря на эффективность замены триггера в протоколах программы ЭКО с целью предотвращения СГЯ [128], нами было описано восемь случаев его развития, причем один из них, поздний СГЯ, потребовал абдоминального парацентеза.

Оценивался гормональный статус пациенток перед программой ЭКО. Достоверные различия получены по содержанию фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), определяемого на 2-5 день менструального цикла. Уровень ФСГ от 8 до 12 МЕ чаще наблюдался у женщин контрольной группы, чем у пациенток группы с СГЯ, 15 (26,8%) против 6 (12,2%),  $p=0,032$ . Интересно, что нами не получено диагностическое значимое различие между уровнем антимюллерового

гормона (АМГ) в обеих группах ( $p=0,203$ ). Среднее значение АМГ в основной группе составило  $1,716 \pm 0,63$  нг/мл, в контрольной –  $1,178 \pm 0,25$  нг/мл (рис. 3).

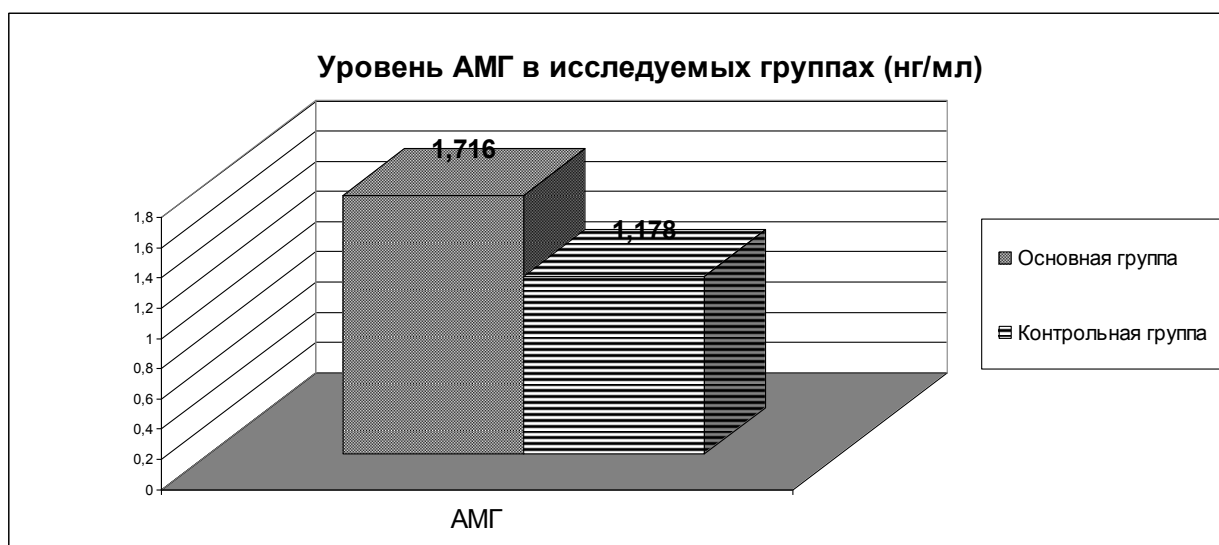


Рисунок 3. Уровень антимюллерового гормона в исследуемых группах

Распределение женщин по группам в зависимости от значений ФСГ и лютеинизирующего гормона (ЛГ) представлено в табл. 12.

Таблица 12

Распределение женщин по группам в зависимости от уровня гормонов крови  
(абс. %)

Гормон (МЕ)	Группы		p
	основная группа (n=49)	контрольная группа (n=56)	
	абс (%)	абс (%)	
ФСГ < 4	5 (10,2)	6 (10,7)	0,466
ФСГ 4-8	29 (59,2)	30 (53,6)	0,284
ФСГ 8 - 12	6 (12,2)	15 (26,8)	0,032
ФСГ > 12	0	21 (39,3)	0,163
ЛГ > 8	9 (18,4)	5 (8,9)	0,079
ЛГ < 8	28 (57,1)	40 (71,4)	0,064
Уровень АМГ (нг/мл)	$1,716 \pm 0,63$	$1,178 \pm 0,25$	0,203

Примечание: n – число женщин в группах, p – достоверность различий.

На шестой-девятый день стимуляции суперовуляции в программе ЭКО, у пациенток выполнялся анализ коагулограммы. Уровень Д-димеров и фибриногена был одинаковым в обеих группах, а вот количество тромбоцитов в контрольной группе превышало их значение в группе пациенток с СГЯ (табл. 13).

Таблица. 13

Показатели коагулограммы у женщин основной и контрольной групп (абс. %)

Исследуемые параметры	Группы		p
	основная группа (n=49)	контрольная группа (n=56)	
	абс. (%)	абс. (%)	
Тромбоциты (10/л)	134,041±18,93	182,500±17,17	0,030
Фибриноген (г/л)	1,798±0,27	2,298±0,22	0,076
Д-димеры (нг/мл)	51,382±19,58	54,164±13,46	0,453

Примечание: n – число женщин в группах, p – достоверность различий.

Проанализировано среднее количество фолликулов и яйцеклеток, полученных во время трансвагинальной пункции яичников, в обеих группах. В группе женщин, у которых развился СГЯ, среднее количество фолликулов составило 17,878±1,55, яйцеклеток – 13,857±0,98, в контрольной группе – фолликулов 11,304±0,90, яйцеклеток – 8,250±0,66 (рис. 4).

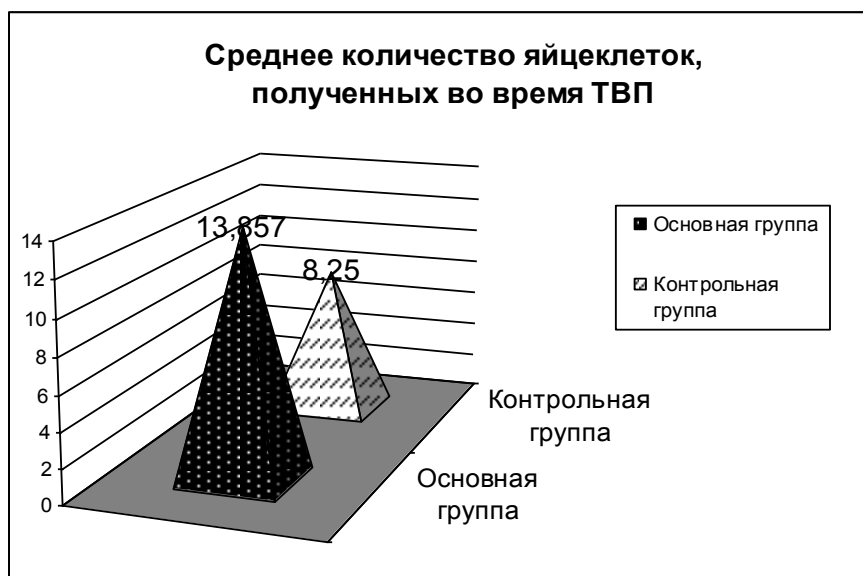


Рисунок 4. Среднее количество яйцеклеток, полученных во время трансвагинальной пункции в исследуемых группах

Оплодотворение методом ИКСИ было предпринято у 24 пациенток (49%) основной группы и у 11 (19,6%) женщин контрольной группы,  $p=0,043$ .

### **2.3. Методы исследования**

Выбор методов обследования определялся требованиями приказа Минздрава РФ №107 «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению» от 30.08.2012 г. и федеральными клиническими рекомендациями «Диагностика и лечение синдрома гиперстимуляции яичников» [24].

### **Виды и объём исследования**

1. Анамнестические данные (использование в данном цикле методов ВРТ или контролируемой индукции овуляции для достижения беременности при бесплодии) и активный расспрос. Выясняются жалобы пациентки на слабость, головокружение, головную боль, мелькание «мушек» перед глазами, сухой кашель, сухость во рту, тошноту, рвоту, диарею, вздутие живота, чувство распираания, редкое мочеиспускание, повышение температуры тела.

2. Данные физикального обследования (исследование сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной, мочевыделительной систем, осмотр органов брюшной полости). Оценивается общее состояние, окраска кожных покровов. Особо обращают внимание на состояние конечностей, области головы и шеи с целью исключения тромбоза глубоких вен. Выполняется перкуссия, аускультация, пальпация живота, оценка суточного диуреза и неврологического статуса.

3. Лабораторные исследования:

- Анализ крови клинический;
- Биохимические показатели крови (общий белок, альбумин, билирубин, глюкоза, мочевины, креатинин, аминотрансферазы: АСТ, АЛТ, С-реактивный белок, щелочная фосфатаза);
- Гемостазиограмма (тромбоциты, фибриноген, D-димеры, антитромбин III, МНО, ПТИ, АЧТВ);

- Анализ мочи общий;
- Исследования кислородного статуса (исследование кислотно-щелочного состояния, электролитов и газов артериализированной капиллярной крови);
- Анализ состава асцитической жидкости;
- Онкомаркеры в плазме крови: СА-125;
- Прокальцитонин в сыворотке крови;
- Микробиологическое исследование мочи, отделяемого из влагалища, цервикального канала (ПЦР, бактериальный посев);
- Иммуноферментный анализ содержания ангиотензина II, альдостерона, ренина в плазме крови;
- Молекулярно-генетическое исследование шести полиморфных вариантов пяти генов, ответственных за регуляцию компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (гены ангиотензиногена, рецептора 1-го типа к ангиотензину II, рецептора 2-го типа к ангиотензину II, альдостерона) и генов метаболизма оксида азота;

Лабораторные исследования проводили на базе отделения клинической генетики (руководитель к. м. н. Третьякова Т.Б.), отделения иммунологии и микробиологии (руководитель д. м. н. Г.Н. Чистякова), отделения биохимических методов исследования (руководитель к. б. н. Л.А. Пестряева) ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ.

#### Клинико-лабораторные показатели

Исследование гемограммы осуществляли на автоматическом анализаторе «Cell-dyn 3500R» фирмы «Abbot diagnostic» (США) с содержанием форменных элементов.

#### Биохимические методы исследования

Исследование проводилось по стандартной методике на автоматическом биохимическом анализаторе «Sapphire-400» (Япония) с использованием унифицированных тест-систем фирм «Randox» (Германия) «Bioscop» (Германия), «Cormau» (Польша). Определяли содержание общего белка, билирубина и его фракций, глюкозы, ферментов: аспарат- и аланинтрансферазы, креатинина.



## Методы исследования системы гемостаза

Исследование осуществляли на автоматическом анализаторе «Helena AC-4» (Великобритания) с использованием реактивов фирмы «Helena» по стандартной методике. Определяли количество тромбоцитов, содержание плазменных факторов системы гемостаза, фибриногена в плазме, фибринолитическую активность.

## Молекулярно-генетическое исследование

Всем женщинам проводилось молекулярно-генетическое исследование методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени 6 полиморфных вариантов следующих пяти генов:

1. генов, ответственных за регуляцию компонентов РААС:
  - полиморфизмы 704 T>C и 521 C>T в гене ангиотензиногена (AGT);
  - полиморфизмы 1166 A>C в гене рецептора 1-го типа к ангиотензину II (AGTR1);
  - полиморфизмы 1675 G>A в гене рецептора 2-го типа к ангиотензину II (AGTR2);
  - полиморфизмы CYP 11B2 C>T в гене альдостеронсинтазы;
2. генов метаболизма оксида азота:
  - полиморфизмы 786 T>C и 894 G>T в гене эндотелиальной синтазы окиси азота 3 (NOS3).

Образцы ДНК пациенток получали из буккального эпителия, используя коммерческие наборы реагентов и протоколы для выделения ДНК (ООО «ДНК-Технология», Россия). Для оценки количества выделенной геномной ДНК использовали набор реагентов «КВМ» контроля взятия материала для метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). В исследование 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 (НПО «ДНК-Технология», Россия).

### **Характеристика изучаемых генов и их полиморфных вариантов**

Ген AGT локализуется в длинном плече 1 хромосомы (1q42-q43), продуктом которого является ангиотензиноген – важнейший компонент ренин-ангиотензиновой системы, предшественник ангиотензина II. Ген AGTR1 – его продукт - рецептор типа I ангиотензина II, локализуется в длинном плече 3 хромосомы (3 q21- q25); наличие С-аллеля связывают с повышенной чувствительностью рецептора к ангиотензину II. Ген AGTR2 локализуется в длинном плече X хромосомы Xq22-q23. Продуктом гена является рецептор второго типа ангиотензина II. Известно, что аллель 1675A гена AGTR2 ассоциирован со снижением продукции рецептора, следовательно, ведет к снижению вазодилататорного потенциала. Полиморфизмы CYP11B2: 344C>T в промоторной области гена CYP11B2, локализуется на 8 хромосоме (8q21), продуктом которого является синтаза альдостерона. Наличие Т- аллеля в промоторной области гена альдостерон-синтазы сопровождается повышением базальной продукции альдостерона. Полиморфизмы NOS3: 786 T>C и 894 G>T в гене эндотелиальной NO-синтазы, локализуется в длинном плече 7 хромосомы (7q36), продуктом которого является эндотелиальная синтаза оксида азота. Наличие С- аллеля в промоторе гена эндотелиальной NO-синтазы приводит к снижению ее активности на 50%, в результате снижается синтез и высвобождение оксида азота и как следствие возникает дисфункция эндотелия.

### **Иммунологическое исследование**

Методом иммуноферментного анализа определяли содержание ренина, ангиотензина II и альдостерона в плазме крови наборами реагентов RayBio Angiotensin II Enzyme Immunoassay (EIA), Aldosterone CAN-ALD-450N компании ЗАО «БиоХимМак» и ELISA Kit for Human Renin (REN) фирмы USCNK.

Забор крови у пациенток обеих групп проводили утром натощак из локтевой вены.

Набор RayBio Angiotensin II Enzyme Immunoassay (EIA) основан на принципе конкурентного иммуноферментного анализа и предназначен для *in vitro* количественного определения пептида ангиотензина II. В основе определения содержания альдостерона лежит иммуноферментный анализ с использованием конкурентного связывания. Немеченый антиген (альдостерон, присутствующий в образцах) и меченый ферментом антиген (конъюгат) во время инкубации конкурируют за ограниченное количество сайтов связывания антител, иммобилизованных в лунках микропланшета. Затем, после промывки, добавляется ферментный субстрат. Энзиматическая реакция останавливается добавлением стоп-раствора. Абсорбция измеряется с помощью микропланшетного анализатора. Интенсивность окрашивания, сформировавшегося в ходе энзиматической реакции, обратно пропорциональна концентрации альдостерона в образце.

#### 4. Диагностические процедуры:

- УЗИ органов малого таза;
- УЗИ органов брюшной полости;
- УЗИ плевральных полостей проводилось на аппаратах Medison MAN-202C-E10200, Kranzbuhler Sono Scope20;
- Электрокардиография проводилась на аппарате «Biomonitor 9141RFT
- Рентгенография органов грудной клетки.

## 2.4. Статистические методы исследования

Статистическую обработку материалов исследования проводили с использованием стандартных статистических программ Microsoft Excel 2007 для Windows 7 и Statistica 6.0. Для количественных показателей использовали вычисление M-среднего значения (среднее арифметическое), стандартное отклонение по выборке ( $\sigma$ ), ошибку среднего арифметического ( $m$ ). Проверку на нормальность распределения проводили по критерию Колмогорова-Смирнова.

При нормальном распределении количественных значений достоверность различий между сравниваемыми группами определялась по парному критерию Стьюдента. В остальных случаях использовался непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия между исследуемыми группами считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

Значимость различий вариационных рядов, связанных попарно в выборках, оценивали с помощью t-критерия Стьюдента (односторонний тест для зависимых выборок). Значимость различий вариационных рядов, не связанных попарно в выборках, оценивали с помощью t-критерия Стьюдента (двусторонний тест для независимых выборок).

Для построения модели прогноза использовали метод дискриминантного анализа с пакетом прикладных программ Statgraphics. Соотношение генотипов в сравниваемых группах (доли целого в процентах) определялось методом хи-квадрат ( $\chi^2$ ). Силу ассоциации, полученных величин, оценивали в значениях показателя соотношения шансов (oddratio–OR). Значение ORи 95%-ный доверительный интервал (95% CI) вычисляли с помощью программы «Calculator for confidence intervals or odds ratio» [26]. Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ . Тест на соответствие распределения генотипов закону Харди-Вайнберга в сравниваемых выборках проводили с помощью критерия  $\chi^2$  ( $p > 0,05$ ).

Проведен дискриминантный анализ с помощью пакета прикладных программ КВАЗАР, ряда показателей, характеризующих исследуемые группы, на основании которого разработано решающее правило прогноза роли факторов развития СГЯ.

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследования полиморфизмов генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и генов метаболизма оксида азота у женщин исследуемых групп

Известно, что ведущая роль в патогенезе СГЯ принадлежит РААС и оксиду азота. Ренин-ангиотензиновая система относится к числу важнейших регуляторных систем организма. Она обеспечивает поддержание водно-солевого гомеостаза, играет решающую роль в контроле уровня артериального давления, отвечает за адаптивные реакции организма, в том числе за оптимизацию центральной гемодинамики при ее острых нарушениях. Результаты клинических и экспериментальных исследований последних лет показали, что повышение активности РААС в значительной мере определяет развитие важнейших форм сердечно-сосудистой патологии, прежде всего ишемической болезни сердца и атеросклероза.

По мере развития современных технологий и появившейся возможности расшифровки генома человека, стало появляться все больше и больше работ, демонстрирующих наследственную предрасположенность к различным синдромам. По мере определения полных нуклеотидных последовательностей генома человека, было выявлено, что у разных людей в одних и тех же участках хромосом (так называемых «локусах») находятся разные нуклеотиды. Эти изменения получили названия SNPs (single nucleotide polymorphisms) и на сегодняшний день в геноме человека выявлено, по различным оценкам, от 3 до 10 миллионов распространенных полиморфизмов.

Впервые полиморфизмы генов РААС и гена оксида азота стали исследовать у больных артериальной гипертензией [19]. Доказана их роль в развитии гипертензионных осложнений у пациенток с гестационным сахарным диабетом

[16]. Научные сообщения о значении полиморфизмов генов РААС и генов эндотелиальной дисфункции в патогенезе СГЯ нам не встретились, что послужило поводом к проведению данной научной работы.

### **3.1. Особенности распределения частот аллелей и генотипов по полиморфным маркерам генов РААС и оксида азота у пациенток с СГЯ и беременных методом ЭКО без признаков СГЯ**

Влияние генотипов на риск развития СГЯ оценивалось по общей и по доминантной модели наследования (наличие хотя бы одного вариантного аллеля по сравнению с нормальной гомозиготой).

Для анализа особенностей генома у пациенток исследуемых групп была использована мультипликативная модель анализа частоты встречаемости генетических различий (сравнение частот аллелей) (табл. 1). В результате анализа распределения частот аллелей по полиморфным маркерам генов AGT 704, AGT 521, AGTR1, AGTR2, CYP11B2, NOS3 786 NOS3 894 значимых различий между группами не получено. Распределение частот аллелей по полиморфным маркерам генов AGT 704, AGT 521, AGTR1, AGTR2, CYP11B2 в исследуемых группах соответствовало закону Харди – Вайнберга.

Частота аллеля 704Т в положении гена AGT у пациенток с СГЯ описана с частотой 49% против 51,9% контрольной группы (OR=0,892, CI:1,541-0,516), аллеля 704С – 51% против 48,1% (OR=1,122, CI:0,649-1,938), ( $p=0,679$ ,  $\chi^2=0,171$ ). Частота аллеля 521С в положении гена AGT в основной группе составила 82,7% против 87% контрольной группы (OR=0,710, CI:1,532-0,329), аллеля 521Т – 17,3% против 13% (OR=1,409, CI: 0,653-3,042), ( $p=0,379$ ,  $\chi^2=0,772$ ). Аллель 1166А гена AGTR1 в основной группе встречался у 80,9% пациенток против 76,9% (OR=1,272, CI: 0,641-2,521), аллель 1166С 19,1% против 20,1% (OR= 0,786, CI:1,559-0,397), ( $p=0,489$ ,  $\chi^2=0,480$ ). Частота аллеля 1675А в положении гена AGTR2 - 42,7% против 40,2% (OR=1,109, CI:0,628-1,960), аллеля 1675G - 57,3% против 59,8% (OR=0,902, CI: 1,593-0,510), ( $p=0,720$ ,  $\chi^2=0,239$ ). В группе женщин с СГЯ аллель 344С гена CYP11B2 встречался у 50% женщин против 52,8% женщин

из контрольной группы (OR=0,893, CI: 1,572-0,507), аллель 344Т – 50% против 47,2% (OR=1,120, CI: 0,636- 1,972), (p=0,693,  $\chi^2=0,156$ ).

Таблица 1

Распределение частот аллелей по полиморфным маркерам генов AGT 704, AGT 521, AGTR1 1166, AGTR2 1675, CYP11B2 344, NOS3 786 NOS3 894 (абс. %)

Аллель	Основная группа (n=98)		Контрольная группа (n=112)		P	$\chi^2$	OR CI-95% (ORmin-ORmax)
	абс.	%	абс.	%			
AGT 704T	50	49	50	51,9	0,679	0,171	0,892 (1,541-0,516)
AGT 704 C	52	51	51	48,1			1,122 (0,649-1,938)
AGT 521 C	81	82,7	94	87	0,379	0,772	0,710 (1,532-0,329)
AGT 521 T	17	17,3	14	13			1,409 (0,653-3,042)
AGTR1 1166 A	76	80,9	83	76,9	0,489	0,480	1,272 (0,641-2,521)
AGTR1 1166 C	18	19,1	25	23,1			0,786 (1,559-0,397)
AGTR2 1675 G	50	57,3	59	59,8	0,720	0,129	0,902 (1,593-0,510)
AGTR2 1675A	46	42,7	43	40,2			1,109 (0,628-1,960)
CYP11B2 344C	45	50	56	52,8	0,693	0,156	0,893 (1,572-0,507)
CYP11B2 344 T	45	50	50	47,2			1,120 (0,636- 1,972)
NOS3 786T	36	36,7	41	38,7	0,775	0,082	0,921 (1,628-0,520)
NOS3 786 C	62	63,3	65	61,3			1,086 (0,614-1,922)
NOS3 894 G	70	72,9	80	74,1	0,852	0,035	0,942 (1,763-0,504)
NOS3 894 T	26	27,1	28	25,9			1,061 (0,567-1,986)

Примечание: n – количество женщин в группе, p – достоверность различий,

OR – отношение шансов при доверительном интервале – 95%. Распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (Hardy-Weinberg equilibrium).

При построении общей модели распределения частот генотипов по исследуемым полиморфным маркерам генов РААС были получены следующие результаты, представленные в таблице 2. Распределение частот генотипов по полиморфным маркерам генов AGT 704, AGT 521, AGTR1, AGTR2, CYP11B2 в

исследуемых группах соответствовало закону Харди – Вайнберга.

Генотип 704ТТ гена AGT 704 в обеих группах встречался с одинаковой частотой (27,5% в основной и 26,4% в контрольной группах, OR= 1,054; 95% CI: 0,938-1,184), частота генотипа 704ТС в основной группе составила 43,1%, в контрольной - 50,9% (OR= 0,731; CI: 1,462-0,365), генотипа 704СС гена AGT - 29,4% против 22,6% (OR=1,424; CI: 0,652–3,108). Достоверных отличий по характеру распределения гена AGT между группами получено не было ( $p=0,669$ ,  $\chi^2=0,805$ ). При оценке доминантной модели AGT 704 TC+CC также не выявлено значимых различий (72,5% против 73,6%, OR= 0,949; CI: 2,280-0,395,  $p=0,905$ ,  $\chi^2= 0,014$ ).

Частота генотипа CC гена AGT 521 в основной группе составила 71,4% против 75,9% контрольной, OR= 0,793, CI: 1,192-0,527), генотипа CT - 22,4% против 22,2%. OR=1,013, CI: 0,990-1,037), генотипа TT – 6,1% против 1,9% OR=3,457; CI:0,392-0,481), ( $p=0,528$ ,  $\chi^2=1,277$ ), сумма генотипов, содержащих хотя бы один вариантный аллель TC + CC – 28,6% против 24,1%, (OR=1,262; CI: 0,518-3,070,  $p=0,269$ ,  $\chi^2=0,604$ ). Статистические значимые различия по характеру распределения гена AGT704 T>C между группами не выявлены.

Генотип AGTR1: 1166 AA наблюдался в основной группе у 63,8% пациентов против 63% (OR=1,038; CI: 0,990-1,088), генотип 1166AC гена AGTR1 у 34% против 27,8% (OR=1,342; CI: 0,926-1,945), генотип 1166 CC – у 2,1% против 9,3%, (OR=0,213; CI:1,497-0,030), ( $p=0,528$ ,  $\chi^2=1,277$ ). Статистических различий не получено и при построении доминантной модели, распределение (AC+CC) AGTR1 1166 составило 36,2% против 37% (OR=0,963; CI:2,191-0,423,  $p=0,928$ ,  $\chi^2=0,008$ ).

Распределение генотипов гена AGTR2 1675 выглядит следующим образом: генотип AGTR2: 1675 GG: в группе женщин с СГЯ встречается у 31,3% женщин против 37,3% женщин контрольной группы (OR=0,766; CI:1,544-0,380), генотип 1675 AG – у 41,7% против 41,2% (OR=1,020, CI:0,968-1,076), генотип 1675 AA гена AGTR2 - у 27,1% против 21,6% (OR=1,351, CI:0,613-2,974), ( $p=0,752$ ,  $\chi^2=0,571$ ). Сумма генотипов, содержащих хотя бы один вариантный аллель AG+GG - 41,7% против 41,2%, OR = 1,020, CI: 0,454-2,294,  $p=0,961$ ,  $\chi^2=0,002$ .



Генотип 344 СС гена альдостеронсинтазы в основной группе встречается у 24,4% пациенток против 32,1% контрольной группы (OR=0,685; CI:1,440-0,326), генотип CYP11B2: 344СТ - 51,1% против 41,5% (OR=1,473, CI:0,688-3,152), генотип CYP11B2: 344 ТТ 24,4% против 26,4% (OR=0,901 CI= 1,105-0,735), ( $p=0,6$ ,  $\chi^2=1,022$ ), сумма генотипов, содержащих хотя бы один вариантный аллель СТ+ТТ – 75,6% против 67,9%, OR=1,460, CI:0,593-3,593,  $p=0,405$ ,  $\chi^2=0,694$ .

Таблица 2

Распределение частот генотипов по полиморфным маркерам генов AGT 704, AGT 521, AGTR1, AGTR2, CYP11B2 (абс. %)

Полиморфизм	Генотип	1 группа (n=49)		2 группа (n=56)		p	$\chi^2$	OR CI – 95% (OR min – R max)
		абс.	(%)	абс.	(%)			
AGT 704 T>C	ТТ	14	27,5	14	26,4	0,669	0,805	1,054 (0,938-1,184)
	ТС	22	43,1	27	50,9			0,731 (1,462-0,365)
	СС	15	29,4	12	22,6			1,424 (0,652-3,108)
	ТС+СС	37	72,5	39	73,6	0,905	0,014	0,949 (2,280-0,395)
AGT 521 C>T	СС	35	71,4	41	75,9	0,528	1,277	0,793 (1,192-0,527)
	СТ	11	22,4	12	22,2			1,013 (0,990-1,037)
	ТТ	3	6,1	1	1,9			3,457 (0,392-0,481)
	СТ+ТТ	14	28,6	13	24,1	0,269	0,604	1,262 (0,518-3,070)
AGTR1 1166 A>C	АА	30	63,8	34	63	0,290	2,476	1,038 (0,990-1,088)
	АС	16	34	15	27,8			1,342 (0,926-1,945)
	СС	1	2,1	5	9,3			0,213 (1,497-0,030)
	АС+СС	17	36,2	20	37	0,928	0,008	0,963 (2,191-0,423)
AGTR2 1675 G>A	GG	15	31,3	19	37,3	0,752	0,571	0,766 (1,544-0,380)
	AG	20	41,7	21	41,2			1,020 (0,968-1,076)
	AA	13	27,1	11	21,6			1,351 (0,613-2,974)
	AG+AA	33	41,7	32	41,2	0,961	0,002	1,020 (0,454-2,294)
CYP 11B2 344 C>T	СС	11	24,4	17	32,1	0,600	1,022	0,685 (1,440-0,326)
	СТ	23	51,1	22	41,5			1,473 (0,688-3,152)
	ТТ	11	24,4	14	26,4			0,901 (1,105-0,735)
	СТ+ТТ	34	75,6	36	67,9	0,405	0,694	1,460 (0,593-3,593)

Примечание: n – количество женщин в группе, p – достоверность различий, OR – отношение шансов при доверительном интервале – 95%.

\*Распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (Hardy-Weinberg equilibrium) [127].

Мы проанализировали частоту встречаемости различных вариантов генотипов оксида азота в исследуемых группах. В нашем исследовании, анализируя частоту полиморфизмов гена оксида азота, были получены следующие результаты (табл. 1, 2).

Генотип 786 ТТ гена NOS3 786 наблюдался в основной группе с частотой 14,3% против 15,1% контрольной группы (OR=0,938, CI: 1,401-0,627), генотип 786 ТС - 44,9% против 47,2% (OR=0,913, CI: 1,613-0,516), генотип NOS3: 786 СС – 40,8% против 37,7% (OR=1,138, CI: 0,509-2,545), ( $p=0,951$ ,  $\chi^2=0,101$ ). При оценке доминантной модели также не получено статистически значимых различий. Сумма генотипов, содержащих хотя бы один вариантный аллель ТС+СС гена NOS3 786, встречалась с одинаковой частотой в обеих группах: 85,7% против 84,9%, OR=1,607; CI: 0,351-3,241,  $p=0,908$ ,  $\chi^2=0,013$ .

Генотип 894 GG гена NOS3 у пациенток с СГЯ выявлен в 52,1% случаев против 57,4% контрольной группы (OR=0,806, CI: 1,265-0,514), генотип NOS3: 894GT - 41,7% против 33,3% (OR= 1,429, CI: 0,677-3,014), генотип 894 ТТ - 6,3% против 9,3% (OR=0,653, CI: 1,593-0,268), ( $p=0,638$ ,  $\chi^2=0,898$ ). Сумма генотипов, содержащих хотя бы один вариантный аллель 894GT+894ТТ в обеих группах не различалась (47,9% против 42,6%, OR=1,240; CI: 0,562-2,736,  $p=0,590$ ,  $\chi^2=0,292$ ).

Мы также использовали мультипликативную модель анализа частоты встречаемости аллелей гена оксида азота (таблица 3). Частота встречаемости аллеля 786Т в положении гена NOS3 в основной группе составила 36,7% против 38,7% контрольной группы (OR=0,921, CI: 1,628-0,520), аллеля 786С - 63,3% против 61,3% (OR=1,086, CI: 0,614-1,922). Аллель G в положении 894 в основной группе описан в 72,9% случаев против 74,1% случаев беременных без признаков СГЯ (OR=0,942, CI: 1,763-0,504), аллель 894Т – 27,1% против 25,9% (OR=1,061, CI: 0,567-1,986), ( $p=0,852$ ,  $\chi^2=0,035$ ), (табл. 3).

Статистически значимых различий по характеру распределения полиморфных маркеров генов оксида азота мы не получили. Таким образом, генетическая предрасположенность к роли оксида азота в патогенезе СГЯ, выявлена не была. Хотя по современным представлениям оксид азота играет роль

универсального регулятора множества физиологических процессов, включающих в себя поддержание сердечно-сосудистого гомеостаза, иммунного статуса, цитотоксической активности макрофагов и т.д.

Таблица 3

Распределение частот генотипов по полиморфным маркерам генов NOS3 786,  
NOS3 894

Полиморфизм	Генотип	1 группа (n=49)%		2 группа (n=56)%		P	$\chi^2$	OR CI-95% (ORmin-ORmax)
		абс.	%	абс.	%			
NOS3 786 T>C	TT	7	14,3	8	15,1	0,951	0,101	0,938 (1,401-0,627)
	TC	22	44,9	25	47,2			0,913 (1,613-0,516)
	CC	20	40,8	20	37,7			1,138 (0,509-2,545)
	TC+CC	42	85,7	45	84,9	0,908	0,013	1,607 (0,351-3,241)
NOS3 894 G>T	GG	25	52,1	31	57,4	0,638	0,898	0,806 (1,265-0,514)
	GT	20	41,7	18	33,3			1,429 (0,677-3,014)
	TT	7	6,3	8	9,3			0,653 (1,593-0,268)
	GT+TT	27	47,9	26	42,6	0,590	0,292	1,240 (0,562-2,736)

Примечание: n – количество женщин в группе, p – достоверность различий, OR – отношение шансов при доверительном интервале – 95%.

\*Распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (Hardy-Weinberg equilibrium) [127].

Таким образом, сравнительный анализ распределения частот отдельных аллелей и генотипов (табл. 1, 2, 3) исследуемых полиморфных маркеров генов, ответственных за регуляцию компонентов РААС и метаболизма оксида азота, не показал статистически значимых различий между группой женщин с СГЯ и группой контроля. Полученные результаты подтверждают известный факт слабого эффекта отдельных полиморфизмов генов на развитие заболевания без их связи с остальной частью генома и без учёта внешней среды.

## Особенности распределения генетических полиморфизмов РААС и генов метаболизма оксида азота у пациенток с разными формами СГЯ

Ряд авторов подчеркивает различия в патогенезе спонтанного и ятрогенного СГЯ [21]. Основываясь на этих данных, мы предположили, что в генезе ранней и поздней формы СГЯ могут играть роль разные полиморфные варианты изучаемых генов. Для подтверждения или опровержения данной гипотезы мы разделили основную группу на 2 подгруппы: 1а подгруппа - пациентки с ранней формой СГЯ (17 пациенток); 1б подгруппа - пациентки с поздним СГЯ (32 пациентки), и провели сравнительный анализ частоты встречаемости аллелей и генотипов по полиморфным маркерам исследуемых генов в подгруппах пациенток с ранней и поздней формами СГЯ.



Рисунок 5. Распространенность раннего и позднего синдрома гиперстимуляции яичников у пациенток основной группы

При построении общей модели распределения частот генотипов по исследуемым полиморфным маркерам генов РААС и эндотелиальной дисфункции среди пациентов с ранним началом СГЯ и контрольной группой были получены следующие результаты, представленные в таблице 4. Распределение частот генотипов по полиморфным маркерам генов AGT 704, AGT 521, AGTR1, AGTR2, CYP11B2, NOS3 786, NOS3 894 в исследуемых группах соответствовало закону Харди – Вайнберга.

Статистически значимых различий по характеру распределения полиморфных маркеров генов РААС и оксида азота мы не получили.

Распределение частот генотипов по полиморфным маркерам генов AGT 704, AGT 521, AGTR1, AGTR2, CYP11B2, NOS3 786, NOS3 894 у пациентов с ранней степенью синдрома гиперстимуляции яичников и группы контроля (абс. %)

Полиморфизм	Генотип/аллель	Раннее начало СГЯ (n=17)	Контрольная группа (n=56)	p	$\chi^2$	OR CI-95% (ORmin-ORmax)
		%	%			
AGT 704 T>C	TT	31	26	0,71	0,69	1,25 (0,73-2,15)
	TC	41	51			0,68 (1,71-0,27)
	CC	28	23			1,30 (0,69-2,45)
	TC+CC	69	74	0,66	0,20	0,08 (2,19-0,29)
AGT 521 C>T	CC	75	76	0,89	0,23	0,95 (1,17-0,77)
	CT	21	22			0,95 (1,16-0,79)
	TT	4	2			1,96 (0,12-32,06)
	CT+TT	25	24	0,93	0,01	1,05 (0,36-3,08)
AGTR1 1166 A>C	AA	71	63	0,59	1,07	1,47 (0,7-3,09)
	AC	25	28			0,87 (1,14-0,66)
	CC	4	9			0,36 (2,55-0,05)
	AC+CC	29	37	0,44	0,59	0,68 (1,85-0,25)
AGTR2 1675 G>A	GG	37	41	0,9	0,22	0,84 (1,75-0,40)
	GA	37	37			0,99 (1,03-0,95)
	AA	26	22			1,27 (0,46-3,53)
	GA+AA	63	59	0,6	0,3	1,2 (0,66-2,18)
CYP 11B2 344C>T	CC	32	32	0,99	0,03	1,0 (1,04-0,95)
	CT	40	42			0,94 (2,05-0,43)
	TT	28	26			1,08 (0,4-2,95)
	CT+TT	68	68	0,99	0,0	1,0 (0,36-2,83)
NOS3 786 T>C	TT	17	15	0,83	0,37	1,17 (0,70-1,97)
	TC	52	47			1,2 (0,66-2,18)
	CC	31	38			0,74 (1,96-0,28)
	TC+CC	83	85	0,8	0,06	0,85 (2,95-0,25)
NOS3 894 G>T	GG	43	57	0,44	1,62	0,56 (1,39-0,22)
	GT	46	33			1,73 (0,73-4,10)
	TT	11	9			1,18 (0,91-1,52)
	GT+TT	57	43	0,21	1,57	1,80 (0,71-4,57)

Примечание: n – количество женщин в группе, p – достоверность различий, OR – отношение шансов при доверительном интервале – 95%.

\*Распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (Hardy-Weinberg equilibrium) [127].

Анализировалось распределение частот генотипов по исследуемым полиморфным маркерам генов, регулирующих сосудистый тонус, у пациентов с поздним СГЯ и группы контроля (табл. 5). Распределение частот генотипов по

полиморфным маркерам генов AGT 704, AGT 521, AGTR1, AGTR2, CYP11B2, NOS3 786, NOS3 894 в исследуемых группах соответствовало закону Харди – Вайнберга. Статистически значимых различий мы не получили.

Таблица 5

Распределение частот генотипов по полиморфным маркерам генов AGT 704, AGT 521, AGTR1, AGTR2, CYP11B2, NOS3 786, NOS3 894 у пациентов с поздним синдромом гиперстимуляции яичников и группы контроля (абс. %)

Полиморфизм	Генотип/аллель	Поздняя форма СГЯ (n=32)	Контрольная группа (n=56)	p	$\chi^2$	OR CI-95% (ORmin-ORmax)
		%	%			
AGT 704 T>C	TT	23	26	0,71	0,70	0,82 (1,32-0,51)
	TC	45	51			0,80 (1,36-0,47)
	CC	32	23			1,59 (0,52-4,86)
	TC+CC	77	74	0,74	0,11	1,22 (0,37-4,0)
AGT 521 C>T	CC	67	76	0,16	3,65	0,63 (1,14-0,35)
	CT	24	22			1,09 (0,98-1,23)
	TT	10	2			5,58 (0,62-50,50)
	CT+TT	33	24			0,42
AGTR1 1166 A>C	AA	53	63	0,16	3,65	0,65 (1,02-0,42)
	AC	47	28			2,34 (0,96-5,68)
	CC	0	9			0 (0)
	AC+CC	47	37			0,43
AGTR2 1675 G>A	GG	48	41	0,53	1,26	1,30 (0,82-2,07)
	GA	24	37			0,53 (1,65-0,17)
	AA	29	22			1,45 (0,75-2,83)
	GA+AA	52	59			0,62
CYP 11B2 344C>T	CC	15	32	0,18	3,46	0,37 (1,07-0,13)
	CT	65	42			2,62 (0,93-7,34)
	TT	20	26			0,70 (1,03-0,47)
	CT+TT	85	68			0,14
NOS3 786 T>C	TT	10	15	0,31	2,32	0,59 (1,18-0,30)
	TC	33	47			0,56 (1,20-0,26)
	CC	57	38			2,20 (0,78-6,17)
	TC+CC	90	85			0,53
NOS3 894 G>T	GG	65	57	0,37	2,01	1,38 (0,88-2,16)
	GT	35	33			1,08 (0,97-1,20)
	TT	0	9			0 (0)
	GT+TT	35	43			0,55

Примечание: n – количество женщин в группе, p – достоверность различий, OR – отношение шансов при доверительном интервале – 95%.

\*Распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (Hardy-Weinberg equilibrium) [127].

Однако при выполнении статистического анализа особенностей генома у пациенток с ранним и поздним СГЯ были выявлены достоверные отличия в частоте встречаемости гетерозиготного генотипа -344СТ гена СYP 11B2 у женщин с поздней формой СГЯ по сравнению с женщинами с ранним началом этой патологии ( $\chi^2 = 6,7$ ,  $p=0,035$ , OR 3,06, 95% CI 1,28-7,28) (табл. 6, 7).

Таблица 6

Ассоциация генотипов гена СYP11B2 344 СТ в зависимости от срока развития синдрома гиперстимуляции яичников

Полиморфизм	Генотип/ аллель	Ранний СГЯ (1а подгруппа) (n=17)	Поздний СГЯ (1б подгруппа) (n=32)	p	$\chi^2$	OR CI-95% (ORmin- ORmax)
		%	%			
СYP 11B2 344C>T	CC	29	22	0,035	6,7	1,49(1,09-2,03)
	CT	65	38			3,06(1,28-7,28)
	TT	6	40			0,09(0,59-0,01)

Примечание: n – количество женщин в группе, p – достоверность различий, OR – отношение шансов при доверительном интервале – 95%.



Рисунок 6. Распределение генотипов гена СYP11B2 у женщин основной группы в зависимости от срока развития синдрома гиперстимуляции яичников

Ассоциация аллелей гена альдостеронсинтазы в зависимости  
от срока развития синдрома гиперстимуляции яичников

Полиморфизм	Генотип/ аллель	Ранний СГЯ (n=17)	Поздний СГЯ (n=32)	p	$\chi^2$	OR CI-95% (ORmin-ORmax)
		%	%			
CYP11B2 C>T	C	62	41	0,046	3,98	2,36(1,00-5,55)
	T	38	59			0,42(1,00-0,18)

Примечание: n – количество женщин в группе, p – достоверность различий,  
OR – отношение шансов при доверительном интервале – 95%.

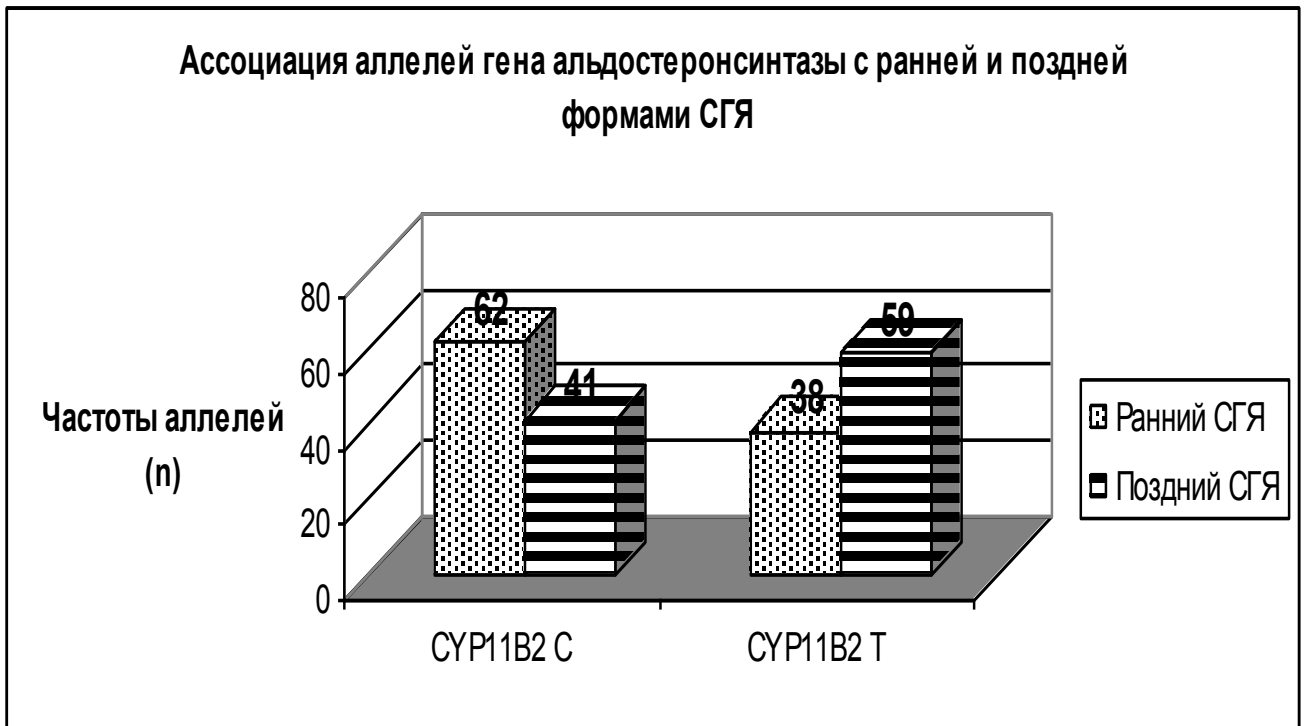


Рисунок 7. Распространенность аллелей гена альдостеронсинтазы при ранней и поздней формах синдрома гиперстимуляции яичников



Учитывая, что тяжёлые формы СГЯ представляют угрозу для жизни пациентки, с практической точки зрения, в первую, возникает интерес о риске возникновения данного осложнения у пациенток программ ВРТ. Поэтому основная группа женщин с СГЯ нами была разделена также на две подгруппы: 2а – пациентки со средней степенью СГЯ (38), 2б – с тяжёлым СГЯ (11).



Рисунок 8. Распределение женщин в зависимости от степени тяжести синдрома гиперстимуляции яичников

Для анализа особенностей генома у пациенток со средней степенью СГЯ и пациенток группы контроля была использована общая модель анализа частоты встречаемости генотипов генов AGT 704, AGT 521, AGTR1, AGTR2, CYP11B2, NOS3 786, NOS3 894 (табл. 8). Распределение частот генотипов по полиморфным маркерам генов AGT 704, AGT 521, AGTR1, AGTR2, CYP11B2, NOS3 786, NOS3 894 в исследуемых группах соответствовало закону Харди – Вайнберга. Статистически значимых различий мы не получили.

Распределение частот генотипов по полиморфным маркерам генов AGT 704, AGT 521, AGTR1, AGTR2, CYP11B2, NOS3 786, NOS3 894 у пациентов со средней степенью СГЯ и группы контроля (абс. %)

Полиморфизм	Генотип/аллель	Средняя степень СГЯ (n=38)	Контрольная группа (n=56)	p	$\chi^2$	OR CI-95% (ORmin-ORmax)
		%	%			
AGT 704 T>C	TT	38	26	0,42	1,72	1,74 (0,75-4,06)
	TC	31	51			0,43 (1,56-0,12)
	CC	31	23			1,52 (0,8-2,87)
	TC+CC	62	74	0,39	0,74	0,57 (2,08-0,16)
AGT 521 C>T	CC	75	76	0,47	1,51	0,95 (1,03-0,88)
	CT	17	22			0,7 (1,25-0,39)
	TT	8	2			4,82 (0,37-62,36)
	CT+TT	25	24	0,95	0,0	1,05 (0,24-4,6)
AGTR1 1166 A>C	AA	42	63	0,32	2,29	0,42 (1,32-0,13)
	AC	50	28			2,6 (0,74-9,19)
	CC	8	9			0,89 (1,04-0,76)
	AC+CC	58	37	0,17	1,84	2,38 (0,66-8,53)
AGTR2 1675 G>A	GG	50	41	0,85	0,33	1,43 (0,41-4,94)
	GA	33	37			0,84 (1,53-0,46)
	AA	17	22			0,73 (2,20-0,24)
	GA+AA	50	59	0,58	0,31	0,70 (2,53-0,19)
CYP 11B2 344C>T	CC	27	32	0,33	2,22	0,79 (1,08-0,58)
	CT	64	42			2,47 (0,73-8,28)
	TT	9	26			0,28 (1,55-0,05)
	CT+TT	73	68	0,75	0,1	0,79 (3,47-0,18)
NOS3 786 T>C	TT	17	15	0,7	0,71	1,13 (0,85-1,49)
	TC	58	47			1,57 (0,54-4,55)
	CC	25	38			0,55 (2,27-0,13)
	TC+CC	83	85	0,89	0,02	0,89 (5,0-0,16)
NOS3 894 G>T	GG	50	57	0,38	1,96	0,74 (1,14-0,48)
	GT	50	33			2 (0,74-5,38)
	TT	0	9			0
	GT+TT	50	43	0,64	0,22	1,35(0,38-4,82)

Примечание: n – количество женщин в группе, p – достоверность различий, OR – отношение шансов при доверительном интервале – 95%.

\*Распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (Hardy-Weinberg equilibrium) [127].

Распределение частот генотипов по полиморфным маркерам генов AGT 704, AGT 521, AGTR1, AGTR2, CYP11B2, NOS3 786, NOS3 894 у пациентов с тяжёлой степенью СГЯ и группы контроля представлено в таблице 9. Распределение частот генотипов по полиморфным маркерам генов AGT 704, AGT 521, AGTR1, AGTR2, CYP11B2, NOS3 786, NOS3 894 в исследуемых группах соответствовало закону Харди – Вайнберга.

Таблица 9

Распределение частот генотипов по полиморфным маркерам генов AGT 704, AGT 521, AGTR1, AGTR2, CYP11B2, NOS3 786, NOS3 894 у пациентов с тяжёлой степенью синдрома гиперстимуляции яичников и группы контроля (абс. %)

Полиморфизм	Генотип/аллель	Тяжелая степень СГЯ (n=11)	Контрольная группа (n=56)	p	$\chi^2$	OR CI-95% (ORmin-ORmax)
		%	%			
AGT 704 T>C	TT	24	26	0,79	0,47	0,86 (1,32-0,57)
	TC	47	51			0,87 (1,31-0,57)
	CC	29	23			1,39 (0,53-3,63)
	TC+CC	76	74	0,77	0,09	1,16 (0,43-3,08)
AGT 521 C>T	CC	70	76	0,61	0,98	0,75 (1,34-0,42)
	CT	24	22			1,13 (0,89-1,43)
	TT	5	2			3,03 (0,33- 28,05)
	CT+TT	30	24	0,55	0,36	1,33 (0,51-3,46)
AGTR1 1166 A>C	AA	71	63	0,18	3,48	1,47 (0,97-2,22)
	AC	29	28			1,04 (1,0-1,08)
	CC	0	9			0 (0)
	AC+CC	29	37	0,41	0,68	0,68 (1,72-0,27)
AGTR2 1675 G>A	GG	39	41	0,61	0,98	0,91 (1,10-0,75)
	GA	31	37			0,74 (1,35-0,41)
	AA	31	22			1,6 (0,62-4,12)
	GA+AA	61	59	0,83	0,05	1,10 (0,45-2,66)
CYP 11B2 344C>T	CC	24	32	0,69	0,74	0,65 (1,75-0,24)
	CT	47	42			1,25 (0,74-2,11)
	TT	29	26			1,16 (0,82-1,64)
	CT+TT	76	68	0,39	0,74	1,53 (0,57-4,13)
NOS3 786 T>C	TT	14	15	0,74	0,61	0,88n (1,22-0,63)
	TC	41	47			1,4 (0,59-3,32)
	CC	46	38			1,4 (0,59-3/32)
	TC+CC	86	85	0,83	0,04	1,14 (0,34-3,86)
NOS3 894 G>T	GG	53	57	0,86	0,29	0,83 (1,65-0,42)
	GT	39	33			1,27 (0,52-3,09)
	TT	8	9			0,89 (1,36-0,58)
	GT+TT	47	43	0,67	0,19	1,21 (0,51-2,85)

Примечание: n – количество женщин в группе, p – достоверность различий, OR – отношение шансов при доверительном интервале – 95%.

\*Распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (Hardy-Weinberg equilibrium) [127].

Статистически значимые различия по характеру распределения частот генотипов по полиморфным маркерам генов AGT 704, AGT 521, AGTR1, AGTR2, CYP11B2, NOS3 786, NOS3 894 у пациентов со средней и тяжёлой степенью СГЯ по сравнению с группой контроля выявлены не были.

В ходе математического анализа внутри группы пациентов с СГЯ (среди пациентов с тяжёлой и средней степенью) была выявлена протективная роль аллеля 1675 А гена AGTR2 (рецептора 2-го типа к ангиотензину II) в отношении тяжёлой формы СГЯ ( $\chi^2 = 4,19$ ,  $p=0,04$ , OR 2,79, 95% CI 1,03-7,56). Носительство вариантного аллеля в гетеро - или гомозиготном состоянии уменьшает риск развития тяжёлой формы СГЯ практически в два раза (табл. 10, 11).

Таблица 10

Ассоциация генотипов гена 1675 AGTR2 со степенью синдрома гиперстимуляции яичников

Полиморфизм	Генотип/аллель	Средняя форма СГЯ (2а-подгруппа) (n=38)	Тяжёлая форма СГЯ (2б-подгруппа) (n=11)	p	$\chi^2$	OR CI-95% (ORmin-ORmax)
		%	%			
AGTR2 1675 G>A	GG	10	37	0,16	3,64	0,17 (1,1-0,03)
	GA	45	40			1,28 (0,99-1,65)
	AA	45	24			2,69 (0,95-7,61)

Примечание: n – количество женщин в группе, p – достоверность различий, OR – отношение шансов при доверительном интервале – 95%.

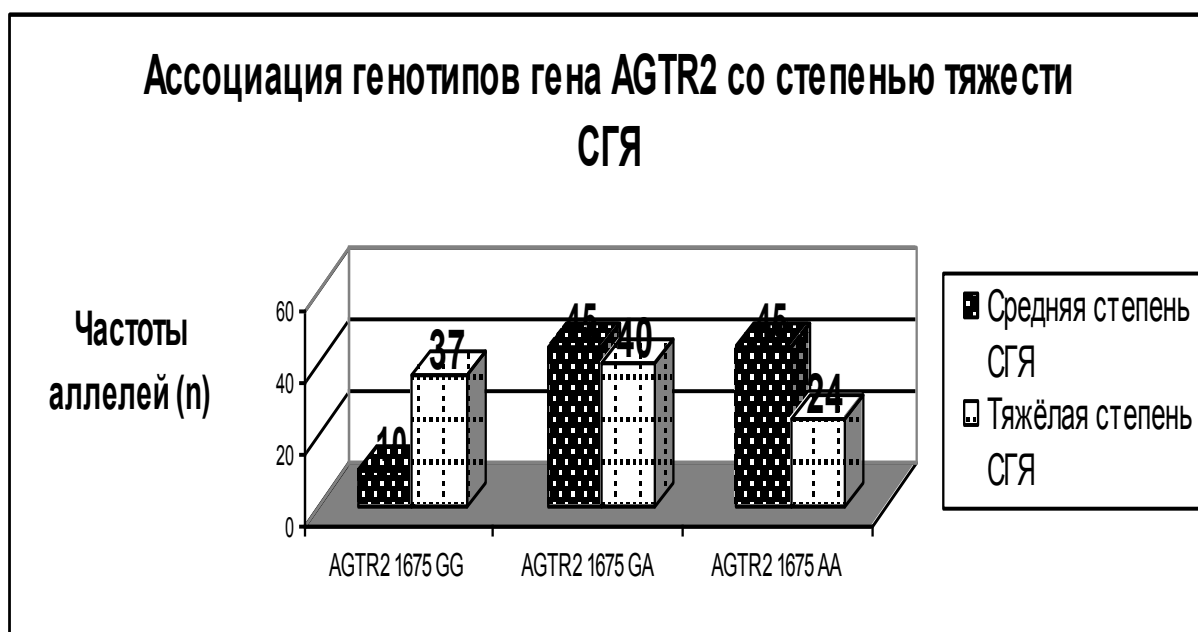


Рисунок 9. Распространенность генотипов гена AGTR2 у пациенток со средней и тяжелой степенью синдрома гиперстимуляции яичников

Таблица 11

Ассоциация аллелей гена 1675 AGTR2 со степенью синдрома гиперстимуляции яичников

Полиморфизм	Генотип/аллель	Средняя форма СГЯ (2а-подгруппа) (n=38)	Тяжёлая форма СГЯ (2б-подгруппа) (n=11)	p	$\chi^2$	OR CI-95% (ORmin-ORmax)
		%	%			
AGTR2 1675 G>A	G	32	57	0,04	4,19	0,36 (0,97-0,13)
	A	68	43			2,79 (1,03-7,56)

Примечание: n – количество женщин в группе, p – достоверность различий, OR – отношение шансов при доверительном интервале – 95%.

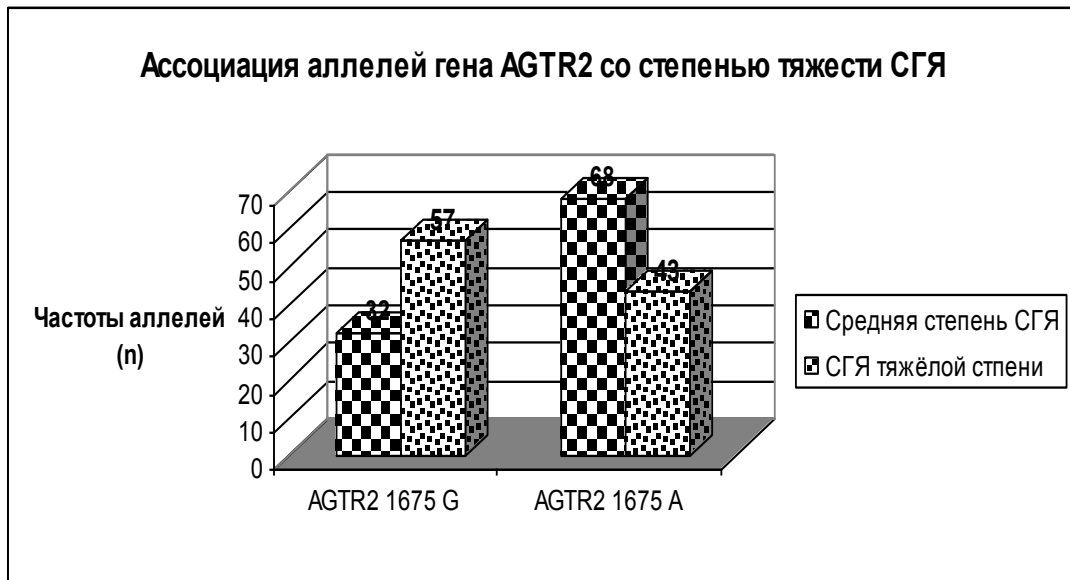


Рисунок 10. Распределение аллелей гена AGTR2 среди пациентов со средней и тяжёлой степенью СГЯ

### 3.2. Значение иммунологических маркеров ренин-ангиотезин-альдостероновой системы у пациенток исследуемых групп

Наибольшее значение в патогенезе СГЯ отводится активации системы РААС.

Установленные нами особенности генетического статуса пациенток с СГЯ должны были иметь и соответствующие фенотипические проявления. Для характеристики функционального состояния РААС нам представлялось целесообразно определять активность ренина плазмы крови, содержание ангиотензина II и концентрацию альдостерона в плазме крови.

В проведенном нами исследовании не установлено статистически значимых различий в содержания ренина и альдостерона у пациенток исследуемых групп. Тем не менее, обнаружено достоверное повышение уровня ангиотензина II у пациенток с СГЯ по сравнению с контрольной группой. Среднее значение ангиотензина II в группе женщин с СГЯ составило  $152,342 \pm 45,62$  пг/мл, в группе контроля  $63,104 \pm 17,25$  ( $p=0,029$ ), (табл. 12). При изучении корреляция установлена сильная корреляционная зависимость между уровнем ангиотензина II и наличием СГЯ (-0,81).

Содержание маркеров системы ренин-ангиотензин-альдостероновой системы  
у пациенток исследуемых групп

Показатели	Основная группа (n=49)	Контрольная группа (n=56)	p
Ренин, пг/мл	407,36 ±80,69	566,160±134,57	0,165
Ангиотензин - II, пг/мл	152,342±45,62	63,104±17,25	0,029
Альдостерон, пг/мл	771,626 ±147,06	1023,938±178,55	0,143

Примечание: p – уровень значимости различий между группами



Рисунок 11. Содержание маркеров системы ренин-ангиотензин-альдостероновой системы в исследуемых группах

Интересно было оценить уровни ангиотензина II и альдостерона у пациенток с разными формами СГЯ. Обнаружено достоверное повышение уровней ангиотензина II (155,56 пг/мл) и альдостерона (703,17 пг/мл) у пациентов с поздней формой СГЯ по сравнению с ранним началом развития синдрома ( $p < 0,05$ ) (табл. 13).

Содержание ангиотензина II и альдостерона у пациенток с разными формами синдрома гиперстимуляции яичников

Показатели	Ранний СГЯ (n=17)	Поздний СГЯ (n=32)	Средняя степень тяжести СГЯ (n=38)	Тяжелый СГЯ (n=11)	p
Ангиотензин - II, пг/мл	77,92	155,66	142,53	73,56	0,02
Альдостерон, пг/мл	592,57	703,17	641,18	74,08	0,03

Примечание: p – уровень значимости различий между группами

В то же время изучение корреляций показало сильную корреляционную зависимость между уровнем альдостерона и ранним проявлением СГЯ (0,73).

Зная, что наличие T- аллеля в промоторной области гена альдостеронсинтетазы сопровождается повышением базальной продукции альдостерона, целесообразным представлялось провести корреляционный анализ между уровнем альдостерона и наличием генотипа CYP11B2: -344CT, являющегося маркером поздней формы СГЯ. При изучении корреляции выявлена невысокая положительная корреляционная зависимость между уровнем альдостерона и наличием гетерозиготного генотипа гена альдостеронсинтазы (0,53).

Нам не удалось подтвердить теорию R. Haning и соавт. о взаимосвязи рениновой активности плазмы с тяжестью синдрома. Достоверных данных и взаимосвязей ренина с наличием СГЯ в ходе анализа получено не было. Однако мы получили достоверное повышение концентрации мощного вазоконстриктора, ангиотензина II, способствующего повышенному синтезу простагландинов, являющихся важным звеном в генезе СГЯ.



### **3.3. Способ прогнозирования синдрома гиперстимуляции яичников у пациенток программ экстракорпорального оплодотворения**

Сложность прогнозирования СГЯ заключается в отсутствии ясности в патогенезе. Скрининга СГЯ в настоящее время не существует [24].

В ряде исследований обнаружена положительная корреляция между объемом яичников, измеренным на второй-третий дни цикла, и риском развития СГЯ. Вероятность особенно высока у пациенток с синдромом поликистозных яичников, у которых средний объем яичников обычно превышает 10 см<sup>3</sup> [15, 54].

Установлено, что число и размер фолликулов во время овуляции коррелируют с частотой развития СГЯ. Так, частота СГЯ возрастает с увеличением числа мелких (5-8 мм) и средних (9-15 мм) фолликулов. Ультразвуковой мониторинг оказывает значительную помощь для определения степени риска СГЯ на этапе подготовки к программе ЭКО, однако данный способ не исключает определенной доли субъективизма в измерении ультразвуковых параметров. Кроме того, главной проблемой, затрудняющей вероятность прогнозирования, является отсутствие коррелятивной зависимости между развитием СГЯ и параметрами яичникового ответа [7].

Для прогнозирования риска развития СГЯ, согласно результатам исследования Л.Н. Кузьмичева, диагностическую значимость имеет цветное доплеровское картирование. Динамическое наблюдение за изменением скорости кровотока даёт возможность оценить появление паразитарного пика, что определяет тактику ведения стимулированного цикла. При выявлении снижения пульсационного индекса в спонтанном менструальном цикле показано назначение трансвагинальной пункции с целью забора ооцитов на следующий день. Также при выявлении снижения пульсационного индекса при индукции овуляции необходимо решить вопрос о назначении овуляторной дозы хорионического гонадотропина или прекратить стимуляцию суперовуляции [22]. Исследование внутрияичникового кровотока при помощи доплерометрии яичниковых сосудов имеет существенный недостаток: данный метод применим только при

мониторинге фолликулогенеза в процессе стимуляции, что исключает возможность его использования на этапе подготовки к программе ЭКО.

В отечественной литературе описан способ прогноза развития СГЯ у пациенток с бесплодием трубно-перитонеального генеза в программе ВРТ с учетом проангиогенного фактора сосудисто-эндотелиального фактора роста – А (СЭФР-А). Стимуляция овуляции в циклах ЭКО и ПЭ у пациенток группы риска по развитию синдрома гиперстимуляции яичников сопровождается увеличением уровней СЭФР и альфа2-макроглобулина сыворотки крови до максимальных значений ко дню введения хорионического гонадотропина и трансвагинальной пункции. В связи с этим автор исследования предлагает у пациенток программы ЭКО и ПЭ с риском развития СГЯ в целях профилактики проводить двукратное определение содержания СЭФР-А перед введением триггера овуляции и перед трансвагинальной пункцией фолликулов. При получении в программе ЭКО и ПЭ в день введения триггера овуляции содержания СЭФР-А в сыворотке крови 250 пг/мл и более рекомендуется проводить повторное исследование уровня СЭФР-А в день забора ооцитов перед трансвагинальной пункцией фолликулов. При уровне СЭФР-А в сыворотке крови меньше 250 пг/мл и в день трансвагинальной пункции фолликулов – меньше 380 пг/мл рекомендуется завершение программы ВРТ переносом эмбрионов с проведением комплекса лечебно-профилактических мероприятий (внутривенное введение гидроксипропилированного крахмала, подкожное введение низкомолекулярных гепаринов). При концентрации СЭФР-А в сыворотке крови в день трансвагинальной пункции фолликулов 380 пг/мл и более, а также при наличии других известных факторов риска развития СГЯ, следует использовать тактику ведения пациенток с криоконсервацией полученных эмбрионов и их переносом в следующем менструальном цикле [6]. Данный способ нельзя использовать на этапе подготовки к программе ЭКО.

На основании полученных в ходе исследования данных методом дискриминантного анализа выведено правило прогнозирования СГЯ у пациенток

программ ЭКО и ПЭ на основании анамнестических данных и результатов молекулярно-генетического и иммунологического исследований.

В результате статистической обработки 98 признаков (возраст, соматическая патология, данные гинекологического анамнеза, особенности протоколов стимуляции суперовуляции, количество полученных фолликулов и яйцеклеток во время ТВП, данные лабораторных исследований и молекулярно-генетического обследования на гены РААС) с применением метода дискриминантного анализа были определены наиболее информативные показатели, прогнозирующие риск развития СГЯ в программах ЭКО.

На первом этапе выполняют сбор анамнестических данных (генез бесплодия, предшествующие беременности). Следующим этапом проводят молекулярно-генетическое тестирование пациентки для определения генотипов СYP11B2: -344СТ гена альдостеронсинтазы и AGT: 521СС гена ангиотензиногена, определяют содержание уровня тромбоцитов, ангиотензина II у пациенток во время стимуляции суперовуляции и, учитывая количество ооцитов, полученных во время трансвагинальной пункции, вычисляют прогностический индекс ПИ по формуле:

$$\text{ПИ} = 0,78 - 0,33 \times X_1 - 0,39 \times X_2 - 0,021 \times X_3 + 0,31 \times X_4 \times X_5 + 0,19 \times X_6 + 0,04 \times X_7,$$

Где:

$X_1$ - количество ооцитов, полученных во время трансвагинальной пункции;

$X_2$ - маточная беременность в анамнезе: наличие маточной беременности в анамнезе принимают за 1, отсутствие – принимают за 0;

$X_3$ - уровень ангиотензина II (нг/мл);

$X_4$ - эндокринный генез бесплодия: наличие эндокринного генеза в анамнезе принимают за 1, отсутствие - принимают за 0;

$X_5$ - наличие генотипа -344СТ гена СYP11B2 принимают за 1, другие генотипы по данному полиморфизму принимают за 0;

$X_6$ - наличие генотипа 521ТТ гена AGT у пациентки принимают за 1, другие генотипы по данному полиморфизму принимают за 0;

$X_7$  – количество тромбоцитов, определяемое на пятый – восьмой день стимуляции суперовуляции; получив значение ПИ более 5 прогнозируют низкий риск развития синдрома гиперстимуляции яичников в программе экстракорпорального оплодотворения, при значении ПИ менее - 5,0 судят о высоком риске развития синдрома гиперстимуляции яичников, если же значение ПИ от 5 до - 5, то прогноз в данном случае неопределенный.

Чувствительность решающего правила 66,17%.

Специфичность 77,89%.

Эффективность 71,15%.

Приведем клинические примеры, иллюстрирующие использование правила прогнозирования СГЯ при ведении пациентов в программах ЭКО.

Пример 1.

Пациентка М., 27 лет, история болезни № 8481. Поступила в гинекологическое отделение ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России с диагнозом СГЯ тяжёлой степени тяжести.

Из анамнеза: страдает бесплодием трубного генеза в течение двух лет. В анамнезе одна внематочная беременность. В 2007г. выполнена лапароскопия, резекция левого яичника по поводу эндометриоидной кисты. В 2010 г. – лапароскопия, тубэктомия справа в связи с внематочной беременностью.

В ноябре 2012г. выполнена программа ЭКО и ПЭ. Контролируемая овариальная суперстимуляция по протоколу с антагонистом гонадотропин-рилизинг гормонов. При трансвагинальной пункции фолликулов получено 12 яйцеклеток. Перенос двух эмбрионов на стадии бластоцисты выполнен на пятые сутки. В качестве посттрансферной поддержки был назначен препарат микронизированного прогестерона в дозировке 600 мг/сутки интравагинально.

При поступлении (четвертый день после ПЭ) объективно: кожные покровы бледные, живот увеличен в объеме за счёт асцита, напряжен, при пальпации безболезненный, симптомы раздражения брюшины отрицательные; наблюдается

одышка, частота дыхательных движений до 20 в минуту. Диурез снижен, до 400 мл в сутки. При УЗИ выявлено: матка нормальной величины и структуры. М-эхо 15мм. Яичники с обеих сторон увеличены за счёт фолликулярных и лютеиновых кист до 80×74×78 мм. Свободная жидкость в заднем своде и брюшной полости в большом количестве. В вертикальном положении в плевральных полостях с двух сторон также определяется свободная жидкость, преимущественно слева.

Лабораторные обследования при поступлении: в общем анализе крови лейкоцитоз до  $26,10 \times 10^9/\text{л}$ , гематокрит 46,7%, показатели коагулограммы - фибриноген 6,1 г/л, Д-димеры 1122 нг/мл, в биохимическом анализе крови – общий белок 43,4 ммоль/л, альбумин 23,68 ммоль/л, уровень хорионического гонадотропина (ХГЧ) 28 МЕ/л. По результатам молекулярно-генетического тестирования пациентка имеет генотип: CYP11B2: -344СТ и AGT: 521СС.

Уровень ангиотензина II составил 165,69 нг/мл. Полученные данные вставлены в формулу:

$$\text{ПИ} = 0,78 - 0,33 \times 12 - 0,39 \times 0 - 0,021 \times 165,69 + 0,31 \times 0 \times 1 + 0,19 \times 0 + 0,04 \times 0,$$

Значение ПИ составляет - 6,659, что < - 5 и соответствует высокому риску СГЯ.

В процессе лечения проводилась инфузионная терапия растворами кристаллоидов и гидроксипропилированного крахмала, однократная инфузия 20% раствора альбумина, инъекции низкомолекулярных гепаринов, пятикратный парацентез с эвакуацией асцитической жидкости.

Через 21 день после ПЭ маточная беременность одним плодным яйцом была подтверждена по УЗИ.

В сроке беременности шесть-семь недель появились признаки острого пиелонефрита, по поводу, которого проводилась антибактериальная терапия.

В восемь-девять недель беременности пациентка была выписана в удовлетворительном состоянии с прогрессирующей беременностью.

В дальнейшем беременность протекала без особенностей. В сроке беременности 39-40 недель пациентка самостоятельно родоразрешилась живым доношенным мальчиком весом 3080,0 ростом 52 см.

## Пример 2.

Пациентка Л., 33 лет, индивидуальная карта пациента №71/66 (2012г.). Была направлена в ФГБУ «НИИ ОММ Минздрава России» для проведения ЭКО и ПЭ за счёт средств федерального бюджета.

Из анамнеза: Страдает первичным бесплодием трубного генеза в течение семи лет. В 2009 г. - лапароскопия, сальпингооовариолизис.

При УЗИ органов малого таза (на второй день менструального цикла) выявлено: Матка нормальной величины и структуры (55×48×53). М-ЭХО – 5 мм, линейное. Правый яичник 28×24×22, в структуре содержит 5-6 антральных фолликулов диаметром до 6мм. Левый яичник 30×26×20, в структуре содержит 6-7 антральных фолликулов диаметром до 6 мм. Заключение: УЗИ соответствует дню менструального цикла, овариальный резерв сохранен.

Пациентка была обследована согласно приказу Минздрава России № 107н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению».

По результатам молекулярно-генетического тестирования у пациентки был определен генотип: СYP11B2: -344СС и AGT: 521СС.

Количество тромбоцитов по данным коагулограммы в процессе стимуляции суперовуляции -  $259 \times 10^{12}/л$ .

Уровень ангиотензина II составил 32,9 нг/мл.

Контролируемая овариальная суперстимуляция начата по модифицированному протоколу с антагонистом гонадотропин-рилизинг гормонов. В качестве триггера овуляции на 12 день менструального цикла использовали рекомбинантный хорионический гонадотропин в дозировке 6500МЕ. При трансвагинальной пункции яичников получено 10 ооцитов. На пятые сутки после пункции фолликулов был осуществлен перенос одного эмбриона на стадии развития бластоцисты. В качестве посттрансферной поддержки был назначен препарат Утрожестан в дозировке 600 мг/сутки интравагинально.

Полученные данные вставлены в формулу:

$$\text{ПИ} = 0,78 - 0,33 \times 10 - 0,39 \times 0 - 0,021 \times 32,9 + 0,31 \times 0 \times 0 + 0,19 \times 0 + 0,04 \times 259,$$

Значение ПИ составляет 7,142, что  $> 5$  и соответствует низкому риску развития СГЯ.

В качестве посттрансферной поддержки был назначен препарат Утрожестан в дозировке 600 мг/сутки интравагинально.

Через две недели выполнен мочевого тест на беременность – положительный. При ультразвуковом исследовании обнаружено одно плодное яйцо в полости матки. Данных за СГЯ не выявлено.

В сроке беременности 38-39 недель пациентка родоразрешилась способом операции кесарево сечение живым доношенным мальчиком весом 3250 г, ростом 53 см.

### Пример 3.

Пациентка В., 36 лет, индивидуальная карта пациента №606/582 (2011г.) была направлена в ФБГУ «НИИ ОММ» Минздрава России для проведения ЭКО и ПЭ за счёт средств федерального бюджета.

Из анамнеза: вторичное бесплодие трубного генеза в течение девяти лет. В 2002г. искусственное прерывание беременности по желанию. В 2008 г. выполнена лапароскопия, сальпингоовариолизис. В 2010 г. - диагностическая гистероскопия.

При УЗИ (на 2 день менструального цикла) выявлено: матка нормальной величины и структуры (54×39×50). М-ЭХО – 2,5 мм, линейное; правый яичник 34×21×29, в структуре содержит более 4-5 антральных фолликулов диаметром до 6мм; левый яичник 22×16×20, в структуре содержит более трех антральных фолликулов диаметром до 6 мм.

Заключение: УЗИ соответствует дню менструального цикла, овариальный резерв сохранен.

Пациентка была обследована согласно приказу Минздрава России № 107н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению».

По результатам молекулярно-генетического исследования у пациентки был определен генотип: CYP11B2: -344CT и AGT: 521CC

Контролируемая овариальная суперстимуляция проводилась по модифицированному протоколу с антагонистом гонадотропин-рилизинг гормонов. Суммарная доза рекомбинантного фолликулостимулирующего гонадотропина составила 1500 МЕ. На 14 день менструального цикла в качестве триггера овуляции введен рекомбинантный хорионический гонадотропин в дозе 6500 ЕД. При трансвагинальной пункции яичников получено 16 ооцитов. На пятые сутки после пункции фолликулов был осуществлен перенос двух эмбрионов на стадии развития бластоциста. В качестве посттрансферной поддержки был назначен препарат Утрожестан в дозировке 600 мг/сутки интравагинально.

Количество тромбоцитов на седьмой день стимуляции суперовуляции -  $298 \times 10^{12}/л$ .

Уровень ангиотензина II составил 324,3 нг/мл. Полученные данные вставлены в формулу:

$$ПИ = 0,78 - 0,33 \times 16 - 0,39 \times 1 - 0,021 \times 324,3 + 0,31 \times 0 \times 1 + 0,19 \times 0 + 0,04 \times 298,$$

Значение ПИ составляет - 0,023 что соответствует неопределенному прогнозу по развитию СГЯ.

Через 14 дней после ПЭ выполнен анализ В-ХГЧ, который составил 2000, что соответствует положительному тесту на беременность. Данных за СГЯ получено не было. Через 21 день при УЗИ в полости матки обнаружено одно плодное яйцо.

В сроке 39 недель беременности пациентка родоразрешилась способом операции кесарево сечение. Родилась живая доношенная девочка весом 3470,0 ростом 52см.

Таким образом, данный способ позволяет прогнозировать вероятность развития СГЯ у женщин в программах ЭКО и ПЭ, тем самым оптимизировать и повысить результативность программ ЭКО. Данный способ даёт возможность своевременно, не причиняя вреда здоровью и без лишних материальных затрат,



определить тактику ведения для каждой конкретной пациентке, а именно выбрать протокол стимуляции, стартовую дозу гонадотропинов, рассмотреть вариант замены триггера овуляции и отмены переноса эмбрионов в стимулированном цикле.

В ходе нашего исследования, был разработан алгоритм прогнозирования СГЯ на основании молекулярно-генетического исследования генов, регулирующих сосудистый тонус. Предложены схемы стимуляции суперовуляции и возможные пути профилактики СГЯ в программах ЭКО.

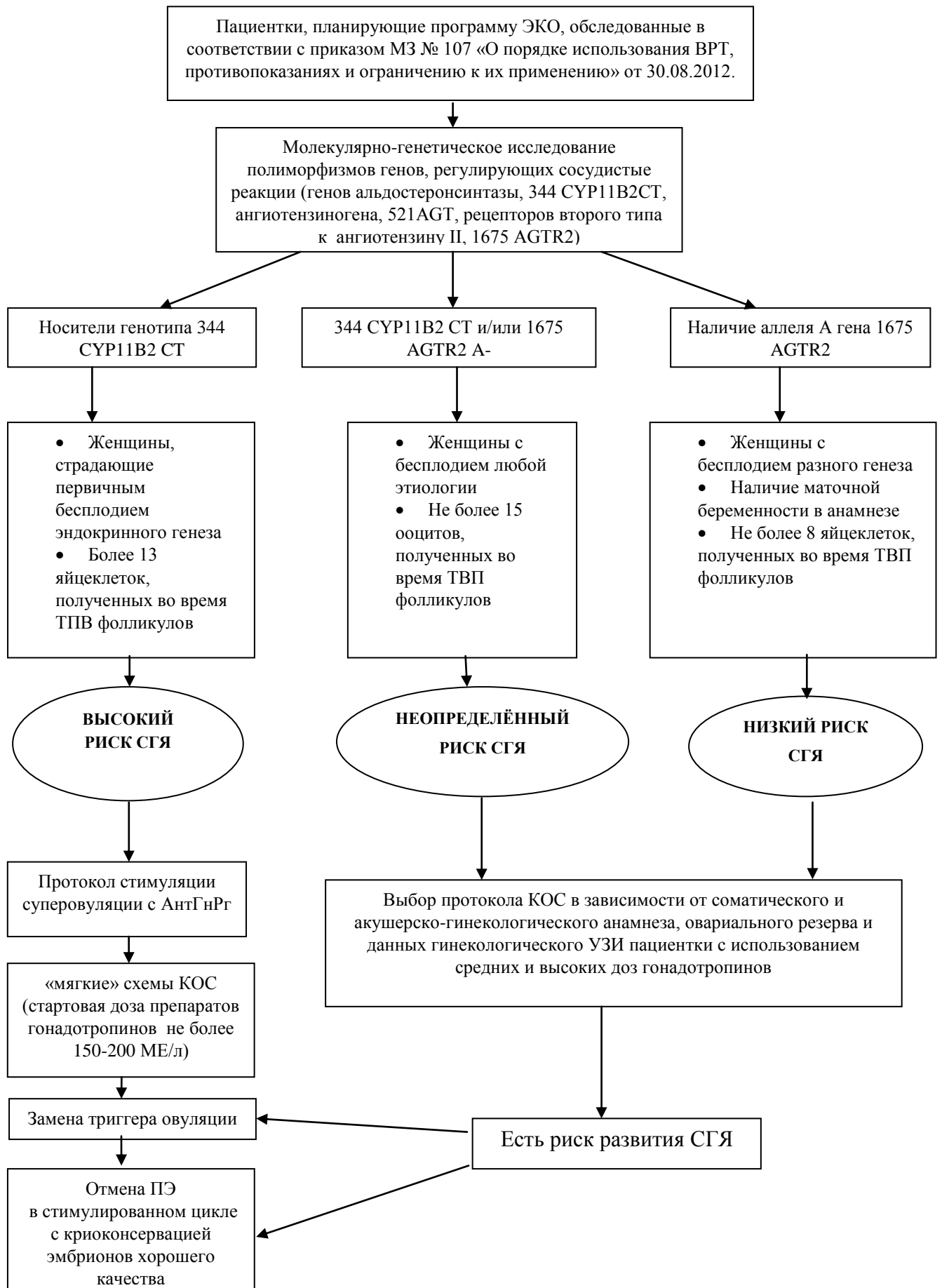


Рисунок 12. Алгоритм прогнозирования синдрома гиперстимуляции яичников в программах экстракорпорального оплодотворения

### **Высокий риск развития СГЯ в программе ЭКО**

Пациентки, страдающие первичным бесплодием эндокринной этиологии, наряду со стандартными обследованиями согласно приказу МЗ РФ № 107«О порядке использования ВРТ, противопоказаниях и ограничению к их применению» от 30.08.2012 г., проходят медико-генетическое тестирование генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. В случае носительства гетерозиготного генотипа гена альдостеронсинтазы (344 CYP11B2 СТ), данная категория пациенток имеет высокий риск развития СГЯ и нуждается в применении ранних методов профилактики СГЯ. Именно: использования протокола стимуляции с антагонистами гонадотропин-рилизинг гормонов, подбора оптимальной стартовой дозы гонадотропинов (до 150-200 МЕ/л), замены триггера овуляции на агонист гонадотропин-рилизинг гормона. При получении более 13 яйцеклеток во время трансвагинальной пункции яичников, рекомендуется: отмена переноса эмбрионов в стимулированном цикле, криоконсервация бластоцист с последующим переносом спустя 1-3 месяца. Такой подход к ведению пациентов с высоким риском СГЯ, позволяет достичь наибольшей безопасности и кумулятивной эффективности одной попытки ЭКО.

### **Риск развития СГЯ неопределенный**

В случае выявления гаплотипа 344 CYP11B2 СТ и 1675 AGTR2 А- в ходе молекулярно-генетического тестирования генов РААС, риск развития СГЯ оценивается как средний. В таких ситуациях протокол КОС выбирается исходя из гинекологического, соматического анамнеза, данных об овариальном резерве и УЗИ органов малого таза. Если во время трансвагинальной пункции фолликулов получено не более 15 ооцитов, то дальнейшая тактика определяется индивидуально. При появлении признаков раннего СГЯ – перенос эмбрионов в данном цикле отменяется, выполняется криоконсервация эмбрионов хорошего качества. Пациентки, имеющие удовлетворительное состояние после пункции фолликулов, нуждаются в инструментальном и лабораторном мониторинге после переноса эмбрионов для своевременного выявления осложнений программы ЭКО.

### **Низкий риск развития СГЯ**

При выявлении аллеля А гена рецептора второго типа к ангиотензину II в ходе молекулярно-генетического исследования и наличия маточной беременности в анамнезе, риск развития СГЯ оценивается как низкий. Возможен любой протокол КОС, в том числе использование и высоких доз гонадотропинов. При получении менее восьми яйцеклеток, выполняется перенос эмбрионов в стимулированном цикле ЭКО (рис. 12).

## ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Количество циклов ЭКО во всем мире с целью лечения женского и мужского бесплодия ежегодно увеличивается невероятно быстрыми темпами. Это объясняется ростом числа бесплодных супружеских пар и потребностью их в применении методов ВРТ.

Согласно общеизвестной фразе Адама Смита «Спрос порождает предложение», количество центров по лечению бесплодия ежегодно увеличивается. Так в России, начиная с 1995 г., количество клиник ЭКО увеличилось на 81,7% к 2011 г [8].

К сожалению, в гонке за эффективностью ЭКО, за получением положительного результата в виде наступления беременности, часто забываются риски, которым подвергаются женщины, в своей мечте о полной счастливой семье.

Сегодня, как и на заре становления репродуктивных технологий, наиболее загадочным и непредсказуемым осложнением стимуляции овуляции является СГЯ, поэтому внимание научных исследователей направлено на прогнозирование и профилактику данного синдрома.

К сожалению, описанные сегодня факторы риска СГЯ (молодой возраст, низкий индекс массы тела, СГЯ в анамнезе, высокий уровень эстрадиола, количество полученных фолликулов и яйцеклеток при ТВП) не обладают высокой достоверностью, что подтверждается ежедневной клинической практикой и подтверждено в ходе данного научного исследования.

Нами обследовано 105 женщин с 2011 по 2014 гг., которым выполнена программа ЭКО/ИКСИ. Практически всем женщинам стимуляция суперовуляции, ЭКО, ИКСИ и ПЭ выполнялись в стенах «НИИ ОММ» г. Екатеринбурга, в отделение «Вспомогательных репродуктивных технологий», лечение пациенток с СГЯ проходило в гинекологическом отделении нашего института.

У женщин исследуемых групп мы оценивали соматический статус, наличие гинекологической патологии, оперативных вмешательств, длительность и генез

бесплодия, использование в прошлом попыток ВРТ с целью его преодоления. Большое внимание было уделено применяемым протоколам стимуляции суперовуляции в программах ЭКО, препаратам и дозам гонадотропинов, выбору триггера овуляции, количеству полученных фолликулов и яйцеклеток. Мы оценивали показатели свертывающей системы крови (тромбоциты, фибриноген, Д-димеры) на 5-9 день стимуляции суперовуляции, время развития СГЯ относительно дня ТВП и, конечно, его клинические, лабораторные и инструментальные проявления.

Всего в исследование вошло 49 женщин с СГЯ средней и тяжёлой степенью тяжести. Ранний СГЯ описан только у 17 пациенток (34,7%), поздний СГЯ встретился у 32 (65,3%) женщин. Тяжёлая степень наблюдалась в 11 случаях (22,4%), средняя – у 38 пациенток (77,6%).

Следует отметить, что частота тяжёлого раннего СГЯ в последние годы снижается. Это происходит благодаря использованию низкодозовых протоколов, замены триггера овуляции, применению агонистов дофаминовых рецепторов, антагонистов гонадотропин-рилизинг гормонов после ТВП и широкому внедрению криоконсервации и витрификации эмбрионов.

В ходе нашей научной работы описано три (6,1%) случая раннего тяжёлого СГЯ, потребовавшего госпитализации. Два случая протекали в виде изолированного гидроторакса. Они представляют определенный интерес, так как встречаются редко, хотя подобные случаи уже были описаны рядом авторов [49, 53, 73, 81, 87].

Гипотезой возникновения изолированного плеврального выпота является наличие анатомических дефектов диафрагмы, которые локализуются, как правило, справа. При аутопсии они выглядят в виде множественных дефектов сухожильного центра диафрагмы. Их можно увидеть и при проведении лапароскопии, открытой торакотомии [97, 120]. Практически все описанные раннее клинические примеры потребовали торакоцентеза и, как правило, неоднократного.

Обе пациентки, которых наблюдали мы, страдали эндокринным бесплодием, обусловленным СПКЯ, по поводу которого была выполнена программа ЭКО. ПЭ в обоих случаях был отменен вследствие развития раннего СГЯ тяжелой степени тяжести на вторые сутки после ТВП. У одной из пациенток развился массивный двусторонний гидроторакс с явлениями дыхательной недостаточности, у другой имел место преимущественно односторонний гидроторакс, плеврит, потребовавший назначения антибактериальной терапии. Асцит отсутствовал у обеих пациенток. Своевременная госпитализация и адекватная терапия позволили предпринять консервативную тактику ведения пациентов, избежав плевральной пункции.

Нашими примерами, а также описанными в литературе грозными осложнениями раннего СГЯ, хотелось бы подчеркнуть опасность и этой формы синдрома. Поэтому очень важно грамотно и аккуратно относиться к выбору протокола КОС, дозы гонадотропинов, избегая развития данного осложнения программы ЭКО.

Принимая во внимание возраст, как один из факторов риска СГЯ, женщины исследуемых нами групп, были разделены на возрастные подгруппы. Статистически значимых различий между группами мы не получили. Средний возраст женщин с СГЯ составил  $32,204 \pm 0,52$ . Три случая СГЯ описаны у женщин старше 40 лет (5,4%). Таким образом, теория Enskog, А. с соавторами (1999 г.) о преимущественном развитии СГЯ у женщин моложе 30 лет [64], нами подтверждена не была.

При оценке индекса массы тела и наличия ожирения как фактора, снижающего риск развития СГЯ (Navot и др., 1998), мы также не получили достоверных отличий. Ожирение в основной группе отмечено у пяти человек (10,2%), в контрольной – у 10 (17,9%),  $p=0,134$ . Так, у 38 – летней пациентке с ожирением III степени развился поздний СГЯ, потребовавший неоднократного парацентеза с целью эвакуации асцитической жидкости. Это указывает на низкую чувствительность данного фактора риска СГЯ.

Антимюллеров гормон (АМГ) – антимюллеровый гормон, также известный как Мюллерова ингибирующая субстанция, ранее исследовался главным образом, как играющий важную регуляторную роль в мужской половой дифференцировке. АМГ, продуцируемый клетками Сертоли эмбриональных яичек, индуцирует регрессию Мюллеровых протоков, зачатков женского репродуктивного тракта. После родов этот связанный с полом диморфизм в экспрессии утрачивается, и АМГ экспрессируется в яичниках гранулезными клетками растущих фолликулов [12]. Прямое измерение пула примордиальных фолликулов невозможно. Тем не менее, количество примордиальных фолликулов косвенно отражается числом растущих фолликулов. Следовательно, фактор, секретируемый преимущественно растущими фолликулами, отражает размеры пула примордиальных фолликулов. Таким образом, АМГ, секретируемый растущими фолликулами вплоть до селекции, который может определяться в сыворотке крови, является отличным маркером для прогнозирования ответа яичников в программах ЭКО [58]. Согласно федеральным клиническим рекомендациям, уровень АМГ выше 3,6 нг/мл является маркером избыточного ответа на КОС и, следовательно, развития СГЯ. Несмотря на высокий уровень доказательности (1a), в ходе данной научной работы, мы не получили статистически значимых различий в значениях АМГ между группами. Так, среднее значение АМГ в основной группе составило  $1,716 \pm 0,63$  нг/мл, в контрольной –  $1,178 \pm 0,25$  нг/мл.

Проанализировано среднее количество фолликулов и яйцеклеток, полученных во время трансвагинальной пункции, в обеих группах. В группе женщин, у которых развился СГЯ, среднее количество фолликулов составило  $17,878 \pm 1,55$ , яйцеклеток –  $13,857 \pm 0,98$ , в контрольной группе – фолликулов  $11,304 \pm 0,90$ , яйцеклеток –  $8,250 \pm 0,66$ .

Согласно федеральным клиническим рекомендациям, принятыми в России, риск СГЯ достаточно высок при 15 полученных во время ТВП яйцеклеток (уровень доказательности 1a - мета-анализ рандомизированных контролируемых



исследований (РКИ), что диктует необходимость отмены ПЭ в текущем цикле [22].

В ходе диссертационной работы среднее значение яйцеклеток, потенциально опасное в плане развития СГЯ составило 13. При этом у семи женщин при количестве шести-восьми яйцеклеток, полученные путем ТВП яичников, развился поздний СГЯ средней и у одной тяжелой степени тяжести. В целом, количество ооцитов, конечно, является важным прогностическим фактором, но далеко не ведущим.

Мы акцентировали своё внимание на наличие у женщин, планирующих ЭКО, СГЯ при прошлых попытках ВРТ, рассматривая СГЯ в анамнезе как один из факторов риска его развития. Однако данные анамнеза также не были решающими в правиле прогноза СГЯ. В основной группе СГЯ в анамнезе наблюдался у четырёх (8,2%) пациенток, в контрольной – у двух (3,6%),  $p=0,158$ .

Интересный факт был обнаружен нами. СГЯ преимущественно развивался у ранее небеременных пациенток.

Только один фактор риска в отношении развития СГЯ нашел подтверждение в ходе проведения нашей научной работы. Это наличие у женщины СПКЯ. СПКЯ у пациенток с СГЯ встречалась достоверно чаще, у 12 (24,2%) против 4 (7,1%),  $p=0,007$ .

Таким образом, в данном научном исследовании мы подтвердили общепринятую точку зрения, что скрининга СГЯ не существует.

Учитывая, что большая часть женщин исследуемых групп, выполняла программу ЭКО в отделение «ВРТ» ФГБУ «НИИ ОММ», у нас была возможность проанализировать протоколы программ ЭКО, дозы и виды гонадотропинов, применяемых для КОС.

Чёткой взаимосвязи между применяемым протоколом КОС и развитием СГЯ, мы не получили. СГЯ разной степени тяжести с одинаковой частотой развивался при назначении длинного, короткого («flash-up»), с применением антагониста гонадотропин-рилизинг гормона (АнтГнРг) и/или клостилбегита протоколов стимуляции. Интересно, что наибольшее количество случаев СГЯ (27

(55,1%) наблюдалось при использовании протоколов с АнГнРг. Это может объясняться выбором данного протокола у пациенток высокого риска по развитию синдрома, но всё же полученные данные демонстрируют невысокую эффективность применения протоколов с АтГнРг для профилактики СГЯ, описанную рядом авторов [98, 112].

Считается, что пусковым моментом развития СГЯ является введение овуляторной дозы хорионического гонадотропина человека (ХГЧ), то время как назначение агониста гонадотропин-рилизинг гормона (АгГнРг) вместо препаратов ХГЧ в качестве триггера овуляции в программах ЭКО полностью препятствует развитию СГЯ. Впервые данный метод профилактики СГЯ был предложен Istkovitz. Данный метод действительно демонстрирует высокую эффективность относительно профилактики раннего СГЯ, однако в отношении позднего СГЯ, где требуется назначение малых доз ХГЧ, не выглядит столь надёжным. В литературе ранее были описаны случаи СГЯ от лёгкой степени до одного случая тяжёлой, на фоне использования в качестве триггера овуляции агониста ГнРг. Развитие СГЯ авторы S. Kol и J. Istkovitz-Eldor, связывают с отклонениями от предложенной Istkovitz методики, а именно низкой дозой препарата агониста ГнРг и применением ХГЧ в качестве поддержки второй фазы.

Мы агонист ГнРг преимущественно назначали женщинам основной группы, 8 (16,3%) против 2 (3,6%) контрольной,  $p=0,013$ . Однако нами было описано восемь случаев развития СГЯ средней степени тяжести, причем один из них, поздний СГЯ, потребовал длительной инфузионной терапии и абдоминального парацентеза.

Помня о риске тромбозов в процессе проведения программы ЭКО, особенно осложнившимся СГЯ, мы анализировали показатели коагулограммы на пятый-девятый день КОС. Статистически значимых различий между группами в содержании фибриногена и Д-димеров мы не получили, а вот уровень тромбоцитов, напротив, был выше в группе контроля  $182,500 \pm 17,170 \times 10^9$  против  $134,041 \pm 18,93 \times 10^9$  в группе женщин, у которых впоследствии развился СГЯ ( $p=0,03$ ). Это подтверждает вывод Francisco Fábregues о том, что тромбозы

встречаются с одинаковой частотой у пациенток программ ЭКО и пациенток с тяжёлой степенью СГЯ [72].

Учитывая тяжесть патологии, наличие летальных исходов в ходе этого осложнения программ ВРТ, поиски методов прогнозирования и профилактики СГЯ продолжаются.

В 2004 г. было завершено секвенирование (от лат. *sequentum* - последовательность) генома человека (HGS), благодаря чему стали активно исследоваться генетические предикторы ответа яичников на КОС. Важным маркером овариального ответа является уровень ФСГ в сыворотке крови. Так, Perez Mayorga и соавт. предположил зависимость овариального ответа на проводимую стимуляцию суперовуляции от генотипа рецептора ФСГ [116]. Выявленная взаимосвязь между мутациями рецептора ФСГ и развитием СГЯ открыла новые горизонты в изучении патофизиологии синдрома [92]. Были выявлены различия в патогенезе ятрогенного и спонтанного СГЯ, в том числе и на генетическом уровне [138]. Несколькими авторами были описаны семейные случаи спонтанного СГЯ у сестер, обладающих определенными мутациями рецепторов ФСГ (D567N и T499I/A), характеризующиеся не только повышенной чувствительностью к ХГЧ, но и к ТТГ [105]. Таким образом, с начала XXI стали изучаться генетические предикторы СГЯ (полиморфизмы генов рецепторов фолликулостимулирующего гормона, лютеинизирующего гормона, эстрогенов, цитохрома P450, трансформирующих факторов роста (антимюллерового гормона и BMP15)).

Ряд работ посвящен изучению генов тромбофилии среди пациенток с СГЯ. Согласно одним из них, у пациенток с тяжёлым СГЯ достоверно чаще встречаются маркеры тромбофилии [61]. При этом, сами авторы отмечают закономерность полученных результатов, поскольку СГЯ представляет собой состояние гиперкоагуляции. Другие авторы не обнаружили различий в носительстве полиморфизмов наследственных тромбофилий между пациентками программы ЭКО и пациентами с СГЯ. Следовательно, скрининг маркеров

наследственной тромбофилии в общей популяции женщин, проходящих программу ЭКО, экономически нецелесообразен [72].

Основанием к выполнению данной работы послужил интерес наряду с известными факторами риска СГЯ, оценить роль полиморфизмов генов, регулирующих сосудистые реакции, в развитии данного осложнения программ ЭКО. Ранее в научной литературе нам не встретилась информация о роли полиморфизмов генов РААС и оксида азота в развитии СГЯ, хотя роли данных систем, особенно оксида азота, в патогенезе СГЯ, уделено немало внимания [103, 122].

В ходе проводимой научной работы выполнялось молекулярно-генетическое исследование шести полиморфных вариантов пяти генов, ответственных за регуляцию компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (гена ангиотензиногена, рецептора 1-го типа к ангиотензину II, рецептора 2-го типа к ангиотензину II, альдостерона) и генов метаболизма оксида азота. Также мы оценивали значения ренина, ангиотензина II и альдостерона в плазме крови пациенток обеих групп.

Разрешение поставленных в работе задач осуществлялось с помощью комплекса современных клинических, инструментальных и лабораторных методов исследования, подробно описанных во второй главе диссертации.

Проведенные исследования выявили достоверные отличия в частоте встречаемости гетерозиготного генотипа - 344СТ гена CYP 11B2 у женщин с поздней формой СГЯ по сравнению с женщинами с ранним началом этой патологии ( $\chi^2 = 6,7$ ,  $p=0,035$ , OR 3,06, 95% CI 1,28-7,28).

Известно, что полиморфизм -344СТ гена альдостеронсинтазы связан с повышенной продукцией альдостерона. Альдостерон высвобождается под действием ангиотензина II, уровень которого повышен в группе пациентов с СГЯ. Следовательно, у женщин – носителей гетерозиготного варианта 344 СТ гена CYP11B2 в связи с нарушением продукции альдостерона, изменяется водно-солевое равновесие. Выражается это в задержке натрия и воды в организме, способствуя пропотеванию жидкости в «третье» пространство с формированием

полисерозитов (асцита, гидроторакса, гидроперикарда) и отеков, что в свою очередь приводит к снижению почечной фильтрации и гемоконцентрации. Данные проявления синдрома наиболее выражены при поздней форме СГЯ, которая представляет наибольшую угрозу для жизни и здоровья пациентки и требует длительного лечения, поэтому особенно актуальна в плане прогнозирования.

В результате математического анализа была выявлена протективная роль аллеля 1675 А гена AGTR2 (рецептора 2-го типа к ангиотензину II) в отношении тяжёлой формы СГЯ ( $\chi^2 = 4,19$ ,  $p=0,04$ , OR 2,79, 95% CI 1,03-7,56). Носительство вариантного аллеля в гетеро - или гомозиготном состоянии уменьшает риск развития тяжёлой формы СГЯ практически в два раза (рис. 9, 10).

Обнаружено достоверное повышение уровня ангиотензина II у пациенток с СГЯ по сравнению с контрольной группой ( $p=0,029$ ). Среднее значение ангиотензина II в группе женщин с СГЯ составило  $152,342 \pm 45,62$  пг/мл, в группе контроля  $63,104 \pm 17,25$  пг/мл. Корреляция между группами по содержанию ангиотензина II составила - 0,81.

Выявленные закономерности имеют вполне логическое объяснение. У пациенток с СГЯ повышено содержание ангиотензина II, выявленное как в ходе нашего исследования, так и в предыдущих работах [109]. Своё действие ангиотензин II оказывает через рецепторы к ангиотензину II. Известно, что аллель 1675А гена AGTR2 ассоциирован со снижением продукции рецептора к ангиотензину II, следовательно у женщин-носителей А-аллеля гена AGTR2 имеющих низкую чувствительность рецепторов к ангиотензину II, развиваются легкие и средние формы СГЯ, так как ангиотензин II хуже связывается с рецепторами и его действие менее выражено. Женщины, не обладающие протективным А – аллелем гена AGTR2, имеют нормально-функционирующие рецепторы к ангиотензину II. Поэтому в условиях высокого содержания ангиотензина II при СГЯ, его вазоконстрикторное действие усилено. Помимо влияния на ангиогенез, он усиливает биосинтез альдостерона и простагландинов, важных компонентов в патогенетической цепочке СГЯ. Поэтому женщины, не

являющиеся носителем А-аллеля гена AGTR2, угрожаемые на развитие тяжелой степени СГЯ – грозного и летально опасного осложнения программ ЭКО.

Таким образом, данной научной работой мы подтвердили роль РААС в патогенезе СГЯ, в том числе и на генетическом уровне. Изучение генетических предикторов СГЯ является весьма перспективным направлением, хотя требует дальнейшего развития в связи с увеличением выборки пациентов, обобщения и честного обсуждения полученных результатов в исходе научных исследований со всего мира.

## ВЫВОДЫ

1. Первичное бесплодие эндокринного генеза, наличие синдрома поликистозных яичников в сочетании с получением во время трансвагинальной пункции яичников более 13 яйцеклеток ассоциируется с риском развития синдрома гиперстимуляции яичников во время проведения программы экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов.

2. Наличие гетерозиготного генотипа - 344СТ гена альдостеронсинтазы (СYP 11B2) ассоциируется с поздней формой синдрома гиперстимуляции яичников.

3. Носительство вариантного аллеля 1675 А гена AGTR2 (рецептора 2-го типа к ангиотензину II) в гетеро - или гомозиготном состоянии уменьшает риск развития тяжёлой формы синдрома гиперстимуляции яичников практически в два раза.

4. Обнаружено достоверное повышение уровня ангиотензина II у пациенток с синдромом гиперстимуляции яичников по сравнению с контрольной группой ( $p=0,029$ ).

5. Оригинальный способ прогнозирования позволяет формировать группы риска по развитию синдрома гиперстимуляции яичников, что даёт возможность своевременно предпринять меры ранней профилактики синдрома гиперстимуляции яичников тяжёлой степени тяжести.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Пациенткам высокого риска по развитию синдрома гиперстимуляции яичников, планирующим программу экстракорпорального оплодотворения, целесообразно проводить молекулярно-генетическое исследование генов, регулирующих сосудистые реакции, в плане возможного определения риска развития синдрома гиперстимуляции яичников.

2. С целью выбора протокола стимуляции суперовуляции в программе экстракорпорального оплодотворения для достижения наибольшей эффективности и безопасности программы в плане развития тяжёлой степени синдрома гиперстимуляции яичников, рекомендуется использовать предложенный алгоритм, основанный на решающем правиле прогноза.



**СПИСОК ОСНОВНОЙ ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Аншина М.Б., Шамугия Н.Л., Смирнова А.А. Сравнительная оценка эффективности и безопасности триггеров овуляции в программах ВРТ. Проб. Репрод. 2011; 17:5:70-72.
2. Глотов А.С. и др. Исследование популяционных частот полиморфизма генов, ассоциированных с гестозом // Экологическая генетика. – 2013. – Т.11. - №7. – С. 91-100.
3. Гордеева В.Л. Диагностика и варианты клинического течения синдрома гиперстимуляции яичников: Дис. ... канд.мед.наук. М. 1999.
4. Диагностика и лечение синдрома гиперстимуляции яичников. Федеральные клинические рекомендации. Москва, 2013.
5. Калинина Е.А. Синдром гиперстимуляции яичников при экстракорпоральном оплодотворении в переносе эмбрионов в полость матки: Автореф. дис. ... канд.мед.наук. М. 1995.
6. Комиссарова Ю.В. Оптимизация программ экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов с учётом ангиогенных факторов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 2010; 133.
7. Корнеева И.Е., Иванова А.В., Баркалина Н.В. Синдром гиперстимуляции яичников: профилактика, диагностика, лечение (обзор литературы). Пробл. репрод. 2004; 1:43-50.
8. Корсак В.С., Лутонина И.В., Смирнова А.А., Шурыгина О.В. 17 ежегодный ретроспективный отчёт с 1995г РАРЧ.
9. Краснопольская К.В., Ашхаруа Т.А. Применение селективных стимуляторов дофаминовых D2- рецепторов для профилактики синдрома гиперстимуляции яичников. Пробл. репрод. 2011; 3: 63-66.

10. Краснопольская К.В., Калугина А.С. Феномен бедного ответа яичников на стимуляторы овуляции в программах ЭКО (обзор литературы). Пробл репрод 2004; 10:1:51-58.
11. Кулаков В.И., Леонов Б.В., Кузьмичев Л.Н. Лечение женского и мужского бесплодия. В кн.: Вспомогательные репродуктивные технологии. М. 2005.
12. Мишиева Н.Г., Назаренко Т.А. Бесплодие и возраст. Пути решения проблемы. МЕДпресс-информ, 2014 г., с. 52-53
13. Назаренко М.С., Боткина О.Ю., Пузырев В.П. Полиморфные варианты гена эндотелиальной синтазы оксида азота и риск невынашивания беременности // Молекулярная медицина. – 2012. - №4. – С.58-61.
14. Назаренко Т.А. Стимуляция функции яичников. 2-е изд. М: МЕДпресс-информ 2009; 272.
15. Назаренко Т.А., Смирнова А.А.. Индукция моно- и суперовуляции: оценка овариального резерва, ультразвуковой и гормональный мониторинг. Проблемы репродукции 2004;1:36-42.
16. Путилова Т.А. Обоснование прогноза гипертензионных осложнений у пациенток с гестационным сахарным диабетом. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Челябинск, 2014.
17. Руководство по амбулаторно-поликлинической помощи в акушерстве и гинекологии/Под ред. В.И. Кулакова, В.Н. Прилепской, В.Е. Радзинского. М: ГЭОТАР-Медиа; 2006.1072с.
18. Сафронова Е.В. Синдром гиперстимуляции яичников в программе экстракорпорального оплодотворения (прогнозирование, профилактика): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ростов–на–Дону 2008; 135.
19. Сильвестрова Г. А. Полиморфизм генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, гена NO-синтазы и гена метилентетрагидрофолатредуктазы у русских мужчин с артериальной гипертонией. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 2010;
20. Сметник В.П., Тумилович Л.Г. Неоперат гинекология, Мск 2006, с.63.

21. Сухих Г.Т., Назаренко Т.А. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению. М. 2010.
22. Таскина О.А. Современные представления и методы профилактики синдрома гиперстимуляции яичников (обзор литературы). Пробл репрод 2007; 5: 42-47.
23. Третьякова Т.Б., Башмакова Н.В., Демченко Н.С. Генетические предикторы акушерских осложнений: межгенные ассоциации // Рос. вестн. акушера-гинеколога. – 2012. – Т.6. - №5. – С. 23-28].
24. Федеральные клинические рекомендации. Диагностика и лечение синдрома гиперстимуляции яичников. М.,2013
25. Шембелан М., Стокит Р. Патофизиология системы ренин-ангиотензин. Гормоны и почки.– М.: Медицина, 1983.– С. 11–56
26. Aaltonen J, Laitinen MP, Vuojolainen K, Jaatinen R, Horelli-Kuitunen N, Seppa L, Louhio H, Tuuri T, Sjoberg J, Butzow R, et al. Human growth differentiation factor 9 (GDF-9) and its novel homolog GDF-9B are expressed in oocytes during early folliculogenesis. //Clin Endocrinol Metab 1999;84:2744-2750.
27. Achrekar SK, Modi DN, Desai SK, Mangoli VS, Mangoli RV, Mahale SD. Follicle-stimulating hormone receptor polymorphism (Thr307Ala) is associated with variable ovarian response and ovarian hyperstimulation syndrome in Indian women// Fertil. Steril. 2009a; 91:432-439.
28. Al-HijjiJ. et al. Nitric oxide synthase activity in humtrophoblast, term placenta and pregnant myometrium // Reprod. Biol. Endocrinol. – 2003. – Vol. 1. – P.51-53,
29. Allegra A., Termine N., Raineri L. et al. Riv Ost Gin Steril 1991; 2:209-211.
30. Al-Ramabi M., Leader A., Claman P., Spence J. A novel approach to the treatment of ascites associated with ovarian hyperstimulation syndrome// Hum. Reprod. – 1997. – Vol. 12 (12) – P. 2614-2616.
31. Al-Ramahi, M. (1999) Severe OHSS: Decreasing the risk of severe ovarian hyperstimulation syndrome. //Hum. Reprod., 14, 2421±2422.

32. Altmäe S., Hovatta O., Stavreus-Evers A., Salumets A. Genetic predictors of controlled ovarian hyperstimulation: where do we stand today? *Hum. Reprod. Update* (November-December 2011) 17 (6): 813-828 first published online August 23, 2011.
33. Altmäe S., Hovatta O., Stavreus-Evers A., Salumets A. Genetic predictors of controlled ovarian hyperstimulation: where do we stand today? *Hum Reprod Update* 2011;17: 813–828
34. Alvarez C., Bosch E., Melo M.A.B. The dopamine agonist Cabergoline prevents moderate-severe early ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) in high-risk ART patients. *Hum Reprod* 2006; 21: Supple 1: Abstract:96.
35. Alvarez C., Marti L., Novella E. et al. Dopamine agonist cabergoline reduced hemoconcentration and ascites in hyperstimulated women undergoing assisted reproduction. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:2882-2884.
36. Ando H., Furugori K., Shibata D. et al. Dual rennin-angiotensin blockade therapy in patients at high risk of early ovarian hyperstimulation syndrome receiving IVF and elective embryo cryopreservation: a case series. *Hum Reprod* 2003; 18:6:1219-1222.
37. Anjali K.Rao, Usha Chitkara and Amin A.Milki1. Subclavian vein thrombosis following IVF and ovarian hyperstimulation: a case report. *Human Reproduction* Vol.20, No.12 pp. 3307–3312, 2005.
38. Baird D.T. Factors regulating the growth of the preovulatory follicle in the sheep and human // *J.Reprod. Fert.* — 1983. — Vol.69. — P.343-352.
39. Balasch, J., Fabregues, F. and Arroyo, V. (1998) Peripheral arterial vasodilatation hypothesis: a new insight into the pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome. // *Hum. Reprod.*, 13, 2718-2730
40. Bao S., Rai J., Schreiber J. Expression of nitric oxide synthase isoforms in human pregnant myometrium in term // *J. Soc. Gynecol. Onvestig.* — 2002. — Vol.9. - №6. — P.351-356.

41. Binder H., Dittrich R., Einhaus F. et al. Update on ovarian hyperstimulation syndrome: Part 1- Incidence and pathogenesis. *Int J Fertil Womens Med* 2007; 52:1:11-26.
42. Binder H., Dittrich R., Einhaus F. et al. Update on ovarian hyperstimulation syndrome: Part 2- clinical signs and treatment. *Int J Fertil Womens Med* 2007; 52:2 – 3:69-81.
43. Blankstein, J., Shalev, J., Saadon, T., Kukia, E.E., Rabinovici, J., Pariente, C., Lunenfeld, B., Serr, D.M. and Mashiach, S. (1987) Ovarian hyperstimulation syndrome: prediction by number and size of preovulatory ovarian follicles. *//Fertil. Steril.*, 47, 597-602.
44. Braat DD, Schutte JM, Bernardus RE, Mooij TM, van Leeuwen FE. Maternal death related to IVF in the Netherlands 1984–2008. *Hum Reprod* 2010; 25:1782–1786.
45. Brinsden, P.R., Wada, I., Tan, S.L., Balen, A. and Jacobs, H.S. (1995). Diagnosis, prevention and management of ovarian hyperstimulation syndrome. *//Obstet. Gynaecol.*, 10, 767-772.
46. Buyalos, R.P. and Lee, C.T. (1996) Polycystic ovary syndrome: pathophysiology and outcome with in vitro fertilization. *// Fertil. Steril.*, 65, 1-10.
47. Caspi, E., Ron-El, R., Golan, A., Nachum, H., Herman, A., Soffer, Y. and Weinraub, Z. (1989) Results of in vitro fertilization and embryo transfer by combined long-acting gonadotropin-releasing hormone analog D-Trp-6-luteinizing hormone-releasing hormone and gonadotropins. *//Fertil. Steril.*, 51, 95-99.
48. Chen C. D., Chen H.F., Lu H. F. et al. Value of serum and follicular fluid ovarian cytokine profile in the prediction of moderate to severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 2000; 15:5:1037-1042.
49. Christine M. Mullin, M. Elizabeth Fino, Andrea Reh, Jamie A. Grifo, and Frederick Licciardi. «Symptomatic Isolated Pleural Effusion as an Atypical Presentation of Ovarian Hyperstimulation Syndrome». *Obstetrics and*

Gynecology 2011, Article ID 967849, 4 pages  
doi:10.1155/2011/967849.

50. Cluroe A.D., Synek BJ 1995. A fatal case of ovarian hyperstimulation syndrome with cerebral infarction. *Pathology* 27: 344-347
51. Daelemans C, Smits G, de Maertelaer V, Costagliola S, Englert Y, Vassart G, Delbaere A. Prediction of severity of symptoms in iatrogenic ovarian hyperstimulation syndrome by follicle-stimulating hormone receptor Ser680Asn polymorphism. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:6310-6315.
52. Daelemans et al. FSHR polymorphism and ovarian hyperstimulation syndrome. *JCEM*, 2004.
53. Daniel Y., Yaron Y., Oren M., Peyser M. R., and Lessing J. B., “Ovarian hyperstimulation syndrome manifests as acute unilateral hydrothorax,” *Human Reproduction*, vol. 10, no. 7, pp. 1684–1685, 1995.
54. Danninger B., Brunner M., Obruca A., Feichtinger W. Prediction of ovarian hyperstimulation syndrome by ultrasound volumetric assessment of baseline ovarian volume prior to stimulation. //*Hum Reprod* 1996 Aug; 11 (8): 1597-1599
55. De Leener, A., Caltabiano, G., Erkan, S., Idil, M., Vassart, G., Pardo, L., et al. Identification of the first germline mutation in the extracellular domain of the follitropin receptor responsible for spontaneous ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Mutat* 2008; 29: 91–98.
56. De Leener, A., Montanelli, L., Van Durme, J., Chae, H., Smits, G., Vassart, G., et al. (2006). Presence and absence of follicle-stimulating hormone receptor mutations provide some insights into spontaneous ovarian hyperstimulation syndrome physiopathology. *Journal Clin Endocrinol Metab* 91, 555–562.
57. Delbaere A., Bergmann P. J., Gervy-Decoster C., Camus M., de Maertelaer V., Engleri Y. Prorenin and active rennin concentrations in plasma and ascites during severe ovarian hyperstimulation syndrome// *Hum Reprod.* – 1997. – Vol.12(2). – P. 236-240.
58. Didier Dewailly, Claus Yding Andersen, Adam Balen, Frank Broekmans, Nafi Dilaver, Renato Fanchin, Georg Griesinger, Tom W Kelsey, Antonio La

- Marca, Cornelius Lambalk, Helen Mason, Scott M Nelson, Jenny A Visser, W Hamish Wallace, Richard A Anderson. The physiology and clinical utility of anti-mullerian hormone in women. *Hum Reprod Update* 2014 Jul 21. Epub 2014 Jul 21
59. Delvigne A., Kostyla K., De Leneer A. et al. Metabolic characteristics of women who developed ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 2002; 17:8:1994-1996.
  60. Delvigne A., Rozenberg S. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a review. *Hum Reprod Update* 2002; 8:6:559-577.
  61. Dulitzky M., Shlomo B., Cocen M.D. et al. Increased prevalence of thrombophilia among woman with ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* (2002) Vol. 77, No. 3, pp. 463-67.
  62. Egbase, P.E., Al-Sharhan, M. and Grudzinskas, J.G. (2002) 'Early coasting' in patients with polycystic ovarian syndrome is consistent with good clinical outcome. //*Hum. Reprod.*, 17, 1212-1216
  63. Elchalal U., Schenker G.T. The pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome – views and ideas. *Hum Reprod* 1997; 12:6:1129-1137.
  64. Enskog, A., Henriksson, M., Unander, M., Nilsson, L. and BraÈnnstroÈm, M.(1999) Prospective study of the clinical and laboratory parameters of patients in whom ovarian hyperstimulation syndrome developed during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 71, 808-814.
  65. ESHRE 2 data 63
  66. Esteban-Altirriba J (1961) Le syndrome d'hyperstimulation massive des ovaries. *Rev Francaise de Gynecologie et d'Obstetrique* 7-8: 555-564.
  67. Ferik P, Gersak K, Teran N. No association between the microsatellite polymorphism (TTTTA)<sub>n</sub> in the promoter of the CYP11A gene and ovarian hyperstimulation syndrome.//*Assist Reprod Genet* 2006;23:29-32.

68. Ferrara N and Henzel W.J. 1989. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. //Biochem Biophys Res Commun 161: 851-858.
69. Figueroa-Casas 1958 Reaccion ovariaa monstruosa a las gonadotrophines a proposito de un caso fatal. Ann Cirug 23:116-118.
70. Fluker, M.R., Copeland, J.E. and Yuzpe, A. (2000) An ounce of prevention: outpatient management of the ovarian hyperstimulation syndrome. Fertil. Steril., 73, 821-824
71. Forman, R.G. (1999) Severe OHSS- an acceptable price? //Hum. Reprod., 14,2687-2688
72. Francisco Fábregues, M.D., Dolors Tàssies, M.D, Juan C Reverter, M.D., Francisco Carmona, M.D., Antonio Ordinas, M.D., Juan Balasch, M.D. Prevalence of thrombophilia in women with severe ovarian hyperstimulation syndrome and cost-effectiveness of screening. Fertil Steril 2004, Vol 81, no 4, pp 989-995.
73. Friedler S., Rachstein A., Bukovsky I., Ron-El R., and Raziel A., “Unilateral hydrothorax as a sole and recurrent manifestation of ovarian hyperstimulation syndrome following in-vitro fertilization,” Human Reproduction, vol. 13, no. 4, pp. 859–861, 1998.
74. Garcia-Velasco J., Pellicer A. New concepts in the understanding of the ovarian hyperstimulation syndrome. Curr Opin Obstet Gynecol 2003: 15:251-256.
75. Gharani N, Waterworth DM, Batty S, White D, Gilling-Smith C, Conway GS, McCarthy M, Franks S, Williamson R. Association of the steroid synthesis gene CYP11a with polycystic ovary syndrome and hyperandrogenism.// Hum Mol Genet 1997;6:397-402.
76. Glianaroli A.P., Ferarretti M. C., Magli. Pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome. Serono fertility series 1997; 1:11-19.
77. Glorioso N., Atlas S. Prorenin in high concentrations in human ovarian follicular fluid//Science.-1986.-Vol. 233. – P.1422.



78. Golan A., Ron-El R., Herman A. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review// *Obstet. Gynecol. Sum.* – 1989. – Vol. 44. – P. 430-440.
79. Gordon JD, Mesiano S, Zaloudek CJ (1996). Vascular endothelial growth factor localization in humary ovary and fallopian tubes: possible role in reproductive function and ovarian cysts formation.//*Clin Endocrinol Metab* 81:353-359.
80. Gospodarowicz D, Abraham J.A.,Schilling J 1989. Isolation and characterization of a vasculae endothelial cell mitogen produced by pituitary-derived folliculo-stellate cells. //*Proc Natl Acad Sci* 86:7311-7315.
81. Gregory W. T. and Patton P. E., “Isolated pleural effusion in severe ovarian hyperstimulation: a case report,” *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol. 180, no. 6 I, pp. 1468–1471, 1999.
82. Hanevik HI, Hilmarsen HT, Skjelbred CF, Tanbo T, Kahn JA. Single nucleotide polymorphisms in the anti-Mullerian hormone signalling pathway do not determine high or low response to ovarian stimulation. //*Reprod Biomed Online* 2010;21:616-623.
83. Haning R., Austin G., Carlsen J. et al. Plasma oestradiol is superior to ultrasound and urinary estriolglucorinide as apreluctor of ovarian hyperstimulation during induction of ovulation with menotropins//*Fertil. Steril.* – 1983. – Vol. 40(I). – P. 31-36.
84. Haning R.V., Strawn E.Y., Nolten W.E. Pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome// *Obstet. Gynecol.* – 1985. – Vol. 66.- P. 220 – 224.
85. Haning, A.J., Austin, C., Carlson, I., Kuzama, D. and Zweibel, W. (1983) Plasma estradiol is superior to ultrasound and urinary estradiol glucuronide as a predictor of ovarian hyperstimulation during induction of ovulation with menotropins// *Fertil. Steril.*, 40, 31-36.
86. Herman A., Ron-El R., Golan A. Pregnancy rate and ovarian hyperstimulation after luteal human chorionic gonadotropin in IVF stimulated with a-GnRH and menotropins// *Fertil. Steril.* – 1990. –Vol. 53. – P. 92-96.

87. Hsieh M. J., Tsao T. C. Y, and Cheng P. J., "Ovarian hyperstimulation syndrome with minimal ascites and massive pleural effusion: report of a case," *Journal of the Formosan Medical Association*, vol. 93, no. 10, pp. 882–884, 1994.
88. Imoedemhe E, Chang R, Pacpaco E et al (1999). Preventing OHSS in at-risk patients: evidence from a long-term prospective study. *Hum Reprod* 14 (Abstr book1), 102-103.
89. Itskovitz J, Boldes R, Levron J (1991). Induction of preovulatory luteinizing hormone surge and prevention ovarian hyperstimulation syndrome by gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril* 56: 213-220.
90. Itskovitz J., Sealey J. Ovarian prorenin-renin-angiotensin system // *Obst. And Gynec. Survey.* – 1987. – Vol. 42 – P. 545.
91. Jewelewicz R. and Vande Wiele R. L., "Acute hydrothorax as the only symptom of ovarian hyperstimulation syndrome," *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol. 121, no. 8, p. 1121, 1975.
92. JoseÂ Bellver, Ernesto Escudero and Antonio Pellicer, Bilateral partial oophorectomy in the management of severe ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS), *Human Reproduction* Vol.18, No.7 2003.- pp. 1363-1367.
93. Kaiser U.B. (2003). The pathogenesis of the OHSS. *N Eng J Med* 349: 729-732.
94. Kerkelä E, Skottman H, Friden B, Bjuresten K, Kere J, Hovatta O. Exclusion of coding-region mutations in luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone receptor genes as the cause of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 2007;87:603-606.
95. Kevenaar ME, Themmen AP, Laven JS, Sonntag B, Fong SL, Uitterlinden AG, de Jong FH, Pols HA, Simoni M, Visser JA. Anti-Mullerian hormone and anti-Mullerian hormone type II receptor polymorphisms are associated with follicular phase estradiol levels in normo-ovulatory women. *Hum Reprod* 2007;22:1547-1554.
96. Knight PG, Glister C. TGF-beta superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction* 2006; 132:191-206.

97. Levin M. F., Kaplan B. R., and Hutton L. C., "Thoracic manifestations of ovarian hyperstimulation syndrome," *Canadian Association of Radiologists Journal*, vol. 46, no. 1, pp. 23–26, 1995.
98. Ludwig, M., Felberbaum, R.E., Devroey, P., Albano, C., Riethmuller-Winzen, H., Schuler, A., Engel, W. and Diedrich, K. (2000) Significant reduction of the incidence of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) by using the LHRH antagonist Cetrorelix (Cetrotide) in controlled ovarian stimulation for assisted reproduction. *Arch. Gynecol. Obstet.*, 264, 29±32,
99. Macek M, Feldmár P, Klucková H, Hrehorcák M, Diblík J, Paulasová P, Turnovec M, Vilímová S, Macek M. FSH-R polymorphism in severe types of OHSS (type III and IV/V): results of a Czech pilot study. *Hum Reprod* 2010;25: p 23.
100. Manau D., Fabregues F., Penarrabia J. Vascular endothelial growth factor levels in serum and plasma from patients undergoing controlled ovarian hyperstimulation for IVF. *Hum Reprod* 2007; 22:3:669-675.
101. Mathur R., Hayman G., Bansal A. et al. Serum vascular endothelial growth factor levels are poorly predictive of subsequent ovarian hyperstimulation syndrome in highly responsive women undergoing assisted conception. *Fertil Steril* 2002; 78:6: 1154-1158.
102. McElhinney B., Adrill J., Caldwell C. et al. Ovarian hyperstimulation syndrome and assisted reproductive technologies: why some and not others? *Hum Reprod* 2002; 17:6:1548-1553.
103. Millauer B, Witzmann-Voos S, Schurch H. (1993). High affinity VEGF binding and developmental expression suggest FLK-1 as a major regulator of vasculogenesis and angiogenesis. *Cell* 72: 835-846.
104. Mohamed Aboulghar, Prediction of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS), *Human Reproduction* Vol.18, No.6 . 2003. pp. 1140-1141
105. Montanelli L, Delbaere A, Di Carlo et al (2004b). A mutation in the folliculo-stimulating hormone receptor as a cause of familial spontaneous ovarian hyperstimulation syndrome. *Clin Endocrinol Metab* 89: 1255-1258.

106. Morris R. S., Wong I. L., Do Y.S. et al. The pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome. A proposal role of the ovarian derived prorenin to angiotensin cascade// *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1995. – Vol. 377. – P. 391-398.
107. Mozes M, Bogowsky H, Anteby E et al 1965, Thrombo-embolic phenomena after ovarian stimulation with human menopausal gonadotrophins. *Lancet* 2:1213-1215.
108. Murdoch, A.P. and Evbuomwan, I. (1999) Severe complications of ovarian hyperstimulation syndrome are preventable. // *Hum. Reprod.*, 14, 2922-2923.
109. Nastri CO, Ferriani RA, Rocha IA, Martins WP. Ovarian hyperstimulation syndrome: pathophysiology and prevention *J. Assist Reprod Genet.* Feb 2010; 27(2-3): 121–128
110. Navot D., Bergh P.A., Palermo R. Pathophysiology and clinical of ovarian hyperstimulation syndrome// *Fertil.Steril.* – 1987. – Vol. 48. – P. 57-61.
111. Navot, D., Bergh, P.A. and Laufer, N. (1992) Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment. Whelan, J.G. III and Vlahos, N.F. (2000) The ovarian hyperstimulation syndrome.// *Fertil. Steril.*, 73, 883-896.
112. Olivennes, F. and Frydman, R. (1998) Friendly IVF: the way of the future? // *Hum. Reprod.*, 13, 1121±1124.
113. Ong A., Eisen V., Rennie D. et al. The pathogenesis of the ovarian hyperstimulation syndrome (OHS): a possible role for ovarian rennin. *Clin Endocrinol* 1991; 34:1:43-49.
114. Paulson RJ, Do YS, Hsueh WA et al (1989). Ovarian rennin-production in vitro and in vivo: characterization and clinical correlation. *Fertil Steril* 51:634-638.
115. Peach MJ (1997). Renin-angiotensin-system biochemistry and mechanism of action. *Physiol Rev* 57:313-317.
116. Perez Mayorga M, Gromoll J, Behre H.M. et al. (2000). Ovarian response to follicle-stimulating hormone (FSH) stimulation depends on the FSH receptor genotype. // *Clin Endocrinol Metab* 85:3365-3369.

117. Piersma D, Berns EM, Verhoef-Post M, Uitterlinden AG, Braakman I, Pols HA, Themmen AP. A common polymorphism renders the luteinizing hormone receptor protein more active by improving signal peptide function and predicts adverse outcome in breast cancer patients//*Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1470-1476.
118. Piersma D, Verhoef-Post M, Look P, Uitterlinden AG, Pols HA, Berns EM, Themmen AP. Polymorphic variations in exon 10 of the luteinizing hormone receptor: functional consequences and associations with breast cancer// *Mol Cell Endocrinol* 2007;276: p 63-70
119. Powell BL, Piersma D, Kevenaar ME, van Staveren IL, Themmen AP, Iacopetta BJ, Berns EM. Luteinizing hormone signaling and breast cancer: polymorphisms and age of onset//*Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; 88:1653-1657.
120. Rabinerson D., Shalev J., Royburt M., Ben-Rafael Z., and A. Dekel, "Severe unilateral hydrothorax as the only manifestation of the ovarian hyperstimulation syndrome," *Gynecologic and Obstetric Investigation*, vol. 49, no. 2, pp. 140–142, 2000.
121. Rimington, M.R., Simona, E.G. and Ahuja, K.K. (1999) Counselling patients undergoing controlled ovarian stimulation about the risks of ovarian hyperstimulation syndrome. //*Hum. Reprod.*, 14, 2921-2922.
122. Rizk B and Navar MG (2004). Ovarian hyperstimulation syndrome. Good clinical practice in assisted reproduction. Cambridge: Cambridge university press, Chapter 8, 146-166.
123. Rizk B. Symposium: Update on prediction and management of OHSS. Genetics of ovarian hyperstimulation. *Reprod BioMed Online* 2009; 19:1:14-27.
124. Rizk B., Aboulghar M.A. Modern management of ovarian hyperstimulation syndrome// *Hum Reprod.* – 1991. – Vol. 6. – P.1082-1087.
125. Rizk B., Aboulghar M., Smits J. et al. The role of vascular endothelial growth factor and interleukins in the pathogenesis of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod Update* 1997; 3:3:255-266.

126. Rizk B., Meagher S., Fisher A. Severe OHSS and cerebrovascular accidents. *Hum. Reprod* 1990; 5:6:697-698.
127. Rodriguez S, Gaunt TR, Day I. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological Ascertainment for Mendelian Randomization Studies. // *American Journal of Epidemiology Advance Access* 2009; 169(4): 505–514.
128. S.Kol and J. Istkovitz-Eldor. Severe OHSS. Yes! There is a strategy to prevent it! *Human Reprod*, Vol 11, no 11, pp 2266-2267, 2000.
129. Semba S, Moriya T, Youssef EM. (2004) An autopsy case of ovarian hyperstimulation syndrome with massive pulmonary edema and pleural infusion. // *Pathol Int* 50:549-552.
130. Serour GI, Aboulghar M, Mansour R et al (1998). Complications of medically assisted conception in 3,500 cycles.// *Fertil Steril* 70:638-642.
131. Sher, G., Zouves, C., Feinman, M. And Maassarani, G. (1995) 'Prolonged coasting': and effective method for preventing severe ovarian hyperstimulation syndrome in patients undergoing in-vitro fertilization. // *Hum. Reprod.*, 10, 3107-3109,
132. Simoni M, Tempfer CB, Destenaves B, Fauser BC. Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders: Part I: polycystic ovary syndrome and ovarian response// *Hum Reprod Update* 2008a;14:459-484/
133. Smits G, Olatunbosun O, Delbaere A. et al (2003). Ovarian hyperstimulation syndrome due to a mutation in the folliculo-stimulating hormone receptor. // *N. Eng J Med* 349: 760-766.
134. Soares S. R., Gomez R., Simon C. et al. Targeting the vascular endothelial growth factor system to prevent ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 2006; 21: Suppl 1: Abstract:96.
135. Tiitinen, A., Husa, L.M., Tulppala, M., Simberg, M. and Seppala, M. (1995) The effect of cryopreservation in prevention of ovarian hyperstimulation syndrome.// *Obstet. Gynaecol.*, 102, 326±329.
136. Trifon G. Lainas, Ioannis A. Sfontouris. Сравнение гибкого протокола с применением антагонистов ГнРГ и длинного протокола с применением

- агонистов ГнРг в программе ЭКО у пациенток с синдромом поликистозных яичников: проспективное рандомизированное контролируемое исследование. Репродукция человека. 2010; 25; №3: 50-56.
137. Van der Meer S, Gerris J, Joostans M, Tas B (1993). Triggering of ovulation using a gonadotrophin-releasing hormone agonist does not prevent ovarian hyperstimulation syndrome. *Human Reprod* 8: 1628-1631.
138. Vasseur C., Rodien P., Beau I. et al. A Chorionic Gonadotropin-Sensitive Mutation in the Follicle-Stimulating Hormone Receptor as a Cause of Familial Gestational Spontaneous Ovarian Hyperstimulation Syndrome// *The new England journal of medicine*. – 2003. – August 21. – P. 753-759.
139. Wang L., Norman R. Concentrations of immunoreactive interleukin-1 and interleukin-2 in human preovulatory follicular fluid// *Hum. Reprod.* – 1992. – Vol.7 – P. 147-150.
140. Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, Kramer P, Fauser BC, Themmen AP. Anti-Mullerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment.// *Mol Hum Reprod* 2004;10:77-83.
141. Whelan, J.G. III and Vlahos, N.F. (2000) The ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil. Steril.*, 73, 883-896.