

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«НАУЧНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ ИМЕНИ
АКАДЕМИКА В.И.КУЛАКОВА»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Иванец Татьяна Юрьевна

**ЛАБОРАТОРНЫЙ МОНИТОРИНГ БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ
ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ**

14.03.10 – Клиническая лабораторная диагностика

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
академик РАН,
доктор медицинских наук, профессор
Г.Т. Сухих

Москва
2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЯХ И МЕХАНИЗМАХ РЕГУЛЯЦИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И ОБ ОСОБЕННОСТЯХ БЕРЕМЕННОСТИ, ПОЛУЧЕННОЙ В РЕЗУЛЬТАТЕ РЕАЛИЗАЦИИ ВРТ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	15
1.1. Метаболическая адаптация при физиологической беременности.....	17
1.2. Особенности течения и исхода беременности, полученной в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий.....	35
1.3. Лабораторный мониторинг беременности и современная концепция референсных интервалов.....	49
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	57
2.1. Общая клиническая характеристика пациенток и распределение их по группам.....	57
2.2 Лабораторные методы исследования.....	61
2.3. Статистический анализ полученных результатов.....	81
ГЛАВА 3. ГОРМОНАЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ И ПОКАЗАТЕЛИ ПРЕНАТАЛЬНОГО СКРИНИНГА ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ ЭКО И ПЭ.....	83
3.1. Диагностика ранней беременности и гормональный мониторинг в первом триместре физиологической беременности и беременности после ЭКО и ПЭ.....	83
3.2. Пренатальный скрининг I триместра при спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ.....	89
3.3. Пренатальный скрининг II триместра при спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ.....	97
ГЛАВА 4. ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ДИНАМИКЕ	

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ ЭКО И ПЭ.....	103
4.1. Референсные интервалы основных гематологических показателей в динамике физиологической беременности.....	103
4.2. Сравнительный анализ для гематологических показателей в динамике физиологической и беременности после ЭКО и ПЭ.....	112
ГЛАВА 5. ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОСТАЗА В ДИНАМИКЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ ЭКО И ПЭ.....	121
5.1. Референсные интервалы для гемостазиологических показателей в динамике физиологической беременности.....	121
5.2. Сравнительный анализ гемостазиологических показателей в динамике физиологической и беременности после ЭКО и ПЭ.....	131
ГЛАВА 6. БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ДИНАМИКЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ ЭКО И ПЭ.....	142
6.1. Референсные интервалы для биохимических показателей в динамике физиологической беременности.....	142
6.2. Сравнительный анализ биохимических показателей в динамике физиологической и беременности после ЭКО и ПЭ.....	153
ГЛАВА 7. ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЛАЦЕНТАРНОГО ФАКТОРА РОСТА И РАСТВОРИМОЙ fms-ПОДОБНОЙ ТИРОЗИНКИНАЗЫ-1 В КАЧЕСТВЕ МАРКЕРОВ ПРЕЭКЛАМПСИИ.....	166
7.1. Маркеры преэклампсии при физиологической беременности.....	166
7.2. Сравнительный анализ маркеров преэклампсии при физиологической беременности и беременности после ЭКО и ПЭ.....	170
7.3. Роль соотношения растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 и плацентарного фактора роста при развитии преэклампсии различной	

степени тяжести.....	172
ГЛАВА 8. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	176
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	202
ВЫВОДЫ	204
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	206
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	208
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	209

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Бесплодие долгое время оставалось проблемой, которую в лучшем случае можно было констатировать, но почти невозможно решить. Отсутствие эффективных способов лечения приводило к тому, что не более трех бесплодных пар из десяти, имеющих репродуктивные нарушения, могли рассчитывать на появление собственного ребенка. Лишь внедрение в клиническую практику методов вспомогательной репродукции, основанных на оплодотворении *in vitro* («вне организма»), позволило сделать вывод о принципиальном решении проблемы бесплодия. Первая беременность после экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона в полость матки (ЭКО и ПЭ) у человека была получена в 1976 году, а первое рождение ребенка «из пробирки» произошло в 1978 [304,305]. С тех пор во всем мире зарегистрировано более четырех миллионов беременностей, полученных с помощью данного метода. Классический метод ЭКО, или ЭКО и ПЭ, стал основой для развития целого ряда подходов, которые в настоящее время объединены общим термином «вспомогательные репродуктивные технологии» (ВРТ). Современные ВРТ насчитывают более 10 методов, и их количество продолжает увеличиваться. Поскольку во всех случаях речь идет не об одноэтапном лечении бесплодия, а о последовательности этапов, основанных на применении широкого спектра методов, принято говорить не о методе, а о программе ЭКО и ПЭ [34].

Особенности течения беременности у пациенток программы ЭКО и ПЭ обусловлены, с одной стороны, факторами бесплодия, а с другой – массивной гормонотерапией, применяемой в протоколах стимуляции суперовуляции и при поддержке на ранних сроках гестации [34,161]. В результате все начальные процессы адаптации материнского организма и формирование фетоплацентарной системы происходят на фоне нефизиологических

концентраций эстрогенов и прогестерона. В современной литературе имеются указания на то, что течение беременности, наступившей после использования ВРТ, сопровождается повышенной частотой различных осложнений [244,261].

Лабораторная медицина является фундаментальным компонентом диагностики в области акушерства и перинатологии. Различные лабораторные тесты используются для постановки диагноза, скрининга, мониторинга течения беременности и состояния плода [151]. Физиологические и метаболические изменения во время беременности возникают как следствие гормональной перестройки и отражаются на результатах многих биохимических, гормональных, гематологических и гемостазиологических лабораторных тестов. Оценка этих результатов требует использования адекватных референсных интервалов – в противном случае существует вероятность того, что окажутся пропущенными значимые изменения или же значения определяемых показателей будут неправильно интерпретированы как проявление патологического процесса [156].

Результаты проведения программ ВРТ в значительной степени зависят не только от качества предшествующего обследования супружеской пары и коррекции выявленных нарушений, препятствующих наступлению беременности, но и тесным образом связаны с ведением гестационного процесса [32,34].

Представляется, что подробный анализ различий лабораторных показателей при спонтанной и ЭКО-беременности в случае неосложненного течения гестационного процесса позволит вплотную подойти к проблемам повышения эффективности программы ЭКО и ПЭ, а также разработать адекватный алгоритм лабораторного мониторинга беременности, полученной в результате использования вспомогательных репродуктивных технологий.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время не существует однозначного представления о референсных значениях лабораторных маркеров у беременных женщин в динамике гестационного процесса. Как правило, референсные интервалы для многих лабораторных показателей приводятся для здоровых мужчин или здоровых небеременных женщин. Однако во время беременности претерпевают изменения многие биологические маркеры, и интерпретация результатов лабораторного обследования должна проводиться с осторожностью [196,270]. В публикациях различных авторов приводятся данные гематологических [272,319], гемостазиологических [196,320], гормональных и биохимических исследований [201233,275] с расчетом специфических референсных интервалов у беременных, но все исследования имеют свои ограничения, кроме того приходится учитывать, что внедрение новых лабораторных методов, их разнообразие, а также происходящая в последнее время переоценка «нормальных значений» требуют периодического пересмотра референсных интервалов для лабораторных показателей при беременности [142]. Кроме того, согласно рекомендациям Международной Ассоциации клинической химии (IFSS) и Института клинических лабораторных стандартов (CLSI, США) каждая лаборатория должна определить собственные валидированные референсные интервалы исследуемых параметров, используя конкретные методы и лабораторное оборудование [298].

Другой аспект проблемы референсных значений для беременных связан с широким развитием вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и увеличением процента беременностей, полученных в результате проведения программы ЭКО и ПЭ. Показано, что гормональная регуляция и течение беременности, наступившей в результате использования ВРТ, имеют ряд особенностей в сравнении со спонтанной беременностью [34,211].

Частота венозных тромбозов в процессе реализации программы ЭКО и ПЭ по разным оценкам составляет 0,08-0,11% всех циклов лечения [71,315].

Величина этого риска аналогична величине риска венозного тромбоза во время беременности [194] и представляет собой по меньшей мере 10-кратное увеличение базового риска венозных тромбоэмболических событий у женщин репродуктивного возраста [36]. В сочетании с растущим использованием ВРТ частота этих осложнений, вероятно, тоже может возрастать.

Отмечается повышенный интерес к результатам пренатального скрининга у пациенток программ ВРТ. Получены противоречивые данные о зависимости уровня биохимических маркеров скрининга первого триместра от способа получения беременности [127,130,321], а также о частоте хромосомных аномалий плода при использовании ВРТ по сравнению с самопроизвольной беременностью [58,235]. По мере накопления дополнительной информации о сывороточных маркерах широко обсуждается вопрос о внесении поправок в расчеты риска хромосомной патологии в случае ЭКО-беременности для снижения количества ложноположительных результатов [326].

Показано, что в случае индуцированной беременности имеет место дисбаланс ангиогенных и антиангиогенных факторов [45]. Эти изменения были отмечены даже в случае отсутствия признаков плацентарной дисфункции, в том числе преэклампсии и синдрома задержки развития плода, что, свидетельствует о необходимости более тщательного наблюдения за течением беременности, полученной в результате реализации программ ВРТ.

Таким образом, исследования в области вспомогательных репродуктивных технологий ведутся достаточно интенсивно, но остается ряд дискуссионных вопросов, препятствующих формулировке современного представления о клинико-лабораторных особенностях течения беременности, наступившей в результате реализации программы ЭКО и ПЭ.

Все сказанное выше определяет актуальность темы диссертационного исследования.

Цель исследования

Разработать референсные интервалы и оптимизировать алгоритм клинико-лабораторного мониторинга гестационного процесса на основании сравнительного анализа результатов гормональных, биохимических, гематологических и гемостазиологических лабораторных исследований при спонтанной беременности и беременности, наступившей в результате реализации программ вспомогательных репродуктивных технологий.

Задачи исследования

1. Получить референсные интервалы для биохимических, гематологических и гемостазиологических лабораторных показателей в зависимости от срока физиологической неосложненной беременности.
2. Провести сравнительный анализ гормональных показателей и биохимических маркеров пренатального скрининга в динамике физиологической и ЭКО-беременности.
3. Провести сравнительный анализ гематологических и гемостазиологических показателей в динамике физиологической беременности и беременности, наступившей в результате реализации программы ЭКО и ПЭ.
4. Провести сравнительный анализ биохимических показателей в динамике физиологической и ЭКО-беременности.
5. Оценить диагностическую значимость определения ангиогенных маркеров преэклампсии и сформировать их референсные интервалы в динамике беременности (самопроизвольной и после ЭКО и ПЭ), а также выявить зависимость уровня данных маркеров от степени тяжести преэклампсии.
6. Оценить необходимость коррекции референсных интервалов для лабораторных показателей при мониторинге ЭКО-беременности и алгоритма лабораторного обследования при спонтанной неосложненной беременности и беременности, полученной в результате применения ВРТ.

Научная новизна

Впервые в РФ были разработаны референсные интервалы для рутинных биохимических, гематологических и гемостазиологических лабораторных показателей, используемых в настоящее время в рамках стандартов лабораторного обследования женщин с неосложненной физиологической беременностью, и обоснована необходимость использования полученных референсных интервалов у данной группы пациенток с целью корректной интерпретации результатов.

Впервые проведена комплексная сравнительная оценка данных клинко-лабораторного обследования при неосложненной индуцированной и физиологической беременности. Показано, что значимые различия отдельных лабораторных показателей отмечаются только на протяжении первого триместра на фоне достоверно более высоких концентраций половых гормонов у пациенток программы ЭКО и ПЭ.

Показана необходимость коррекции референсных интервалов в первом триместре ЭКО-беременности для таких показателей, как общее количество лейкоцитов, количества тромбоцитов, уровня фибриногена, фактора Виллебранда, D-димера, АЛТ, АСТ, ЛДГ, креатинина, а также 17-гидроксипрогестерона во втором триместре.

Выявлены особенности динамики уровня биохимических маркеров, определяемых в рамках проведения пренатального скрининга, в случае беременности, наступившей в результате применения ВРТ.

Определена роль ангиогенных и антиангиогенных биохимических маркеров (плацентарного фактора роста, растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 и их соотношения) в прогнозировании развития и диагностике преэклампсии, в том числе и при беременности после ЭКО и ПЭ.

Практическая значимость

На основании проведенного исследования, для физиологической неосложненной беременности и для беременности, наступившей в результате реализации ВРТ, были разработаны референсные интервалы для 17 биохимических, 16 гематологических, 8 гемостазиологических показателей и маркеров пренатального скрининга.

Оптимизирован алгоритм лабораторного мониторинга как при спонтанной, так и при ЭКО-беременности.

Получены референсные диапазоны для ангиогенных и антиангиогенных маркеров преэклампсии и оценена их диагностическая значимость при умеренном и тяжелом течении заболевания.

Результаты настоящего исследования включены в национальные руководства «Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство; в 2 т.», под ред. В. В. Долгова, В. В. Меньшикова, 2012 г. в качестве отдельной главы «Лабораторный мониторинг при беременности», и в «Акушерство: национальное руководство» под ред. Г.М.Савельевой, Г.Т.Сухих, В.Н.Серова, В.Е.Радзинского, 2015г., в качестве отдельной главы «Лабораторные методы диагностики в акушерстве».

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Применение в рамках лабораторного обследования здоровых беременных женщин референсных интервалов, разработанных для общей популяции, снижает диагностическую значимость получаемых результатов исследования. Выраженность изменений лабораторных показателей, обусловленных физиологической перестройкой в организме беременной женщины, усиливается по мере увеличения гестационного срока, что следует учитывать при интерпретации результатов.

2. Беременность, наступившая в результате реализации программы ЭКО и ПЭ, имеет ряд особенностей гормонального фона, и, как следствие,

некоторых гематологических, гемостазиологических и биохимических лабораторных показателей по сравнению со спонтанной беременностью. Основные различия, связанные с гормональным дисбалансом, отмечаются в первом триместре и, при отсутствии исходной экстрагенитальной патологии, исчезают к началу второго триместра беременности.

3. Однонаправленная динамика уровня биохимических маркеров пренатального скрининга в I и II триместрах физиологической и индуцированной беременности позволяет использовать эти показатели для пренатальной диагностики врожденной патологии плода при беременности, наступившей в результате использования ВРТ. Сниженные значения PAPP-A и плацентарного фактора роста в I триместре беременности после ВРТ диктуют необходимость коррекции медиан этих показателей при расчете рисков у пациенток программы ЭКО и ПЭ, что позволит уменьшить число ложноположительных результатов скрининга.

4. Динамика уровня плацентарного фактора роста и растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 в сыворотке крови при беременности, наступившей в результате использования ВРТ, не отличается от таковой при спонтанной беременности. Преэклампсия характеризуется снижением уровня PlGF и повышением уровня sFlt-1. Соотношение sFlt-1/PlGF является более значимым маркером преэклампсии, чем их раздельное определение, при этом степень увеличения соотношения прямо пропорциональна тяжести заболевания.

Возможные области применения и формы внедрения

Клиническая лабораторная диагностика, акушерство и гинекология, гематология, гемостазиология, терапия. Экономический эффект от внедрения будет определяться снижением частоты развития акушерских осложнений, сокращением затрат на лабораторное обследование беременных и терапию, а также сокращением длительности пребывания в стационаре.

Методология и методы исследования

Для выполнения цели исследования, реализации поставленных задач и обоснования основных положений были использованы анализ тематической литературы, современные методы клинической лабораторной диагностики и методы статистической обработки данных. Работа выполнена в дизайне проспективного и ретроспективного исследования с использованием лабораторных, аналитических и статистических методов исследования.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность полученных результатов исследований определяется достаточным (репрезентативным) объемом выборок обследованных пациентов и качеством исследований, проведенных современными методами клинической лабораторной диагностики; кроме того, достоверность результатов подтверждена методами статистической обработки данных, адекватных поставленным задачам.

Основные результаты работы доложены и обсуждены на XXII Международном конгрессе «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» (Москва, 2009), Всероссийской конференции «Охрана репродуктивного здоровья – будущее России» (Белгород, 2010), V Всероссийском конгрессе «Амбулаторно-поликлиническая помощь – в эпицентре женского здоровья» (Москва, 2013), 15th World Congress on human reproduction (Венеция, Италия, 2013), V Конгрессе с международным участием «Ранние строки беременности: от предгравидарной подготовки к здоровой гестации. Проблемы ВРТ» (Москва, 2015), IX Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 2015), VIII Региональном научном форуме «Мать и Дитя» (Сочи, 2015), II Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 2016), Юбилейном XX Форуме «Национальные дни лабораторной

медицины России — 2016» (Москва, 2016), 24th European Congress Board and College of Obstetrics and Gynaecology (Турин, Италия, 2016), Республиканской конференции «Патология системы гемостаза: современные возможности диагностики, коррекции и мониторинга» (Уфа, 2017), XXII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Теория и практика клинической лабораторной диагностики» (Москва, 2017).

Результаты проведенной работы используются в практической деятельности ФБГУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. По теме диссертации опубликовано 26 работ, в том числе 19 статей - в рецензируемых научных журналах, определенных перечнем ВАК.

Личное участие автора

Автор принимал непосредственное участие в выборе направления исследования, разработке дизайна, определении цели и задач исследования, подборе и подготовке образцов биоматериала, проведении большей части лабораторных исследований. Автором выполнен статистический анализ, интерпретация и обобщение полученных данных.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 242 страницах машинописного текста, иллюстрирована 46 таблицами и 71 рисунком. Состоит из введения, основной части, включающей обзор литературы, описание материалов и методов исследования, 5 глав результатов собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, включающего 34 отечественных и 302 зарубежных источника.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЯХ И МЕХАНИЗМАХ РЕГУЛЯЦИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И ОБ ОСОБЕННОСТЯХ БЕРЕМЕННОСТИ, ПОЛУЧЕННОЙ В РЕЗУЛЬТАТЕ РЕАЛИЗАЦИИ ВРТ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Внедрение в клиническую практику методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), в частности метода экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), стало важнейшим достижением репродуктологии, которое предоставило уникальную возможность реализовать функцию деторождения при различных формах трубного бесплодия, вплоть до полного отсутствия маточных труб. Применение модифицированных программ ЭКО сегодня с успехом практикуется при эндокринном и иммунологическом бесплодии, при бесплодии неясного генеза, мужском бесплодии [33].

По данным из отчета Регистра ВРТ Российской ассоциации репродукции человека (РАРЧ) за 2014 год, число центров ВРТ в России возросло по сравнению с 2004 годом с 43 до 167. Общее количество доступных анализу циклов ВРТ, выполненных в российских центрах в 2014 г., составило 95628 (в 2004 году – 14751). В 2014 г. в России в циклах ВРТ родилось 24707 детей (в 2004 году – 3193). Данные отчета свидетельствуют о том, что в 2014 г. по общему количеству выполненных циклов ВРТ наша страна вошла в число лидеров среди европейских стран [51]. По данным Министерства здравоохранения, в России доля родов в программах ВРТ неуклонно возрастает и в 2014 г. составила 1,03% от общего числа родов (в 2013г. – 0,77%) [9].

Несмотря на то, что в мире ежегодно проводятся сотни тысяч циклов ВРТ, нельзя упускать из виду, что наступление беременности – это лишь первый этап, после которого встают не менее важные задачи вынашивания беременности и рождения здорового ребенка [10,185].

Специфика течения беременности у пациенток программы ЭКО обусловлена, с одной стороны, факторами бесплодия (трубно-перитонеальным, инфекционным, эндокринным или иммунологическим), а с другой – массивной гормонотерапией, применяемой в программе стимуляции овуляции и при поддержке на ранних сроках беременности [34]. По совокупности факторов, связанных с этиологией, патогенезом и длительностью бесплодия, состоянием соматического здоровья и возрастом супругов, а также с выбором метода стимуляции, этот контингент пациенток относится к группе высокого риска по невынашиванию беременности и неблагоприятным ее исходам [34,49]. Так, согласно данным РАРЧ, доля срочных родов (в 37-40 недель) при одноплодной беременности составляет от 77 до 82%, частота преждевременных родов на сроке 28-36 недель – от 10,5 до 14,5%, потери беременности на сроке до 20 недель – от 22,7 до 26,3% в зависимости от вида процедуры ВРТ [9]. Частота невынашивания после применения ЭКО превышает средние показатели в популяции и может достигать 30-35% [34,50,236].

До 80% самопроизвольных прерываний беременности, в том числе и после ЭКО и ПЭ, приходится на I триместр, причем доля ранних выкидышей, связанная с генетическими дефектами, составляет 50-60% [9,34,130].

Результаты проведения программ ВРТ в значительной степени зависят не только от качества предшествующего обследования супружеской пары и коррекции выявленных нарушений, препятствующих наступлению беременности, но и тесным образом связаны с ведением гестационного процесса [32,34].

Соответственно, представляется актуальным проведение исследований, посвященных вопросу влияния процедуры ЭКО и ПЭ на течение беременности и, в частности, особенностям результатов лабораторного мониторинга при ЭКО-беременности по сравнению со спонтанной беременностью, с целью повышения эффективности лечения бесплодия с помощью методов вспомогательных репродуктивных технологий.

1.1. Метаболическая адаптация при физиологической беременности

Продолжительность нормальной беременности составляет 280 дней (40 недель), считая с первого дня последней менструации до момента родов. За это время в организме женщины происходит множество физиологических изменений, связанных с глубокими гормональными и метаболическими перестройками, без которых невозможно благополучное течение гестационного процесса, рост и развитие плода, а также роды и последующая лактация [23,151]. Примером таких перестроек могут служить увеличение объема плазмы и количества эритроцитов, рост сердечного выброса и скорости клубочковой фильтрации, развитие инсулин-резистентности и респираторного алкалоза и т.д. Понимание этих изменений имеет важное значение для правильной интерпретации данных лабораторного тестирования и оценки состояния беременной женщины. Осложнения беременности приводят либо к активации адаптационных механизмов, либо к срыву механизмов компенсации. Наиболее нестабильный гомеостаз и максимальная активность процессов адаптации отмечается в I и III триместрах, т.е. в момент становления беременности и в период ее завершения.

Для того чтобы оценить роль лабораторного мониторинга в ведении беременности, важно соотносить его с ключевыми моментами гестационного процесса, такими как оплодотворение, имплантация и развитие эмбриона, рост плода, функция плаценты, адаптация материнского организма, функциональное созревание плода [151].

Каковы основные условия возникновения и благоприятного течения беременности?

Первое условие наступления беременности – это формирование полноценной яйцеклетки, реализация процессов овуляции и оплодотворения. Второе условие – прекращение циклической активности яичников (т.е. менструального цикла) для обеспечения процесса имплантации бластоцисты.

Далее создаются условия для нормального развития эмбриона. Защиту от внешних влияний обеспечивает его максимальная изоляция от окружающей среды. Кроме того, поскольку эмбрион является аллогетеротрансплататом (половина его хромосомного набора имеет чужеродное происхождение), должен быть подавлен иммунный ответ материнского организма на его присутствие. Обеспечение развивающегося эмбриона всеми необходимыми компонентами питания происходит через организм матери. Соответственно, требуется изменение метаболизма матери в интересах плода. Наконец, наступление родовой активности должно происходить к моменту готовности плода к внеутробному существованию [1,11,223].

Овуляция обычно происходит за 13-15 дней до ожидаемой менструации и заключается в выходе яйцеклетки (точнее, ооцита 2-го порядка) из разорвавшегося доминантного фолликула. Овуляция у человека является спонтанным процессом, обусловленным подъемом уровня фолликулостимулирующего гормона в первые дни цикла. Любое изменение физиологических соотношений гонадотропных гормонов приводит к нарушению созревания доминантного фолликула и, как следствие, к овуляции неполноценным ооцитом. Таким образом, уже на этапе овуляции осуществляется отбор наиболее полноценных яйцеклеток (т.е. наиболее «здоровых» эмбрионов в будущем). Весь процесс подготовки к овуляции и оплодотворению регулируется половыми гормонами, синтезируемыми в гонадах, т.е. гормонами организма матери [34,151,334].

После попадания в маточную трубу ооцит в момент оплодотворения претерпевает второе редукционное деление, превращается в зрелую яйцеклетку и после оплодотворения формирует зиготу. Зигота в течение 3-5 дней продвигается по маточной трубе и в стадии бластоцисты опускается в полость матки. Образовавшееся на месте овулировавшего фолликула желтое тело активно синтезирует половые гормоны – прогестерон и эстрадиол, запускающие подготовку слизистой оболочки маточной трубы и матки к

транспорту зиготы и имплантации раннего эмбриона. Имплантация связана с прорастанием трофобласта (наружного слоя бластоцисты) в эндометрий и формированием ворсин хориона, из которых затем формируется плацента.

Согласно современным представлениям реализация всех условий осуществляется в основном эндокринными механизмами, причем ведущую роль в эндокринной регуляции гестационного процесса играет фето-плацентарный комплекс, обладающий в известной степени некоторой автономностью [223]. Плацента осуществляет разделение кровотока матери и плода, перенос питательных веществ из крови матери к плоду и удаление продуктов его жизнедеятельности, а также продукцию стероидных и белковых гормонов, жизненно важных для беременности. В стероидогенезе участвуют плод, плацента и материнский организм, которые дополняют друг друга таким образом, что фетоплацентарная система способна поддерживать синтез всех биологически активных стероидных гормонов (рисунок 1.1) [2,144,223].

Рисунок 1.1

Схема плацентарной продукции стероидных и белковых гормонов



Согласно современным представлениям реализация всех условий осуществляется, в основном, эндокринными механизмами, причем ведущую роль в эндокринной регуляции гестационного процесса играет фето-плацентарный комплекс [223]. Благодаря интенсивному развитию эндокринологии в последние десятилетия были идентифицированы многие биологически активные соединения, которые осуществляют эту регуляцию (табл. 1.1).

Таблица 1.1

Содержание основных гормонов и биологически активных соединений в крови женщины во время физиологической беременности

Показатель	Источник	Сроки обнаружения (повышения) концентрации маркера в крови матери
Хорионический гонадотропин человека (ХГч)	Бластоциста, трофобласт, плацента	5-8 день после зачатия
Прогестерон	Желтое тело беременности, трофобласт, плацента	Первые недели (до 7-ой нед.) Желтое тело беременности, далее- фето-плацентарный комплекс
Эстрадиол	Желтое тело беременности, трофобласт, плацента	Первые недели (до 7-ой недели) желтое тело беременности, далее - фето-плацентарный комплекс
Эстриол	Фетальная зона надпочечников плода, плацента	6-я – 7-я недели беременности
17-ОН прогестерон	Желтое тело беременности, фето-плацентарный комплекс	1-я неделя беременности
Кортизол	Преимущественно кора надпочечников матери.	1-я неделя беременности
Тиреотропный гормон (ТТГ)	Аденогипофиз матери, плацента	В I триместре возможно снижение концентрации, в дальнейшем – возвращение к норме
Пролактин	Аденогипофиз матери, децидуальная ткань	Повышается индивидуально (у некоторых беременных уже в I

Показатель	Источник	Сроки обнаружения (повышения) концентрации маркера в крови матери
		триместре)
Адренокортикотропный гормон (АКТГ)	Аденогипофиз матери, трофобласт, плацента	Повышается с I триместра беременности
Плацентарный лактоген (соматомаммотропин)	Плацента	Появляется после 5-й – 6-й недели беременности
Ингибин	Желтое тело, плацента, фетальная зона коры надпочечников плода	Повышается с 5-й недели беременности
α -фетопротеин (АФП)	Желточный мешок плода, печень плода	Повышается с 5-й недели беременности
Тестостерон	Строма яичников и надпочечники матери	Не меняется
Дегидроэпиандростендион – сульфат (ДГЭА-С)	Кора надпочечников матери, фетальная зона коры надпочечников плода	Повышается с 5-й недели беременности
Транспортные белки (транскортин, тестостерон - эстрадиол связывающий глобулин, тироксинсвязывающий глобулин)	Печень матери	Повышается с 1-й недели беременности
Специфические белки беременности (трофобластический β -глобулин, ассоциированный с беременностью плазменный протеин А и др.)	Трофобласт, плацента	Появляются с 1-й недели беременности.

После зачатия для сохранения оплодотворенной яйцеклетки (и наступления беременности) должна быть прекращена циклическая активность яичников (менструации) и тем самым предотвращена отслойка эндометрия. Это достигается путем персистенции в яичнике желтого тела. Согласно современным представлениям, сохранение желтого тела обеспечивается специфическим гормоном беременности – хорионическим гонадотропином человека (ХГч) [31,90,230,252]. Молекула ХГч состоит из двух субъединиц – α

и β , которые различаются по аминокислотному составу; α -субъединица (α -цепь) ХГч имеет ту же структуру, что и α -цепи лютеинизирующего (ЛГ), фолликулостимулирующего (ФСГ) и тиреотропного (ТТГ) гормонов [143]. β -субъединица ХГч отличается от аналогичных структур ФСГ, ЛГ и ТТГ и обеспечивает специфическую биологическую активность этого гормона. Помимо двух субъединиц, нативная молекула ХГч содержит углеводные компоненты, которые представлены галактозой, маннозой и сиаловой кислотой [64,325].

Синтез ХГч осуществляется клетками синцитиотрофобласта. Было показано, однако, что клетки зиготы на стадии восьми бластомеров уже способны к синтезу ХГч. Поскольку биологическая активность ХГч имитирует активность двух гонадотропинов – ЛГ и ФСГ, ХГч стимулирует персистенцию желтого тела и синтез половых гормонов. Ко времени достижения зиготой (бластоцистой) полости матки синтезируется такое количество ХГч, которое необходимо для предотвращения атрезии желтого тела [29].

В 90% случаев ХГч может быть обнаружен в крови женщины уже в первый день и в 97% случаев в течении первой недели задержки менструального цикла [230]. При физиологическом развитии эмбриона уровень ХГч в крови матери удваивается каждые 2 дня [251,285]. Недостаточный синтез ХГч сопровождается атрезией желтого тела и приводит к наступлению менструации, в результате чего эмбрион не имплантируется. Максимальная концентрация ХГч обнаруживается на 8-10-й неделе беременности [90,285]. Активный синтез ХГч продолжается до 10-11 недели беременности, т.е. до момента окончательного формирования плаценты. Затем концентрация этого гормона как в крови, так и в моче постепенно снижается в период до 15 недели беременности и остается постоянным до родоразрешения.

В последние годы появились данные о том, что ХГч обладает еще одной активностью. На поздних сроках беременности этот гормон играет роль эндогенного токолитика, снижая сократительную активность матки [190].

Следует учитывать, что ряд препаратов (синтетические гестагены), широко применяемых в репродукции, вызывают активацию синтеза ХГч [151,179].

Большое значение имеет определение ХГч в 1-м триместре беременности. Повышенные уровни на этом сроке свидетельствуют о хориокарциноме, пузырном заносе или многоплодной беременности. При многоплодной беременности концентрация ХГч увеличивается пропорционально не количеству эмбрионов, а количеству развивающихся хорионов; иными словами, при наличии монохориальной двуплодной беременности уровень ХГч в крови должен соответствовать нормативным показателям для одноплодной беременности, а при наличии дихориальной беременности – превышать соответствующий показатель для одноплодной беременности в 2 раза [31,151]. Пониженные значения могут указывать на угрозу выкидыша, внематочную беременность, внутриутробную гибель плода [162].

Кроме нативных молекул ХГч в периферической крови циркулируют в меньшем количестве свободные α -субъединицы и β -субъединицы. В I триместре содержание свободной β -субъединицы ХГч составляет 1–4%, а во II и III триместре — менее 1% от суммарного количества ХГч. При наличии хромосомных aberrаций у плода содержание свободной β -субъединицы ХГч повышается быстрее, чем концентрация общего ХГч, поэтому определение β -субъединицы предпочтительнее для пренатального скрининга патологии плода в I триместре беременности [121,146,181].

Синтез половых гормонов (эстрадиола и прогестерона) в трофобласте начинается на 4-5-й неделях беременности, и после 7-й недели беременности продукция этих гормонов трофобластом полностью замещает их продукцию желтым телом. По мере прогрессирования беременности содержание в крови матери как эстрадиола, так и прогестерона непрерывно растет. К 38-й неделе концентрации эстрадиола в 50-80 раз, а прогестерона – в 10 раз превышают уровень, определяемый на 4-5-й неделе беременности [4,300].

Под влиянием этих гормонов начинаются изменения основных систем жизнеобеспечения женского организма: увеличиваются сердечный выброс, объем циркулирующей крови, скорость клубочковой фильтрации мочи, дыхательный и минутный объем легких и т.п. [151,270]. Под действием прогестерона происходит секреторная трансформация эндометрия, снижается мышечный тонус матки, желудочно-кишечного тракта и мочевыделительной системы, подавляется действие альдостерона и снижается канальцевая реабсорбция натрия. Помимо этого, прогестерон обладает иммуносупрессивной активностью.

Недостаточный синтез прогестерона желтым телом беременности в первом триместре приводит к нарушению процесса имплантации и прерыванию беременности на ранних сроках. Угроза потери беременности вследствие гипофункции желтого тела и снижения продукции прогестерона трофобластом (плацентой) наблюдается у 8-10% беременных и требует адекватной заместительной терапии [34]. В плаценте прогестерон синтезируется из холестерина липопротеинов низкой плотности [66].

Существует более 25 различных эстрогенов, выделенных из мочи беременных женщин [186]. Однако наиболее широко изучены три основных эстрогена: эстрон, эстрадиол и эстриол. Эти гормоны секретируются плацентой, но их предшественники образуются в тканях плода. К 20 неделе беременности подавляющее большинство эстрогенов, присутствующих в материнской крови, синтезируется из дегидроэпиандростерона сульфата (ДГЭА-С) надпочечников плода. Роль повышенного синтеза эстрогенов во время беременности до конца не ясна, но установлено, что эстрогены увеличивают производство ангиотензиногена (субстрат ренина) в печени и, следовательно, могут контролировать приток крови к матке [186]. Самым значимым эстрогеном во время беременности является эстриол (в отличие от других эстрогенов содержит дополнительную гидроксильную группу в 16 положении) [223]. Биологическая роль эстриола заключается в защите организма беременной от

эстрогенизации эстрадиолом, синтезируемым фето-плацентарным комплексом, и в усилении маточно-плацентарного кровотока. Относительно слабый эстрогенный эффект на другие органы и системы делает эстриол идеальным для этой цели. Кроме того, эстриол участвует в подготовке матки (особенно шейки матки) к родам.

При нормально развивающейся беременности продукция эстриола и его концентрация в крови нарастают с увеличением срока беременности и ростом плода. Определение концентрации эстриола — метод мониторинга за состоянием плода. При осложнённом течении беременности снижение концентрации эстриола служит одним из самых ранних диагностических признаков нарушения внутриутробного развития. Так, при поздних токсикозах беременных, когда плод испытывает хроническое кислородное голодание, уменьшается продукция эстриола фетоплацентарной системой, и концентрация его в крови снижается. Основные причины снижения содержания эстриола в крови беременных — сахарный диабет, перенашивание, преэклампсия, задержка роста плода (ЗРП), гипоплазия надпочечников плода и такие нарушения у матери, как анемия, недостаточность питания, пиелонефрит, заболевания кишечника и гемоглобинопатия, а также лечение глюкокортикоидами. Было показано, что снижение концентрации эстриола возникает также при синдроме Дауна и внутриутробной инфекции. При внутриутробной гибели плода синтез этого гормона и его содержание в крови резко уменьшаются (более чем на 50%) [336].

Таким образом, эстрогены и прогестерон оказывают серьезное влияние на физиологию материнского организма и играют центральную роль в адаптации.

Уже в первые недели беременности повышенный уровень эстрадиола и прогестерона приводит к гиперплазии β -клеток поджелудочной железы матери. В результате увеличивается секреция инсулина и к нему повышается тканевая чувствительность [159,280]. Данные анаболические изменения стимулируют накопление тканевого гликогена, увеличение периферического потребления

глюкозы и снижение уровня глюкозы в крови натошак на 10-20%. Глюкоза является основным субстратом энергетического обмена плода и поступает через плаценту из крови матери.

По мере роста плода его потребность в энергии (т.е. в глюкозе) непрерывно возрастает. На более поздних сроках беременности на углеводный обмен начинает влиять плацентарный лактоген (соматомаммотропин) – основной медиатор метаболических изменений при беременности. Гормон обнаруживается в материнской сыворотке уже на 5-6-й неделе, и его синтез в плаценте увеличивается по мере прогрессирования беременности. В это же время возрастает уровень пролактина, кортизола и глюкагона. Эти изменения приводят к развитию умеренной резистентности к инсулину [159,186]. Основная биологическая роль плацентарного лактогена заключается в активации процесса липолиза. В результате в крови матери повышается содержание свободных жирных кислот, что, в свою очередь, тормозит инсулин-зависимое потребление глюкозы клетками материнского организма. Соответственно, возникает гипергликемия, которая, с одной стороны, стимулирует секрецию инсулина поджелудочной железой матери, а с другой – обеспечивает плод необходимым для роста энергетическим субстратом. При физиологическом течении беременности избыток глюкозы полностью используется плодом, и уровень сахара в крови матери не повышается [22]. У беременных женщин, страдающих диабетом, доступность глюкозы для плода существенно повышена, в результате чего отмечается избыточный рост плода.

Во время нормальной беременности активируется ренин-ангиотензиновая система [270,280,307]. Вероятно, что в регуляции этого процесса участвуют и прогестерон, и эстрогены. Эстрогены стимулируют образование ангиотензиногена в печени, что в конечном итоге приводит к увеличению продукции альдостерона и реабсорбции натрия. Было также показано, что прогестерон повышает как активность ренина, так и выведение альдостерона с

мочой. Этот сдвиг в оси ренин-ангиотензин-альдостерон может играть важную роль в увеличении объема плазмы во время беременности.

В регуляции метаболизма организма матери (и плода) также принимают активное участие и другие эндокринные системы, в первую очередь, тиреоидная и гипофизарно-адреналовая.

Гиперэстрогенное состояние, развивающееся при беременности, приводит к многочисленным изменениям в гепатобилиарной системе [275,328]. Результаты лабораторного исследования функции печени у беременных часто неверно интерпретируются из-за значительных физиологических изменений некоторых показателей. Основное воздействие беременности на функцию печени выражается в эстрогенной стимуляции синтеза белка, оказывающей заметное влияние на концентрацию в крови факторов коагуляции, ангиотензиногена, гормон-связывающих белков и некоторых белков острой фазы воспаления.

Концентрация щелочной фосфатазы (ЩФ) в крови постепенно увеличивается и достигает пика в третьем триместре, превышая уровень у небеременных в 2 и более раза [270]. Повышение концентрации ЩФ происходит за счет поступления в кровь из нескольких источников, основным из которых является плацента (40-60% всей ЩФ) [280,317]. Хотя физиологическое увеличение уровня ЩФ у беременных препятствует правильной оценке диагностической значимости данного фермента, существенное его повышение является маркером таких осложнений беременности, как внутрипеченочный холестаз беременных, острая жировая дистрофия печени. Пониженная активность ЩФ у беременных может свидетельствовать о нарушении развития плаценты; недостаточность ЩФ выявляется при фетоплацентарной недостаточности, а также в случаях преэклампсии, что связывают со снижением синтеза плацентарных изоформ фермента [151]. Уровни аминотрансфераз (аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ)), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) в крови у беременных не изменяются, поэтому их

определение можно использовать для диагностики заболевания печени во время беременности [270]. Самые распространенные причины увеличения уровня печеночных ферментов во время беременности – острая жировая дистрофия печени, холестаз беременных, преэклампсия и HELLP-синдром.

В результате гемодилюции происходит снижение в крови уровня альбумина, общего белка, билирубина. При этом скорость синтеза альбумина в печени и его обмена остаются неизменными [151]. Значение альбумина определяется тем, что он поддерживает онкотическое давление плазмы и является основным транспортным белком.

Гиперэстрогемия влечет за собой повышение синтеза холестерина и триглицеридов в печени [75,87,248]. Во время беременности под влиянием эстрогенов и гиперинсулинемии, обусловленной угнетением активности липазы – фермента, расщепляющего липиды в жировой ткани, – происходит увеличение концентрации липидных фракций. Изменения липидного профиля, связанные с беременностью, подобны тем, что наблюдаются у женщин, получающих экзогенные эстрогены. К концу беременности уровень общего холестерина и холестерина липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) возрастает примерно в 1,5 раза, холестерина ЛПНП – в 2 раза, триглицеридов – в 2,5 раза по сравнению с уровнем у небеременных.

В связи с увеличением объема циркулирующей крови на 40% возрастает сердечный выброс; одновременно значительно усиливается почечный кровоток, размеры почек увеличиваются на 1-1,5 см, расширяются лоханки и мочеточники, вследствие чего может повыситься риск развития пиелонефрита [23,280]. Кроме того, к середине беременности обычно происходит увеличение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) до 50% от исходного уровня. В результате повышается скорость экскреции мочевины и креатинина, а потому у беременных женщин уровень данных метаболитов в сыворотке крови, как правило, ниже, чем у небеременных [89]. Происходящее увеличение СКФ в сочетании с повышением концентраций прогестерона, эстрадиола,

плацентарного лактогена и снижением уровня альбумина в плазме приводит к увеличению канальцевой реабсорбции натрия [280]. Однако степень задержки воды в организме беременной женщины выше, чем степень увеличения реабсорбции натрия, вследствие чего уровень натрия в плазме к третьему триместру может снижаться.

Задержка воды в организме – одно из ключевых изменений, вызванных беременностью. Осмоляльность плазмы начинает снижаться уже к 5 неделе [279]. В результате реализации адаптационных механизмов при неосложненной одноплодной беременности происходит увеличение объема плазмы на 25–50%, а общий объем крови увеличивается к родам на 40%, подготавливая материнский организм к потенциальной кровопотере, связанной с родами. Увеличение объема плазмы положительно коррелирует с благополучным исходом беременности. Так, показано, что патологические процессы, приводящие к задержке внутриутробного развития, сопровождаются незначительным приростом объема плазмы [158].

Наиболее значимыми гематологическими изменениями в течение беременности являются физиологическая анемия, лейкоцитоз, умеренная тромбоцитопения, увеличение синтеза прокоагулянтных факторов, снижение фибринолиза.

Повышение количества эритроцитов, составляющее 15-30% от исходного уровня, несколько отстаёт от увеличения объема плазмы. В результате соотношение эритроциты/объем плазмы снижается, что отражается на гематокрите и концентрации гемоглобина и обуславливает физиологическую анемию беременных (физиологическая гемодилюция) [72]. Согласно рекомендациям ВОЗ, диагноз анемии, требующей медикаментозной коррекции, ставится при уровне гемоглобина в первом и третьем триместрах ниже 110 г/л (гематокрит ниже 33%), во втором триместре – ниже 105 г/л (гематокрит ниже 32%) [68,140]. Было проведено много рандомизированных исследований, оценивающих изменения уровня гемоглобина, эритроцитов, железа и белков,

транспортирующих железо, у здоровых беременных женщин, получающих препараты железа или плацебо [104,180,226]. У женщин с дополнительным введением железа средние значения гемоглобина на 23-26 неделе гестации составляли 11,5–12,0 г/дл, а у женщин, получавших плацебо, – от 10,9 до 11,4г/дл.

Также во многих исследованиях было четко продемонстрировано, что во время нормальной беременности повышается общее число лейкоцитов [76,250,291]. Абсолютное число лейкоцитов возрастает постепенно с конца первого триместра к родам, достигая в ранний послеродовый период значений $20\text{--}25 \times 10^9/\text{л}$. У курящих беременных отмечается более высокий уровень лейкоцитов, чем у некурящих [222]. Наибольший вклад в увеличение общего количества лейкоцитов вносят зрелые нейтрофилы. Их относительное и абсолютное количество повышается в первом триместре, находится на постоянном повышенном уровне в течение второго и третьего триместров беременности и тоже достигает максимума в ранний послеродовый период. В норме в течение беременности в крови может выявляться незначительное количество незрелых гранулоцитов. Во время беременности может наблюдаться слабый моноцитоз, который ассоциируется с увеличением макрофаг-стимулирующего фактора [77]. Кроме того, отмечается снижение относительного количества лимфоцитов. Относительное число базофилов и эозинофилов в течение беременности, по мнению ряда авторов, остается неизменным [270].

В литературе имеются данные, указывающие как на отсутствие изменений количества тромбоцитов в материнской крови при нормальной беременности [204,118,291], так и на существование тромбоцитопении беременных [117,200,234,250]. В течение физиологической беременности может наблюдаться повышенное разрушение тромбоцитов из-за активации протромботических процессов, что приводит к постепенному снижению общего количества тромбоцитов в периферической крови, росту количества

более крупных молодых форм тромбоцитов и, как следствие, увеличению среднего объема тромбоцитов [117,204,270].

Существуют различные причины возникновения во время беременности тромбоцитопении, при которой общее количество тромбоцитов находится ниже нижнего предела референсного интервала для небеременных (как правило, менее $150 \times 10^9/\text{л}$). Чаще всего (до 75-80% всех тромбоцитопений беременных) у беременных выявляется умеренная тромбоцитопения (случайная, или эссенциальная тромбоцитопения, количество тромбоцитов не менее $70 \times 10^9/\text{л}$) [72]. Она не сопровождается выраженными клиническими симптомами и другими факторами риска. Механизмы, участвующие в развитии такой случайной тромбоцитопении беременных, неизвестны, но установлено, что дети, родившиеся от этих матерей, не подвержены повышенному риску развития тромбоцитопении или кровотечений [63,217].

У беременных женщин с гипертензивными расстройствами самой частой причиной (21%) тромбоцитопении является преэклампсия. Тромбоцитопения может предшествовать началу артериальной гипертензии или возникает в ходе ее клинического проявления; как правило, это умеренная тромбоцитопения, которая довольно быстро исчезает после родоразрешения [147,151].

Аутоиммунная тромбоцитопеническая пурпура – заболевание, которое редко бывает причиной тромбоцитопении во время беременности (3,8% случаев) [138]. При аутоиммунной тромбоцитопенической пурпуре количество тромбоцитов колеблется в диапазоне от менее, чем $10 \times 10^9/\text{л}$ при тяжелых до $100 \times 10^9/\text{л}$ при легких формах заболевания. Диагностика, как правило, основана на исключении других причин тромбоцитопении. Очень трудно отличить тромбоцитопению при легкой форме аутоиммунной тромбоцитопенической пурпуры от случайной тромбоцитопении беременных, если у женщины не проводилось определение количества тромбоцитов до беременности.

Тромбоцитоз (количество тромбоцитов более $600 \times 10^9/\text{л}$) во время беременности встречается относительно редко и, как правило, вызывается

миелопролиферативными расстройствами. Реактивный тромбоцитоз возникает в большинстве случаев в послеродовом периоде, причем число тромбоцитов обычно возвращается к исходному уровню в течение месяца после родов [53]. Тромбоцитоз в послеродовом периоде чаще всего отмечается у женщин, перенесших преэклампсию или кесарево сечение. Очевидно, что тромбоцитоз послеродового периода представляет собой фактор риска тромботических осложнений.

Во время беременности существенно изменяется реология крови и ее коагуляционные свойства, что обусловлено гормональной перестройкой в организме женщины [61,72,210]. Беременность влияет на регуляцию свертывания крови преимущественно за счет повышения уровня эстрогенов, которое приводит к увеличению выработки тромбина и повышению свертывающей способности крови [151]. Риск тромбоза глубоких вен во время беременности в пять раз выше, чем у небеременных женщин; это объясняется увеличением венозного застоя в нижних конечностях и органах малого таза, а также протромботическим изменением баланса между свертывающей и фибринолитической системами [61,134,151]. Считается, что изменение коагуляционных свойств крови необходимо для создания оптимальных условий жизнедеятельности как матери, так и плода, поскольку играют основную роль в поддержании адекватного кровотока в системе мать-плацента-плод и способствуют снижению кровопотери во время родов [23,72].

В современной гемостазиологии существует огромное разнообразие функциональных, морфологических, иммунологических и генетических методик и их модификаций. Однако возникает вопрос о необходимом и достаточном наборе лабораторных тестов, позволяющих адекватно оценить состояние системы гемостаза у беременных женщин с целью предупреждения различных осложнений и их своевременной медикаментозной коррекции. При этом такая диагностика должна быть оперативной, надежной и вместе с тем доступной.

Лабораторные параметры исследования первичного гемостаза включают определение уровня фактора Виллебранда (ФВ) – плазменного кофактора адгезии тромбоцитов и маркера повреждения эндотелия сосудистой стенки, а также определение количества тромбоцитов, времени кровотечения и оценку агрегации тромбоцитов *in vitro* [151]. Стандартный скрининг вторичного гемостаза включает в себя такие показатели, как протромбиновое время (ПВ), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), тромбиновое время (ТВ), уровень фибриногена. Факторы свертывания и регулирующие его белки оцениваются функционально или количественно. О фибринолитической активности судят по уровню продуктов деградации фибрина/фибриногена, прежде всего D-димера. Выполнение в качестве рутинных *in vitro* исследований, используемых для оценки общей фибринолитической активности и количественной оценки тканевого плазминогенного активатора, плазминогена и их ингибиторов, представляет некоторые трудности.

По данным лабораторных исследований гемостазиологических показателей, у здоровых беременных женщин выявляется тенденция к гиперкоагуляции, обусловленная повышением синтеза фактора Виллебранда, V, VII, VIII, IX, X факторов и сопровождаемая ростом уровня фибриногена и активации тромбина [61,196,270].

Из трех белков, регулирующих генерацию тромбина, два (протеин С и антитромбин) не претерпевают значительных изменений концентрации во время беременности [78]. Однако функциональная активность третьего белка – протеина S снижается постоянно, начиная со второго триместра [136,193]. Имеются данные о повышении уровня маркеров активации факторов коагуляции во время беременности. Возрастает концентрация тромбин-антитромбинового комплекса, а также фрагмента F1+2 протромбина; этот фрагмент высвобождается в процессе превращения протромбина в тромбин, и его уровень увеличивается постоянно по мере прогрессирования беременности. Однако нет доказательств того, что повышение концентрации маркеров

активации коагуляции предшествует тромботическим осложнениям у здоровых беременных женщин [59,268].

Было показано, что изменения концентрации факторов свертывания во время беременности сходны с изменениями, которые происходят у женщин, использующих оральные контрацептивы. Тем самым подтверждается связь половых гормонов и гемостаза [189].

Фибринолиз во время беременности подавляется; повышается уровень фибриногена и плазминогена [270]. Также, начиная с ранних сроков беременности, в крови постепенно возрастает уровень D-димера: к концу беременности его значения могут быть в 10 раз выше исходного. Значительно более высокие показатели D-димера отмечаются у женщин с осложнённым течением беременности. D-димер – продукт деградации фибрина, один из наиболее специфичных тестов диагностики ДВС-синдрома, тромбофилии и тромбоза, маркер образования тромбина, формирования фибрина и активации вторичного фибринолиза. Несмотря на ограниченную специфичность теста, оценка уровня D-димера имеет преимущества по сравнению с измерением других маркёров коагуляции и фибринолиза, так как D-димер образуется только при условии, что имеют место оба эти процесса [91,271,274]. Повышение уровня D-димера при нормальной беременности скорее указывает на локализованное отложение фибрина в маточно-плацентарной области, а не на состояние венозного тромбоза или диссеминированного внутрисосудистого свертывания.

Анализ приведенных выше литературных данных показывает, что условием нормального течения беременности являются многочисленные физиологические адаптивные изменения в организме матери, связанные с гормональной перестройкой и повышенной нагрузкой на ряд органов и систем. Четкие представления об этих процессах являются, в свою очередь, условием корректной интерпретации данных лабораторного обследования беременных женщин.

1.2. Особенности течения и исходов беременности, полученной в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий

Первая беременность после экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) у человека была получена в 1976 году, а первое рождение ребенка «из пробирки» произошло в 1978 [304,305]. По данным Международного комитета мониторинга вспомогательных репродуктивных технологий (ICMART), к 2010 году во всем мире уже родилось более пяти миллионов детей в результате использования вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Согласно статистическим данным различных стран, на долю циклов ВРТ приходится от 1 до 3,5% от общего числа родов и от 18 до 20% всех многоплодных беременностей [9,47,119,240].

Современные ВРТ насчитывают более 10 методов, и их число постоянно увеличивается. К наиболее эффективным и популярным относятся: классический метод экстракорпорального оплодотворения с последующим переносом эмбрионов в полость матки (ЭКО и ПЭ); ЭКО с применением интрацитоплазматической инъекции сперматозоида *in vitro* (ИКСИ), используемое при мужском бесплодии; перенос гамет (ГИФТ) в маточные трубы; перенос зигот (ЗИФТ) в маточные трубы; использование донорских половых клеток; криоконсервация эмбрионов. Применение этих методов сочетается с преимплантационной диагностикой наследственных и генетических заболеваний [34,161].

Хорошо известно, что для реализации ВРТ используются различные схемы стимуляции суперовуляции гормональными препаратами (гонадотропинами), цель которой состоит в одновременном получении достаточного числа «зрелых» фолликулов и качественных ооцитов у женщин [34]. Оплодотворение и раннее эмбриональное развитие происходит *in vitro*. Затем осуществляется перенос эмбрионов в полость матки [161].

Сравнительный анализ гормонального профиля физиологического менструального цикла и цикла стимуляции суперовуляции в рамках программы ЭКО и ПЭ убедительно продемонстрировал, что гормональные показатели стимулированных циклов только количественно отличаются от таковых в случае физиологического цикла и четко соответствует реализации основной цели программы ЭКО – одновременному созреванию когорты фолликулов [4,17,32,135]. Характер и степень изменения гормонального профиля определяется числом развивающихся фолликулов и типом использованной схемы стимуляции [161]. Концентрация эстрадиола в крови пациенток в циклах стимуляции суперовуляции увеличивается по разным данным до 8–30 раз в сравнении с таковой в спонтанном цикле, а концентрация прогестерона – до 6–10 раз [32,34].

Несмотря на широкую распространенность и постоянное совершенствование вспомогательных репродуктивных технологий, по-прежнему остается спорным вопрос об адекватной гормональной поддержке после их применения. В литературе представлены различные взгляды как на продолжительность проведения поддержки, так и на спектр применяемых препаратов [13,72,267]. В зависимости от источника данных период введения гормональных препаратов может варьировать от 2 до 12 недель после трансплантации эмбрионов, что не может не оказывать влияния как на процессы имплантации и раннего эмбриогенеза, так и на дальнейшее течение гестационного процесса.

До настоящего времени дискутируется вопрос о течении, исходах и частоте акушерских и перинатальных осложнений беременности, полученной в результате применения ВРТ [34,161,261]. Беременность, полученная в результате реализации программы ЭКО и ПЭ примерно в 20% случаев заканчивается спонтанным абортом, в 5% случаев диагностируется эктопическая беременность, что диктует необходимость мониторинга ранней

беременности при ВРТ с помощью ультразвукового исследования и определения уровня ХГч [161].

Считается, что большинство проблем определяются частотой многоплодия [119,240], причем по мнению некоторых авторов, частота осложнений в этом случае не превышает таковую при спонтанной многоплодной беременности [184,206], в то время как одноплодные беременности после ЭКО связаны с увеличением числа осложнений [119,178,245,261]. Продолжаются дискуссии относительно влияния на перинатальные исходы таких факторов, как возраст пациенток, причины и длительность бесплодия, сопутствующие хронические заболевания, качество спермы, гормональная нагрузка во время стимуляции, качество эмбрионов и лабораторные условия их культивирования, редукция эмбрионов, количество предшествующих попыток ЭКО или комбинация этих и других факторов [30,211,228,261,262]. В последних работах было показано, что частота неблагоприятных исходов беременности у пациенток программы ЭКО и ПЭ прямо пропорциональна частоте и тяжести экстрагенитальной патологии и осложнений, связанных с применением ВРТ. Предполагают, что при использовании мягких схем стимуляции, отсутствии осложнений, обусловленных экзогенной гормональной нагрузкой, возрасте до 35 лет и одноплодной беременности – ее течение и исходы сопоставимы с таковыми при самопроизвольной беременности [3,106,262].

Как уже упоминалось выше, специфика течения беременности у пациенток программы ЭКО обусловлена, с одной стороны, факторами бесплодия, а с другой – массивной гормонотерапией, применяемой в программе стимуляции овуляции и поддержке на ранних сроках беременности [34]. Вполне обоснованным поэтому является мнение об экстремальном влиянии стимуляции суперовуляции на организм женщины. Действительно, показано, что гормональная регуляция и течение беременности, наступившей в результате использования ВРТ, имеют ряд особенностей в сравнении со спонтанной беременностью [34,211].

Таким образом, начало беременности, полученной в результате реализации программы ЭКО и ПЭ, характеризуется гормональным дисбалансом, который обусловлен экзогенной лекарственной нагрузкой, применяемой в протоколе стимуляции овуляции и поддержке на ранних сроках беременности [34]. В результате все начальные процессы адаптации материнского организма и формирование фетоплацентарной системы происходят на фоне нефизиологических концентраций эстрогенов и прогестерона.

Наиболее характерным для подавляющего большинства наблюдаемых пациенток программы ЭКО являются изменения гемостазиограммы, отражающие активацию коагуляционных и фибринолитических систем гемостаза. Многие авторы связывают тромбозмболические осложнения с использованием ВРТ [279,306,324], причем в качестве основной причины развития этих осложнений, как артериальных, так и венозных, рассматривают такое хорошо известное осложнение ВРТ, как синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ) [34,95,333]. Однако точный механизм возникновения «протромботического» состояния при СГЯ пока до конца не изучен [72]; кроме того, имеются данные о развитии тромбозмболии при отсутствии клинических признаков СГЯ [71].

Частота венозных тромбозов в процессе реализации программы ЭКО и ПЭ по разным оценкам составляет 0,08-0,11% всех циклов лечения [71,315]. Величина этого риска аналогична величине риска венозного тромбоза во время беременности [194] и представляет собой по меньшей мере 10-кратное увеличение базового риска венозных тромбозмболических событий у женщин репродуктивного возраста [36].

В сочетании с растущим использованием ВРТ частота этих осложнений, вероятно, тоже может возрастать. При стимуляции яичников отмечается заметное повышение уровня эстрадиола в крови [110], результатом которого является состояние гиперкоагуляции. Предполагается, что воздействие экзогенного эстрадиола в случаях применения контрацепции или гормон-

заместительной терапии, как и повышенный уровень эндогенных эстрогенов во время беременности, связаны с риском развития венозных тромбозов [60,72,224,278].

Исследования системы гемостаза, выполненные в группах пациенток с контролируемой стимуляцией овуляции в программах ЭКО и ПЭ, показали, что при увеличении концентрации эстрадиола в крови возрастают уровни прокоагулянтных факторов (фибриногена, фактора Виллебранда, факторы VIII, V) и количество тромбоцитов, происходит снижение активности антитромбина, протеинов C и S, повышается резистентность к активированному протеину C [97,154,276] и снижается уровень маркеров, способствующих фибринолизу, таких как активатор тканевого плазминогена (tPA), ингибитор активатора плазминогена типа I (PAI-1) [120,176,208]. Все эти изменения свидетельствуют о протромботическом состоянии в течение курса стимуляции яичников. В то же время в других исследованиях было продемонстрировано отсутствие изменений функциональной активности тромбоцитов *in vitro* [105,177] и показателей фибринолиза [175]. При развитии СГЯ происходит ещё более существенная активация как коагуляции, так и фибринолиза [37,163,279,303], особенно если возникают артериальные тромботические осложнения [304]; при этом изменения в системе гемостаза могут сохраняться более трех недель после развития синдрома [303]. Следует отметить, что все эти исследования дают ограниченную информацию о таких причинах коагуляционных изменений, как проведение гормональной поддержки или повышение уровня эндогенных эстрогенов и прогестерона, связанное с наступлением беременности, поскольку наблюдение за пациентами в большинстве случаев было ограничено 2-3 неделями после переноса эмбрионов в полость матки [72]. Нет также данных о том, как долго сохраняются описанные изменения в случае пролонгирования ЭКО-беременности.

Несмотря на последние достижения в вопросах повышения эффективности перинатальных исходов циклов ВРТ, в литературе продолжается обсуждение

повышенного риска акушерских осложнений при индуцированной беременности по сравнению со спонтанной [48,174,182,235,237,243,244]. В качестве основных осложнений рассматриваются преэклампсия, артериальная гипертензия беременных, предлежание плаценты, преждевременные роды, задержка внутриутробного развития плода и т.п. Точная причина различия акушерских исходов индуцированной и самопроизвольной беременности пока неизвестна. В качестве вариантов рассматриваются нарушение процесса плацентации, морфологические и метаболические особенности плаценты [46,171,173,323].

Данные о частоте развития преэклампсии при индуцированной беременности противоречивы [48,238]. Одни исследователи пытаются объяснить повышенный риск развития преэклампсии особенностями используемых методов ВРТ [174], другие – влиянием овариального резерва и ответа яичников на стимуляцию в циклах ЭКО [93,164]. Некоторые авторы обсуждают идею переноса одного эмбриона с целью снижения частоты многоплодной беременности и риска преэклампсии и утверждают, что акушерские исходы одноплодных беременностей, наступивших в результате применения ВРТ или естественным путем, одинаковы [183,255,259].

Преэклампсия – одно из самых тяжелых осложнений беременности, родов и послеродового периода и одна из ведущих причин материнской и перинатальной заболеваемости и смертности – характеризуется гипертензией и протеинурией, развивающимися после 20-й недели беременности [14,57,290]. В случаях тяжелой преэклампсии возникают такие системные нарушения, как поражения почек, печени, сердечно-сосудистой системы, церебральные нарушения и нарушения зрения.

Профилактика и лечение преэклампсии до сих пор остается одной из сложнейших задач акушерства, а ранняя диагностика (до клинических проявлений) является основной ступенью в ее решении. В последние годы идет постоянный поиск скрининговых методов, которые позволили бы

прогнозировать и объяснять риски развития преэклампсии, в том числе и в случае беременности, полученной посредством ВРТ [18,45].

Существует около 30 гипотез о причинах возникновения преэклампсии, но в настоящее время наиболее вероятным представляется предположение о том, что преэклампсия возникает в результате нарушения плацентарного васкулогенеза.

Известно, что процесс формирования плаценты начинается с имплантации клеток фетального происхождения (цитотрофобласта) в децидуальную ткань (модифицированный слой эндометрия беременной матки). Цитотрофобласт не только внедряется в эндометрий (интерстициальная инвазия) и спиральные артерии (эндоваскулярная инвазия), но и доходит до внутренней трети эндометрия. В результате в конце I триместра в маточно-плацентарной области формируется несколько десятков широких, зияющих артерий и начинает активно функционировать маточно-плацентарный кровоток. До его формирования функцию мощного стимула первой волны цитотрофобластной инвазии (ЦТИ) несет местная тканевая гипоксия, характерная для микроокружения эмбриона до 8-10 недели развития. Гипоксический стимул повышает экспрессию специфических молекул клеточной адгезии, стимулирует синтез цитокинов, сосудистых факторов роста [14]. А. Wang и соавт. также связывают преэклампсию именно с нарушением процесса инвазии цитотрофобласта на данном этапе [330].

Следующий этап инвазии цитотрофобласта в глубь миометрия (вторая волна инвазии) приходится на 16-18 неделю беременности. Цитотрофобласт трансформирует более крупные артерии нижней трети миометрия, превращая их в широкие полости. В результате возрастает объем материнской крови, поступающей в плаценту [14].

Выделение двух волн ЦТИ условно, поскольку это непрерывный процесс, который по своему значению представляет собой ключевой механизм развития нормальной беременности либо возникновения преэклампсии.

Утверждение, что преэклампсия начинается с 20-й недели беременности, соответствует лишь времени возникновения широко известных симптомов, в то время как исходные механизмы закладываются и реализуются гораздо раньше в виде дефектов лютеиновой фазы цикла, нарушения имплантации и плацентации, а также фоновых заболеваний матери. Эти и другие факторы являются причиной недостаточности ЦТИ [202].

По данным многих авторов, одним из ведущих звеньев патогенеза преэклампсии является нарушение инвазии трофобласта, что сопровождается усилением клеточной активности, приводящей к формированию очага воспаления в плацентарной области за счет оксидативного стресса [8,14,57,192]. Исследования показали, что в целях компенсации недостатка кровоснабжения плода в плаценте происходит усиление синтеза растворимых ангиогенных и антиангиогенных факторов, поступающих в материнский кровоток, что приводит к системной эндотелиальной дисфункции, развитию артериальной гипертензии и протеинурии беременных [44,114,202].

По мнению большинства исследователей, наиболее высокочувствительными и специфическими маркерами преэклампсии являются маркеры ангиогенеза – плацентарный фактор роста (PlGF) и растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 (sFlt-1) – один из вариантов рецепторов сосудисто-эндотелиального фактора роста [103,108,299]. При нормальном течении беременности уровень проангиогенного фактора PlGF в крови постепенно возрастает к концу второго триместра и затем снижается к моменту родов. И напротив, уровень анти-ангиогенного фактора sFlt-1 остается стабильным в первом и втором триместрах и увеличивается к родам [232]. У женщин с преэклампсией уровни sFlt-1 обычно выше, а уровни PlGF ниже, чем при нормальном течении беременности [80,227]. Увеличение концентрации sFlt-1 и уменьшение концентрации PlGF регистрируется за несколько недель до появления клинических признаков преэклампсии [253]. Было показано, что

уровни PlGF, sFlt-1 могут быть использованы в качестве скрининговых тестов уже в конце I триместра беременности [312].

В последнее время в лабораторную практику начали внедрять определение соотношения sFlt-1/PlGF с целью диагностики и краткосрочного прогнозирования развития преэклампсии у беременных женщин. По данным многих авторов, соотношение уровней sFlt-1 и PlGF оказалось более надежным прогностическим и диагностическим маркером преэклампсии, чем каждый из этих показателей по отдельности [43,82,213,312]. Для выявления риска раннего начала преэклампсии предлагается проведение скрининга с использованием PAPP-A и PlGF первом триместре беременности [256].

Применение ЭКО является признанным фактором риска развития плацентарной дисфункции, однако имеется относительно мало данных о диагностической значимости ангиогенных маркеров сыворотки крови при беременности, полученной в результате реализации программ ВРТ. Было показано, что в случае индуцированной беременности уровень sFlt-1 выше, а уровень PlGF ниже, чем при спонтанной беременности независимо от гестационного срока [45]. Эти изменения были отмечены даже в случае отсутствия признаков плацентарной дисфункции, в том числе преэклампсии и синдрома задержки развития плода, что, по мнению авторов, свидетельствует о необходимости более тщательного наблюдения за течением ЭКО-беременности.

Таким образом, как плацентарный фактор роста, так и растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 становятся важными диагностическими и прогностическими факторами в отношении преэклампсии и других акушерских синдромов. Кроме того, появились исследования, в которых анти-ангиогенные маркеры рассматриваются как часть таргетной терапии для лечения плацентарной дисфункции. Так, было показано, что снижение уровня sFlt-1 в крови с помощью экстракорпорального плазмафереза может играть важную роль в лечении тяжелой преэклампсии [249].

В современной литературе большое количество работ посвящено вопросам пренатального скрининга при беременности, наступившей в результате использования вспомогательных репродуктивных технологий, в частности вопросу диагностической значимости пренатальных биохимических маркеров [127,129,130,219,220,225]. Пациентки программ ВРТ, как правило, имеют больший возраст, чем женщины со спонтанной беременностью, а, следовательно, имеют повышенный риск возникновения хромосомных нарушений у плода (прежде всего синдрома Дауна).

Существующий пренатальный скрининг нацелен на выявление женщин с высоким риском рождения ребенка с хромосомной патологией. Инвазивные тесты (амниоцентез, биопсия хориона) позволяют с высокой точностью диагностировать генетические заболевания, но эти процедуры повышают риск прерывания беременности. Корректная оценка риска в значительной степени зависит от надежности методов определения скрининговых маркеров [130].

За последние 4 десятилетия пренатальный скрининг во многих странах превратился в неотъемлемую часть обязательного обследования беременных женщин [88]. Начиная с 1970-х годов до настоящего момента, пренатальный скрининг эволюционировал от простого определения сывороточного α -фетопротеина (АФП) во втором триместре беременности (16-18 недель) для обнаружения открытых дефектов нервной трубки [216], затем биохимического скрининга второго триместра (тройной тест – ХГч, АФП, эстриол), при котором синдром Дауна диагностировали в 60% случаев с частотой ложноположительных результатов (ЛПР) 5%, – до комплексной биофизической, биохимической и генетической диагностики анеуплоидий в первом триместре [130,322], при которой хромосомная патология выявляется в 90% случаев с частотой ложноположительных результатов 5% путем комбинированной оценки материнского возраста, ультразвуковых маркеров (толщины воротникового пространства) и результатов биохимического скрининга первого триместра (двойной тест – свободная β -субъединица ХГч,

PAPP-A) [172,301]. Совершенствование диагностики в настоящее время происходит по двум основным направлениям: развитие методов определения фетальной ДНК в крови матери, позволяющих выявить субхромосомные анеуплоидии, и разработка скрининговых тестов для прогнозирования неблагоприятных исходов беременности, таких как преэклампсия [88]. Рассматриваются области, в которых пренатальный скрининг возможен, но не был широко распространен, например, диагностика сердечных пороков развития, моногенных заболеваний (синдром хрупкой X-хромосомы), кистозного фиброза, спинальной мышечной атрофии и т.п.

В начале 90-х годов было показано, что использование ВРТ ассоциируется с изменениями уровня биохимических скрининговых маркеров [101,288]. В частности, у беременных женщин во втором триместре отмечались изменения результатов биохимического тройного теста, а именно: повышенные значения ХГч и сниженные значения α -фетопротеина и неконъюгированного эстриола. Однако не было установлено, что являлось причиной этих изменений – факторы бесплодия или применение ВРТ. Совершенствование пренатальной диагностики привело к смещению начальных сроков скрининга с 16-18 до 11-14 недель беременности. При сравнительном анализе результатов скрининга в I триместре были получены противоречивые данные о зависимости уровня биохимических маркеров от способа получения беременности [124,125,129,263,321], а также о частоте хромосомных аномалий плода при использовании ВРТ по сравнению с самопроизвольной беременностью [48,58,235]. Так, большинство исследований показали снижение уровня PAPP-A в сочетании с неизменной концентрацией свободной β -субъединицы ХГч [125,219,260,321], но сообщалось также об её увеличении [129] или даже снижении [131]. В некоторых работах не было обнаружено изменений в значениях материнских сывороточных маркеров при индуцированной беременности по сравнению со спонтанной беременностью [122,124]. Эти противоречивые результаты, вероятно, объясняются небольшими размерами

использованных выборок и отсутствием разделения пациенток на группы в зависимости от метода ВРТ, течения беременности и применения гормонотерапии.

По мере накопления дополнительной информации о сывороточных маркерах широко обсуждается вопрос о внесении поправок в расчеты риска хромосомной патологии в случае ЭКО-беременности для снижения количества ложноположительных результатов [326]. По разным литературным данным число ложноположительных результатов при беременности, наступившей в результате ЭКО и ПЭ, на 1,2–4% выше, чем при спонтанной беременности [129], даже после корректировки расчета – введения в него поправки на материнский возраст [101,125]. Проведены первые исследования, в которых было показано, что применение коррекции для абсолютных значений уровня PAPP-A в сыворотке крови при ЭКО-беременности приводит к значительному снижению ложноположительных результатов – вплоть до значений, сопоставимых с таковыми в общей популяции [131,326]. Были определены поправочные коэффициенты в группах ЭКО-ИКСИ с учетом гормональной терапии. Случаи с неблагоприятным исходом беременности (артериальная гипертензия, внутриутробная задержка роста плода, внутриутробная гибель плода, преждевременные роды (<37 недель), диабет) были исключены из-за корреляции этих осложнений с низким PAPP-A [207], поскольку было показано, что уровень PAPP-A достоверно ниже у пациенток программ ВРТ, имевших акушерские осложнения, чем у пациенток с нормальным исходом беременности. Так же были получены данные, что значения PAPP-A при осложненной беременности после ВРТ и осложненной самопроизвольной беременности сопоставимы [260]. Таким образом, при интерпретации результатов пренатального скрининга у пациенток программ ВТР следует учитывать диагностическую значимость полученных данных как маркеров будущих акушерских осложнений [123,126,127,128,326]. Отметим, что авторы

предлагают каждому скрининг-центру вычислять собственные поправочные коэффициенты применительно к конкретной популяции пациенток.

Патогенетический механизм снижения уровня РАРР-А в случае индуцированной беременности по сравнению со спонтанной остается неясным. Возможно, данное изменение обусловлено эндокринными взаимодействиями между желтым телом, эндометрием, плацентой и эмбрионом на ранних сроках беременности. Предполагается, что ингибин А, секретируемый желтым телом, ингибирует секрецию РАРР-А [321]. Таким образом, стимуляция яичников может играть важную роль в биологическом каскаде, приводящем к снижению уровня РАРР-А. Было также высказано предположение, что относительно низкие значения РАРР-А могут быть результатом метаболических нарушений, связанных с бесплодием у матери [219].

Несмотря на то, что в настоящее время основную роль в пренатальной диагностике играет скрининг I триместра, определение биохимических маркеров материнской сыворотки во II триместре (тройной тест: ХГч, АФП, эстриол) остается актуальным для пациенток, которые по каким-то причинам не смогли пройти первый скрининг на хромосомные патологии. Используемые сывороточные маркеры не являются специфичными для синдрома Дауна, поскольку не все случаи этого заболевания у плода сопровождаются отклонениями уровней маркеров. Вероятность выявления синдрома Дауна во втором триместре обычно не превышает 60-75% [329]. Кроме того, изменения перечисленных маркеров часто наблюдаются при других патологических состояниях плода и сопутствующей акушерской патологии у матери (грубые пороки развития плода, угроза прерывания беременности, фетоплацентарная недостаточность, синдром задержки развития плода и т.п.) [16,26].

В последнее время большое внимание уделяется поиску дополнительных маркеров для повышения результативности пренатального скрининга. В литературе имеются данные о диагностической значимости таких маркеров, как ингибин А, гипергликозилированный ХГч, плацентарный фактор роста

[65,123,219,220]. Рассматривается вопрос о введении тестов, которые позволили ли бы объединить оба скрининга (I и II триместров) с возможностью единой оценки риска [65].

Выше уже говорилось о необходимости коррекции расчета риска с целью снижения частоты получения ложноположительных результатов скрининга, проводимого в I триместре ВРТ-беременности. Та же проблема возникает и по мере накопления дополнительной информации о сывороточных маркерах скрининга второго триместра [284]. Высокий процент ложноположительных результатов во втором триместре индуцированной беременности (от 10 до 33% по данным ряда авторов) может быть связан с такими факторами, как возраст супружеских пар, особенности течения беременности и возможная акушерская патология [219]. По данным скрининга второго триместра, у пациенток программы ВРТ выявляются относительно высокие уровни ХГЧ и АФП [214,218,287], причем было показано, что повышенный уровень ХГЧ в сыворотке крови и в амниотической жидкости может определяться даже при отсутствии какой-либо патологии со стороны матери или плода [42]. Снижение частоты ложноположительных результатов имеет важное клиническое значение, поскольку оно сокращает количество инвазивных процедур по фетальному кариотипированию, а соответственно, и связанные с процедурами акушерские потери, особенно в случаях индуцированной беременности [125].

В целом, ни одна из комбинаций сывороточных маркеров, используемая для диагностики врожденной и наследственной патологии плода не является абсолютно специфичной и чувствительной, поскольку на концентрацию маркеров могут влиять гормональные препараты, применяемые для сохранения беременности, возраст супругов, особенности течения гестационного процесса и ряд других факторов.

Изложенный выше материал делает очевидной необходимость дальнейших исследований для уточнения различий в функционировании адаптационных механизмов в зависимости от способа достижения беременности и оценки

влияния этих механизмов на результаты лабораторного мониторинга в динамике гестационного процесса.

1.3.Лабораторный мониторинг беременности и современная концепция референсных интервалов

Лабораторная медицина является фундаментальным компонентом диагностики в области акушерства и перинатологии. Различные лабораторные тесты используются для постановки диагноза, скрининга, мониторинга течения беременности и состояния плода [151]. Физиологические и метаболические изменения во время беременности, как было показано в предыдущих разделах, возникают как следствие гормональной перестройки и отражаются на результатах многих биохимических, гормональных, гематологических лабораторных тестов. Оценка этих результатов требует использования адекватных референсных интервалов – в противном случае существует вероятность того, что окажутся пропущенными значимые изменения или же значения определяемых показателей будут неправильно интерпретированы как проявление патологического процесса.

В статье A.J.Schneider, изданной в 1960 году под заголовком «Некоторые размышления о нормальных или стандартных значениях в клинической медицине», автор утверждает, что «...практическая медицина в основном основана на сравнении. Если медицина должна быть научной, мы должны не только понимать структурные, функциональные и химические отношения, действующие в отдельно взятом организме, но мы также должны понимать основы сравнения» [283].

Сегодня, почти 50 лет спустя, в эпоху доказательной медицины, несмотря на огромный скачок в развитии медицины, в клинической лаборатории часто недостает прочной теоретической основы для этих сравнений. По мнению Horn и Pesce «референсный интервал является наиболее широко используемым

инструментом для принятия решений в медицинской сфере, даже если его практическая значимость ниже теоретической» [160]. Это связано с тем, что получение «хорошего» референсного интервала является результатом очень кропотливой работы с точки зрения временных, финансовых и умственных затрат. Лабораторные референсные интервалы по своей сущности – методические рекомендации, которые в сочетании с другими клинико-диагностическими данными позволяют определить клинический статус пациента.

В ранних публикациях, посвященных проблеме референсных интервалов для специфических аналитов, была сделана попытка определить концепцию «нормы». Е.К.Harris и J.C.Boyd в своей книге «Статистические основы референсных значений в лабораторной медицине» [152] описывают публикацию I.Wotton et al., вышедшую в 1951 году [335], как начало использования распределения вероятностей для оценки результатов исследования у потенциально здоровых пациентов. Авторы утверждали, что большинство распределений для 18-ти исследованных аналитов подчинялись Гауссовому (нормальному) распределению. Однако, данные расчеты вероятности не были использованы для установления верхней и нижней границы нормативного интервала.

По мере накопления все большего количества информации относительно «нормальных» значений становилось очевидным, что существуют различия в понятии «норма» среди разных групп объектов. Тот факт, что нормальные значения автоматически связывают с Гауссовым распределением, – не единственный недостаток концепции «нормы». Определение «нормальный» имеет много значений, зачастую взаимоисключающих. В контексте физических или лабораторных измерений, «нормальный» может означать «средний», «без заболевания» или «в пределах определенного статистического диапазона» [142]. Однако, важно корректно определить «нормальные» значения, характерные для конкретной популяции, прежде, чем с ними будет

сравниваться индивидуальный результат теста. Многие лаборатории сейчас предоставляют контрольные диапазоны (референсные интервалы) в своих результатах исследований и выделяют значения, которые выходят за пределы этих интервалов, как «ненормальные» [69].

Концепция референсных значений была предложена R.Grasbeck и N-E. Saris на Конгрессе клинической лабораторной медицины в 1969 году [142]. В этот период клиническая лабораторная диагностика переживала бурное развитие, появилась возможность легко измерять большое количество лабораторных показателей с хорошей воспроизводимостью. Исследователи высказали предположение, что концепция нормальных значений несовершенна с научной точки зрения и что в данной области не хватает четко определенной номенклатуры, а также рекомендаций относительно методики их установления. Это мнение получило поддержку, и было принято решение о целесообразности использования референсных значений как критерия оценки клинических лабораторных показателей. Для того чтобы обеспечить внедрение этой новой концепции в практику, Скандинавским обществом клинической химии и клинической патологии (SSCC) был создан Комитет, а Международной Федерацией клинической химии (IFCC) – сформирована группа экспертов. В настоящее время две организации, Международная Федерация клинической химии (IFCC) и Институт клинических и лабораторных стандартов (CLSI) предоставляют методические рекомендации по определению референсных интервалов [295,297,298,311].

Термин «референсные значения» был выбран для того, чтобы избежать неопределенности и неоднозначности понятия «нормальный». T.Alstrom показал, что в статье Murphy E. и Abbey H., изданной в 1967 году и посвященной этой проблеме, представлено по крайней мере семь различных значений данного понятия [41,229], а Sunderman F.W. в своем обзоре четко показал всю необходимость использования термина «референсные значения» [308]. Основная задача Международной Федерации клинической химии и

Института клинических и лабораторных стандартов состояла в определении основной терминологии в данной области [160]. Для диагностического теста в клинической химии было выделено пять основных категорий технических характеристик, необходимых для формирования референсного интервала [308]:

1. Референсная популяция и способ ее формирования (например, пол, возраст, масса тела, рост; этническая принадлежность, географическое положение, критерии включения или исключения);

2. Физиологические условия (внешние и внутренние факторы), при которых были получены образцы (например, сезонность, стресс, физическая нагрузка, прием лекарств, питание, употребление алкоголя и кофеина, курение, эндокринный и репродуктивный статус, беременность, прием оральных контрацептивов);

3. Способы и время получения, транспортировки, подготовки и хранения образцов (например, артериальная, капиллярная или венозная кровь, использование жгута, антикоагулянтов или консервантов, время сбора образцов, условия транспортировки образцов, температура и продолжительность их хранения, частота замораживания и оттаивания; наличие гемолиза);

4. Характеристики используемого аналитического метода, данные о точности, чувствительности и специфичности, используемом оборудовании;

5. Установленный набор данных и референсные интервалы, которые были получены (например, 95% доверительный интервал (2,5 - 97,5 перцентиль), используемый статистический метод и т.п.).

В период с 1979 по 1987 год Международной Федерацией клинической химии были разработаны первые шесть основополагающих документов, касающихся теоретической и методической основы определения референсных интервалов [102,247,293,294,295,296], которые Институт клинических и лабораторных стандартов использовал в составлении методических рекомендаций [94,311].

Концепцию референсных значений, или систему понятий о них можно сформулировать как установление и использование релевантных (адекватных) данных для интерпретации медицинских наблюдений. Еще несколько лет назад обычный врач дал бы приблизительно такое определение значениям нормы: значения лабораторного показателя в промежутке $X \pm 2SD$ (где X - среднее значение, SD - стандартное отклонение, рассчитанные при определении этого показателя в ряде образцов, полученных у практически здоровых людей). Возможно, был бы использован термин «диапазон нормы». Считалось также, что близкие к границе значения не обязательно патологичны.

В последнем обновлении методических рекомендаций от 2008 года Института клинических и лабораторных стандартов [94] регламентируются правила получения референсных интервалов: анализ как минимум 120 образцов из референсной популяции с расчетом интервалов непараметрическими статистическими методами (получение 95% доверительного интервала), предоставление возможности каждой отдельной лаборатории подтверждать (валидировать) референсные интервалы, установленные в другом учреждении, в соответствии с используемым оборудованием, методами и обследуемой популяцией путем анализа всего лишь 20 образцов с условием, если не более 2 результатов выходят за границы данных референсных интервалов [94,298,311].

Как правило, референсные интервалы для многих лабораторных параметров относятся к популяции здоровых мужчин и здоровых небеременных женщин. Однако во время беременности претерпевают изменения многие биологические маркеры, поэтому интерпретация результатов лабораторного обследования, основанная на таких референсных значениях, должна проводиться с большой осторожностью, поскольку может привести к неправильной трактовке и необоснованному лечению [151,270]. Кроме того, внедрение новых лабораторных методов, разнообразие применяемых методик определения и производимая в последнее время переоценка «нормальных

значений» требуют периодической коррекции референсных интервалов [214, 222].

Большое количество публикаций посвящено теме референсных интервалов при беременности [151,165,198,275]. На основе этих исследований создаются базы данных референсных значений наиболее общих лабораторных параметров, используемых при обследовании беременных женщин [270].

Так, А. Larsson с соавт. провели продольное исследование наиболее часто используемых лабораторных тестов в группе, состоящей из 52 женщин с неосложненной беременностью на сроках 7-17, 17-24, 24- 28, 28-31, 31-34 и 34-38 недель гестации. Референсные интервалы (2,5 и 97,5 процентиля) для определяемых показателей - АЛТ, альбумина, щелочной фосфатазы, амилазы, аполипопротеина А1, аполипопротеина В, АСТ, билирубина, кальция, хлоридов, креатинина, цистатина С, ферритина, ГГТ, железа, лактатдегидрогеназы, магния, фосфора, калия, натрия, трансферрина, триглицеридов, тиреотропного гормона, мочевой кислоты и мочевины - были вычислены согласно рекомендациям Международной Федерации клинической химии по статистической обработке референсных значений. Авторы пришли к заключению, что большинство лабораторных параметров изменяется во время нормальной беременности и при оценке результатов лабораторных исследований беременных необходимо использовать референсные интервалы, разработанные для данной группы пациентов [275].

А. Klajnbard с соавт. установили референсные интервалы для 36 лабораторных показателей (32 биохимических, 13 гематологических, 10 гормональных и 3 показателей гемостаза) на 13-20, 21-28, 29-34, 35-42 неделях беременности, во время родов, и на 1 и 2 послеродовые дни. Изменения были выявлены в большинстве тестов, что указывало на необходимость использования специальных гестационных референсных значений. При этом некоторые из определяемых показателей при беременности практически не

изменялись, что давало возможность использовать при их оценке референсные значения для небеременных женщин [191].

Также в публикациях различных авторов приводятся данные гематологических [272,319], гемостазиологических [196,273,320], гормональных и биохимических исследований [201,233] с расчетом специфических референсных интервалов у беременных. Результаты каждого исследования имеют свои ограничения, но все авторы приходят к выводу, что интерпретация результатов лабораторного обследования беременных должна проводиться с осторожностью, а именно с использованием специфических референсных интервалов.

Отмечается, что при составлении референсных диапазонов лабораторных показателей в динамике гестационного процесса должны быть учтены демографические и географические условия проживания конкретной популяции. Кроме того, следует учитывать, что референсные значения не являются величиной постоянной и требуют постоянного обновления как в связи расширением и совершенствованием лабораторных методов, так и в связи с социальными, демографическими и климатическими изменениями [94].

Еще один аспект проблемы референсных значений для беременных связан с широким развитием вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и увеличением процента беременностей, полученных в результате реализации программы экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов в полость матки (ЭКО и ПЭ). Как было описано в предыдущем разделе обзора литературы, гормональная регуляция и течение беременности, наступившей в результате использования ВРТ, имеют ряд особенностей по сравнению со спонтанной беременностью [34]. Кроме того, течение беременности, наступившей в результате программы ЭКО и ПЭ, может сопровождаться повышенной частотой развития осложнений беременности и родов [185]. Однако вопрос о необходимости корректировки референсных диапазонов

показателей лабораторного обследования у данной группы пациенток остается открытым.

Таким образом, анализ литературы показал, что мониторинг развивающейся беременности, необходимость своевременной диагностики возникающих в ходе гестационного процесса нарушений (патологий) требуют четких представлений о референсных значениях лабораторных показателей у данной группы пациентов. Также этот анализ свидетельствует о множественных пробелах и ряде дискуссионных вопросов, препятствующих формулировке современного представления о клинико-лабораторных особенностях течения беременности в зависимости от способа её получения.

Проведенный обзор литературы позволил сформулировать цель и задачи настоящего диссертационного исследования.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая клиническая характеристика пациенток и распределение их по группам

Исследование выполняли на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России в период с 2010 по 2016 гг. Лабораторные исследования проводили в клинико-диагностической лаборатории Центра.

Материалом для исследования служили образцы венозной крови, полученные у 178 беременных женщин, проходивших обследование по поводу бесплодия и получавших лечение по программе ЭКО и ПЭ.

В качестве контроля использовали результаты лабораторного обследования 634 здоровых беременных женщин, наблюдавшихся в Центре.

Критерии включения:

- Возраст беременных от 20 до 40 лет;
- Одноплодная беременность;
- Для пациенток программы ЭКО и ПЭ: причина бесплодия – трубно-перитонеальный фактор бесплодия, проведение переноса эмбрионов в цикле стимуляции (нативном цикле);
- Благополучное течение и исход беременности, отсутствие осложнений в раннем послеродовом периоде.

Критерии исключения:

- Многоплодная беременность;
- Наличие тяжелой экстрагенитальной патологии, кровотечений или тромботических осложнений в анамнезе;
- Артериальная гипертензия, протеинурия, преэклампсия в анамнезе;

- Острые инфекционные и воспалительные заболевания во время беременности.

Данная работа представляет собой ретроспективное когортное исследование, в котором сравнивались данные, полученные у пациенток с беременностью, наступившей в результате использования ВРТ, и у пациенток с самопроизвольной неосложненной беременностью.

Для получения референсных интервалов для гормональных, биохимических, гематологических и гемостазиологических лабораторных показателей в зависимости от срока физиологической неосложненной беременности были обследованы 634 пациентки, у которых зачатие произошло естественным путем (табл. 2.1). Контрольную группу составили 174 здоровых небеременных женщины активного репродуктивного возраста с регулярным менструальным циклом.

В основную группу вошли 178 пациенток, которые были успешно пролечены по программе ЭКО и ПЭ по поводу трубно-перитонеального фактора бесплодия (табл. 2.1). Длительность бесплодия у пациенток данной группы составила от двух до шести лет. Противопоказаний к наступлению беременности и родам выявлено не было. Все циклы ЭКО проводились по стандартным протоколам с агонистами или антагонистами ГнРГ. В исследование были включены только пациентки, у которых беременность наступила в результате переноса эмбрионов в цикле стимуляции (в нативном цикле). Беременности, наступившие в результате крио-переноса, не включались в исследование. Группу сравнения составили 70 небеременных женщин с длительным бесплодием, обследованных перед вступлением в программу ВРТ.

Все женщины родили здоровых доношенных детей с оценкой по шкале Апгар 8-9 баллов на сроке 37-40 недель. Ранний неонатальный период у всех детей протекал без осложнений.

Таблица 2.1

Клиническая характеристика обследованных групп (среднее $\pm$ SD)

Обследованная группа	Возраст матери (годы)	Вес матери (кг)	Срок родов (недели)	Вес ребенка (граммы)	Рост ребенка (см)
Спонтанная беременность (n=634)	29,9 $\pm$ 4,7	61,3 $\pm$ 14,9	39,4 $\pm$ 0,9	3417 $\pm$ 397	51,6 $\pm$ 1,3
Беременность после ЭКО и ПЭ (n=178)	34,0 $\pm$ 4,1*	65,2 $\pm$ 12,4	38,7 $\pm$ 1,0	3275 $\pm$ 323	51,0 $\pm$ 1,7

*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью

Для решения поставленных в диссертационной работе 1, 3 и 4-й задач были сформированы подгруппы в зависимости от гестационного срока. У каждой пациентки в течение беременности были получены от 1 до 3 образцов венозной крови (табл. 2.2, 2.3)

Таблица 2.2

Количество образцов, полученных в контрольной группе, а также у здоровых беременных женщин при проведении гематологических, коагулологических и биохимических исследований в течение беременности

Группа (подгруппа)	Гематологические исследования	Коагулологические исследования	Биохимические исследования
Небеременные женщины (контроль, n=174)	174	125	132
Беременные (n=634):			
Всего образцов	1140	828	894
Подгруппа I (4-8 недель)	168	138	126
Подгруппа II (9-13 недель)	123	139	125
Подгруппа III (14-20 недель)	179	129	172
Подгруппа IV (21-27 недель)	205	140	136
Подгруппа V (28-34 недели)	288	145	203
Подгруппа VI (35-40 недель)	177	137	132

Таблица 2.3

Количество образцов, полученных в группе сравнения и у пациенток с ЭКО-беременностью при проведении гематологических, коагулологических и биохимических исследований

Группа (подгруппа)	Гематологические исследования	Коагулологические исследования	Биохимические исследования
Небеременные женщины (группа сравнения, n=70)	52	70	49
Беременные (n=178):			
Всего образцов	307	293	276
Подгруппа I (4-8 недель)	58	68	42
Подгруппа II (9-13 недель)	51	73	58
Подгруппа III (14-20 недель)	47	31	44
Подгруппа IV (21-27 недель)	58	36	56
Подгруппа V (28-34 недели)	44	44	40
Подгруппа VI (35-40 недель)	49	41	36

Для решения задачи 2 обследуемые пациентки в процессе пренатального скрининга I и II триместра были разделены на три и четыре подгруппы, соответственно, в зависимости от срока проведения скрининга (табл. 2.4, 2.5).

Таблица 2.4

Распределение пациенток на подгруппы в зависимости от срока проведения биохимического скрининга I триместра физиологической и ЭКО-беременности

Обследованная группа	Срок беременности (недели)		
	11	12	13
Спонтанная беременность (n=634)	163	349	122
Беременность после ЭКО и ПЭ (n=178)	62	82	34

Таблица 2.5

Распределение пациенток на подгруппы в зависимости от срока проведения биохимического скрининга II триместра физиологической и ЭКО-беременности

Обследованная группа	Срок беременности (недели)			
	17	18	19	20
Спонтанная беременность (n=349)	85	91	79	94
Беременность после ЭКО и ПЭ (n=127)	22	49	35	21

Для решения задачи 5 были исследованы образцы венозной крови, полученные у 458 беременных. Из них в группу для формирования референсных интервалов ангиогенных маркеров преэклампсии были отобраны 374 беременные женщины с физиологическим течением беременности.

Для уточнения диагностической значимости плацентарного фактора роста, растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 и значения их соотношения при различной степени тяжести преэклампсии было обследовано 148 пациенток (основная группа) со спонтанной беременностью, осложнившейся преэклампсией различной степени тяжести (с умеренной – 56 пациенток, с тяжелой – 92) и развившейся с 20 по 40 неделю гестации. Диагноз «преэклампсия» был установлен на основании общепринятых критериев – гипертензия (давление $\geq 140/90$) и протеинурия (содержание белка в суточной моче выше 0,3 г) [14]. Степень тяжести преэклампсии оценивали на основании объективных показателей и клинического состояния пациентки. В группу пациенток с умеренной преэклампсией вошли беременные с артериальным давлением 140-160/90 и протеинурией более 0,3 г, но менее 2 г/сут. В группу с тяжелой преэклампсией – беременные с артериальным давлением 160/110 и выше и протеинурией более 2 г/сут.

Для сравнительного анализа маркеров преэклампсии при физиологической беременности и беременности после ВРТ в качестве контроля в данной части исследования было обследовано 25 пациенток с неосложненной беременностью после ЭКО и ПЭ на сроке 20-38 недель гестации.

2.2. Лабораторные методы исследования

Для проведения исследований кровь получали из локтевой вены, использовались образцы цельной венозной крови, сыворотки и плазмы, а также аликвоты образцов сыворотки и плазмы, хранившихся при -20°C .

Для гормональных, биохимических исследований, пренатального скрининга, исследования маркеров преэклампсии взятие крови осуществляли утром, натощак из периферической вены с помощью закрытых систем для взятия венозной крови «S-Monovette®» (SARSTEDT, Германия) с активатором образования сгустка. Для исследований использовали сыворотку, полученную путем центрифугирования при 3000 об/мин не менее 10 минут на центрифуге Eppendorf 5804 (Германия). Центрифугирование проводили не позднее, чем через 1 час после взятия крови.

Для проведения гематологических исследований взятие крови осуществляли утром, натощак из периферической вены с помощью закрытых систем для взятия венозной крови «S-Monovette®» (Sarstedt, Германия) для гематологических исследований с антикоагулянтом К₃ЭДТА. Во избежание возможного свертывания кровь в пробирке сразу после взятия тщательно перемешивали путем многократного покачивания.

Для исследования системы гемостаза взятие крови осуществляли утром, натощак, из периферической вены с помощью закрытых систем «S-Monovette®» (SARSTEDT, Германия), предназначенных для взятия венозной крови для коагулологических тестов и содержащих в качестве антикоагулянта цитрат натрия (3,2%) в соотношении 1:9. Во избежание возможного свертывания кровь в пробирке сразу после взятия тщательно перемешивали путем многократного покачивания. Следует отметить, что, в соответствии с правилами преаналитики [281], первую порцию крови никогда не использовали для коагулологических исследований, так как содержащийся в ней тканевой фактор мог повлиять на получаемые результаты. Цитратную плазму, бедную тромбоцитами, получали путем центрифугирования в течение 15 мин при 3000 об/мин на центрифуге Eppendorf 5804 (Германия). Центрифугирование проводили не позднее, чем через 1 час после взятия крови, так как при длительном хранении образцов цельной цитратной крови может наблюдаться гемолиз. Учитывая относительную нестабильность отдельных факторов

свертывания в образце цитратной плазмы, все коагулологические исследования выполняли в течение 4 часов после взятия крови, чтобы избежать искажения результатов скрининговых тестов. При необходимости дополнительных исследований отбирали аликвоты образцов плазмы и сохраняли их при -20°C .

В работе были использованы следующие лабораторные методы: метод проточной цитофлюориметрии для гематологических исследований, иммунохемилюминесцентный метод, метод прямых высокоспецифичных иммунофлюоресцентных измерений в гомогенной фазе и иммуноферментный метод для гормональных исследований, спектрофотометрические и турбидиметрические методы для биохимических исследований, клоттинговый, хромогенный и иммунотурбидиметрический методы для коагулологических тестов.

2.2.1. Гормональные исследования

Все гормональные исследования выполнялись в сыворотке крови электрохемилюминесцентным методом на автоматическом иммунохимическом анализаторе «Cobas e411» (Roche Diagnostics GmbH, Германия).

Количественное определение **хорионического гонадотропина** человека (ХГч) проводили с помощью электрохемилюминесцентного иммунотеста (ECLIA) с использованием коммерческих наборов «HCG STAT» (Roche Diagnostics GmbH, Германия), специально предназначенных для диагностики и мониторинга беременности. Принцип метода состоял во взаимодействии антигена ХГч исследуемого образца, биотинилированных моноклональных ХГч-специфичных антител и моноклональных свободных ХГч-специфичных антител, меченых рутениевым комплексом, с формированием сэндвич-комплекса (принцип «сэндвича»). После добавления микрочастиц, покрытых стрептавидином, образовавшийся комплекс связывался с твердой фазой посредством взаимодействия биотина и стрептавидина. Микрочастицы оседали

на поверхность электрода в результате магнитного взаимодействия, и хемилюминесцентная эмиссия измерялась фотоумножителем. Диапазон измерений определялся по значению нижнего предела обнаружения и максимальному значению референсной калибровочной кривой и составлял 0,5-10000 МЕ/л. Значения ниже предела обнаружения отображались как <0,5 МЕ/л. Значения выше предела измерений отображались как >10000 МЕ/л (или до 1000000 МЕ/л для образцов с 100-кратным разведением).

Количественное определение **эстрадиола** (E_2) проводили с помощью электрохемилюминесцентного иммунотеста (ECLIA) с использованием коммерческих наборов «Estradiol II» (Roche Diagnostics GmbH, Германия). Принцип метода состоял в конкурентном связывании эндогенного эстрадиола, выделенного из образца с помощью местеролонa, и добавленной производной эстрадиола, меченой рутениевым комплексом, с биотинилированными антителами. 17β -эстрадиол исследуемого образца связывался с эстрадиол-специфичным биотинилированным антителом с формированием иммунокомплексов, количество которых зависело от концентрации аналита в образце. После добавления микрочастиц, покрытых стрептавидином, и производной эстрадиола, меченой рутениевым комплексом, свободные участки биотинилированных антител вступали в реакцию с формированием комплекса, который связывался с твердой фазой посредством взаимодействия биотина и стрептавидина. Микрочастицы оседали на поверхность электрода в результате магнитного взаимодействия, и хемилюминесцентная эмиссия измерялась фотоумножителем. Диапазон измерений определялся по значению нижнего предела обнаружения и максимальному значению референсной калибровочной кривой и составлял 18,4-15781 пмоль/л (5,00-4300 пг/мл). Значения ниже предела обнаружения отображались как <18,4 пмоль/л или <5,00 пг/мл. Значения выше предела измерений отображались как >15781 пмоль/л или >4300 пг/мл (или до 78905 пмоль/л и 21500 пг/мл для образцов с 5-ти кратным

разведением). Коэффициенты пересчета: $\text{пмоль/л} \times 0,273 = \text{пг/мл (нг/л)}$, $\text{пг/мл} \times 3,67 = \text{пмоль/л}$.

Количественное определение **прогестерона (P)** проводили с помощью электрохемилюминесцентного иммунотеста (ECLIA) с использованием коммерческих наборов «Progesterone II» (Roche Diagnostics GmbH, Германия). Принцип метода состоял в конкурентном связывании прогестерона, выделенного из образца с помощью даназола, и добавленной производной прогестерона, меченой рутениевым комплексом, с биотинилированными антителами. После добавления микрочастиц, покрытых стрептавидином, образовавшийся комплекс связывался с твердой фазой посредством взаимодействия биотина и стрептавида. Количество помеченных производных прогестерона, связанных с твердой фазой, было обратно пропорционально содержанию прогестерона в образце. Микрочастицы оседали на поверхность электрода в результате магнитного взаимодействия, и хемилюминесцентная эмиссия измерялась фотоумножителем. Диапазон измерений определялся по значению нижнего предела обнаружения и максимальному значению референсной калибровочной кривой и составлял 0,095-191 нмоль/л или 0,030-60,0 нг/мл. Значения ниже предела обнаружения отображались как $<0,095$ нмоль/л или $<0,030$ нг/мл. Значения выше предела измерений отображались как >191 нмоль/л или $>60,0$ нг/мл. Коэффициенты пересчета: $\text{нмоль/л} \times 0,314 = \text{нг/мл (мкг/л)}$, $\text{нг/мл} \times 3,18 = \text{нмоль/л}$.

2.2.2. Определение биохимических маркеров пренатального скрининга I триместра

Количественное определение **свободной β -субъединицы ХГч** (свободная β -ХГч) в сыворотке крови проводили методом флуоресцентного иммунного анализа «с разрешением по времени» с использованием коммерческих наборов «DELFIAXpress Free hCG β » на автоматическом анализаторе

«DELFIAXpress» (PerkinElmer Inc., Финляндия). Исследование представило собой твердофазный иммунофлюоресцентный двухсайтный анализ, основанный на прямой многослойной («сэндвич») методике с использованием двух моноклональных антител к молекуле свободной β -субъединицы ХГч. Свободная β -субъединица ХГч исследуемого образца взаимодействует с иммобилизованными на твердой фазе β -ХГч-специфичными моноклональными антителами и с мечеными европием моноклональными антителами. Меченые и иммобилизованные антитела связывались с разными по типу антигенными участками (сайтами) свободной β -субъединицы ХГч. После диссоциации ионов европия из меченых антител в раствор, где они образовывали высокофлюоресцентные хелаты, оценивали степень флюоресценции европия, которая была пропорциональна концентрации свободной β -субъединицы ХГч в пробе [111,292,318]. Диапазон измерений определялся по значению нижнего предела обнаружения и максимальному значению калибровочной кривой и составлял 0,3 – 200 нг/мл.

Определение ассоциированного с беременностью плазменного протеина А (PAPP-A) проводили также с помощью флюоресцентного иммунного анализа «с разрешением по времени» с использованием коммерческих наборов «DELFIAXpress PAPP-A» на автоматическом анализаторе «DELFIAXpress» (PerkinElmer Inc., Финляндия). Исследование представляло собой твердофазный иммунофлюоресцентный двухсайтный количественный анализ, основанный на прямой многослойной («сэндвич») методике с использованием двух моноклональных антител к молекуле PAPP-A. Ассоциированный с беременностью плазменный протеин исследуемого образца взаимодействовал с иммобилизованными на твердой фазе специфическими моноклональными антителами и с мечеными европием моноклональными антителами. Меченые и иммобилизованные антитела связывались с разными по типу антигенными участками (сайтами) PAPP-A. После диссоциации ионов европия из меченых антител в раствор, где они образовывали

высокофлюоресцентные хелаты, оценивали степень флюоресценции европия, которая была пропорциональна концентрации плазменного протеина А в пробе [99,111,292]. Диапазон измерений определялся по значению нижнего предела обнаружения и максимальному значению калибровочной кривой и составлял 15– 10000 мЕд/мл.

Определение **плацентарного фактора роста (PlGF)** проводили с помощью флюоресцентного иммунного анализа «с разрешением по времени» на автоматическом анализаторе «DELFIA®Xpress» (PerkinElmer Inc., Финляндия) с использованием коммерческих наборов «DELFIA®Xpress PlGF kit», предназначенных для измерения преимущественно свободной формы PlGF. Исследование представляло собой твердофазный иммунофлюоресцентный двухсайтнй количественный анализ, основанный на прямой многослойной («сэндвич») методике с использованием двух моноклональных антител к молекуле плацентарного фактора роста. Плацентарный фактор роста исследуемого образца взаимодействовал с иммобилизованными на твердой фазе специфическими моноклональными антителами и с мечеными европием моноклональными антителами. Меченые и иммобилизованные антитела связывались с разными по типу антигенными участками (сайтами) PlGF. После диссоциации ионов европия из меченых антител в раствор, где они образовывали высокофлюоресцентные хелаты, оценивали степень флюоресценции европия, которая была пропорциональна концентрации плацентарного фактора роста в пробе [111,292,318]. Диапазон измерений определялся по значению нижнего предела обнаружения и максимальному значению калибровочной кривой и составлял 7,0 – 4000 пг/мл.

Поскольку абсолютные значения содержания белка (ХГч, PAPP-A и PlGF) могут зависеть от используемых тест-систем и региона страны, общепринятым обозначением для отклонения уровня маркера от нормы стала кратность медиане – MoM (multiples of median). Медиана – величина, лежащая посередине в ряду расположенных по возрастанию значений концентрации белка при

данном сроке беременности, другое название медианы – 50-я персентиль. Уровень маркера в МоМ рассчитывался путем деления измеренной величины маркера на медиану для данного срока беременности [25].

2.2.3 Определение биохимических маркеров пренатального скрининга II триместра

Количественное определение **хорионического гонадотропина** человека (ХГч) проводили с помощью электрохемилюминесцентного иммунотеста (ECLIA) с использованием коммерческих наборов «HCG STAT» (Roche Diagnostics GmbH, Германия), специально предназначенных для диагностики и мониторинга беременности. Принцип метода описан в разделе «2.2.1. Гормональные исследования».

Количественное определение **α 1-фетопротеина (АФП)** проводили с помощью электрохемилюминесцентного иммунотеста (ECLIA) с использованием коммерческих наборов «AFP» (Roche Diagnostics GmbH, Германия) на автоматическом иммунохимическом анализаторе «Cobas e411» (Roche Diagnostics GmbH, Германия). Принцип метода состоял во взаимодействии антигена АФП исследуемого образца, биотинилированных моноклональных АФП-специфичных антител и моноклональных АФП-специфичных антител, меченых рутениевым комплексом, с формированием сэндвич-комплекса (принцип «сэндвича»). После добавления микрочастиц, покрытых стрептавидином, образовавшийся комплекс связывался с твердой фазой посредством взаимодействия биотина и стрептавидина. Микрочастицы оседали на поверхность электрода в результате магнитного взаимодействия, и хемилюминесцентная эмиссия измерялась фотоумножителем. Диапазон измерений определялся по значению нижнего предела обнаружения и максимальному значению референсной калибровочной кривой и составлял 0,5-1000 МЕ/мл или 0,605-1210 нг/мл. Значения ниже предела обнаружения

отображались как $<0,5$ МЕ/мл или $<0,605$ нг/мл. Значения выше предела измерений отображались как >1000 МЕ/мл или >1210 нг/мл (либо до 50000 МЕ/мл или 60500 нг/мл для образцов с 50-кратным разведением). Коэффициенты пересчета: МЕ/мл $\times 1,21 =$ нг/мл, нг/мл $\times 0,83 =$ МЕ/мл.

Количественное определение **неконъюгированного (свободного) эстриола (Е3)** проводили с помощью хемилюминесцентного иммунотеста с использованием коммерческих наборов «Unconjugated Estriol» (Siemens, США) на автоматическом иммунохимическом анализаторе «IMMULITE®2000» (Siemens, США). Метод определения основывался на твердофазном конкурентном хемилюминесцентном анализе с применением поликлональных антител к эстриолу. Неконъюгированный эстриол исследуемого образца и ферментный конъюгат эстриола с щелочной фосфатазой вступали в конкурентное взаимодействие с иммобилизованными на твердом носителе антителами с формированием комплекса. После удаления несвязавшегося эстриола образца и избытка конъюгата, образовавшиеся иммунные комплексы выявляли в ходе инкубации с хемилюминесцентным субстратом. Интенсивность сигнала была обратно пропорциональна концентрации свободного эстриола в образцах исследуемых сывороток. Диапазон измерений определялся по значению нижнего предела обнаружения и максимальному значению калибровочной кривой и составлял 0,04-12,0 нг/мл или 0,14-42 нмоль/л. Коэффициент пересчета: нг/мл $\times 3,467 =$ нмоль/л.

Определение **17-ОН-прогестерона** проводили иммуноферментным методом с помощью коммерческих наборов «ДРГ 17-α-ОН-Прогестерон ИФА» (DRG Diagnostic, США) в соответствии с инструкциями фирмы-производителя. Метод определения основывался на твердофазном конкурентном иммуноферментном анализе с применением поликлональных антител. На стенках лунок планшета были иммобилизованы анти-17-α-ОН-прогестероновые поликлональные антитела. В лунках планшета эндогенный 17-α-ОН-прогестерон, содержащийся в исследуемом образце, и ферментный конъюгат

17- α -ОН-прогестерона с пероксидазой хрена вступали в конкурентное взаимодействие с иммобилизованными на твердом носителе антителами с формированием иммуноферментного комплекса. После инкубации избыток несвязавшегося конъюгата удаляли промыванием. Образовавшиеся иммунные комплексы выявляли в ходе инкубации с ТМБ и окрашивания содержимого лунок в синий цвет. Интенсивность окраски была обратно пропорциональна концентрации 17- α -ОН-прогестерона в образцах исследуемых сывороток. Для измерения оптической плотности, построения калибровочных кривых и расчета концентраций использовали автоматический ридер «VICTOR_{TM}» (WALLAC Oy, Финляндия). Чувствительность метода составляла 0,034 нг/мл, динамический диапазон – 0,034–20 нг/мл.

2.2.4. Гематологические исследования

Исследования проводили в цельной крови на гематологических автоматических анализаторах фирмы Sysmex XT 2000i и 4000i (Sysmex, Япония) методом флюоресцентной проточной цитометрии, в ходе которой вместо простой оценки размеров клеток определяется РНК/ДНК, размеры клетки и особенности внутреннего строения, что позволяет получать высокоточные результаты. Определяли следующие параметры: общее количество лейкоцитов (10^9 /л), эритроцитов (10^{12} /л) и тромбоцитов (10^9 /л), концентрация гемоглобина (г/л), гематокрит (%), а также абсолютное (10^9 /л) и относительное (%) количество нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов и базофилов.

Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) определяли в цельной крови на автоматическом анализаторе Roller R20PN (Alifax, Италия). Метод определения СОЭ на данном анализаторе – микрофотометрический капиллярный анализ по принципу «остановленной струи»; измеряется кинетика агрегации эритроцитов на начальном участке сигмоидной кривой седиментации с последующей

математической обработкой, позволяющей преобразовать полученный результат в общепринятые единицы СОЭ (мм/ч).

2.2.5. Исследование системы гемостаза

Все исследования производили в цитратной плазме на автоматическом анализаторе «STA Compact» (Diagnostica Stago, Франция) с использованием реагентов этого же производителя. С помощью клоттинговых, хромогенных и иммунотурбидиметрических методов определяли следующие показатели: протромбиновое время по Квику (ПВ), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), тромбиновое время (ТВ), уровни антитромбина III (АТIII), протеина С, фибриногена, D-димера, фактора Виллебранда (ФВ).

Протромбиновое время определяли в цитратной плазме клоттинговым методом с использованием коммерческого набора «STA Neoplastin CI Plus» (Diagnostica Stago, Франция). Принцип метода состоял в запуске каскада реакций внешнего пути активации свертывания (факторы II (протромбин), V (проакцелерин), VII (проконвертин), X (фактор Стюарта) и I (фибриноген)), ведущего к образованию фибринового сгустка, путем добавления тромбопластин-кальциевой смеси к исследуемой цитратной плазме. Время свертывания исследуемого образца сравнивалось со временем свертывания, полученного при использовании нормального стандарта. Результат определения ПВ получали в секундах и в процентах по Квику. Если результаты выражались в процентах от нормальной активности, то за нормальные принимали значения более 70 % [56]. Результаты, превышающие 100 %, не рассматривались как патологические.

АЧТВ определяли в цитратной плазме клоттинговым методом с использованием коммерческого набора «STA APTT LT» (Diagnostica Stago, Франция). Принцип метода состоял в рекальцификации плазмы в присутствии

стандартизованного количества кефалина (тромбоцитоподобные фосфолипиды) и частиц микрокристаллического кремния в качестве активатора. Определение АЧТВ позволяет исследовать внутренний путь коагуляции (факторы XII, XI, IX, VIII, X, V, II и I) за исключением тромбоцитарного звена. Результат выражали в секундах.

Тромбиновое время определяли в цитратной плазме клоттинговым методом с использованием коммерческого набора «STA Thrombin» (Diagnostica Stago, Франция). Метод был основан на учете времени, в течение которого происходит образование сгустка в исследуемой плазме при добавлении стандартного количества тромбина. Результат выражали в секундах.

Концентрацию **фибриногена** определяли в цитратной плазме с использованием коммерческого набора «STA Fibrinogen» (Diagnostica Stago, Франция) клоттинговым методом по Клауссу [81,98]. С помощью этого метода измеряли скорость превращения фибриногена в фибрин (т.е. образования сгустка) в разбавленных образцах плазмы в присутствии избытка тромбина. Время свертывания обратно пропорционально уровню фибриногена в плазме. Диапазон измерений концентрации фибриногена составлял 150-900 мг/дл.

Количественное определение **антигена фактора Виллебранда** проводили в цитратной плазме методом иммунотурбидиметрии с использованием коммерческого набора «STA LIATEST vWF:Ag» (Diagnostica Stago, Франция). Принцип метода состоял в фотометрическом измерении светопропускания суспензии микрочастиц. Суспензию микрочастиц латекса, с которыми ковалентно связаны моноклональные антитела к ФВ, смешивали с исследуемой плазмой. Реакция антиген – антитело приводила к агглютинации микрочастиц латекса и к увеличению мутности реакционной среды, что выражалось в увеличении оптической плотности, которая измерялась фотометрически. Увеличение оптической плотности зависело от уровня ФВ в исследуемой плазме. Результат выражали в %. Предел обнаружения составляла концентрация антигена ФВ равная 3 %.

Как и при оценке содержания фактора Виллебранда, количественное определение **D-димера** проводили в цитратной плазме методом иммунотурбидиметрии с использованием коммерческого набора «STALIA TEST D-DI» (Diagnostica Stago, Франция). Принцип метода состоял в фотометрическом измерении светопропускания суспензии микрочастиц. Суспензию микрочастиц латекса, покрытых специфическими моноклональными антителами к D-димеру человека, смешивали с исследуемой плазмой. Реакция антиген – антитело приводила к агглютинации микрочастиц латекса и к увеличению мутности реакционной среды, что выражалось в увеличении оптической плотности, которая измерялась фотометрически. Увеличение оптической плотности зависело от уровня D-димера в исследуемой плазме. Уровень D-димера выражали в единицах, эквивалентных концентрации фибриногена (FEU). По определению, одна FEU - это количество изначально присутствующего фибриногена, приводящее к наблюдаемому уровню D-димера. Фактический уровень D-димера составляет около половины значения в FEU. Например, значение 0,50 мкг/мл FEU соответствует фактической концентрации D-димера приблизительно 0,25 мкг/мл. Предел обнаружения был определен в соответствии с руководством EP17-A CLSI [84] и равнялся 0,27 мкг/мл (FEU). Диапазон измерения составлял 0,27 – 4,00 мкг/мл (FEU). Однако в случае выполнения исследования с автоматическим повторным разведением плазмы диапазон измерения фактически увеличивался до 20 мкг/мл (FEU).

Содержание **антитромбина III** определяли в цитратной плазме количественным методом хромогенных субстратов с использованием коммерческого набора «STACHROM AT III» (Diagnostica Stago, Франция). Метод основан на оценке ингибирующего действия антитромбина исследуемого образца плазмы на тромбин в присутствии гепарина [239]. На первом этапе исследования образец плазмы, содержащий добавленный гепарин, инкубировали с известным избыточным количеством тромбина, а на втором – определяли оставшееся количество тромбина по его действию на

синтетический хромогенный субстрат. Оставшееся неингибированным количество тромбина было обратно пропорционально содержанию антитромбина в плазме. Результат выражали в %. Предел обнаружения концентрации антитромбина III составлял 9%. Линейность результатов исследования сохранялась до уровня антитромбина равного 140%.

Функционально активный **протеин С** определяли в цитратной плазме количественным методом хромогенных субстратов с использованием коммерческого набора «STACHrom Protein C» (Diagnostica Stago, Франция). Принцип метода состоял в активации протеина С исследуемого образца плазмы специфическим активатором, выделенным из яда змеи *Agkistrodon c. contortrix*. Количество образовавшегося таким путем активного протеина С определяли по его амидолитическому действию на синтетический хромогенный субстрат, а именно: по высвобождению паранитроанилина, выявляемого спектрофотометрически при 405 нм. Степень развития окраски прямо пропорциональна уровню протеина С, изначально присутствовавшего в исследуемой плазме. Предел обнаружения составлял 3%. Линейность исследования сохранялась до 150% уровня протеина С.

2.2.6. Биохимические исследования

Все исследования производили в сыворотке крови на автоматическом биохимическом анализаторе ВА-400 (Biosystems, Испания) с использованием реагентов этого же производителя. Определяли следующие показатели: общий белок, альбумин, аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспаратаминотрансфераза (АСТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), общий билирубин, γ -глутамилтрансфераза (ГГТ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ), общий холестерин (ХС), триглицериды (ТГ), холестерин липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП), холестерин липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП), креатинин, мочевины.

Содержание **альбумина** определяли с помощью коммерческого набора «ALBUMIN» (Biosystems, Испания). Принцип метода состоял в проведении реакции альбумина сыворотки крови с бромкрезоловым зеленым в кислой среде с образованием цветного комплекса, который измерялся спектрофотометрически [100]. Пороговая чувствительность составляла 1,21 г/л, предел линейности - 70 г альбумина /л.

Содержание **АЛТ** определяли кинетическим методом (IFCC) с помощью коммерческого набора «Alanine Aminotransferase, ALT/GPT» (Biosystems, Испания). Принцип метода состоял в определении уровня АЛТ по активности этого фермента как катализатора реакции переноса аминокислотной группы из аланина в 2-оксоглутарат с образованием пирувата и глутамата. Активность АЛТ определяли по скорости снижения концентрации NADH, оптическая плотность которого измеряется при 340 нм в реакции с участием лактатдегидрогеназы [166,170,316]. Пороговая чувствительность составляла 1,9 Ед/л = 0,032 мккат/л, предел линейности - 500 Ед/л = 8,33 мккат/л.

Содержание **АСТ** определяли кинетическим методом (IFCC) с помощью коммерческого набора «Aspartate Aminotransferase, AST/GOT» (Biosystems, Испания). Принцип метода состоял в проведении реакции переноса аминокислотной группы от аспартата на 2-оксоглутарат с образованием оксалацетата и глутамата под действием содержащейся в пробе АСТ – катализатора реакции. Активность АСТ определяли по скорости уменьшения уровня NADH, оптическая плотность которого измеряется при 340 нм в реакции с участием малатдегидрогеназы [167,170,316]. Пороговая чувствительность составляла 1,1 Ед/л = 0,018 мккат/л, предел линейности - 500 Ед/л = 8,33 мккат/л.

Уровень **гамма-глутамилтрансферазы** определяли кинетическим методом (IFCC) с помощью коммерческого набора «Gamma-Glutamyltransferase (γ -GT)» (Biosystems, Испания). Принцип метода состоял в проведении реакции переноса γ -глутаминовой группы γ -глутамил-3-карбокси-4-нитроанилида на глицилглицин с образованием 3-карбокси-4-нитроанилина с катализатором

ГГТ. Активность ГГТ оценивали по скорости образования 3-карбокси-4-нитроанилина [168,316]. Пороговая чувствительность составляла $1,6 \text{ Ед/л} = 0,03 \text{ мккат/л}$, предел линейности - $600 \text{ Ед/л} = 10,0 \text{ мккат/л}$.

Уровень **лактатдегидрогеназы** определяли кинетическим методом (IFCC) с помощью коммерческого набора «Lactate Dehydrogenase (LDH)» (Biosystems, Испания). Принцип метода состоял в проведении реакции восстановления пирувата NADH с образованием лактата и NAD^+ в присутствии ЛДГ как катализатора. Активность ЛДГ определяли по скорости уменьшения оптической плотности NADH, измеряемой при 340 нм [316]. Пороговая чувствительность составляла $24,4 \text{ Ед/л} = 0,405 \text{ мккат/л}$, предел линейности - $1250 \text{ Ед/л} = 20,92 \text{ мккат/л}$.

Уровень **щелочной фосфатазы** определяли кинетическим методом (IFCC) с помощью коммерческого набора «Alkaline Phosphatase (ALP) – AMP» (Biosystems, Испания). Принцип метода состоял в проведении реакции переноса фосфатной группы от 4-нитрофенилфосфата на 2-амино-2-метил-1-пропанол (AMP) с освобождением 4-нитрофенола в щелочной среде с катализатором ЩФ. Активность фермента определяли по скорости образования 4-нитрофенола, оптическую плотность которого измеряли при 405 нм [169]. Пороговая чувствительность составляла $10,5 \text{ Ед/л} = 0,17 \text{ мккат/л}$, предел линейности - $1200 \text{ Ед/л} = 20,0 \text{ мккат/л}$.

Концентрацию **общего белка** определяли биуретовым методом с помощью коммерческого набора «Protein (Total)» (Biosystems, Испания). Принцип метода состоял в проведении реакции белка сыворотки крови с ионами меди (II) в щелочной среде с образованием цветного комплекса, который измеряли спектрофотометрически [141,316]. Пороговая чувствительность составляла $1,4 \text{ г/л}$, предел линейности - 120 г/л .

Уровень **креатинина** определяли методом Яффе с помощью коммерческого набора «Creatinin» (Biosystems, Испания). Принцип метода состоял в проведении реакции креатинина сыворотки крови с пикратом в

щелочной среде с образованием окрашенного комплекса. Скорость образования цветного комплекса измеряли в течение короткого промежутка времени для того, чтобы избежать интерференции [115]. Образцы сыворотки и плазмы содержат белки, которые вступают в неспецифические реакции, тем не менее, результаты могут быть скорректированы путем вычитания фиксированной величины (компенсированный метод Яффе) [241,332]. Пороговая чувствительность составляла $0,04 \text{ мг/дл} = 3,55 \text{ мкмоль/л}$ креатинина, предел линейности – $20 \text{ мг/дл} = 1768 \text{ мкмоль/л}$.

Концентрацию **мочевины** определяли ферментативным методом с помощью коммерческого набора «UREA/BUN-UV» (Biosystems, Испания). Принцип метода состоял во взаимодействии мочевины сыворотки крови с NADH, благодаря сопряженным реакциям, катализируемым уреазой и глутаматдегидрогеназой. Оптическая плотность NADH измеряли спектрофотометрически [145]. Пороговая чувствительность составляла $4,49 \text{ мг/дл} = 0,743 \text{ ммоль/л}$, предел линейности – $300 \text{ мг/дл} = 50 \text{ ммоль/л}$.

Уровень **общего билирубина** определяли с помощью коммерческого набора «Bilirubin total» (Biosystems, Испания). Принцип метода состоял в проведении реакции общего билирубина сыворотки крови с диазо-сульфанилом в кислой среде с образованием цветного комплекса, который измеряли спектрофотометрически [242]. Пороговая чувствительность составляла $0,02 \text{ мг/дл} = 0,34 \text{ мкмоль/л}$, предел линейности – $20 \text{ мг/дл} = 343 \text{ мкмоль/л}$.

Уровень **общего холестерина** определяли ферментативным методом с помощью коммерческого набора «CHOLESTEROL» (Biosystems, Испания). Принцип метода был основан на образовании цветного комплекса из свободного и этерифицированного холестерина сыворотки крови в ходе сопряженных реакций, катализируемых холестеролэстеразой, холестеролоксидазой и пероксидазой. Концентрацию цветного комплекса измеряли спектрофотометрически [109,309]. Пороговая чувствительность

составляла $4,2 \text{ мг/дл} = 0,109 \text{ ммоль/л}$, предел линейности – $1000 \text{ мг/дл} = 26 \text{ ммоль/л}$.

Концентрацию **триглицеридов** определяли ферментативным методом с помощью коммерческого набора «TRIGLYCERIDES» (Biosystems, Испания). Принцип метода состоял в образовании цветного комплекса из триглицеридов сыворотки крови в ходе сопряженных реакций, катализируемых глицеролкиназой, глицеролфосфатоксидазой и пероксидазой. Концентрацию цветного комплекса измеряли спектрофотометрически [62,133]. Пороговая чувствительность составляла $5,99 \text{ мг/дл} = 0,067 \text{ ммоль/л}$, предел линейности – $600 \text{ мг/дл} = 6,78 \text{ ммоль/л}$.

Холестерин ЛПВП определяли ферментативным методом с помощью коммерческого набора «CHOLESTEROL HDL DIRECT» (Biosystems, Испания). Принцип метода состоял в переводе холестерина из липопротеинов высокой плотности (но не из липопротеинов низкой плотности, липопротеинов очень низкой плотности и хиломикронов) в растворенное состояние под воздействием полимера и детергента. Затем концентрацию холестерина ЛПВП определяли спектрофотометрически, путем образования цветного комплекса в результате проведения сопряженных реакций, катализируемых холестеролэстеразой, холестеролоксидазой и пероксидазой [331]. Пороговая чувствительность составляла $1,83 \text{ мг/дл} = 0,048 \text{ ммоль/л}$, предел линейности – $200 \text{ мг/дл} = 5,18 \text{ ммоль/л}$.

Холестерин ЛПНП определяли ферментативным методом с помощью коммерческого набора «CHOLESTEROL LDL DIRECT» (Biosystems, Испания). Принцип метода состоял в переводе холестерина из липопротеинов низкой плотности (но не из липопротеинов высокой плотности, липопротеинов очень низкой плотности и хиломикронов) в растворенное состояние под воздействием полимера и детергента. Затем концентрацию холестерина ЛПНП определяли спектрофотометрически, путем образования цветного комплекса в результате проведения сопряженных реакций, катализируемых холестеролэстеразой,

холестеролоксидазой и пероксидазой [231]. Пороговая чувствительность составляла 0,44 мг/дл = 0,012 ммоль/л, предел линейности – 990 мг/дл = 25,6 ммоль/л.

2.2.7. Определение маркеров преэклампсии

Определение маркеров преэклампсии производили в сыворотке крови электрохемилюминесцентным методом на автоматическом иммунохимическом анализаторе «Cobas e411» (Roche Diagnostics GmbH, Германия).

Количественное определение **плацентарного фактора роста (PlGF)** проводили с помощью электрохемилюминесцентного иммунотеста (ECLIA) с использованием коммерческих наборов «PlGF» (Roche Diagnostics GmbH, Германия). Принцип метода состоял во взаимодействии антигена PlGF исследуемого образца, биотинилированных моноклональных PlGF - специфичных антител и моноклональных PlGF-специфичных антител, меченых рутениевым комплексом, с формированием «сэндвич»-комплекса (принцип «сэндвича»). После добавления микрочастиц, покрытых стрептавидином, образовавшийся комплекс связывался с твердой фазой посредством взаимодействия биотина и стрептавидина. Микрочастицы оседали на поверхность электрода в результате магнитного взаимодействия, и хемилюминесцентная эмиссия измерялась фотоумножителем. Диапазон измерений плацентарного фактора роста определялся по значению нижнего предела обнаружения и максимальному значению калибровочной кривой и составлял 3-10000 пг/мл. Значения ниже предела обнаружения отображались как <3 пг/мл. Значения выше предела измерений отображались как >10000 пг/мл.

Количественное определение **растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 (sFlt-1)** проводили с помощью электрохемилюминесцентного иммунотеста (ECLIA) с использованием

коммерческих наборов «sFlt-1» (Roche Diagnostics GmbH, Германия). Принцип метода состоял во взаимодействии антигена sFlt-1 исследуемого образца, биотинилированных моноклональных sFlt-1-специфичных антител и моноклональных sFlt-1-специфичных антител, меченых рутениевым комплексом, с формированием «сэндвич» -комплекса (принцип «сэндвича»). После добавления микрочастиц, покрытых стрептавидином, образовавшийся комплекс связывался с твердой фазой посредством взаимодействия биотина и стрептавидина. Микрочастицы оседали на поверхность электрода в результате магнитного взаимодействия, и хемилюминесцентная эмиссия измерялась фотоумножителем. Диапазон измерений sFlt-1 определялся по значению нижнего предела обнаружения и максимальному значению калибровочной кривой и составлял 10 - 85000 пг/мл. Значения ниже предела обнаружения отображались как <10 пг/мл. Значения выше предела измерений отображались как >85000 пг/мл.

По результатам количественного определения плацентарного фактора роста и растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 рассчитывали соотношение sFlt-1/PlGF.

2.2.8. Проведение контроля качества лабораторных исследований

Внутренний (внутрилабораторный) контроль качества осуществляли согласно Приказу №220 от 26 мая 2003 г. Министерства здравоохранения Российской Федерации об утверждении отраслевого стандарта "Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов" ОСТ 91500.13.0001-2003.

Ежедневный внутрилабораторный контроль качества проводили с использованием контрольных материалов (нормальные и патологические контрольные образцы) производства Roche Diagnostics GmbH (Германия) и Bio-

Rad (Франция) для гормональных исследований, R&D Systems (США) для гематологических исследований, «Diagnostica Stago» (Франция) для коагулологических тестов и Biosystems (Испания) для биохимических исследований.

Внешний контроль качества всех исследований осуществляли в рамках Федеральной системы внешней оценки контроля качества в соответствии с письмами Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития №01И-787/05 от 26.12.2005 «Об участии лабораторий медицинских организаций в Федеральной системе внешней оценки качества клинических лабораторных исследований (ФСВОК)» и №01И-778/07 от 20.11.2007 «О Федеральной системе внешней оценки качества клинических лабораторных исследований (ФСВОК)», а также в соответствии с приказами МЗ РФ от 26.01.94 №9, от 03.05.95 №117, от 25.12.97 №380, от 07.02.2000 №45.

2.3. Статистический анализ полученных результатов

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения Microsoft Excel и с использованием пакета статистических программ MedCalc® Software версия 14.8.1. Проверка вариационных рядов на нормальность проводилась с помощью теста Шапиро-Уилка. Для каждого показателя рассчитывались: среднее арифметическое значение ($\bar{X}$), стандартное отклонение (SD), медиана (P_{50}) и референсные интервалы ($P_{2,5}$ и $P_{97,5}$ перцентили) с 90% доверительным интервалом для верхнего и нижнего предела. Референсные интервалы вычислялись согласно руководству Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI, США) C28-A3 (исследование не менее 120 проб "здоровых" пациентов и обработка результатов методами непараметрической статистики) [94,298,311]. Надежность полученных данных определялась достаточным размером выборки.

Сравнение рядов выполнялось с использованием непараметрических методов (U-тест Манна-Уитни). Критерием статистической достоверности считали $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. ГОРМОНАЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ И ПОКАЗАТЕЛИ ПРЕНАТАЛЬНОГО СКРИНИНГА ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ ЭКО И ПЭ

3.1. Диагностика ранней беременности и гормональный мониторинг в первом триместре физиологической беременности и беременности после ЭКО и ПЭ

Беременность в обеих группах пациенток диагностировали по уровню хорионического гонадотропина (ХГч) в сыворотке крови. При спонтанной беременности достоверное увеличение данного показателя (выше порогового значения 20 МЕ/л) наблюдалось уже за 2-4 дня до ожидаемой менструации, а при наступлении беременности в цикле ЭКО и ПЭ – через 10 дней после переноса эмбрионов в полость матки. Следует отметить, что 10-14 день после переноса эмбрионов примерно соответствует 3-4 неделе спонтанной беременности (по дате последней менструации).

При сравнении уровней эстрадиола, прогестерона и хорионического гонадотропина в сыворотке крови в случае наступления беременности у женщин рассматриваемых групп были получены результаты, представленные в таблице 3.1.

Таблица 3.1

Уровни эстрадиола, прогестерона и хорионического гонадотропина в
сыворотке крови при наступлении спонтанной беременности и беременности
после ЭКО и ПЭ (среднее $\pm$ SD)

	Спонтанная беременность (3-4 недели) n=128	ЭКО-беременность (14-й день после ПЭ) n=62
Эстрадиол (пмоль/л)	1189 $\pm$ 358	4984 $\pm$ 1348*
Прогестерон (нмоль/л)	48,9 $\pm$ 10,6	391,2 $\pm$ 101,1*
ХГч (МЕ/л)	310,0 $\pm$ 180,0	586,8 $\pm$ 221,3*

*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью

Из таблицы видно, что ранние сроки беременности, полученной в циклах ЭКО и ПЭ, протекали на фоне достоверно более высоких концентраций половых гормонов в сыворотке крови. Так, уровень эстрадиола превышал таковой при спонтанной беременности в 4,2 раза, а прогестерона – в 8 раз. Также начало стимулированной беременности характеризовалось более высокими концентрациями ХГч (рисунок 3.1).

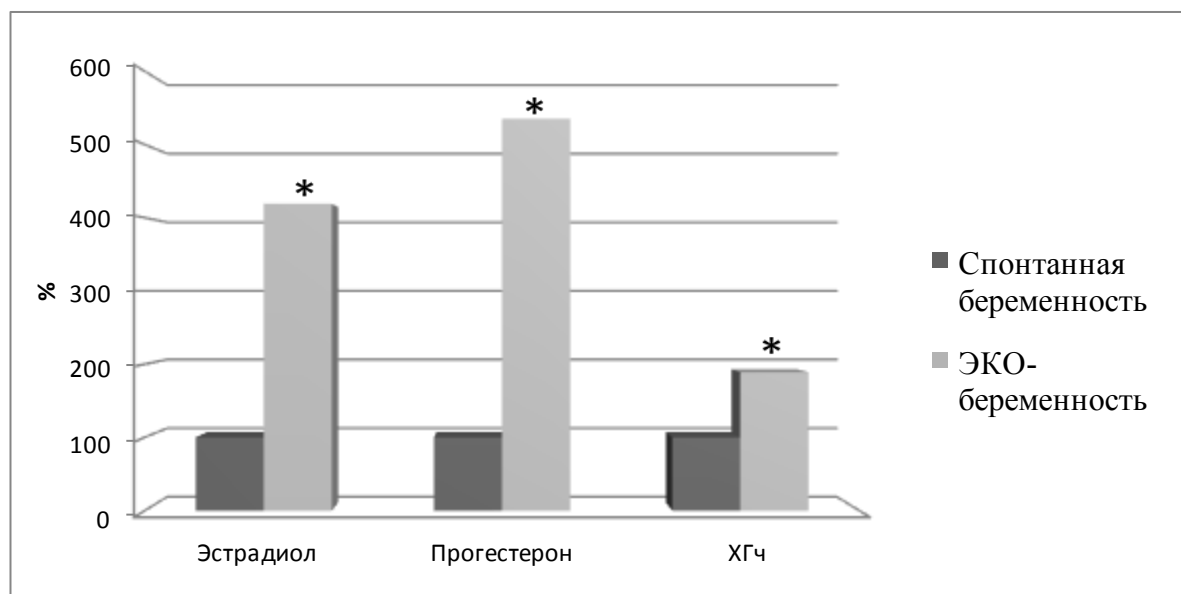


Рисунок 3.1. Процентное соотношение уровней половых гормонов и хорионического гонадотропина при наступлении беременности (*- различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью)

Далее мы определяли динамику концентраций указанных гормонов в течение первого триместра беременности – периода, когда проходят основные этапы формирования фето-плацентарного комплекса. Результаты сравнительного анализа изменений уровня ХГч в обеих группах пациенток представлены в таблице 3.2 и на рисунке 3.2.

Таблица 3.2

Уровень хорионического гонадотропина (МЕ/л) в сыворотке крови в I триместре спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ
(среднее $\pm$ SD)

Срок беременности (акушерский)	Спонтанная беременность	ЭКО-беременность
4-5 недель	1050 $\pm$ 152	2440 $\pm$ 850*
6-7 недель	17960 $\pm$ 1587	29619 $\pm$ 1860*
7-8 недель	52200 $\pm$ 1920	68536 $\pm$ 2765*
8-9 недель	98000 $\pm$ 2870	104039 $\pm$ 4360
9-10 недель	73000 $\pm$ 4950	75730 $\pm$ 5720
11-12 недель	62000 $\pm$ 5700	61203 $\pm$ 7880

*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке

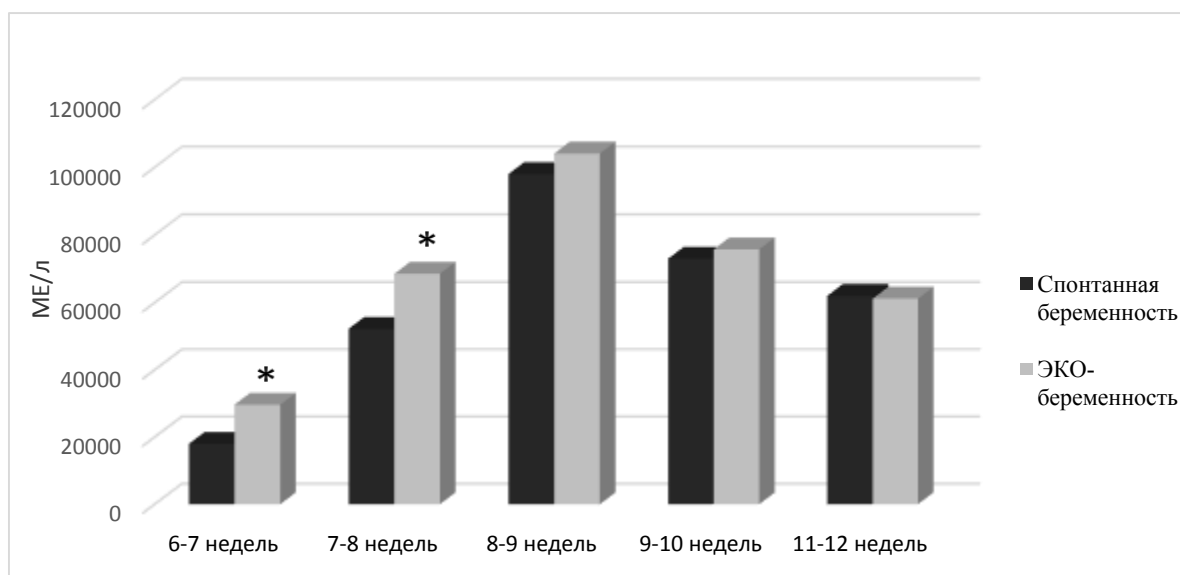


Рисунок 3.2. Динамика уровня хорионического гонадотропина (МЕ/л) в первом триместре спонтанной и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

Как показано на рисунке, динамика уровня ХГч в обеих группах пациенток была идентична. Максимальный уровень ХГч отмечался в сроке 8-9 недель беременности. Затем по мере прогрессирования беременности концентрация гормона в крови постепенно снижалась. Различие состояло в том, что у пациенток программы ЭКО и ПЭ уровень ХГч в начале триместра был в 1,4–2,3 раза выше, чем при физиологической беременности. Активный синтез ХГч продолжается до момента окончательного формирования плаценты.

Следует отметить, что, несмотря на достоверное различие средних значений уровня ХГч в сыворотке крови, все значения, полученные для ЭКО-беременности, соответствовали значениям диапазона референсных интервалов, разработанных для спонтанной беременности [31].

Известно, что синтез половых гормонов (эстрадиола и прогестерона) в трофобласте начинается на 4-5-й неделе беременности, а после 7-й недели продукция этих гормонов трофобластом полностью замещает их продукцию желтым телом. По мере прогрессирования спонтанной беременности содержание в крови матери как прогестерона, так и эстрадиола непрерывно возрастает, достигая к концу беременности уровня, в десятки раз превосходящий исходный [4,300]. При сравнительном анализе уровня эстрадиола и прогестерона в динамике первого триместра спонтанной и ЭКО-беременности были получены следующие результаты.

На первых неделях ЭКО-беременности концентрация эстрадиола в крови пациенток была в 4,2–4,5 раз выше, чем при спонтанной беременности ($p < 0,05$), что вызвано воздействием стимуляции. Значимые различия в уровне эстрадиола между двумя группами сохранялись до 8-9 недели беременности (таблица 3.3, рисунок 3.3).

Таблица 3.3

Уровень эстрадиола (пмоль/л) в сыворотке крови в первом триместре спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (среднее $\pm$ SD)

Срок беременности (акушерский)	Спонтанная беременность	ЭКО-беременность
3-4 недели	1189 $\pm$ 358	4984 $\pm$ 1348*
5-6 недель	1950 $\pm$ 464	5400 $\pm$ 1890*
7-8 недель	4700 $\pm$ 1520	6010 $\pm$ 2190*
9-10 недель	5750 $\pm$ 1223	6200 $\pm$ 1840
11-12 недель	8700 $\pm$ 2300	9400 $\pm$ 1523

*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке

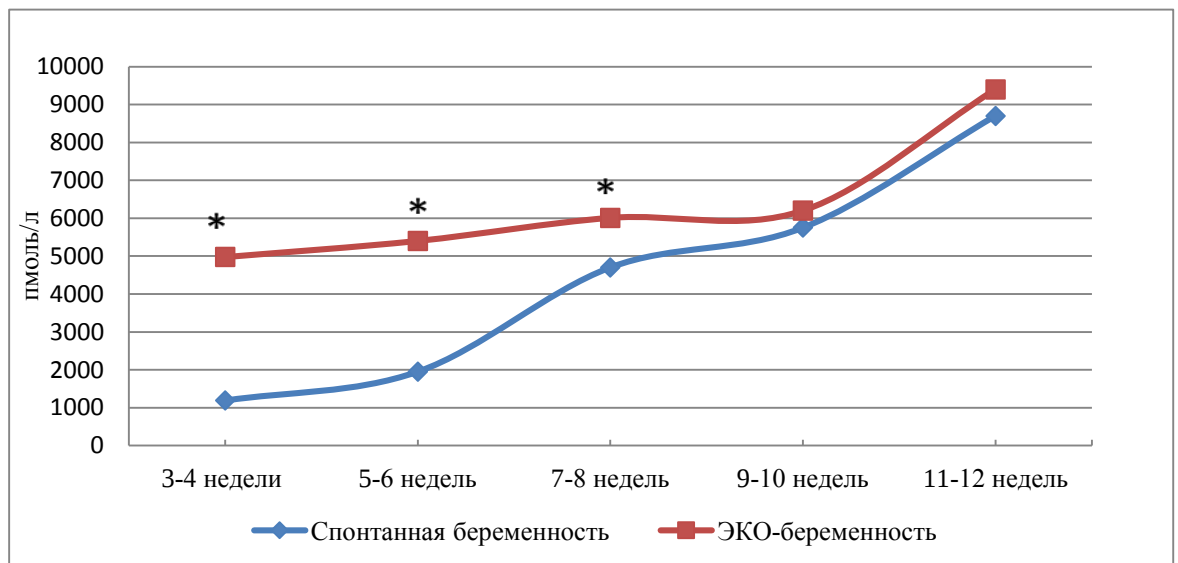


Рисунок 3.3. Динамика уровня эстрадиола (пмоль/л) в первом триместре спонтанной и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

Несколько иная картина наблюдалась при сравнении динамики уровня прогестерона в первом триместре спонтанной и стимулированной беременности (таблица 3.4, рисунок 3.4).

Таблица 3.4

Уровень прогестерона (нмоль/л) в сыворотке крови в первом триместре спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (среднее $\pm$ SD)

Срок беременности (акушерский)	Спонтанная беременность	ЭКО-беременность
3-4 недели	48,9 $\pm$ 10,6	391,2 $\pm$ 101,1*
5-6 недель	73,9 $\pm$ 9,6	485 $\pm$ 66,3*
7-8 недель	70,5 $\pm$ 8,9	461 $\pm$ 56,5*
9-10 недель	91,5 $\pm$ 18,3	413 $\pm$ 52,1*
11-12 недель	131,2 $\pm$ 25,3	245 $\pm$ 55,9*

*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке

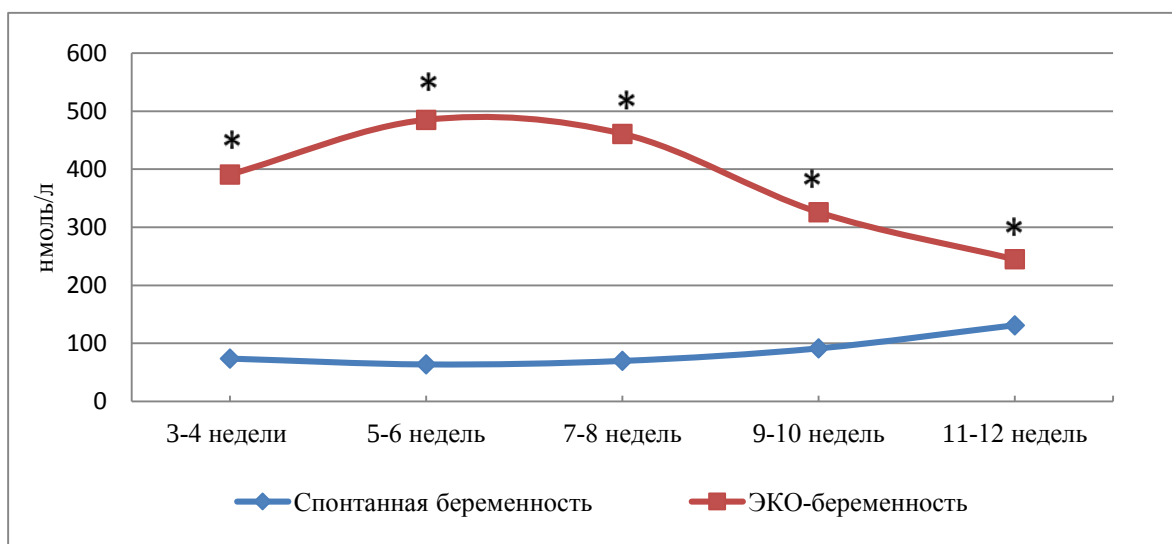


Рисунок 3.4. Динамика уровня прогестерона (нмоль/л) в первом триместре спонтанной и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

Если в случае спонтанной беременности концентрация прогестерона после 7-8 недели гестации постепенно возрастала, то при стимулированной беременности этот показатель достигал максимальных величин на 5-6 неделе, а затем начинал снижаться. При этом в случае ЭКО-беременности наблюдались достоверно более высокие концентрации прогестерона на всем протяжении первого триместра.

Таким образом, было показано, что уровень гормональных показателей, характеризующих формирование фето-плацентарного комплекса - ХГч, эстрадиола и прогестерона - в сыворотке крови при беременности после ЭКО и ПЭ в I триместре был достоверно выше, чем в группе пациенток с физиологической беременностью. В отличие от эстрадиола и ХГч, повышенный уровень прогестерона сохранялся до конца триместра.

3.2. Пренатальный скрининг первого триместра при спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ

Основными методами неинвазивной пренатальной диагностики являются ультразвуковое исследование и определение уровней сывороточных маркеров в крови матери. Стандарт обследования в I триместре беременности, регламентированный приказом Министерства здравоохранения РФ от 1 ноября 2012 г. №572н, предусматривает направление беременной женщины при сроке беременности 11-14 недель в медицинскую организацию, осуществляющую экспертный уровень пренатальной диагностики, для проведения комплексной пренатальной (дородовой) диагностики нарушений развития ребенка, включающей УЗИ врачами-специалистами, прошедшими специальную подготовку и имеющими допуск на проведение ультразвукового скринингового обследования в I триместре, и определение материнских сывороточных маркеров (ассоциированного с беременностью плазменного протеина А (РАРР-А) и свободной β -субъединицы хорионического гонадотропина) с

последующим программным комплексным расчетом индивидуального риска рождения ребенка с хромосомной патологией. Учитывая тот факт, что в литературе интенсивно дискутируется вопрос о влиянии стимуляции суперовуляции на увеличение риска развития хромосомной патологии у детей, рожденных в результате реализации программы ЭКО и ПЭ [161], мы сочли необходимым провести сравнительное исследование для решения вопроса о возможности использования указанных маркеров при проведении скрининга I триместра ЭКО-беременности. Кроме того, мы включили в исследование определение уровня плацентарного фактора роста (PlGF). Этот показатель в последнее время начал активно использоваться в рамках пренатального скрининга I триместра с целью прогнозирования преэклампсии, плацентарной недостаточности, синдрома задержки развития плода и т.п. [215].

Таким образом, данный раздел главы посвящен описанию результатов скрининга тех сывороточных маркеров, которые включены в стандарты диагностики хромосомной аномалии у плода или используются для прогнозирования патологии беременности. Целью проведенного скрининга было выяснение диагностической ценности этих маркеров в случаях ЭКО-беременности.

Для скрининга были отобраны женщины с физиологически протекающей беременностью, закончившейся в дальнейшем рождением здорового ребенка. Были обследованы 634 пациентки со спонтанной беременностью и 178 пациенток с беременностью после ЭКО и ПЭ. Обе группы пациенток были разделены на три подгруппы в зависимости от срока обследования (11, 12 и 13 недель).

Результаты определения перечисленных биохимических маркеров в сыворотке крови матери, полученные при скрининге первого триместра спонтанной беременности, приведены в таблице 3.5 и на рисунках 3.5–3.7. Для всех параметров пренатального скрининга были рассчитаны медианы концентраций маркеров и соответствующие референсные интервалы.

Представленные данные выражены как в абсолютных единицах, так и в относительных (МоМ) единицах (как было указано в гл. Методы исследования, в единицах МоМ измеряется отношение индивидуального уровня биологического маркера к референсному значению медианы (P_{50}), установленной для данной популяции).

Таблица 3.5

Медиана (P_{50}) и 95% референсный интервал ($P_{2,5}$ - $P_{97,5}$) для концентраций свободной β -субъединицы хорионического гонадотропина (нг/мл), плазменного протеина А (Ед/л) и плацентарного фактора роста (пг/мл) в сыворотке крови при скрининге первого триместра физиологической беременности

Показатель	Срок беременности (недели)		
	11 (n=163)	12 (n=349)	13 (n=122)
Свободная β - субъединица ХГч (нг/мл)			
P_{50}	50,2	42,2*	38,4**
$P_{2,5}$	18,8	13,2	8,9
$P_{97,5}$	121,2	92,9	86,5
Свободная β -субъединица ХГч (МоМ)			
P_{50}	1,10	1,05	1,06
$P_{2,5}$	0,50	0,40	0,40
$P_{97,5}$	2,48	2,37	2,54
PAPP-A (Ед/л)			
P_{50}	1,85	2,73*	3,78**
$P_{2,5}$	0,63	0,62	1,34
$P_{97,5}$	4,16	5,73	8,78
PAPP-A (МоМ)			
P_{50}	1,03	1,04	1,05
$P_{2,5}$	0,40	0,40	0,41
$P_{97,5}$	2,39	2,33	2,33
PlGF (пг/мл)			
P_{50}	20,0	24,5*	27,9**
$P_{2,5}$	9,60	11,6	13,7
$P_{97,5}$	33,8	42,0	48,6
PlGF (МоМ)			
P_{50}	1,00	0,99	0,98
$P_{2,5}$	0,53	0,40	0,51
$P_{97,5}$	1,55	1,76	1,64

*- различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении со значениями в сроке 11 недель

** - различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении со значениями в сроке 12 недель

Было показано, что концентрация свободной β -субъединицы ХГч достоверно снижалась, а концентрация PAPP-A и плацентарного фактора роста

достоверно возрастала с 11 по 13 неделю. При этом медианы, выраженные в МоМ, не различались для всех параметров и не зависели от срока гестации.

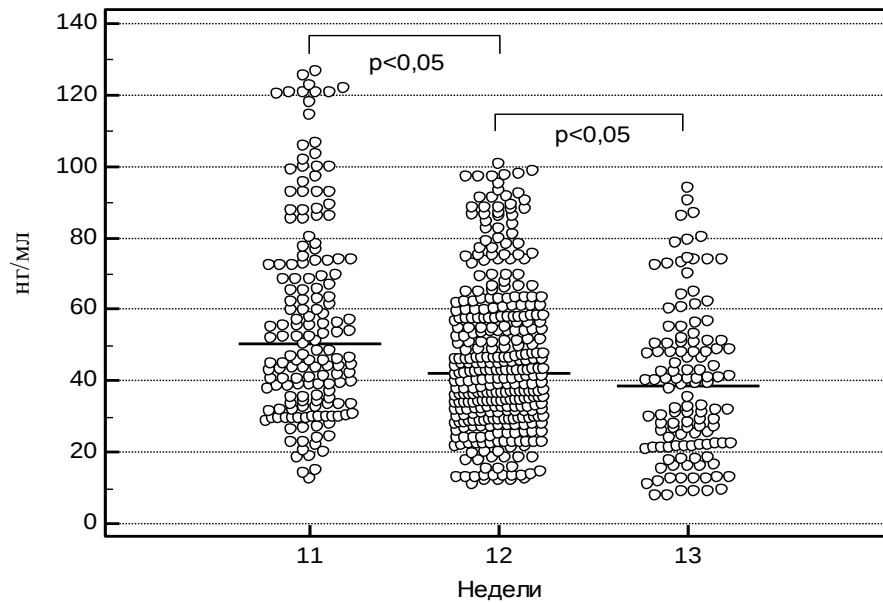


Рисунок 3.5. Концентрация свободной β -субъединицы хорионического гонадотропина (нг/мл) в сыворотке крови по данным скрининга первого триместра физиологической беременности

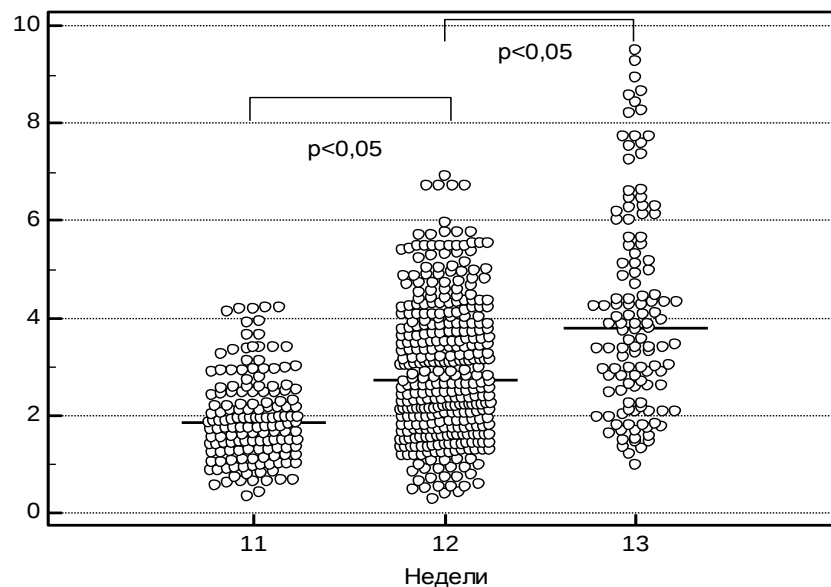


Рисунок 3.6. Концентрация PAPP-A (Ед/л) в сыворотке крови по данным скрининга первого триместра физиологической беременности

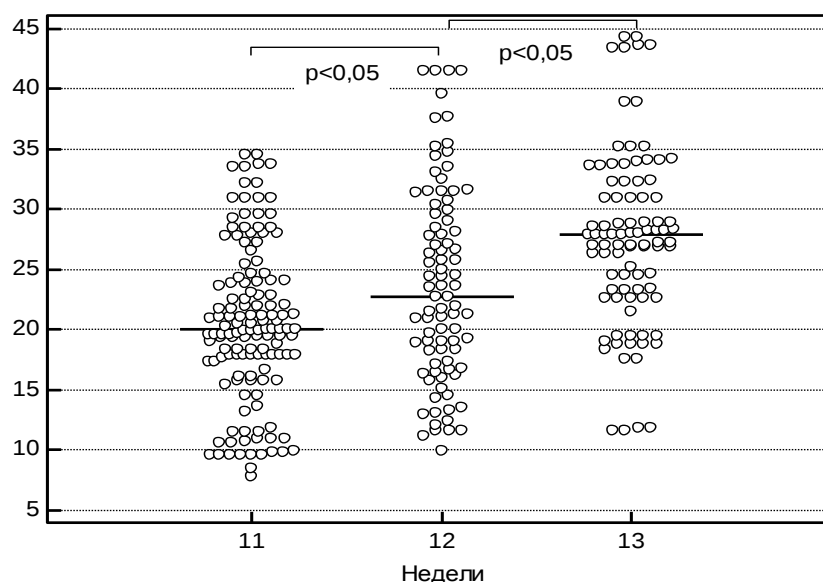


Рисунок 3.7. Концентрация плацентарного фактора роста (пг/мл) в сыворотке крови по данным скрининга первого триместра физиологической беременности

Анализ рассматриваемых показателей у пациенток программы ЭКО и ПЭ, проведенный в рамках скрининга первого триместра, дал следующие результаты (таблица 3.6).

Таблица 3.6

Медиана (P_{50}) и 95% интервал ($P_{2,5}$ - $P_{97,5}$) для концентраций свободной β -субъединицы хорионического гонадотропина (нг/мл), плазменного протеина А (Ед/л) и плацентарного фактора роста (пг/мл) в сыворотке крови при скрининге первого триместра у пациенток программы ЭКО и ПЭ

	Срок беременности (недели)		
	11 (n=62)	12 (n=82)	13 (n=34)
Свободная β - субъединица ХГч (нг/мл)			
P_{50}	56,1	55,0	34,3**
$P_{2,5}$	15,7	13,9	20,0
$P_{97,5}$	160,1	163,5	100,3
Свободная β -ХГч (МоМ)			
P_{50}	1,07	1,09	1,02
$P_{2,5}$	0,40	0,41	0,57
$P_{97,5}$	2,67	2,60	2,20
РАРР-А (Ед/л)			
P_{50}	1,96	2,10	2,62**
$P_{2,5}$	0,62	0,51	1,00
$P_{97,5}$	4,38	4,28	7,52

PAPP-A (MoM)			
P ₅₀	1,09	0,86*	0,87*
P _{2,5}	0,38	0,35	0,36
P _{97,5}	1,94	2,00	1,73
PlGF (пг/мл)			
P ₅₀	16,7	20,1*	21,2*
P _{2,5}	8,96	5,00	9,00
P _{97,5}	37,5	43,7	42,1
PlGF (MoM)			
P ₅₀	0,84	0,82	0,70*
P _{2,5}	0,45	0,31	0,34
P _{97,5}	1,39	1,31	1,30

*- различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении со значениями в сроке 11 недель

**- различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении со значениями в сроке 12 недель

Медиана концентрации свободной β -субъединицы ХГч в крови пациенток с ЭКО-беременностью была достоверно выше, чем при спонтанной беременности, на сроке 11 и 12 недель (рисунок 3.8). При этом значения, выраженные в МоМ, не различались ни между группами, ни в динамике внутри групп (таблица 3.5, 3.6). В противоположность этому, анализ уровня ассоциированного с беременностью плазменного протеина А показал, что при индуцированной беременности значения данного показателя были статистически ниже, чем при спонтанной беременности (рисунок 3.9), а значения МоМ для PAPP-A в группе ЭКО составили 0,86 и 0,87 против 1,04 и 1,05 при спонтанной беременности на сроке 12 и 13 недель, соответственно (таблица 3.5, 3.6).

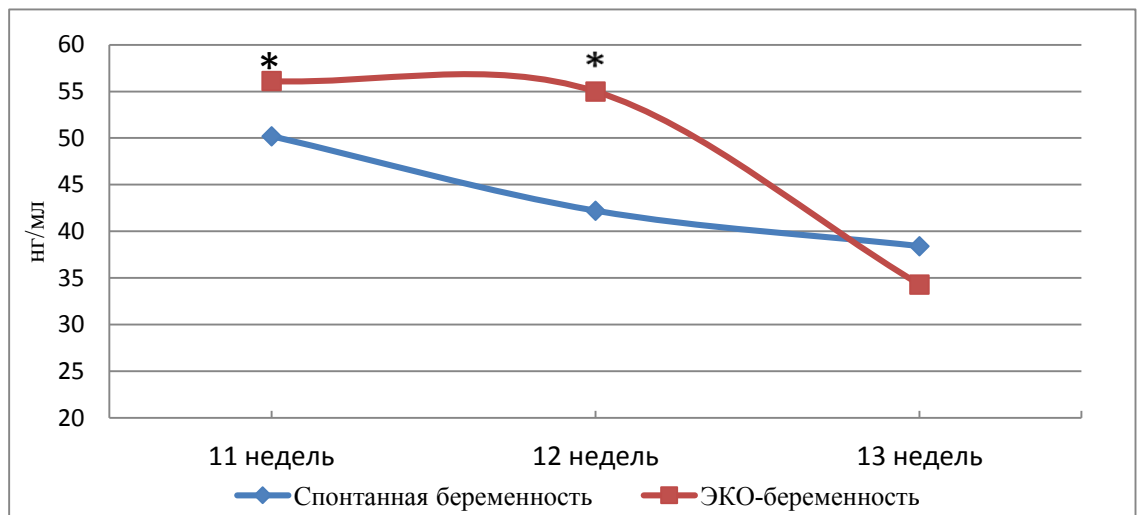


Рисунок 3.8. Уровень свободной β -субъединицы ХГч (нг/мл) в сыворотке крови по данным скрининга первого триместра при спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

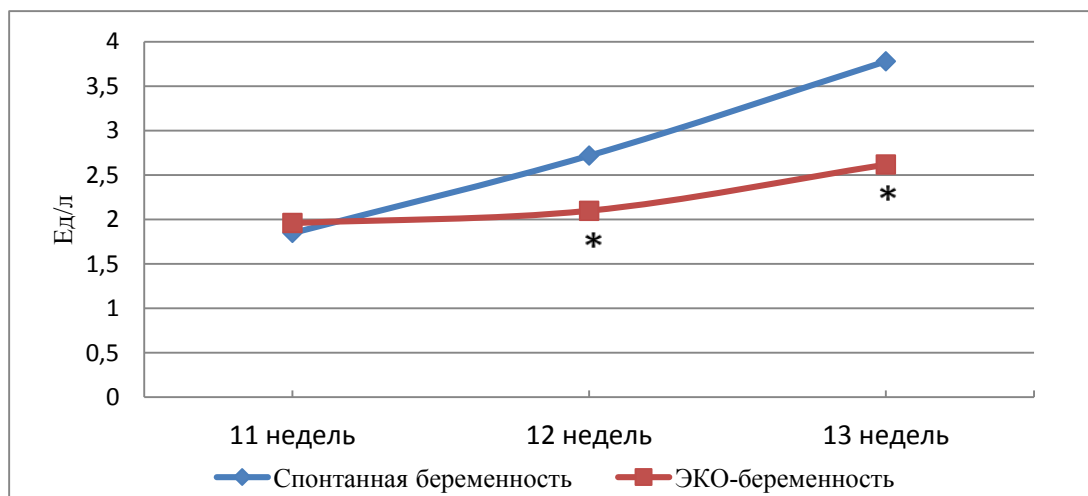


Рисунок 3.9. Уровень PAPP-A (Ед/л) в сыворотке крови по данным скрининга первого триместра спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

При сравнении уровня плацентарного фактора роста в двух исследуемых группах было показано, что в группе пациенток ЭКО и ПЭ и значение медианы, и расчетное значение в МоМ были достоверно ниже, чем в контрольной группе, независимо от срока обследования (таблица 3.6, 3.5, рисунок 3.10). Значения МоМ для плацентарного фактора роста составили 0,84, 0,82 и 0,70 против 1,00, 0,99, 0,98 при физиологической беременности для 11, 12 и 13 недель, соответственно.

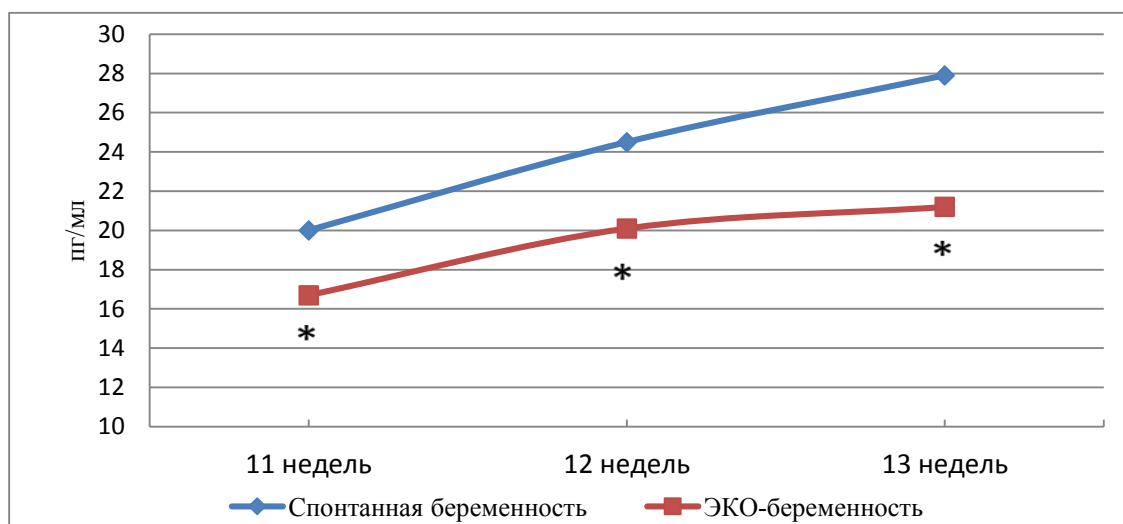


Рисунок 3.10. Уровень плацентарного фактора роста (пг/мл) по данным скрининга первого триместра спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

Таким образом, сравнительный анализ таких гормональных показателей в I триместре беременности, как свободная β -субъединица ХГч, РАРР-А и плацентарный фактор роста, показал однонаправленную динамику уровня данных гормонов в сыворотке крови при физиологической беременности и при беременности, наступившей в результате реализации программы ЭКО и ПЭ. Однако, значения свободной β -ХГч были статистически выше, а РАРР-А и плацентарного фактора роста - ниже в группе пациенток программы ЭКО.

3.3. Пренатальный скрининг II триместра при спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ

Следующим этапом работы была сравнительная оценка уровня биологических маркеров патологии плода во втором триместре спонтанной беременности и беременности, полученной в результате реализации программы ЭКО и ПЭ.

Были обследованы 349 пациенток со спонтанной беременностью и 127 пациенток с беременностью, наступившей в результате реализации программы ЭКО и ПЭ. Пациентки обеих групп были разделены на четыре подгруппы в зависимости от срока проведения обследования (17, 18, 19 и 20 недель).

В таблице 3.7 представлены концентрации биологических маркеров патологии плода, определявшиеся во втором триместре беременности (ХГч, альфа-фетопротеин (АФП), эстриол (Е3) и 17-ОН-прогестерон (17-ОП)).

Таблица 3.7

Уровень хорионического гонадотропина (МЕ/л.), альфа-фетопротеина (Ед/мл), эстриола (нмоль/л) и 17-ОП (нмоль/л) в сыворотке крови по данным скрининга второго триместра спонтанной беременности (среднее $\pm$ SD)

	Срок беременности (недели)			
	17 (n= 85)	18 (n= 91)	19 (n= 79)	20 (n= 94)
ХГч (МЕ/л).	33482 $\pm$ 12820	30459 $\pm$ 15845	25562 $\pm$ 14095**	23484 $\pm$ 10900**
АФП (Ед/мл)	34,3 $\pm$ 11,6	36,4 $\pm$ 12,2	40,0 $\pm$ 9,9**	57,0 $\pm$ 21,3***
Эстриол (нмоль/л)	7,7 $\pm$ 3,3	9,7 $\pm$ 3,3*	12,8 $\pm$ 5,8**	17,4 $\pm$ 9,0***
17-ОП (нмоль/л)	7,1 $\pm$ 2,0	6,9 $\pm$ 2,1	7,5 $\pm$ 2,5	7,8 $\pm$ 1,9

*- различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении со значениями на сроке 17 недель

** - различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении со значениями на сроке 18 недель

***- различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении со значениями на сроке 19 недель

Концентрация ХГч в крови здоровых беременных женщин во втором триместре постепенно снижалась с увеличением срока гестации. Однако несмотря на очевидную разницу в абсолютных значениях, диагностически значимых различий выявлено не было, поскольку уровень маркера на данном сроке беременности имеет большой разброс: референсный интервал для концентрации ХГч в сыворотке крови на сроке 15-17 недель составляет 15000-60000 МЕ/л, в сроке 18-25 недель – 10000-35000 МЕ/л [31].

Определение концентраций АФП и эстриола в крови при физиологической беременности показало их зависимости от срока гестации. Так, у пациенток, обследованных на 20 неделе, среднее значение данных маркеров было выше, чем у пациенток, обследованных на 17 неделе, в 1,7 и 2,3 раза, соответственно.

Средние значения концентрации 17-ОП в крови не зависели от срока беременности и определялись в пределах от 6,9 до 7,8 нмоль/л.

В группе пациенток с ЭКО-беременностью анализ тех же маркеров во втором триместре беременности, наступившей в результате реализации программы ЭКО и ПЭ, показал во многом сходные результаты; исключение составили только высокие концентрации 17-ОП на протяжении второго триместра (таблица 3.8).

Таблица 3.8

Уровень хорионического гонадотропина (МЕ/л.), альфа-фетопротеина (Ед/мл), эстриола (нмоль/л) и 17-ОП (нмоль/л) в сыворотке крови по данным скрининга второго триместра ЭКО-беременности (среднее $\pm$ SD)

	Срок беременности (недели)			
	17 (n= 22)	18 (n=49)	19 (n=35)	20 (n=21)
ХГч (МЕ/л).	34924 $\pm$ 15836	30840 $\pm$ 15904	27959 $\pm$ 12589*	28219 $\pm$ 19471*
АФП (Ед/мл)	30,5 $\pm$ 13,0	37,0 $\pm$ 16,4*	48,0 $\pm$ 18,6**	61,0 $\pm$ 32,5***
Эстриол (нмоль/л)	8,5 $\pm$ 3,5	11,0 $\pm$ 5,2*	13,2 $\pm$ 5,2*	16,6 $\pm$ 6,7***
17-ОП (нмоль/л)	11,8 $\pm$ 5,5	11,5 $\pm$ 7,5	11,7 $\pm$ 6,5	11,1 $\pm$ 7,4

*- различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении со значениями на сроке 17 недель

** - различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении со значениями на сроке 18 недель

***- различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении со значениями на сроке 19 недель

При сравнении двух групп пациенток не было выявлено достоверных различий уровня ХГч, АФП и эстриола в сыворотке крови в период с 17 до 20 недели гестации (таблица 3.8, рисунок 3.11, 3.12, 3.13). Как при спонтанной, так и при стимулированной беременности уровень ХГч снижался, а концентрации АФП и эстриола возрастали одновременно с увеличением срока.

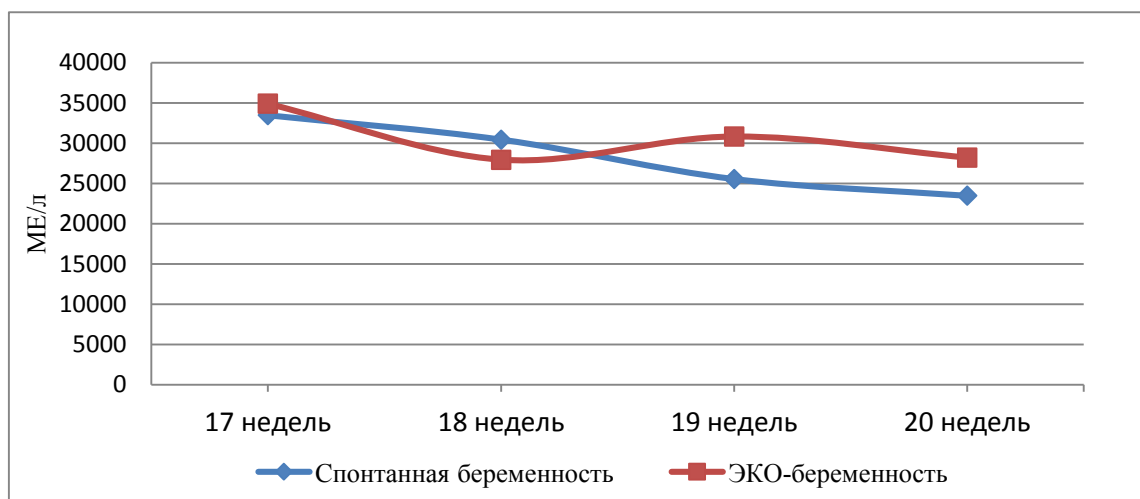


Рисунок 3.11. Динамика концентрации хорионического гонадотропина (МЕ/л) по данным скрининга второго триместра спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ

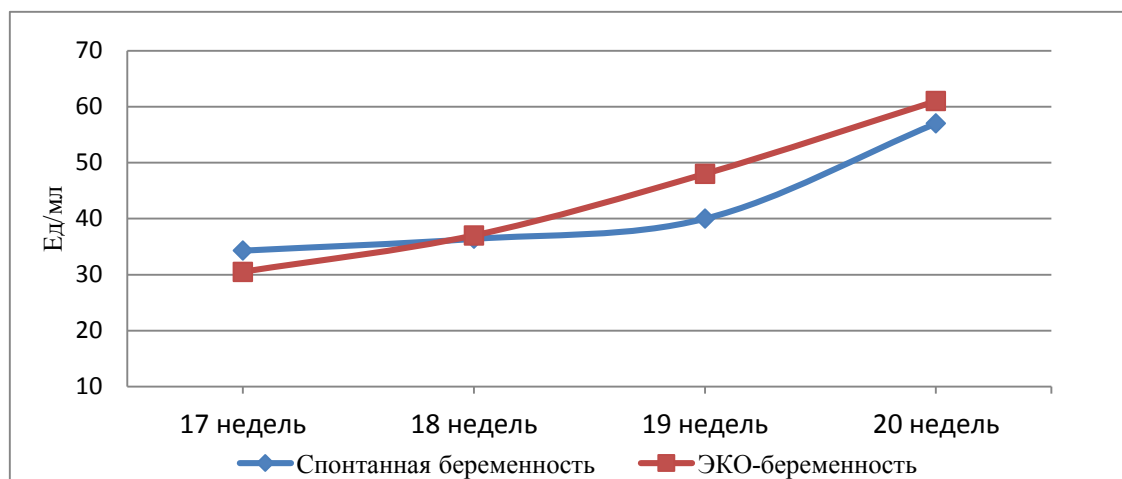


Рисунок 3.12. Динамика концентрации альфа-фетопротеина (Ед/мл) во втором триместре спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ

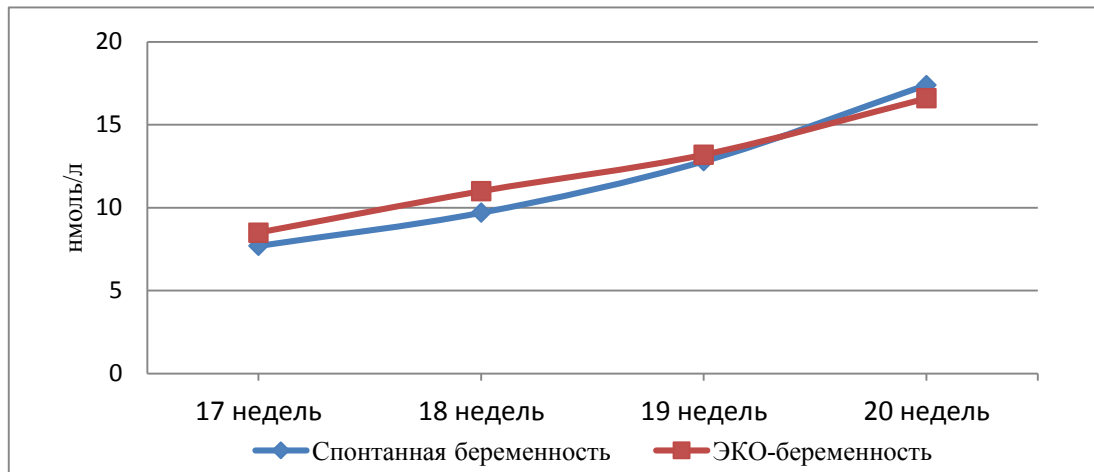


Рисунок 3.13. Динамика концентрации эстриола (нмоль/л) во втором триместре спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ

Абсолютные значения концентрации 17-ОП на всем протяжении второго триместра беременности у пациенток с беременностью после ЭКО и ПЭ были достоверно выше, чем у здоровых беременных женщин (рисунок 3.14). Кроме того, верхняя граница 95% доверительного интервала в случае ЭКО-беременности соответствовала более высокой концентрации данного гормона с 17 по 20 неделю гестации (таблица 3.9).

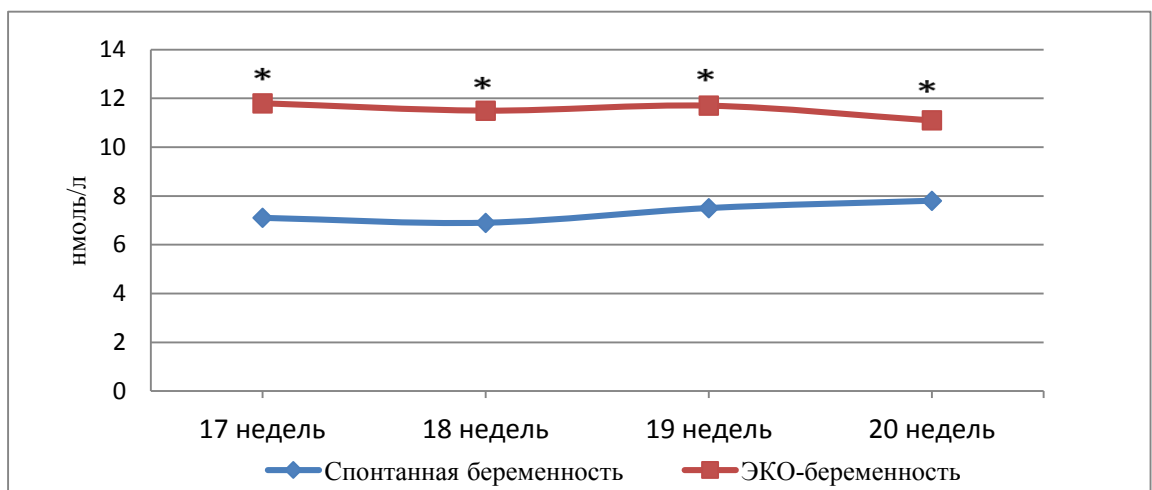


Рисунок 3.14. Динамика концентрации 17-ОН-прогестерона (нмоль/л) во втором триместре спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*-различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

Среднее ($\bar{X}$), медиана (P_{50}) и 95% интервал ($P_{2,5}$ - $P_{97,5}$) концентрации 17-ОН-прогестерона (нмоль/л) в сыворотке крови по данным скрининга второго триместра спонтанной и ЭКО-беременности

	Срок беременности (недели)			
	17	18	19	20
Спонтанная беременность				
$\bar{X}$	7,1	6,9	7,4	7,8
P_{50}	6,8	6,8	6,9	8,0
$P_{2,5}$	5,0	5,1	4,4	5,2
$P_{97,5}$	11,2	10,5	12,9	12,2
ЭКО-беременность				
$\bar{X}$	11,8*	11,5*	11,7*	11,1*
P_{50}	8,1*	9,3*	10,2*	9,3*
$P_{2,5}$	4,4	4,7	5,3	4,8
$P_{97,5}$	15,7	18,4	19,7	15,9

*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке

Таким образом, во втором триместре ЭКО-беременности динамика концентраций биологических маркеров патологии плода в сыворотке крови практически не отличалась от таковой при спонтанной беременности, а имеющиеся количественные различия оцениваемых параметров были либо статистически недостоверны, либо не выходили за границы референсных значений для физиологической беременности. Исключение составил 17-ОН-прогестерон, концентрация которого была выше у пациенток программы ЭКО и ПЭ.

Из представленных результатов следует, что выявляемые при сравнении стимулированной и физиологической беременности количественные различия в сывороточных гормональных показателях, характеризующих формирование фето-плацентарного комплекса, нивелируются к концу первого триместра, исключение составлял лишь более высокий уровень прогестерона.

Сравнительный анализ маркеров пренатального скрининга как в первом, так и во втором триместрах показал одинаковую динамику уровня данных

показателей в сыворотке крови в обеих группах беременных, что позволяет использовать эти маркеры для диагностики патологии плода при беременности, наступившей в результате реализации программы ЭКО и ПЭ. Однако сниженные значения PAPP-A и плацентарного фактора роста в группе ЭКО при скрининге I триместра требуют коррекции медиан при расчете рисков в случае использования вспомогательных репродуктивных технологий, что позволит снизить количество ложноположительных результатов скрининга.

ГЛАВА 4. ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ДИНАМИКЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ ЭКО И ПЭ

Во время беременности в организме женщины происходят многочисленные гематологические изменения [151]. Большинство из них начинается вскоре после зачатия и продолжается до конца беременности. Считается, что они направлены на физиологическую адаптацию и создание оптимальных условий для жизнедеятельности матери и плода [270].

4.1. Референсные интервалы для основных гематологических показателей в динамике физиологической беременности

Прежде всего, на первом этапе были сформированы референсные интервалы гематологических показателей в зависимости от срока спонтанной беременности. Расчет проводился на основании анализа данных, полученных в 6 подгруппах здоровых беременных женщин (таблица 4.1).

Таблица 4.1

Распределение обследованных женщин по подгруппам

Группа	Количество пациентов
Небеременные женщины (контроль)	174
Беременные:	
Подгруппа I (4-8 недель)	168
Подгруппа II (9-13 недель)	123
Подгруппа III (14-20 недель)	179
Подгруппа IV (21-27 недель)	205
Подгруппа V (28-34 недели)	288
Подгруппа VI (35-40 недель)	177

Полученные референсные интервалы в группе здоровых небеременных женщин активного репродуктивного возраста представлены в таблице 4.2. Для сравнения приведены значения референсных интервалов, предоставленных

фирмой-производителем для реагентов, использованных в нашем исследовании (см. главу «Материалы и методы»).

Таблица 4.2

Медиана и 95% референсный интервал для гематологических показателей у здоровых небеременных женщин (контрольная группа)

Показатель	Медиана и референсный интервал для контрольной группы (n=174)	Референсный интервал, предлагаемый производителем реагентов
Эритроциты ($10^{12}/л$)	4,3 3,9 – 4,9	3,9 – 5,2
Гемоглобин (г/л)	129 117-141	112 - 157
Гематокрит (%)	38 34-42	34 - 45
Тромбоциты ($10^9/л$)	244 178-406	182 - 369
СОЭ (мм/ч)	2,5 2,0-8,0	2 - 15
Лейкоциты ($10^9/л$)	6,2 4,1 – 9,0	3,9 – 10,0
Нейтрофилы (%)	56,2 40,6-72,8	34,0 – 71,1
Нейтрофилы ($10^9/л$)	3,5 1,6 – 6,5	1,5 – 6,1
Лимфоциты (%)	33,8 19,7-48,4	19,3 – 51,7
Лимфоциты ($10^9/л$)	2,1 0,8 – 4,3	1,2 – 3,7
Моноциты (%)	7,9 4,8 – 13,8	4,7 – 12,5
Моноциты ($10^9/л$)	0,53 0,19 – 1,24	0,24 – 1,00
Базофилы (%)	0,40 0 – 1,10	0,10 – 1,2
Базофилы ($10^9/л$)	0,02 0 – 0,10	0,01 – 0,08
Эозинофилы (%)	1,70 0,3 – 5,60	0,70 – 5,80
Эозинофилы ($10^9/л$)	0,11 0,01 – 0,68	0,04 – 0,36

Медианы и референсные интервалы для гематологических показателей в подгруппах беременных женщин на сроках 4-8, 9-13, 14-20, 21-27, 28-34, 35-40 недель представлены в таблице 4.3., достоверность различий между группами – в таблице 4.4.

Таблица 4.3

Среднее ($\bar{X}$), медиана (P_{50}) и 95% референсный интервал ($P_{2,5}-P_{97,5}$) для гематологических показателей в динамике физиологической неосложненной беременности
(в скобках приведены 90% доверительные интервалы для верхних и нижних пределов)

Показатель	Контрольная группа	Подгруппа I 4-8 недель	Подгруппа II 9-13 недель	Подгруппа III 14-20 недель	Подгруппа IV 21-27 недель	Подгруппа V 28-34 недель	Подгруппа VI 35-40 недель
Эритроциты (10¹²/л)							
Хср	4,32	4,30	4,10*	3,84*	3,69*	3,79*	3,92*
P ₅₀	4,30	4,27	4,11*	3,81*	3,69*	3,78*	3,91*
P _{2,5}	3,90 (3,82–3,94)	3,65 (3,46 – 3,74)	3,46 (2,63 – 3,62)	3,26 (3,11 – 3,38)	3,15 (3,02 – 3,25)	3,22 (3,17 – 3,32)	3,27 (3,11 – 3,40)
P _{97,5}	4,87 (4,76 – 5,35)	4,92 (4,78 – 5,30)	4,70 (4,60 – 4,86)	4,56(4,45 – 4,89)	4,28 (4,13 – 4,46)	4,37 (4,30 – 4,57)	4,63 (4,48 – 4,87)
Гемоглобин (г/л)							
Хср	129	128	126*	117*	114*	116*	118*
P ₅₀	129	130	125*	118*	114*	116*	119*
P _{2,5}	117 (112 – 118)	106 (105 – 113)	103 (81 – 110)	91 (87 – 100)	96 (88-99)	96 (92 – 97)	97 (86-102)
P _{97,5}	141 (140 – 148)	145 (142 – 152)	145 (141 – 146)	138 (133 – 144)	132 (129 – 133)	136 (131 – 140)	139 (135 – 146)
Гематокрит (%)							
Хср	38,3	36,8	35,6*	33,5*	33,0*	33,6*	34,4*
P ₅₀	38,2	36,8	35,5*	33,7*	33,1*	33,7*	34,5*
P _{2,5}	33,8 (33,5 – 34,4)	31,9 (30,9 – 32,5)	29,6 (23,3 – 31,8)	28,2 (27,0 – 29,2)	28,6 (27,5 – 29,2)	28,4 (27,6 – 29,4)	29,5 (26,9 – 30,3)
P _{97,5}	42,4 (42,3 – 43,7)	41,2 (40,1 – 42,0)	40,7 (39,9 – 53,8)	38,5 (37,6 – 39,8)	37,5 (36,8 – 38,6)	38,7 (38,1 – 39,2)	39,5 (38,6 – 41,9)
Тромбоциты (10⁹/л)							
Хср	251	258	239*	232*	233*	225*	212*
P ₅₀	244	256	241*	225*	229*	219*	206*
P _{2,5}	178 (171 – 179)	175 (166-181)	165 (129 – 171)	141 (113 – 154)	161 (145 – 164)	133 (123 – 141)	118 (107 – 128)
P _{97,5}	406 (405 – 419)	395 (339 – 452)	368 (327-447)	363 (334 – 447)	341 (324 – 347)	348 (325 – 372)	340 (308 – 397)
СОЭ (мм/ч)							
Хср	2,93	4,65*	6,16*	9,87*	12,45*	16,79*	19,48*
P ₅₀	2,50	3,00*	5,00*	8,00*	10,50*	15,00*	18,00*
P _{2,5}	2,00 (2,00 – 2,00)	2,00 (2,00 – 2,00)	2,00 (2,00-2,00)	2,00 (2,00-2,00)	2,10(2,00-3,00)	3,00 (2,00-5,00)	3,43 (2,00-6,00)
P _{97,5}	8,00 (7,00 – 8,00)	19,00 (16,00–25,0)	16,87 (15,0-23,0)	27,20 (24,0-40,0)	33,85 (28,0-43,0)	39,00 (33,0-44,0)	43,58 (36,6-54,7)

*- различие с показателем у небеременных женщин достоверно при $p < 0,05$

Таблица 4.3 (продолжение)

Лейкоциты (10⁹/л)							
Хср	6,29	8,35*	8,65*	9,29*	9,91*	10,22*	9,78*
P ₅₀	6,22	8,02*	8,18*	9,00*	9,77*	9,94*	9,60*
P _{2,5}	4,05 (3,2-4,4)	5,41 (4,9 – 5,9)	5,15 (4,8 – 5,6)	5,14 (5,0 – 6,1)	6,45 (5,6 – 7,0)	6,62 (6,1 – 7,1)	6,02 (5,4 – 6,6)
P _{97,5}	8,97 (8,6- 9,7)	14,75 (12,1–14,9)	13,34 (12,7–13,8)	13,50 (13,0–16,1)	15,00 (14,2–15,3)	15,90 (14,7–16,3)	14,61 (13,9–20,7)
Нейтрофилы (%)							
Хср	55,1	66,3*	67,9*	69,59*	71,07*	70,85*	69,66*
P ₅₀	56,2	65,2*	68,6*	69,60*	72,00*	71,20*	70,10*
P _{2,5}	40,6 (37,7 – 40,8)	50,2 (49,4 – 54,0)	51,47 (46,1–56,2)	57,10 (53,4–58,4)	57,02 (52,3–61,1)	59,80(58,4–61,8)	55,48 (52,4–60,4)
P _{97,5}	72,8 (68,5 – 76,9)	83,1 (80,1 – 86,8)	79,70 (77,6–84,3)	81,85 (79,7- 84,0)	80,60 (79,9–81,9)	79,33 (78,8–81,1)	79,28 (77,9–82,3)
Нейтрофилы (10⁹/л)							
Хср	3,47	5,53*	5,88*	6,46*	7,04*	7,24*	6,81*
P ₅₀	3,50	5,23*	5,61*	6,26*	7,03*	7,08*	6,73*
P _{2,5}	1,64 (1,53 – 1,65)	2,71 (2,67 – 2,92)	2,65 (2,37– 2,89)	2,93 (2,74 – 3,00)	3,68 (3,37 – 3,94)	3,96 (3,86 – 4,09)	3,34 (3,15 – 3,64)
P _{97,5}	6,53 (6,14 – 6,90)	12,25 (11,82 - 12,8)	10,63(10,35-11,25)	11,05 (10,76-11,34)	12,09 (11,99-12,29)	12,61 (12,5-12,99)	11,58 (11,40-12,02)
Лимфоциты (%)							
Хср	33,8	24,3*	22,8*	21,1*	19,5*	19,2*	20,4*
P ₅₀	33,8	25,0*	22,8*	20,8*	19,0*	18,8*	19,6*
P _{2,5}	19,7 (15,8–21,9)	10,9 (9,1 – 12,4)	11,8 (10,8 15,1)	13,0 (10,3–13,6)	12,0(10,6– 13,1)	10,8(10,0– 12,9)	12,5 (11,8–13,7)
P _{97,5}	48,4 (47,4–51,9)	36,8 (33,2–37,5)	35,1 (36,1–45,2)	31,6 (30,0–38,3)	29,1 (28,3–30,3)	28,1 (27,1–29,3)	30,2 (28,7–36,4)
Лимфоциты (10⁹/л)							
Хср	2,13	2,02*	1,98*	1,96*	1,93*	1,97*	2,00*
P ₅₀	2,11	2,01*	1,87*	1,87*	1,86*	1,87*	1,88*
P _{2,5}	0,80 (0,64 – 0,89)	0,59 (0,49 – 0,67)	0,61 (0,56 – 0,78)	0,67 (0,53 – 0,70)	0,78 (0,68 – 0,85)	0,72 (0,66 – 0,85)	0,75(0,71 – 0,83)
P _{97,5}	4,34 (4,25 – 4,66)	4,43 (4,02-5,53)	4,19 (4,02 - 6,02)	4,27 (4,05 - 5,17)	4,36 (4,25 - 4,55)	4,47 (4,31 - 4,66)	4,41 (4,20 – 5,32)
Моноциты (%)							
Хср	8,44	7,90	7,42*	7,06*	7,34*	8,14	8,58
P ₅₀	7,95	7,60	7,10*	7,00*	7,20*	8,00	8,40
P _{2,5}	4,80 (4,70 – 5,70)	5,02 (4,00 – 5,60)	4,82 (4,50 – 5,10)	4,30 (3,70 – 4,80)	4,62 (4,30 – 4,90)	5,12(4,80 – 5,50)	5,34 (4,90 – 5,70)
P _{97,5}	13,80 (13,10– 15,1)	13,5 (11,10–14,2)	12,24 (10,90–13,6)	10,11 (9,70 – 11,6)	11,62 (10,20–12,8)	12,38 (11,30-13,0)	13,40 (12,10-16,10)
Моноциты (10⁹/л)							
Хср	0,53	0,66*	0,64*	0,66*	0,73*	0,83*	0,84*
P ₅₀	0,49	0,61*	0,58*	0,63*	0,70*	0,80*	0,81*
P _{2,5}	0,19 (0,19-0,23)	0,27 (0,22 – 0,30)	0,25 (0,23 – 0,26)	0,22 (0,19 - 0,25)	0,30 (0,28 – 0,32)	0,34 (0,32 – 0,36)	0,32 (0,29-0,34)
P _{97,5}	1,24 (1,17-1,35)	1,99 (1,64 – 2,09)	1,63 (1,45-1,81)	1,36 (1,31-1,57)	1,74 (1,53-1,92)	1,97 (1,80 – 2,07)	1,96 (1,77-2,35)

* - различие с показателем у небеременных женщин достоверно при p<0,05

Таблица 4.3 (окончание)

Базофилы (%)							
Xcp	0,41	0,31*	0,24*	0,22*	0,21*	0,22*	0,20*
P ₅₀	0,40	0,30*	0,20*	0,20*	0,20*	0,20*	0,20*
P _{2,5}	0,00 (0,00 – 0,20)	0,10 (0,00 – 0,20)	0,10 (0,00 – 0,10)	0,10 (0,00 – 0,10)	0,10 (0,00 – 0,10)	0,10 (0,00 – 0,10)	0,10(0,00 – 0,10)
P _{97,5}	1,10 (1,00 – 1,40)	0,86 (0,80 – 1,20)	0,54 (0,50 – 0,80)	0,60(0,50 – 1,20)	0,50 (0,40 – 0,60)	0,50 (0,40 – 0,80)	0,41 (0,40 – 0,90)
Базофилы (10⁹/л)							
Xcp	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
P ₅₀	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
P _{2,5}	0,00 (0,00 – 0,08)	0,01(0,00-0,01)	0,01 (0,00-0,01)	0,01(0,00-0,01)	0,01 (0,00-0,01)	0,01 (0,00-0,01)	0,01 (0,00-0,01)
P _{97,5}	0,10 (0,09-0,13)	0,13(0,12-0,18)	0,07 (0,07-0,11)	0,08(0,07-0,16)	0,08 (0,06-0,09)	0,08 (0,06 – 0,13)	0,06 (0,06 – 0,13)
Эозинофилы (%)							
Xcp	2,20	1,24*	1,57*	2,11*	1,90*	1,55*	1,13*
P ₅₀	1,70	1,00*	1,10*	1,20*	1,30*	1,00*	0,90*
P _{2,5}	0,30 (0,00 – 0,50)	0,10 (0,00 – 0,20)	0,11 (0,00 – 0,30)	0,20 (0,00 – 0,30)	0,32 (0,10 – 0,50)	0,22 (0,20 – 0,30)	0,25 (0,10– 0,30)
P _{97,5}	5,60 (4,90 – 6,30)	3,78 (3,30 – 6,40)	7,40 (4,50 – 9,30)	9,55 (8,80 – 11,40)	9,93 (5,80 – 13,00)	7,36(5,70 – 9,30)	3,65 (2,80 – 5,30)
Эозинофилы (10⁹/л)							
Xcp	0,14	0,10	0,14	0,20*	0,19*	0,16	0,11
P ₅₀	0,11	0,08	0,09	0,11	0,13	0,10	0,09
P _{2,5}	0,01 (0,00 – 0,02)	0,01 (0,00 – 0,01)	0,01 (0,00 – 0,02)	0,01 (0,00 – 0,02)	0,02 (0,015-0,08)	0,02(0,01-0,02)	0,02 (0,01-0,02)
P _{97,5}	0,68 (0,53 – 0,74)	0,56 (0,49 – 0,94)	0,99 (0,60 – 1,24)	1,29 (1,19 – 1,54)	1,49 (0,87 – 1,95)	1,17(0,91 – 1,48)	0,53 (0,41 – 0,77)
*- различие с показателем у небеременных женщин достоверно при p<0,05							

Таблица 4.4

Достоверность различия значений гематологических показателей между подгруппами пациенток с физиологической беременностью

	Эритроциты	Гемоглобин	Гематокрит	Тромбоциты	Лимфоциты	Нейтрофилы %	Лимфоциты %	Моноциты %	Базофилы %	Эозинофилы %
Контроль/I	NS	NS	NS	NS	*	*	*	NS	NS	NS
Контроль/II	*	*	*	NS	*	*	*	*	NS	NS
Контроль/III	*	*	*	*	*	*	*	*	NS	NS
Контроль/IV	*	*	*	*	*	*	*	*	NS	NS
Контроль/V	*	*	*	*	*	*	*	*	NS	NS
Контроль/VI	*	*	*	*	*	*	*	NS	NS	NS
I/II	*	*	*	NS	NS	NS	*	*	NS	NS
I/III	*	*	*	*	*	*	*	*	NS	NS
I/IV	*	*	*	*	*	*	*	*	NS	NS
I/V	*	*	*	*	*	*	*	NS	NS	NS
I/VI	*	*	*	*	*	*	*	*	NS	NS
II/III	*	*	*	NS	*	NS	*	*	NS	NS
II/IV	*	*	*	NS	*	*	*	NS	NS	NS
II/V	*	*	*	*	*	*	*	*	NS	NS
II/VI	*	*	NS	*	*	*	*	*	NS	NS
III/IV	*	*	NS	NS	*	NS	NS	*	NS	NS
III/V	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	*	NS	NS
III/VI	NS	NS	NS	*	*	NS	NS	*	NS	NS
IV/V	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS
IV/VI	*	*	*	*	NS	NS	NS	*	NS	NS
V/VI	*	*	*	*	*	NS	NS	NS	NS	NS

*- различие достоверно при $p < 0,05$, NS- различие недостоверно

Средние значения количества эритроцитов, концентрации гемоглобина и гематокрита в крови женщин с неосложненным течением беременности снижались, начиная со второй половины первого триместра, и достигали минимальных значений к 21-27 неделе гестации. К родам происходило незначительное повышение данных показателей, но при этом они оставались достоверно ниже значений в контрольной группе (таблица 4.3, рисунок 4.1, 4.2).

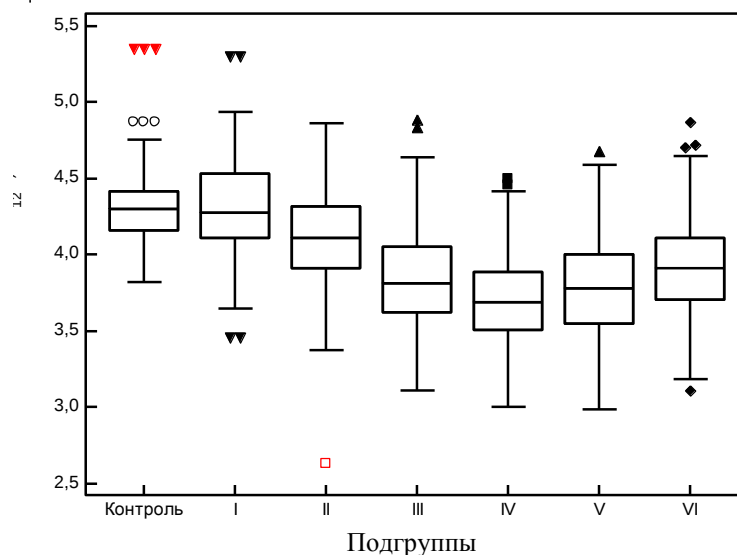


Рисунок 4.1. Количество эритроцитов в крови ($\times 10^{12}/\text{л}$) в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

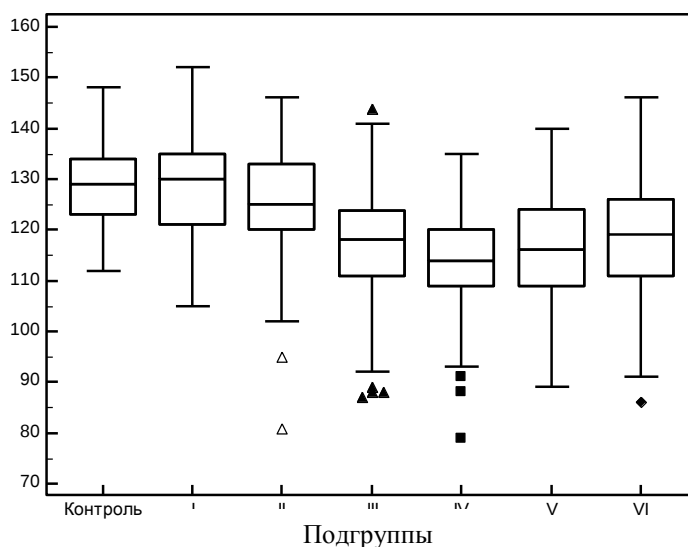


Рисунок 4.2. Концентрация гемоглобина в крови (г/л) в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

Количество тромбоцитов в динамике беременности постепенно снижалось от $258 \times 10^9/\text{л}$ в первом триместре до $212 \times 10^9/\text{л}$ к концу третьего триместра. Нижняя граница референсного интервала перед родами составила $118 \times 10^9/\text{л}$. (таблица 4.3, рисунок 4.3).

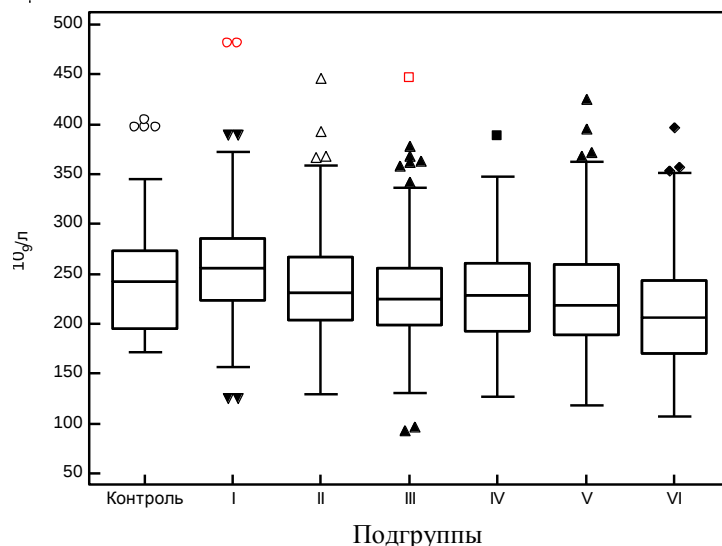


Рисунок 4.3. Количество тромбоцитов в крови ($\times 10^9/\text{л}$) в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

Оценка скорости оседания эритроцитов (СОЭ) показала, что верхняя граница её референсного интервала изменялась от 19 мм/ч в первом триместре до 44 мм/ч на сроке 35-40 недель (таблица 4.3, рисунок 4.4).

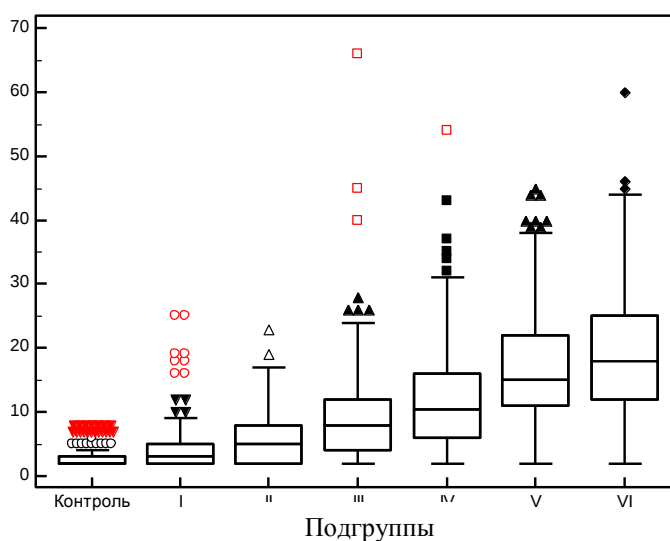


Рисунок 4.4. СОЭ (мм/ч) в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

Общее количество лейкоцитов в крови повышалось с первых недель беременности. С конца второго триместра средние значения этого показателя в подгруппах беременных составляли от $9,78 \times 10^9/\text{л}$ до $10,22 \times 10^9/\text{л}$ (таблица 4.3, рисунок 4.5), а референсные интервалы находились в пределах $6,0 \times 10^9/\text{л}$ – $15,9 \times 10^9/\text{л}$. Увеличение количества лейкоцитов происходило в основном за счет нейтрофилов – их абсолютное и относительное число возрастало одновременно с общим количеством лейкоцитов. Также в динамике беременности отмечалось повышение абсолютного количества моноцитов и снижение абсолютного количества лимфоцитов. Максимальные абсолютные количества моноцитов выявлялись в третьем триместре. Не было обнаружено достоверных различий при оценке абсолютного количества базофилов и эозинофилов в контрольной группе и у беременных женщин, однако относительное число моноцитов, лимфоцитов, эозинофилов и базофилов (т.е. их число во фракции лейкоцитов) было достоверно ниже, чем в контрольной группе, за счет лейкоцитоза и нейтрофилеза.

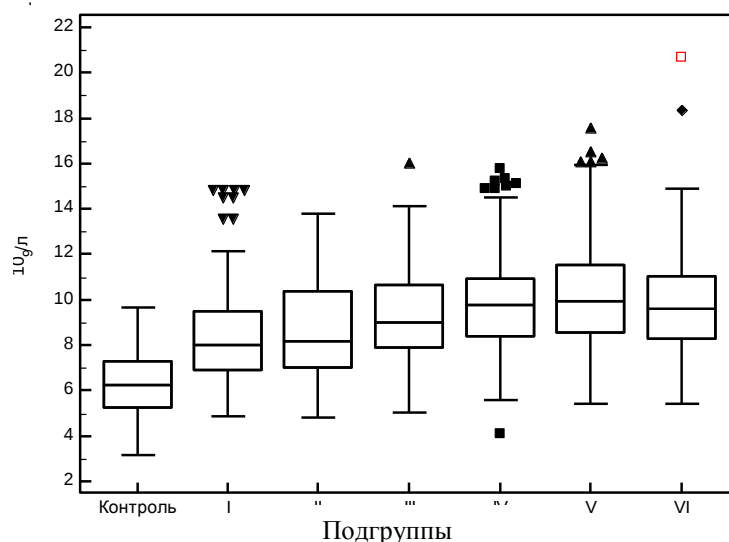


Рисунок 4.5. Общее количество лейкоцитов в крови ($\times 10^9/\text{л}$) в динамике физиологической беременности (на графике: бокс – 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

Наряду с приведенными характеристиками клеточного состава крови в динамике спонтанной беременности, были получены референсные интервалы для исследованных 16 параметров общеклинического анализа крови, рассчитанные с

учетом гестационного срока (таблица 4.3). Полученные результаты подтверждают существующее мнение об физиологических изменениях основных гематологических показателей при неосложненной беременности [151,270].

4.2. Сравнительный анализ гематологических показателей в динамике физиологической и беременности после ЭКО и ПЭ

Для оценки исходных показателей клинического анализа крови пациентки с бесплодием, включенные в данное исследование, были обследованы перед началом реализации программы ЭКО и ПЭ. Полученные результаты в сопоставлении с соответствующими показателями здоровых небеременных женщин представлены в таблица 4.5.

Таблица 4.5

Гематологические параметры небеременных здоровых женщин и женщин с длительным бесплодием (среднее $\pm$ SD)

	Небеременные женщины (контрольная группа, n=174)	Пациентки с бесплодием (n=52)
Эритроциты ($10^{12}/л$)	4,3 $\pm$ 0,3	4,4 $\pm$ 0,4
Гемоглобин (г/л)	128,9 $\pm$ 7,3	131,3 $\pm$ 7,9
Гематокрит (%)	38,3 $\pm$ 2,3	38,2 $\pm$ 2,3
Тромбоциты ($10^9/л$)	251 $\pm$ 61	250 $\pm$ 49
СОЭ (мм/ч)	2,9 $\pm$ 1,8	3,3 $\pm$ 2,2
Лейкоциты ($10^9/л$)	6,3 $\pm$ 1,4	6,3 $\pm$ 1,5
Нейтрофилы (%)	55,1 $\pm$ 8,5	58,7 $\pm$ 9,4
Нейтрофилы ($10^9/л$)	3,5 $\pm$ 0,5	3,7 $\pm$ 0,6
Лимфоциты (%)	33,8 $\pm$ 7,7	30,3 $\pm$ 7,4
Лимфоциты ($10^9/л$)	2,2 $\pm$ 0,4	1,9 $\pm$ 0,4
Моноциты (%)	8,4 $\pm$ 2,3	8,6 $\pm$ 2,3
Моноциты ($10^9/л$)	0,5 $\pm$ 0,2	0,54 $\pm$ 0,3
Базофилы (%)	0,4 $\pm$ 0,2	0,5 $\pm$ 0,3
Базофилы ($10^9/л$)	0,02 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01
Эозинофилы (%)	2,2 $\pm$ 1,7	2,0 $\pm$ 1,7
Эозинофилы ($10^9/л$)	0,14 $\pm$ 0,10	0,13 $\pm$ 0,10

При сравнении данных предварительного обследования с данными контрольной группы (небеременные здоровые женщины) не было выявлено различий ни по одному исследуемому показателю.

Следующим этапом работы был сравнительный анализ показателей в динамике спонтанной беременности и неосложненной беременности после ЭКО. Распределение пациенток программы ЭКО по подгруппам в зависимости от гестационного срока показано в таблица 4.6.

Таблица 4.6

Распределение пациенток программы ЭКО и ПЭ по подгруппам

Группа	Количество пациенток
Небеременные женщины с бесплодием (группа сравнения)	52
Беременные после ЭКО и ПЭ:	
Подгруппа I (4-8 недель)	58
Подгруппа II (9-13 недель)	51
Подгруппа III (14-20 недель)	47
Подгруппа IV (21-27 недель)	58
Подгруппа V (28-34 недели)	44
Подгруппа VI (35-40 недель)	49

В подгруппах ЭКО динамика изменения количества эритроцитов, концентрации гемоглобина, гематокрит и СОЭ совпадала с таковой при физиологической беременности (таблица 4.7, рисунок 4.6, 4.7). Однако, начиная с конца первого триместра, средние значения количества эритроцитов у пациенток программы ЭКО и ПЭ были достоверно ниже (рисунок 4.6). Также наблюдалось снижение уровня гемоглобина на гестационном сроке 9-20 недель (рисунок 4.7). При этом все значения данных показателей в группах укладывались в соответствующие физиологические референсные интервалы (таблица 4.3).

Таблица 4.7

Среднее ($\bar{X}$), медиана (P_{50}) и 95% интервал ($P_{2,5}$ - $P_{97,5}$) для уровня гемоглобина, гематокрита, количества эритроцитов и СОЭ в динамике ЭКО-беременности

Показатель	Группа сравнения	Подгруппы беременных					
		I	II	III	IV	V	VI
Эритроциты (10¹²/л)							
Хср	4,37	4,25*	3,99*	3,64*	3,52*	3,67*	3,72*
P ₅₀	4,33	4,29*	3,94*	3,59*	3,53*	3,60*	3,60*
P _{2,5}	3,87	3,66	3,48	3,16	3,10	3,20	3,24
P _{97,5}	5,17	4,68	4,50	4,73	4,33	4,20	4,31
Гемоглобин (г/л)							
Хср	131,3	125,7	122,4*	113,9*	111,3*	113,9*	120,4*
P ₅₀	131,5	129,0	123,0*	113,0*	111,0*	114,5*	119,0*
P _{2,5}	115,1	112,0	110,3	100,0	98,7	95,0	106,0
P _{97,5}	145,0	143,0	137,0	135,9	134,2	133,4	135,0
Гематокрит (%)							
Хср	38,3	36,4	34,7*	32,8*	32,0*	33,1*	34,5*
P ₅₀	38,2	36,6	35,1*	32,7*	32,4*	33,0*	33,9*
P _{2,5}	33,7	31,0	29,7	28,0	28,3	28,8	31,2
P _{97,5}	42,6	40,6	38,0	40,1	37,8	38,5	38,9
СОЭ (мм/ч)							
Хср	3,34	5,71*	5,90*	9,29*	9,81*	18,49*	18,08*
P ₅₀	2,00	3,50*	3,00*	9,00*	8,00*	16,00*	16,50*
P _{2,5}	2,22	2,00	2,00	2,00	2,00	4,32	6,00
P _{97,5}	10,50	13,00	22,00	24,00	26,60	40,42	42,00

*- различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении с исходным уровнем (до беременности)

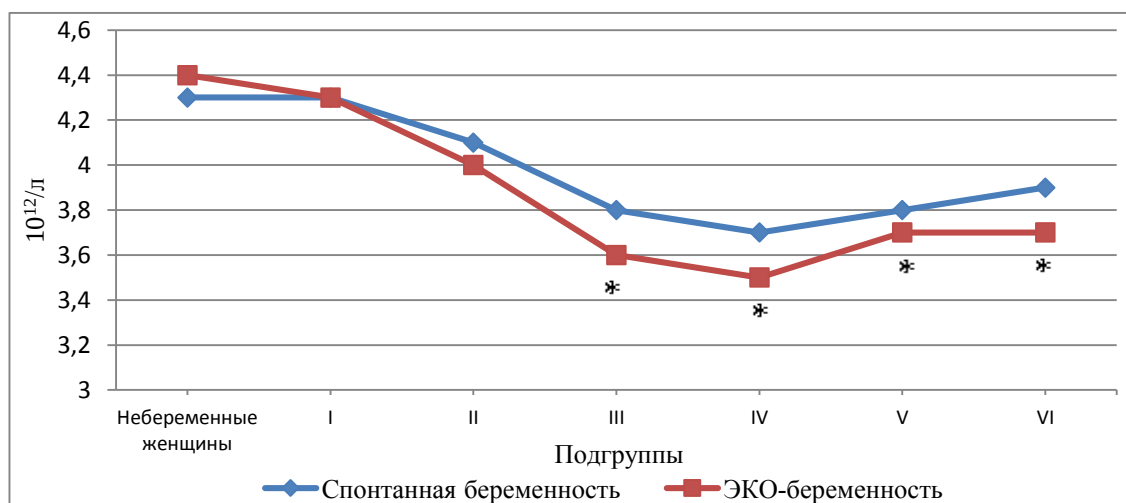


Рисунок 4.6. Количество эритроцитов ($10^{12}/л$) в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

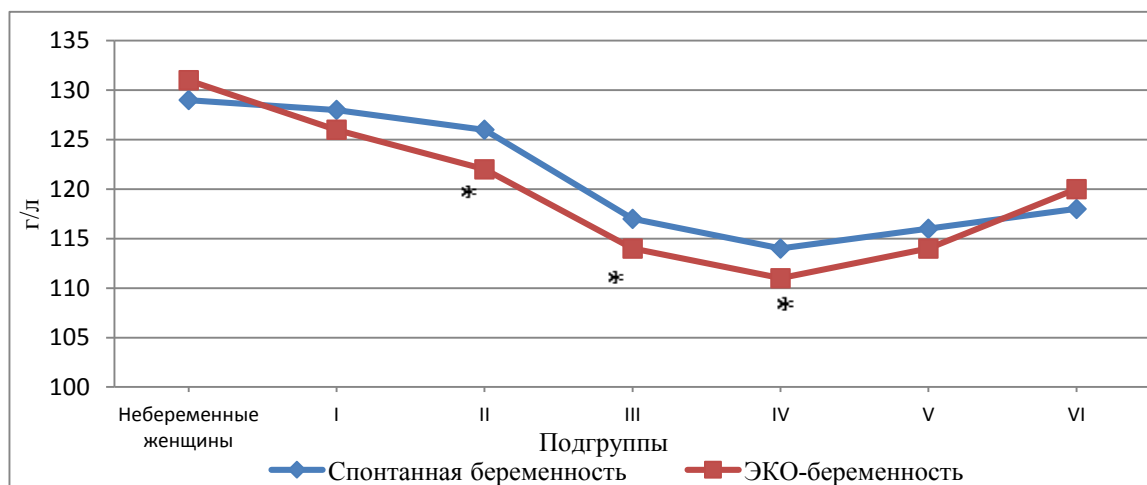


Рисунок 4.7. Уровень гемоглобина (г/л) в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

При сравнении количества тромбоцитов значимые различия были выявлены только на ранних сроках беременности. У пациенток программы ЭКО и ПЭ на сроке 4-8 недель данный показатель был достоверно выше, чем у женщин с бесплодием (группа сравнения) и у здоровых беременных на том же сроке (таблица 4.3, 4.8, рисунок 4.8). Это, скорее всего, связано с повышенным уровнем половых гормонов, обусловленным проведением стимуляции суперовуляции, и с активацией свертывающей системы. Следует отметить, что для данного показателя на сроке 4-8 недель потребовалась коррекция референсного интервала, который составил $214 \times 10^9/\text{л}$ - $415 \times 10^9/\text{л}$ (референсный интервал для спонтанной беременности $175 \times 10^9/\text{л}$ - $395 \times 10^9/\text{л}$). Минимальные значения количества тромбоцитов, как и при спонтанной беременности, наблюдались на последних неделях гестации.

Таблица 4.8

Среднее ($\bar{X}$), медиана (P_{50}) и 95% интервал ($P_{2,5}$ - $P_{97,5}$) для количества тромбоцитов в динамике ЭКО-беременности

Показатель	Группа сравнения	Подгруппы беременных					
		I	II	III	IV	V	VI
Тромбоциты (10 ⁹ /л)							
Хср	250	296*	244	255	255	220*	193*
P ₅₀	238	295*	254	254	252	210*	184*
P _{2,5}	169	214	181	161	152	132	132
P _{97,5}	363	415	334	344	372	330	273

*- различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении с исходным уровнем (до беременности)

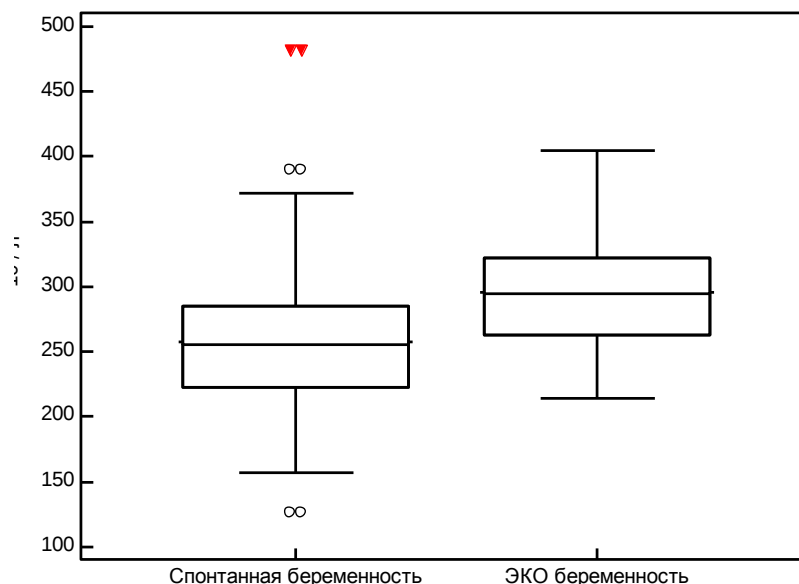


Рисунок 4.8. Количество тромбоцитов ($10^9/\text{л}$) на сроке 4-8 недель беременности

Определение общего количества лейкоцитов и лейкоцитарной формулы (%) в динамике ЭКО-беременности показало, что характер изменений этих показателей в целом совпадает с таковым при физиологической беременности (таблица 4.3, 4.9).

Таблица 4.9

Среднее ($\bar{X}$), медиана (P_{50}) и 95% интервал ($P_{2,5}-P_{97,5}$) для общего количества лейкоцитов ($10^9/\text{л}$) и лейкоцитарной формулы (%) в динамике ЭКО-беременности

Показатель	Группа сравнения	Подгруппы беременных					
		I	II	III	IV	V	VI
Лейкоциты($10^9/\text{л}$)							
$\bar{X}$	6,31	10,96*	9,15*	9,49*	10,33*	10,22*	9,58*
P_{50}	6,20	10,58*	9,38*	9,10*	9,96*	9,75*	9,69*
$P_{2,5}$	3,94	6,61	6,57	6,05	7,18	6,70	6,55
$P_{97,5}$	9,13	17,65	12,11	13,81	14,92	15,38	15,78
Нейтрофилы (%)							
$\bar{X}$	56,6	69,4*	64,8*	68,6*	69,6*	69,2*	69,4*
P_{50}	56,8	70,2*	65,2*	69,7*	69,8*	70,3*	68,2*
$P_{2,5}$	37,9	46,6	55,5	55,0	59,3	58,4	55,1
$P_{97,5}$	77,8	80,4	76,4	79,2	77,6	80,4	74,0
Лимфоциты (%)							
$\bar{X}$	33,2	22,1*	24,9*	22,1*	20,4*	20,4*	21,1*
P_{50}	33,7	21,8*	24,6*	21,3*	19,7*	20,1*	21,2*
$P_{2,5}$	16,0	11,8	15,9	12,2	12,5	10,8	16,6
$P_{97,5}$	48,4	36,1	35,7	32,9	29,6	30,5	34,0
Моноциты (%)							
$\bar{X}$	8,60	6,86*	7,48*	7,20*	7,51*	8,13*	8,68
P_{50}	8,45	6,90*	7,60*	6,80*	7,45*	8,15*	8,85

P _{2,5}	4,24	4,60	5,50	4,80	4,64	4,98	6,20
P _{97,5}	14,72	9,20	10,70	10,40	11,12	12,50	12,40
Базофилы (%)							
Хср	0,48	0,26*	0,28*	0,20*	0,27*	0,20*	0,26*
P ₅₀	0,50	0,20*	0,30*	0,20*	0,20*	0,20*	0,20*
P _{2,5}	0,08	0,10	0,10	0,00	0,10	0,06	0,00
P _{97,5}	1,32	0,80	0,50	0,40	0,60	0,44	0,50
Эозинофилы (%)							
Хср	2,00	1,41*	1,68*	1,83*	2,09	1,44*	1,16*
P ₅₀	1,66	0,80*	1,50*	1,30*	1,40	1,15*	1,10*
P _{2,5}	0,16	0,20	0,20	0,47	0,49	0,36	0,20
P _{97,5}	7,56	3,40	6,00	6,23	7,67	7,67	3,65

*- различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении с исходным уровнем (до беременности)

Значимые различия со спонтанной беременностью отмечались только в первом триместре. Так, на сроке 4-8 недель у пациенток программы ЭКО и ПЭ уровень лейкоцитов, абсолютное число ($10^9/\text{л}$) нейтрофилов и моноцитов были выше, чем при спонтанной беременности в 1,3, 1,4 и в 1,2 раза соответственно (рисунок 4.9, 4.10), что, по-видимому, связано с сохраняющимся влиянием стимуляции суперовуляции, а именно, с повышенным уровнем половых гормонов. В дальнейшем динамика данных показателей в обеих группах беременных была практически одинаковой.

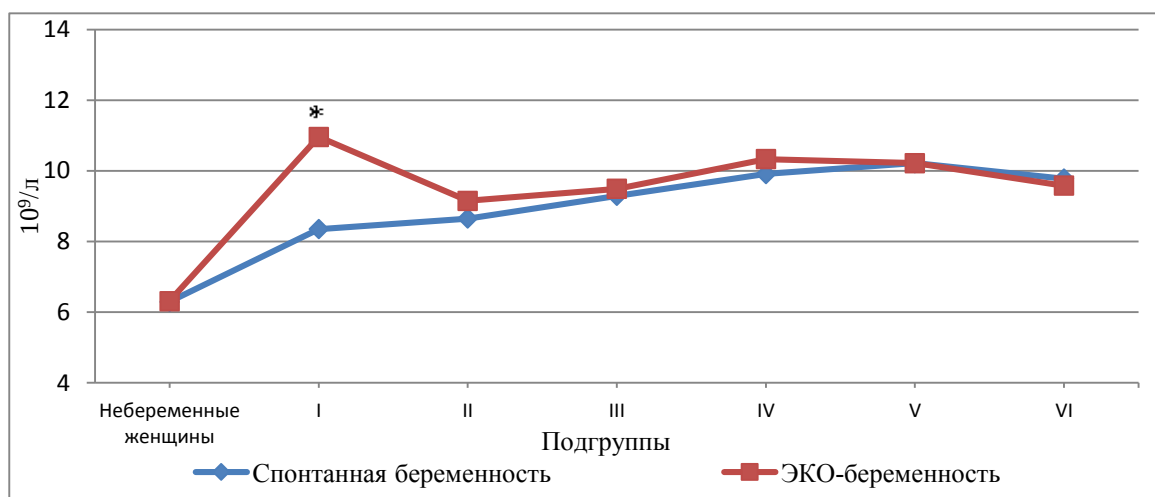


Рисунок 4.9. Общее количество лейкоцитов ($10^9/\text{л}$) в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

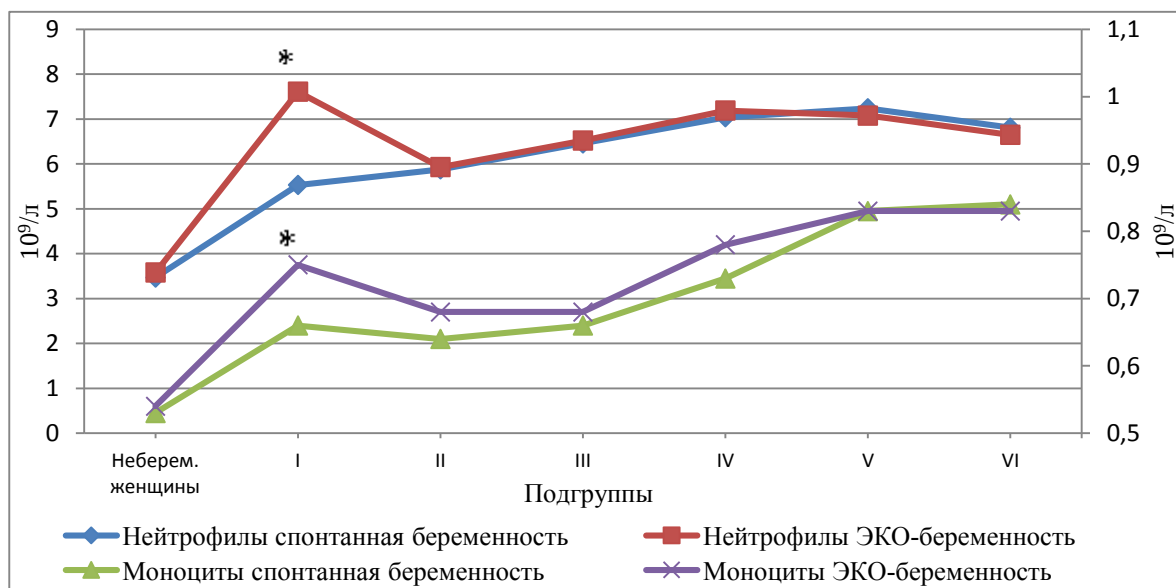


Рисунок 4.10. Абсолютное количество нейтрофилов и моноцитов ($10^9/\text{л}$) в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

При этом коррекция референсного интервала потребовалась только для общего количества лейкоцитов на сроке 4-8 недель (таблица 4.9, рисунок 4.11): он составил $6,7 \times 10^9/\text{л} - 17,7 \times 10^9/\text{л}$, тогда как соответствующий референсный интервал при спонтанной беременности – $5,5 \times 10^9/\text{л} - 14,8 \times 10^9/\text{л}$ (таблица 4.3).

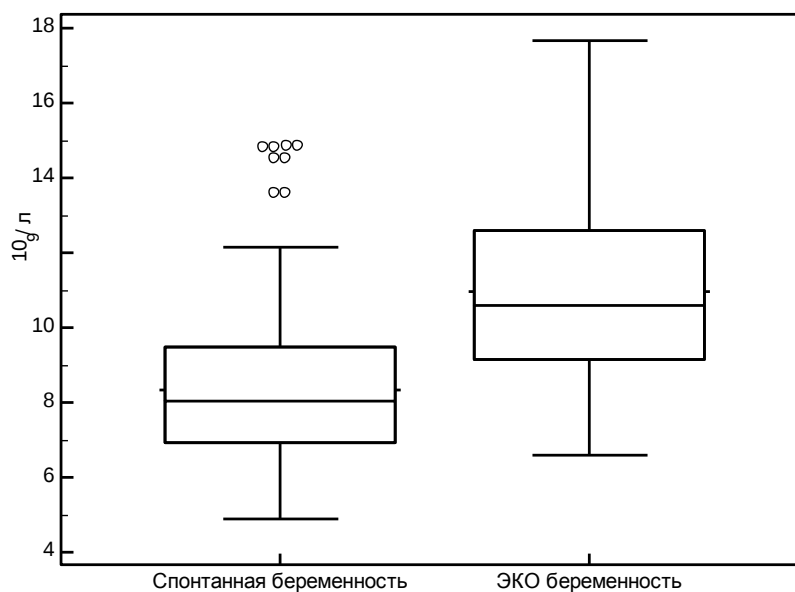


Рисунок 4.11. Общее количество лейкоцитов ($10^9/\text{л}$) на сроке 4-8 недель беременности

Не было обнаружено достоверных различий при сравнении обеих групп по таким показателям, как относительное количество (%) лимфоцитов, моноцитов, базофилов и эозинофилов, которые были ниже, чем у небеременных женщин, за счет лейкоцитоза и нейтрофилии (таблицы 4.3, 4.9).

При анализе абсолютного количества лимфоцитов ($10^9/\text{л}$) были выявлены более высокие средние значения в подгруппах ЭКО на всех сроках не только по сравнению со спонтанной беременностью, но и по сравнению с исходным состоянием (группа сравнения) (рисунок 4.12). Тем не менее, все значения данного показателя укладывались в полученные референсные интервалы для физиологической беременности (таблица 4.3).

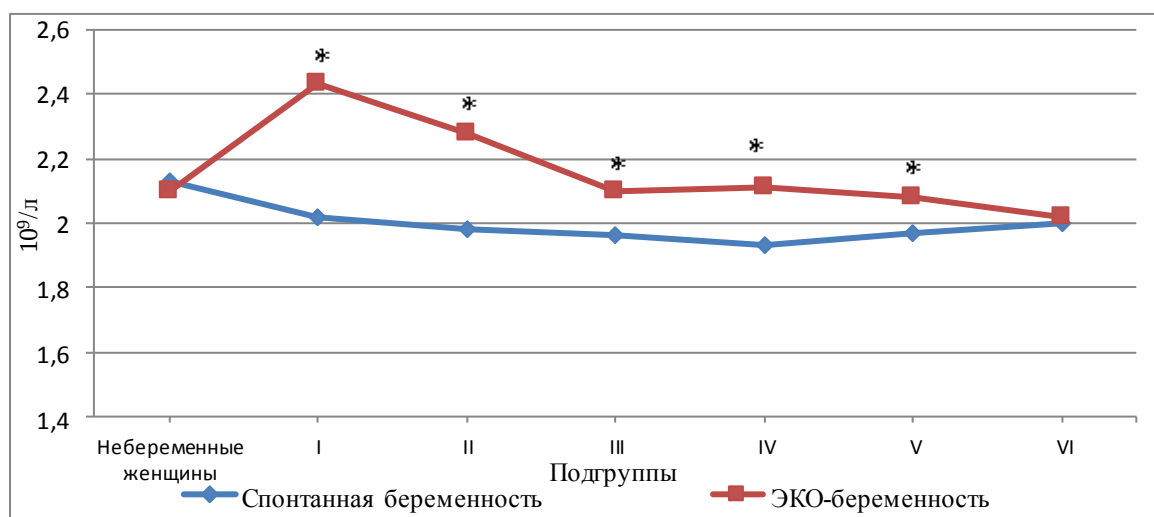


Рисунок 4.12. Абсолютное количество лимфоцитов ($10^9/\text{л}$) в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

В целом, результаты, представленные в данном разделе исследования, показали следующее:

1. Для оценки гематологических показателей у беременных необходимо использовать референсные значения, рассчитанные для каждого гестационного возраста. Использование у беременных референсных значений для небеременных женщин может привести к неправильной интерпретации клинического анализа крови.

2. Основные показатели общего клинического анализа крови у здоровых небеременных женщин активного репродуктивного периода и женщин с длительным бесплодием, включенных в данное исследование, практически не различались.
3. Сравнительный анализ гематологических показателей показал одинаковую динамику при физиологической беременности и при беременности, наступившей в результате реализации программы ЭКО и ПЭ. Исключение составило значимое повышение в первые недели ЭКО-беременности таких параметров, как общее количество лейкоцитов, абсолютное число нейтрофилов и моноцитов, количество тромбоцитов, что, по-видимому, связано с сохраняющимся влиянием стимуляции суперовуляции.
4. Интерпретация результатов обследования пациенток с ЭКО-беременностью может проводиться с использованием референсных интервалов, полученных для физиологической беременности. Исключением являлись показатели общего количества лейкоцитов и тромбоцитов на гестационном сроке 4-8 недель. Согласно результатам анализа, на данном сроке ЭКО-беременности референсные интервалы для этих показателей отличались от установленных при спонтанной беременности на том же сроке и составили: для общего количества лейкоцитов – $6,6 \times 10^9/\text{л}$ – $17,7 \times 10^9/\text{л}$, для количества тромбоцитов – $214 \times 10^9/\text{л}$ - $415 \times 10^9/\text{л}$.

ГЛАВА 5. ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОСТАЗА В ДИНАМИКЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ ЭКО И ПЭ

В норме у здоровой женщины во время беременности последовательно развивается ряд существенных изменений в системе гемостаза, непосредственно связанных с меняющимся гормональным фоном [38,270,334]. Беременность влияет на регуляцию свертывания крови преимущественно за счет повышения уровня эстрогенов, которое приводит к увеличению выработки тромбина и повышению свертывающей способности крови. Это изменение можно рассматривать как подготовку к ожидаемой кровопотере в родах [270]. В литературе приводятся референсные интервалы для гемостазиологических показателей у беременных [38,149,150,155,246,], но не во всех исследованиях соблюдаются рекомендации Международной федерации клинической химии (IFCC) и Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI) [94,297]. Кроме того, определяемые границы референсных интервалов во многом зависят от таких факторов, как особенности исследуемой популяции, тип лабораторного оборудования и используемые методы анализа [152]. Из этого следует, что, как правило, каждая лаборатория должна использовать собственные валидированные (выверенные) референсные интервалы показателей, установленные в зависимости от срока беременности, для конкретной популяции, с использованием конкретных методов и лабораторного оборудования.

5.1. Референсные интервалы для гемостазиологических лабораторных показателей в динамике физиологической беременности

Референсные интервалы в зависимости от срока беременности были рассчитаны на основании анализа данных, полученных в 6 группах беременных женщин (таблица 5.1).

Распределение обследованных женщин по группам

Группа	Количество пациентов
Небеременные женщины (контроль)	125
Беременные:	
Подгруппа I (4-8 недель)	138
Подгруппа II (9-13 недель)	139
Подгруппа III (14-20 недель)	129
Подгруппа IV (21-27 недель)	140
Подгруппа V (28-34 недели)	145
Подгруппа VI (35-40 недель)	137

Полученные референсные интервалы в группе здоровых небеременных женщин активного репродуктивного возраста представлены в таблице 5.2. Для сравнения приведены значения референсных интервалов, предоставленных фирмой-производителем для реагентов, использованных в нашем исследовании (см. главу «Материалы и методы»).

Таблица 5.2

Медиана и 95% референсный интервал гемостазиологических показателей у здоровых небеременных женщин

Показатель	Небеременные женщины (контроль) (n=125)	Референсный интервал, предлагаемый производителем реагентов
Протромбиновое время (сек)	13,4 12,9 – 13,9	12,2 – 15,7
Протромбин по Квику (%)	97 89 - 105	>70
АЧТВ (сек)	38,0 35,0 – 41,0	28.0 – 42.0
Тромбиновое время (сек)	15,7 15,0 – 18,0	14.0 – 21.0
Фибриноген (мг/дл)	302 215 - 345	200 - 400
Фактор Виллебранда (%)	93 85 - 108	80 - 140
Антитромбин III (%)	105 89 - 122	80 - 120
Протеин С (%)	108 98-134	70 - 130
D-димер (мкг/мл)	0,28 0,12 - 0,4	0.0 - 0.5

Медианы, а также референсные интервалы и доверительные интервалы их верхних и нижних пределов для показателей системы гемостаза в подгруппах здоровых беременных женщин на сроках 4-8, 9-13, 14-20, 21-27, 28-34, 35-40 недель представлены в таблице 5.3, а достоверность различий между подгруппами – в таблице 5.4. Как видно из данных таблица 5.4, во всех подгруппах беременных женщин медианы исследуемых показателей значимо отличались от соответствующих показателей в контрольной группе.

При сравнении исследуемых подгрупп беременности было выявлено, что протромбиновое время (ПВ), тромбиновое время (ТВ) и АЧТВ имели тенденцию к укорочению с возрастанием гестационного срока (рисунки 5.1–5.3). ПВ и АЧТВ достигали минимальных значений на сроке 21-27 недель беременности, в то время как ТВ достигало своего минимума в период 28-34 недели.

Среднее (Хср), медиана (Р₅₀) и 95% референсный интервал (Р_{2,5}-Р_{97,5}) для показателей системы гемостаза в динамике физиологической неосложненной беременности
(в скобках приведены 90% доверительные интервалы для верхних и нижних пределов)

Показатель	Контрольная группа	Подгруппа I 4-8 недель	Подгруппа II 9-13 недель	Подгруппа III 14-20 недель	Подгруппа IV 21-27 недель	Подгруппа V 28-34 недель	Подгруппа VI 35-40 недель
Протромбиновое время (сек)							
Хср	13,4	13,6	13,3	12,5*	12,6*	12,5*	12,7*
Р ₅₀	13,4	13,7	13,2	12,3*	12,4*	12,5*	12,6*
Р _{2,5}	12,9 (12,7-13,0)	12,0 (11,3-12,5)	11,8 (10,7-12,2)	11,4 (11,4-11,6)	11,3 (11,2-11,9)	11,0 (10,9-11,2)	11,7 (11,5-11,7)
Р _{97,5}	13,9 (13,9-14,0)	14,9 (14,6-15,7)	15,2 (15,0-15,5)	14,2 (13,7-14,3)	13,8 (13,6-13,9)	13,5 (13,4-13,5)	14,6 (14,4-14,9)
Протромбин по Квику (%)							
Хср	97	95	99	115*	112*	113*	113*
Р ₅₀	97	93	100	118*	116*	110*	112*
Р _{2,5}	89 (87-90)	78 (77-80)	75 (72-77)	87 (85-93)	91 (88-92)	95 (89-97)	85 (81-88)
Р _{97,5}	105 (104-108)	125 (120-128)	133 (121-135)	143 (140-144)	129 (128-133)	145 (144-147)	139 (135-143)
АЧТВ (сек)							
Хср	38,0	35,4*	35,4*	31,3*	31,5*	30,6*	30,6*
Р ₅₀	38,0	35,6*	34,5*	31,1*	30,6*	30,7*	29,9*
Р _{2,5}	35,0 (33,9-35,0)	28,2(26,2-29,1)	28,4(25,9-29,1)	26,4(26,3-27,1)	24,9(24,6-27,3)	25,8(25,1-26,6)	27,3(24,6-27,8)
Р _{97,5}	41,0 (41,0-42,4)	41,7(41,5-42,5)	42,0(41,0 -43,9)	39,1(36,7-40,1)	39,1(37,6-45,3)	35,2(34,7-35,3)	37,9(35,4-42,8)
Тромбиновое время (сек)							
Хср	16,0	15,2*	15,1*	15,0*	14,9*	14,9*	15,5
Р ₅₀	15,7	15,4*	15,0*	15,1*	14,9*	14,7*	14,9*
Р _{2,5}	15,0 (14,9-15,3)	13,6 (13,1-13,9)	13,5 (12,4-13,9)	13,3 (13,2-13,4)	13,7 (13,7-13,8)	13,0 (12,9-13,4)	13,0 (12,7--13,2)
Р _{97,5}	18,0 (17,3-18,1)	16,8 (16,7-17,3)	17,0 (16,4-17,6)	17,2 (16,4-17,4)	17,3 (16,7-17,5)	16,7 (16,5-16,9)	16,4 (16,2-16,7)
Фибриноген (мг/дл)							
Хср	298	346*	375*	419*	446*	445*	477*
Р ₅₀	302	335*	370*	429*	434*	416*	463*
Р _{2,5}	215 (215-251)	244 (232-253)	255 (221-274)	284 (241-300)	326 (324-331)	347 (337-363)	340 (326-365)
Р _{97,5}	345 (341-358)	528 (471-593)	555 (496-585)	614 (587-642)	674 (600-724)	690 (620-733)	630 (580-641)
Фактор Виллебранда (%)							
Хср	94	118*	142*	172*	199*	221*	246*
Р ₅₀	93	118*	136*	148*	185*	215*	237*
Р _{2,5}	85 (84-87)	67 (67-69)	93 (79-97)	76 (73-84)	97 (97-104)	158 (158-161)	148 (141-183)
Р _{97,5}	108 (104-110)	184 (172-197)	238 (210-279)	325 (322-332)	331 (318-335)	305 (291-318)	362 (329-370)

*-различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой

Таблица 5.3 (окончание)

Показатель	Контрольная группа	Подгруппа I 4-8 недель	Подгруппа II 9-13 недель	Подгруппа III 14-20 недель	Подгруппа IV 21-27 недель	Подгруппа V 28-34 недель	Подгруппа VI 35-40 недель
Антитромбин III (%)							
Хср	107	102	100*	99*	100*	104	95*
P ₅₀	105	102	99*	99*	99*	101	94*
P _{2,5}	89 (84-90)		76 (72-82)	80 (77-81)	81 (77-87)	80 (78-89)	76 (75-80)
P _{97,5}	122 (122-124)	81 (75-85) 119 (117-126)	123 (117-131)	122 (118-127)	128 (119-129)	125 (124-127)	117 (109-120)
Протенин С (%)							
Хср	109	100*	104*	108	99*	100*	105
P ₅₀	108	96*	103*	105	101*	101*	101*
P _{2,5}	98 (97-99)	75 (73-79)	81 (72-83)	75 (71-82)	81 (78-82)	85 (83-87)	85 (80-87)
P _{97,5}	134 (125-135)	132 (128-141)	133 (131-136)	133 (130-133)	118 (116-122)	114 (112-116)	120 (118-128)
D-димер (мкг/мл)							
Хср	0,26	0,32	0,37*	0,61*	0,76*	1,23*	1,26*
P ₅₀	0,28	0,27	0,39*	0,50*	0,65*	1,24*	1,20*
P _{2,5}	0,12 (0,11-0,12)	0,1 (0,05–0,12)	0,1(0,05-0,12)	0,12(0,1-0,16)	0,3(0,3-0,31)	0,45(0,45-0,51)	0,78 (0,77-0,8)
P _{97,5}	0,4 (0,38 – 0,41)	0,9 (0,74-1,12)	1,32 (0,9-1,43)	1,53(1,46-1,65)	2,03(1,66-2,1)	2,32(2,23-2,33)	2,13 (1,87-2,14)

*-различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой

Достоверность различия значений коагулологических тестов между подгруппами

	ПВ	Протромбин по Квику	АЧТВ	Фибрино-ген	ТВ	ФВ	АТIII	РС	D-димер
Контроль/I	NS	NS	*	*	*	*	NS	*	NS
Контроль/II	NS	NS	*	*	*	*	*	*	*
Контроль/III	*	*	*	*	*	*	*	NS	*
Контроль/IV	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Контроль/V	*	*	*	*	*	*	NS	*	*
Контроль/VI	*	*	*	*	*	*	*	*	*
I/II	*	*	NS	*	*	*	NS	*	NS
I/III	*	*	*	*	*	*	NS	*	*
I/IV	*	*	*	*	*	*	NS	NS	*
I/V	*	*	*	*	*	*	NS	NS	*
I/VI	*	*	*	*	*	*	*	NS	*
II/III	*	*	*	*	NS	NS	NS	NS	*
II/IV	*	*	*	*	NS	*	NS	*	*
II/V	*	*	*	*	NS	*	NS	NS	*
II/VI	*	*	*	*	NS	*	*	NS	*
III/IV	NS	NS	NS	*	NS	*	NS	*	*
III/V	NS	NS	NS	*	NS	*	NS	*	*
III/VI	NS	NS	*	*	NS	*	*	*	*
IV/V	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	*
IV/VI	NS	NS	NS	*	NS	*	*	NS	*
V/VI	NS	NS	NS	*	NS	*	*	NS	NS

*- различие достоверно при $p < 0,05$; NS- различие недостоверно

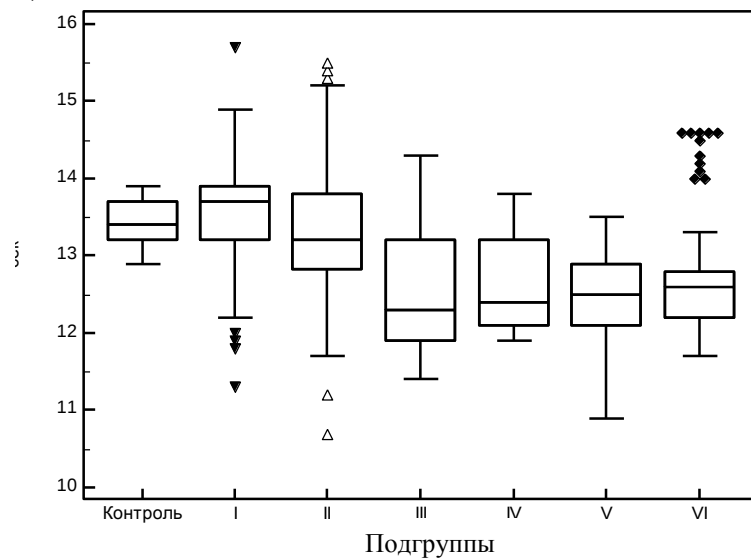


Рисунок 5.1. Протромбиновое время (сек) в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

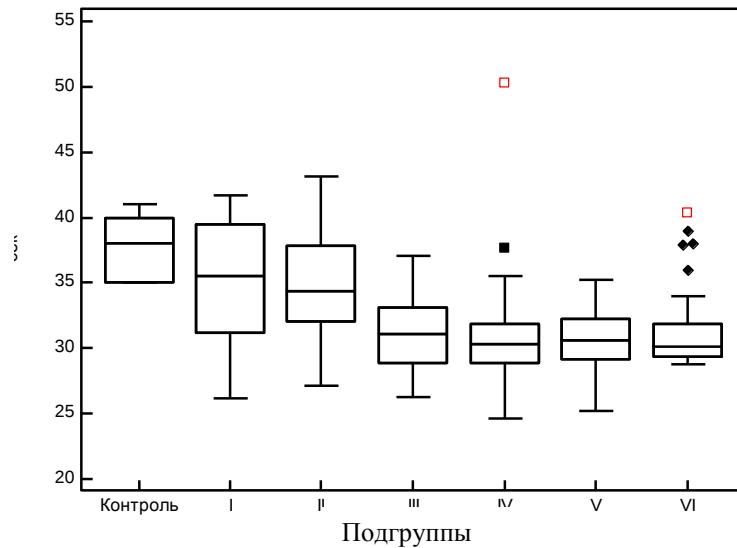


Рисунок 5.2. АЧТВ (сек) в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

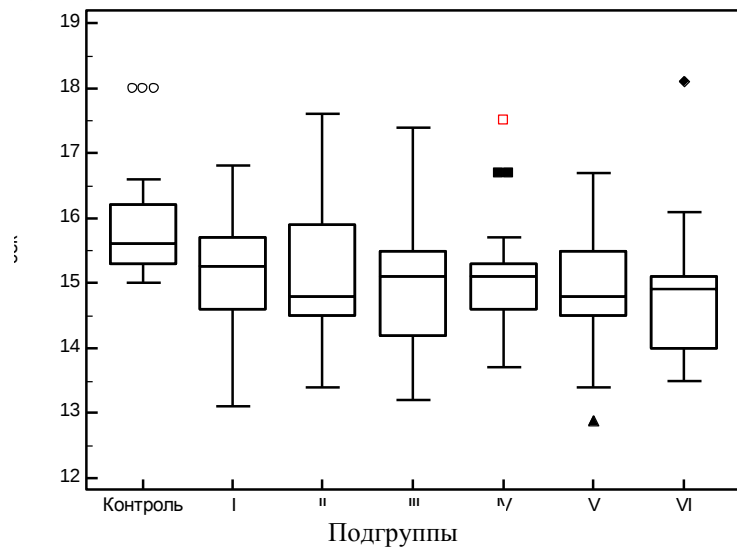


Рисунок 5.3. Тромбиновое время (сек) в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

Нормальная беременность, как гиперкоагуляционное состояние ассоциируется с повышением уровня различных факторов свертывания, в том числе фактора Виллебранда (ФВ) и фибриногена, а также с увеличением синтеза и активности тромбина. В данном исследовании уровень фибриногена

значимо возрастал к 20-й неделе спонтанной беременности, превышая к концу беременности исходный уровень в 1,6 раза (рисунок 5.4).

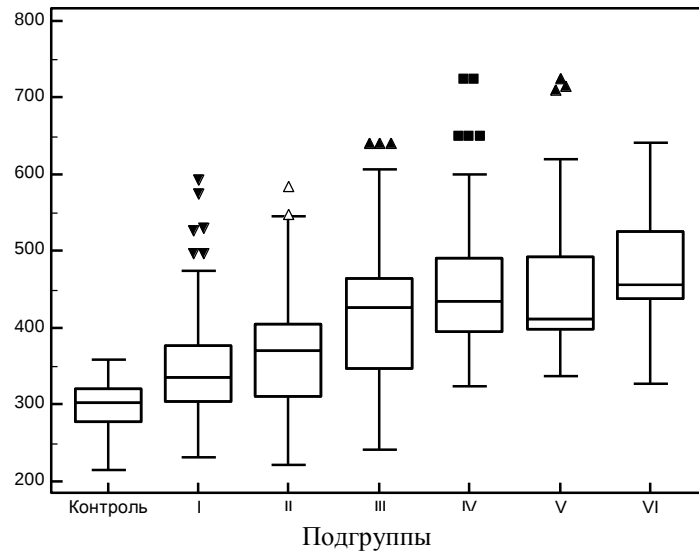


Рисунок 5.4. Фибриноген (мг/дл) в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

Прирост уровня ФВ по сравнению с исходным к концу первого триместра составлял до 46%, а к родам – до 150% (рисунок 5.5).

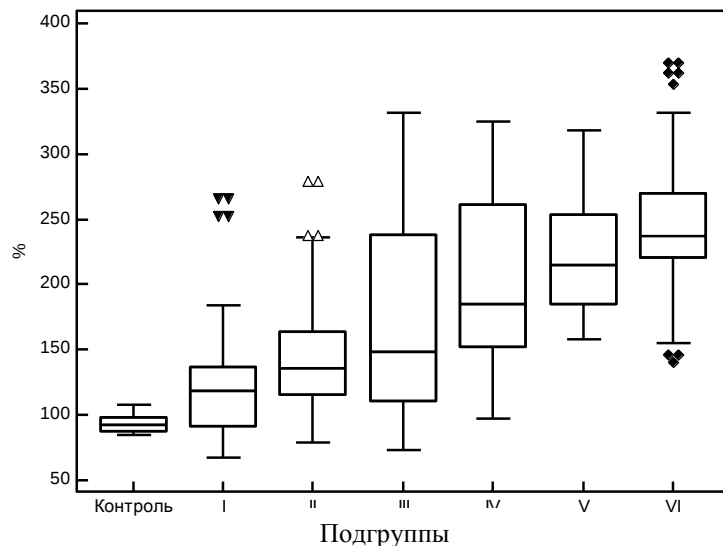


Рисунок 5.5. Фактор Виллебранда (%) в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

Концентрация D-димера непрерывно возрастала на протяжении всей беременности и достигала максимальных значений (до 2,1-2,3 мкг/мл) в третьем триместре (рисунок 5.6).

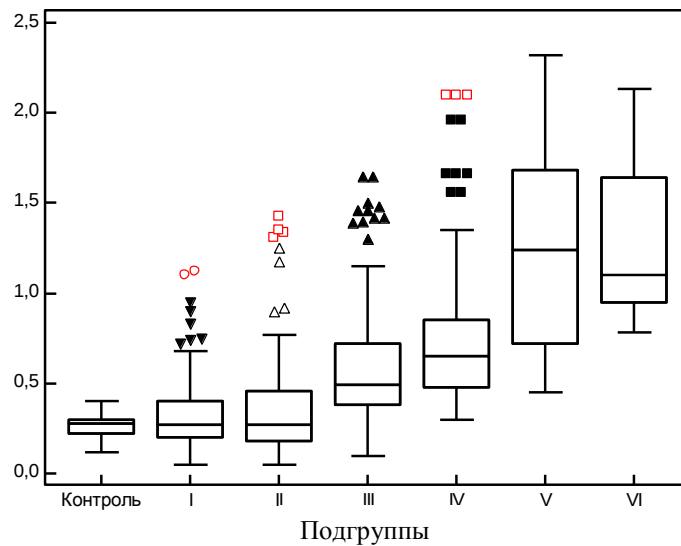


Рисунок 5.6. D-димер (мкг/мл) в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 персентиля)

Значения медиан антитромбина III и протеина С были ниже, чем у небеременных женщин, и оставались стабильными на протяжении всей беременности. Можно отметить лишь незначительное снижение медианы антитромбина III перед родами и небольшое повышение значений протеина С на сроке 14-20 недель по сравнению с другими подгруппами беременных (рисунки 5.7, 5.8).

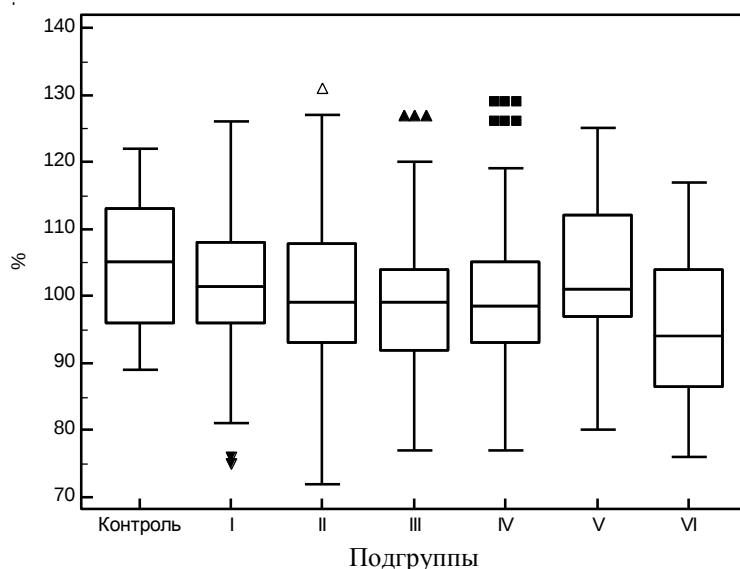


Рисунок 5.7. Антитромбин (%) в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

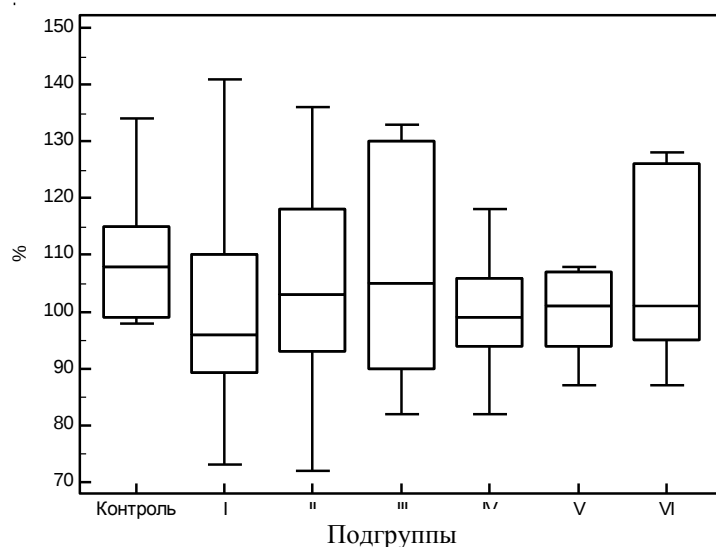


Рисунок 5.8. Протеин С (%) в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

Результаты данного этапа работы позволили сформировать референсные интервалы для восьми гемостазиологических показателей в зависимости от срока физиологической беременности. Расчеты производились согласно правилам, регламентированным руководствами CLSI и IFCC. Полученные интервалы могут быть использованы в других клинко-диагностических

лабораториях после соответствующей валидации, выполненной согласно требованиям Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI). Считается, что любая лаборатория может использовать предлагаемые референсные интервалы как свои собственные, если при тестировании 20 образцов крови пациентов со сходными клиническими характеристиками не более 2 результатов выходят за границы данных референсных интервалов [94,298,311].

Таким образом, приведенные данные показали, что для оценки исследованных параметров системы гемостаза у беременных необходимо использовать референсные значения, рассчитанные для конкретного гестационного срока, что необходимо для точной интерпретации полученных результатов.

5.2. Сравнительный анализ гемостазиологических показателей в динамике физиологической и беременности после ЭКО и ПЭ

Для оценки исходных показателей системы гемостаза пациентки с бесплодием, включенные в данное исследование, были обследованы перед началом реализации программы ЭКО и ПЭ. Полученные результаты в сопоставлении с соответствующими показателями здоровых небеременных женщин представлены в таблице 5.5.

Таблица 5.5

Параметры гемостаза у здоровых небеременных женщин и у женщин с бесплодием (среднее $\pm$ SD)

Параметр	Контрольная группа (n=125)	Пациентки с бесплодием (n=70)
Протромбиновое время (сек)	13,3 $\pm$ 0,34	13,2 $\pm$ 0,41
Протромбин по Квику (%)	96,7 $\pm$ 5,2	96,0 $\pm$ 7,7
АЧТВ (сек)	37,9 $\pm$ 2,2	38,0 $\pm$ 0,4
Тромбиновое время (сек)	16,0 $\pm$ 0,7	16,3 $\pm$ 1,1
Фибриноген (мг/дл)	298,4 $\pm$ 32,5	285,1 $\pm$ 45,4
Фактор Виллебранда (%)	93,5 $\pm$ 6,5	90,1 $\pm$ 21,1
Антитромбин III (%)	106,6 $\pm$ 10,2	102,7 $\pm$ 10,7*
Протеин С (%)	108,5 $\pm$ 10,4	101,0 $\pm$ 17,4*
D-димер (мкг/мл)	0,26 $\pm$ 0,07	0,26 $\pm$ 0,1

*- различие достоверно при $p<0,05$

Как видно из приведенных результатов, значения всех показателей у небеременных женщин с длительным бесплодием не отличались от таковых у здоровых небеременных женщин. Исключение составляли активности антитромбина III и протеина С, средние значения которых у небеременных женщин с длительным бесплодием были достоверно ниже значений в контрольной группе (таблица 5.5), но при этом не выходили за рамки референсного интервала для здоровых небеременных женщин (таблица 5.2).

Следующим этапом работы был сравнительный анализ гемостазиологических показателей в группах женщин в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ в зависимости от гестационного срока (таблица 5.6).

Таблица 5.6

Распределение пациенток программы ЭКО и ПЭ по подгруппам

Группа	Количество пациентов
Небеременные женщины с бесплодием (группа сравнения)	70
Беременные (группа ЭКО и ПЭ):	
Подгруппа I (4-8 недель)	68
Подгруппа II (9-13 недель)	73
Подгруппа III (14-20 недель)	31
Подгруппа IV (21-27 недель)	36
Подгруппа V (28-34 недели)	44
Подгруппа VI (35-40 недель)	41

Оценка таких скрининговых параметров гемостаза, как протромбиновое время, АЧТВ и тромбиновое время, показала, что их изменения в динамике беременности, полученной в результате использования программы ЭКО и ПЭ, идентичны таковым при спонтанной беременности (таблица 5.7, рисунки 5.9–5.11). Исключение составляло более низкое значение протромбинового времени в первые недели беременности, когда еще сохранялся повышенный гормональный уровень после стимуляции овуляции (см. главу 3). При этом все значения укладывались в референсный интервал, рассчитанный для спонтанной беременности.

Таблица 5.7

Среднее ($\bar{X}$), медиана (P_{50}) и 95% интервал ($P_{2,5}-P_{97,5}$) для скрининговых показателей гемостаза в динамике ЭКО-беременности

Показатель	Группа сравнения	Подгруппы беременных					
		I	II	III	IV	V	VI
Протромбиновое время (сек)							
$\bar{X}$	13,2	13,0*	13,1	12,7*	12,5*	12,7*	12,8*
P_{50}	13,3	13,0*	13,2	12,9*	12,6*	12,7*	12,8*
$P_{2,5}$	12,9	11,9	12,0	11,9	11,8	11,6	11,7
$P_{97,5}$	14,1	14,6	14,7	13,7	14,0	13,8	14,4
Протромбин по Квику (%)							
$\bar{X}$	96,0	103,5*	101,6	109,6*	113,3*	109,3*	107,2*
P_{50}	98,0	103,0*	101,0	106,0*	112,0*	109,5*	107,0*
$P_{2,5}$	87,0	81,0	79,6	92,2	87,8	91,6	83,6
$P_{97,5}$	105,0	128,0	125,3	129,7	130,8	138,6	134,9
АЧТВ (сек)							
$\bar{X}$	37,5	35,0*	34,8*	30,5*	32,0*	31,6*	32,7*
P_{50}	38,0	35,5*	34,4*	30,9*	33,1*	31,7*	31,9*
$P_{2,5}$	32,0	27,7	29,3	24,6	24,9	24,6	34,6
$P_{97,5}$	42,0	41,8	41,0	35,5	37,1	37,1	40,1
Тромбинное время (сек)							
$\bar{X}$	16,3	15,2*	15,0*	14,9*	14,8*	15,2*	15,1*
P_{50}	16,1	14,9*	14,9*	14,9*	14,4*	15,6*	15,2*
$P_{2,5}$	15,7	13,1	13,5	13,2	13,2	13,2	13,2
$P_{97,5}$	18,4	18,6	17,5	16,4	17,7	16,7	17,2

*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении с исходным уровнем (до беременности)

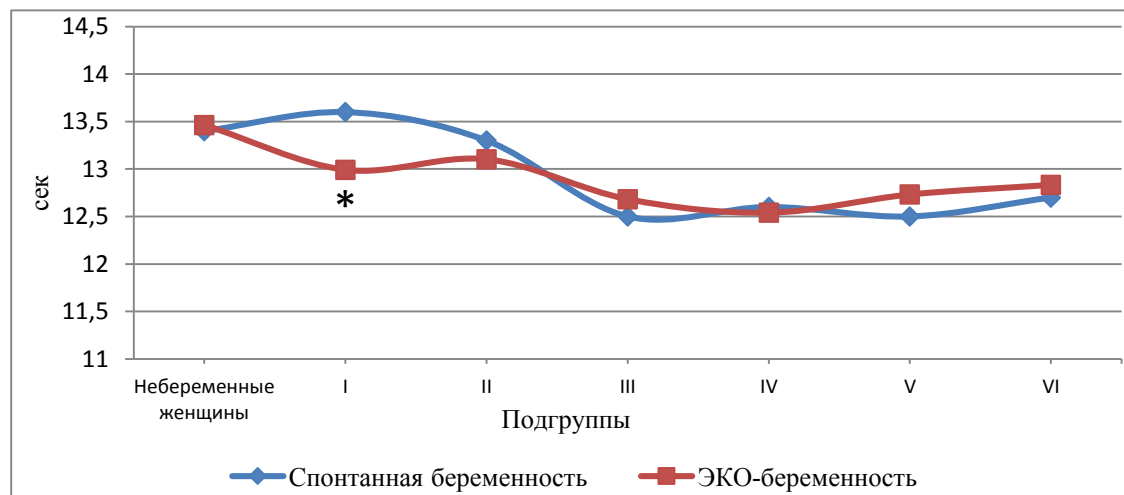


Рисунок 5.9. Протромбиновое время (сек) в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*-различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

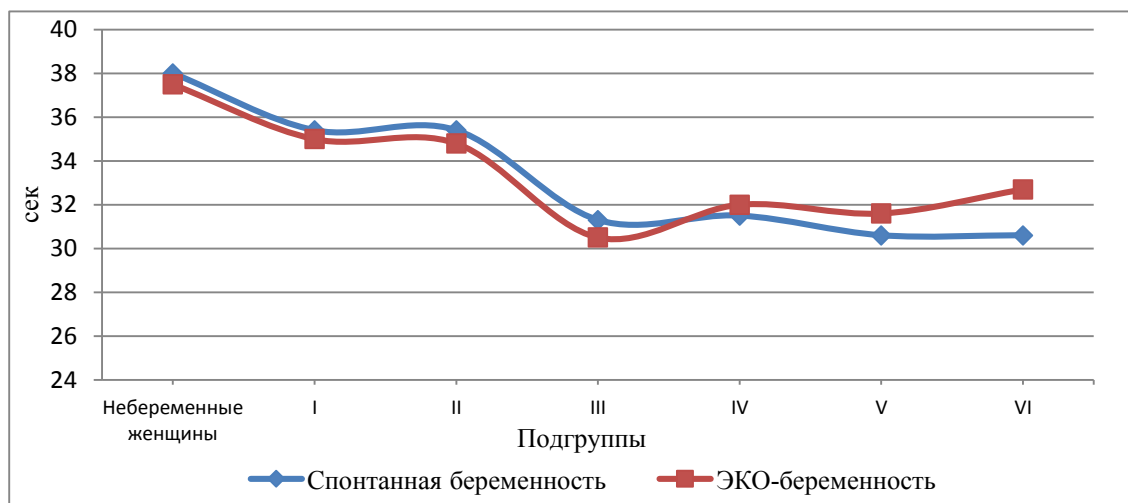


Рисунок 5.10. АЧТВ (сек) в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ

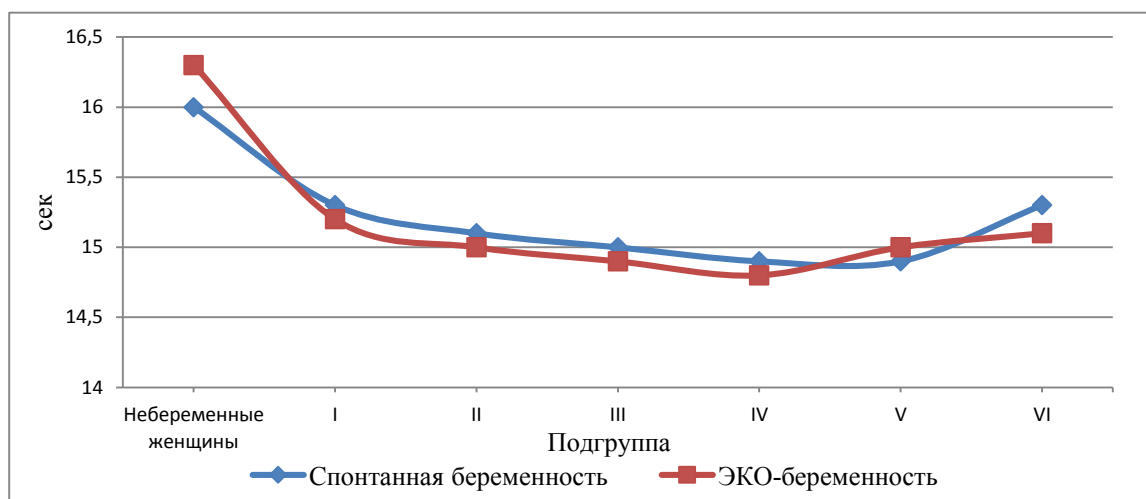


Рисунок 5.11. Тромбиновое время (сек) в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ

Так же, как и в случае спонтанной беременности, у пациенток с беременностью, наступившей после ЭКО и ПЭ, имело место повышение уровня ФВ и фибриногена в плазме крови в динамике гестационного процесса (таблица 5.8, рисунки 5.12, 5.13).

Среднее ($\bar{X}$), медиана (P_{50}) и 95% интервал ($P_{2,5}$ - $P_{97,5}$) для уровней фибриногена и фактора Виллебранда в динамике беременности после ЭКО и ПЭ

Показатель	Группа сравнения	Подгруппы беременных					
		I	II	III	IV	V	VI
Фибриноген (мг/дл)							
Xcp	285,1	432,4*	425,7*	438,9*	483,0*	483,8*	474,2*
P ₅₀	284,5	416,0*	416,0*	453,5*	464,0*	474,5*	464,0*
P _{2,5}	205,0	248,0	309,7	318,0	386,0	328,0	324,4
P _{97,5}	355,0	689,4	626,0	550,0	615,0	641,0	636,0
ФВ (%)							
Xcp	90,1	168,4*	190,1*	182,8*	200,4*	202,5*	241,2*
P ₅₀	90,0	161,0*	176,0*	180,0*	196,0*	178,0*	228,0*
P _{2,5}	73,0	89,3	78,5	104,8	111,0	150,3	138,0
P _{97,5}	115,0	354,9	354,0	289,3	308,5	307,5	335,0

*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении с исходным уровнем (до беременности)

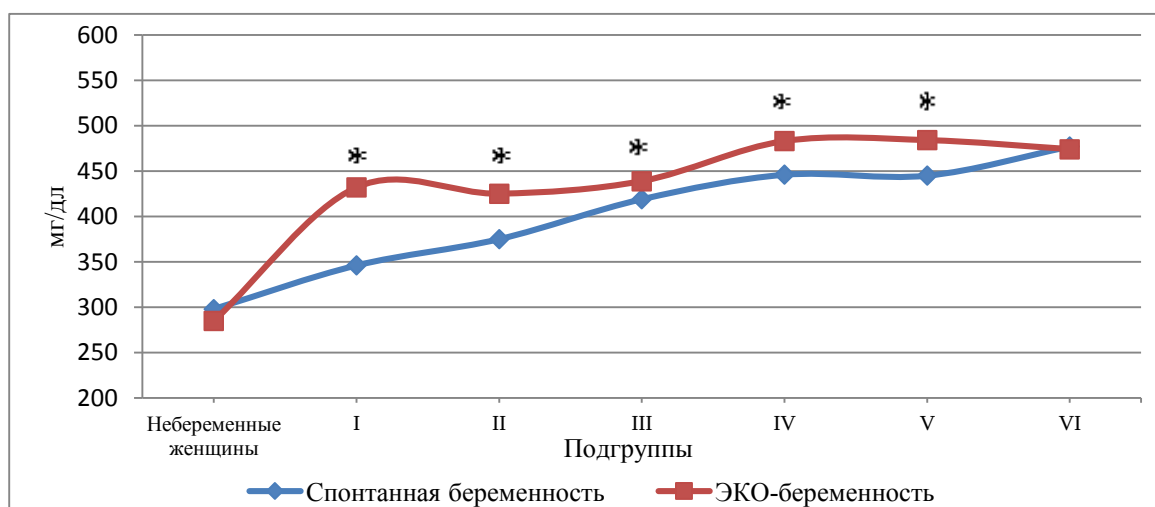


Рисунок 5.12. Уровень фибриногена (мг/дл) в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*-различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

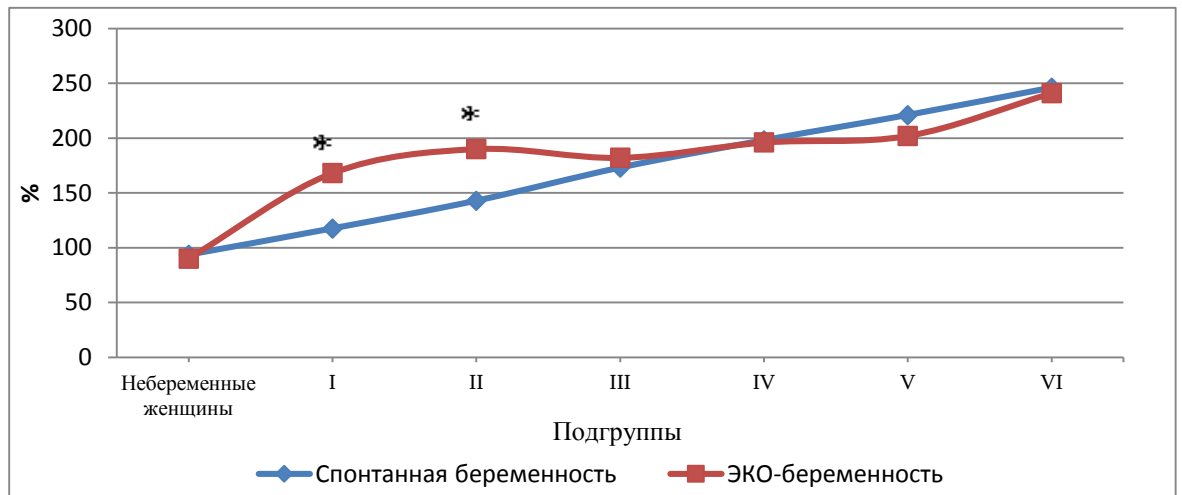


Рисунок 5.13. Уровень фактора Виллебранда (%) в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*-различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

Однако степень выраженности этих изменений была различна. В первом триместре ЭКО-беременности уровень обоих факторов достоверно превышал таковой при спонтанной беременности на тех же сроках. Так, уровень фибриногена был в 1,2-1,3 раза, а ФВ – в 1,4 раза выше, чем при спонтанной беременности, что потребовало коррекции референсных интервалов для первых двух подгрупп пациенток с беременностью после ЭКО и ПЭ (рисунки 5.14 и 5.15, таблица 5.8). Представляется, что более высокие значения данных показателей у пациенток ЭКО являются следствием повышенного уровня половых гормонов в первом триместре.

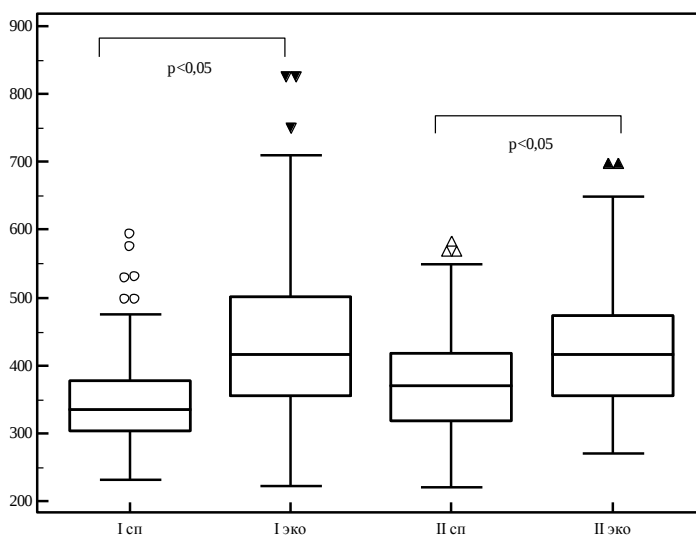


Рисунок 5.14. Уровень фибриногена (мг/дл) в первом триместре спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (I сп - спонтанная беременность 4-8 недель, I эко – ЭКО-беременность 4-8 недель, II сп - спонтанная беременность 9-13 недель, II эко – ЭКО-беременность 9-13 недель)

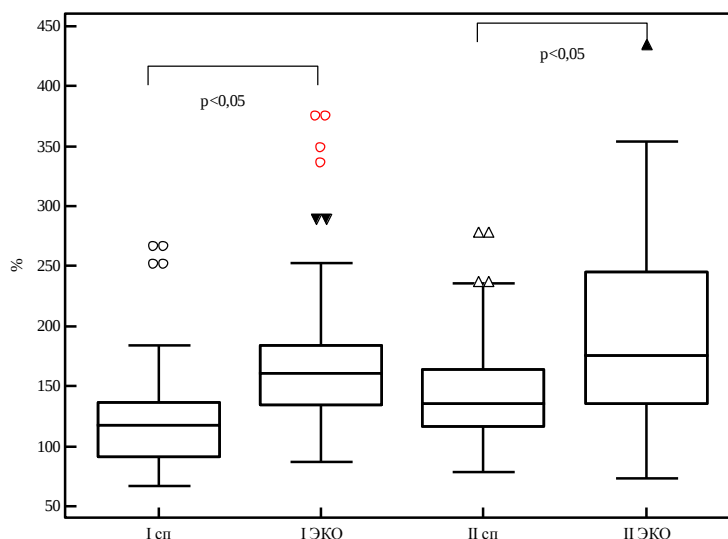


Рисунок 5.15. Уровень фактора Виллебранда (%) в первом триместре спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (I сп - спонтанная беременность 4-8 недель, I эко - ЭКО беременность 4-8 недель, II сп - спонтанная беременность 9-13 недель, II эко – ЭКО-беременность 9-13 недель)

В дальнейшем степень указанных различий уменьшалась. Несмотря на то, что абсолютные средние значения фибриногена при ЭКО-беременности на 21-34 неделе гестации сохранялись на достоверно более высоком уровне, чем при спонтанной беременности, они не выходили за пределы полученных референсных интервалов (таблица 5.3).

Существенные различия между сравниваемыми группами беременных были выявлены при оценке уровня D-димера. Если при спонтанной беременности концентрация D-димера начинала возрастать постепенно с конца второго триместра, то в случае беременности после ЭКО и ПЭ максимальные значения, превосходящие исходный уровень в 6 раз, отмечались уже в первые недели беременности, что свидетельствует об активации внутрисосудистого свертывания на фоне высокой концентрации половых гормонов в крови (таблица 5.9, рисунок 5.16). Достоверно более высокий уровень данного показателя сохранялся до середины второго триместра, что потребовало коррекции соответствующих референсных интервалов для трех подгрупп пациенток программы ЭКО (рисунок 5.16). После 20 недели и вплоть до родов данный показатель был сопоставим с таковым при спонтанной беременности.

Таблица 5.9

Среднее ($\bar{X}$), медиана (P_{50}) и 95% интервал ($P_{2,5}$ - $P_{97,5}$) для уровня D-димера в динамике ЭКО-беременности

Показатель	Группа сравнения	Подгруппы беременных					
		I	II	III	IV	V	VI
D-димер (мкг/мл)							
$\bar{X}$	0,26	1,54*	0,75*	0,73*	0,85*	1,17*	1,35*
P_{50}	0,25	1,23*	0,54*	0,57*	0,75*	1,23*	1,33*
$P_{2,5}$	0,10	0,15	0,13	0,20	0,38	0,36	0,74
$P_{97,5}$	0,49	3,97	2,84	1,79	1,78	2,26	2,08

*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении с исходным уровнем (до беременности)

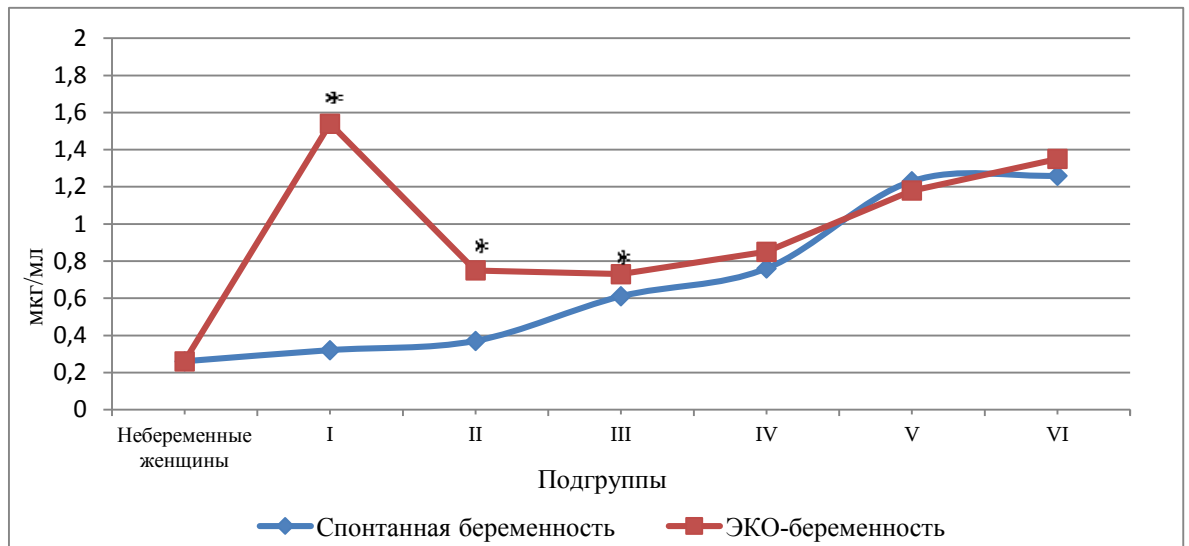


Рисунок 5.16. Концентрация D-димера (мкг/мл) в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*-различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

Динамика изменения уровня антитромбина III у пациенток программы ЭКО и ПЭ совпадала с таковой при спонтанной беременности. Исключение составили значения в первом триместре, которые при ЭКО-беременности были достоверно ниже (таблица 5.10, рисунок 5.17), что, однако, не привело к изменению референсного интервала для антитромбина III: в первом триместре ЭКО-беременности этот интервал составил 71-125%.

Таблица 5.10

Среднее ($\bar{X}$), медиана (P_{50}) и 95% интервал ($P_{2,5}-P_{97,5}$) для уровня антитромбина III и протеина С в динамике ЭКО-беременности

Показатель	Группа сравнения	Подгруппы беременных					
		I	II	III	IV	V	VI
АТ III (%)							
Xcp	102,7	98,1*	102,9	96,4*	101,8	101,8	96,8*
P ₅₀	103,5	98,0*	105,0	96,5*	103,0	103,0	96,0*
P _{2,5}	81,7	71,0	78,7	80,0	80,0	80,0	88,0
P _{97,5}	123,7	124,7	133	121,0	123,0	124,0	116,0
Протеин С (%)							
Xcp	101,0	110,1*	116,1*	122,6*	111,5*	116,0*	119,6*
P ₅₀	100,0	109,0*	114,0*	124,0*	110,5*	118,0*	118,0*
P _{2,5}	75,8	80,7	85,0	101,0	100,5	103,1	102,0
P _{97,5}	133,3	141,0	142,0	147,0	132,0	123,0	134,0

*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении с исходным уровнем (до беременности)

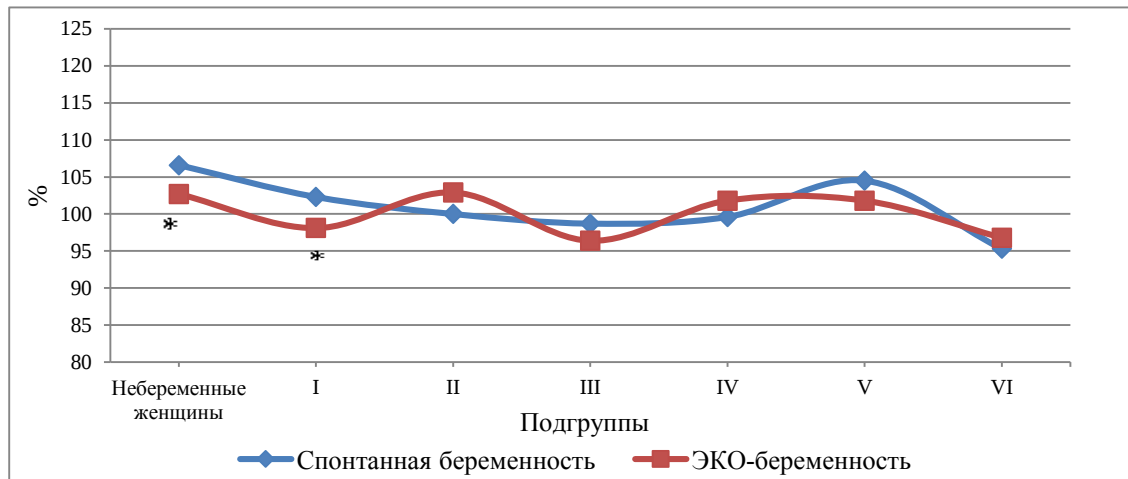


Рисунок 5.17. Изменение активности антитромбина III (%) в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*-различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

При анализе активности протеина С отмечались более высокие значения данного показателя с первых недель и далее на протяжении всей ЭКО-беременности по сравнению как с исходным уровнем, так и со значениями при спонтанной беременности (таблица 5.10, рисунок 5.18). Расчет референсных интервалов для данных подгрупп пациентов представлялся нецелесообразным, поскольку в интервалы для спонтанной беременности не укладывались только значения из верхнего диапазона, а диагностическую информацию несет только снижение активности протеина С [316].

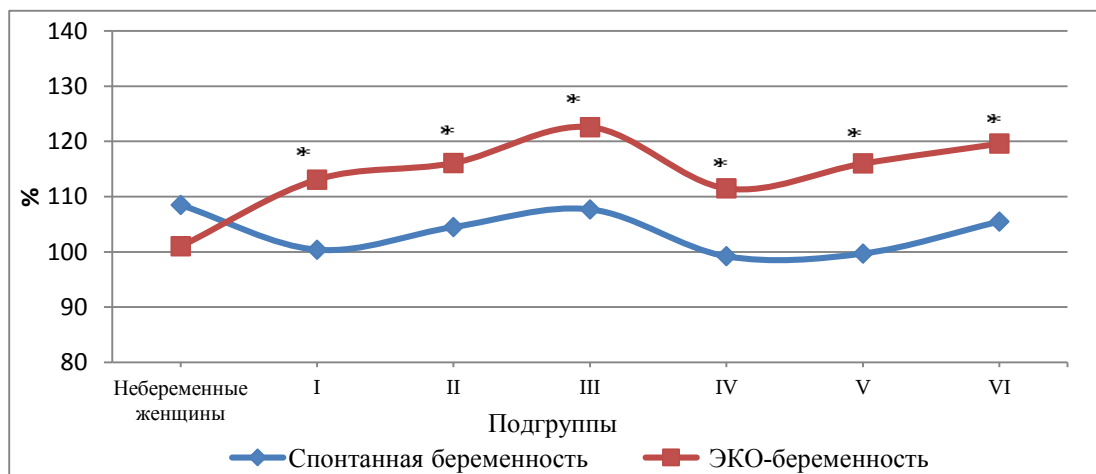


Рисунок 5.18. Изменение активности протеина С (%) в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*-различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

В целом, представленные в данном разделе результаты можно суммировать следующим образом:

1. Показатели коагулологических тестов у здоровых беременных женщин не только достоверно отличались от таковых у небеременных, но и изменялись по мере увеличения срока гестации. В связи с этим были сформированы референсные интервалы для восьми показателей гемостазиограммы в зависимости от гестационного возраста.
2. Не выявлено различий при сравнении основных параметров гемостаза у здоровых небеременных женщин активного репродуктивного периода (контрольная группа) и у пациенток с бесплодием, включенных в данное исследование. Исключение составили лишь показатели активности антитромбина III и протеина С, средние значения которых у женщин с бесплодием были достоверно ниже, но оставались в пределах референсного диапазона, полученного для контрольной группы.
3. Изменения лабораторных показателей системы гемостаза в динамике беременности, полученной в результате ЭКО и ПЭ, в основном идентичны таковым при спонтанной беременности. Отличия наблюдались только до середины второго триместра, когда на фоне повышенного уровня половых гормонов отмечались более выраженные изменения таких параметров, как концентрации фибриногена, фактора Виллебранда и D-димера, для которых были скорректированы референсные интервалы для сроков 4-8, 9-14 и 15-21 недели беременности.
4. Активность протеина С на всем протяжении ЭКО-беременности была достоверно выше, чем при спонтанной беременности.
5. В течение первого триместра ЭКО-беременности необходим тщательный мониторинг состояния системы гемостаза для предупреждения осложнений и своевременной медикаментозной коррекции.

ГЛАВА 6. БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ДИНАМИКЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ ЭКО И ПЭ

В обзоре литературы нами были подробно проанализированы имеющиеся данные об основных биохимических показателях у здоровых женщин в динамике развивающейся беременности. Анализ полученных данных продемонстрировал, что беременность сопровождается изменениями большей части анализируемых биохимических параметров. Эти изменения отражают, в основном, физиологическую адаптацию организма женщины к повышенной нагрузке на ряд органов и систем.

6.1. Референсные интервалы для биохимических показателей в динамике физиологической беременности

В этом разделе работ представлены данные обследования группы здоровых беременных женщин, которые были разделены на 6 подгрупп в зависимости от срока беременности (таблица 6.1).

Таблица 6.1

Распределение обследованных беременных женщин по подгруппам

Группа	Количество пациенток
Небеременные женщины (контроль)	132
Беременные:	
Подгруппа I (4-8 недель)	126
Подгруппа II (9-13 недель)	125
Подгруппа III (14-20 недель)	172
Подгруппа IV (21-27 недель)	136
Подгруппа V (28-34 недели)	203
Подгруппа VI (35-40 недель)	132

Референсные интервалы биохимических показателей, полученные в группе здоровых небеременных женщин активного репродуктивного возраста,

приведены в таблице 6.2. Для сравнения приведены значения референсных интервалов, предоставленных фирмой-производителем для реагентов, использованных в нашем исследовании (см. главу «Материалы и методы»).

Таблица 6.2

Медиана и 95% референсный интервал для биохимических показателей у здоровых небеременных женщин (контрольная группа)

Биохимический показатель	Медиана и референсный интервал для контрольной группы (n=132)	Референсный интервал, предлагаемый производителем реагентов
Общий белок (г/л)	73,6 65,5 - 85,0	67 - 86
Альбумин (г/л)	40,5 36,0 - 48,9	35 - 50
АЛТ (Ед/л)	16,4 8,0 - 39,0	0 - 40
АСТ (Ед/л)	15,5 9,7 - 38,5	0 - 40
Щелочная фосфатаза (Ед/л)	56,9 28,5 - 98,0	30 - 120
Общий билирубин (мкмоль/л)	9,9 5,0 - 19,6	3,4 - 21,0
γ-Глутамилтрансфераза (Ед/л)	14,0 4,8 - 24,7	4 - 38
Лактатдегидрогеназа (Ед/л)	297 205 - 410	207 - 414
Общий холестерин (ммоль/л)	4,4 2,5 - 5,2	3,1 - 5,2
Триглицериды (ммоль/л)	0,80 0,4 - 1,83	0,7 - 1,7
Холестерин ЛПВП (ммоль/л)	1,44 1,06 - 1,95	0,9 - 1,8
Холестерин ЛПНП (ммоль/л)	2,13 1,03 - 3,04	0,1 - 3,9
Креатинин (мкмоль/л)	70,5 54,3 - 91,8	53 - 97
Мочевина (ммоль/л)	3,40 1,8 - 5,6	1,7 - 8,3

Средние величины, медианы, и референсные интервалы (включая доверительные интервалы их верхних и нижних пределов) для 14 биохимических показателей в подгруппах беременных женщин на сроках 4-8, 9-13, 14-20, 21-27, 28-34, 35-40 недель представлены в таблице 6.3, а достоверность различий между подгруппами – в таблице 6.4.

Таблица 6.3

Среднее ($\bar{X}$), медиана (P_{50}) и 95% референсный интервал ($P_{2,5}$ - $P_{97,5}$) для биохимических показателей в динамике физиологической неосложненной беременности

(в скобках приведены 90% доверительные интервалы для верхних и нижних пределов)

	Контрольная группа	Подгруппа I 4-8 недель	Подгруппа II 9-13 недель	Подгруппа III 14-20 недель	Подгруппа IV 21-27 недель	Подгруппа V 28-34 недель	Подгруппа VI 35-40 недель
Альбумин (г/л)							
$\bar{X}$	41,4	39,8*	37,2*	34,6*	32,7*	32,1*	32,0*
P_{50}	40,5	38,1*	38,1*	34,5*	32,8*	32,0*	32,3*
$P_{2,5}$	36,0 (35,5-36,5)	34,0 (34,0-34,1)	28,8 (28,7-28,9)	28,0 (27,9-29,4)	26,4 (22,9-28,1)	25,1 (20,7-27,2) –	26,6 (26,6-27,0)
$P_{97,5}$	48,9 (48,1-49,1)	45,7 (45,2-45,7)	41,9 (41,0-42,5)	39,8 (38,3-45,0)	37,2 (36,4-37,6)	36,8 (35,9-42,9)	38,0 (34,9-38,1)
Общий белок (г/л)							
$\bar{X}$	75,3	72,0*	70,8*	65,4*	64,5*	63,9*	63,7*
P_{50}	73,6	71,3*	71,0*	65,8*	64,9*	64,0*	63,7*
$P_{2,5}$	65,5 (64,6-66,3)	65,8 (64,7-66,9)	61,7 (59,5-64,3)	54,5 (53,6-55,8)	54,9 (53,3-56,6)	56,4 (55,3-56,8)	55,8 (54,3-57,5)
$P_{97,5}$	85,0 (85,5-86,2)	78,3 (77,9-79,4)	79,0 (76,1-81,2)	72,5 (72,1-77,3)	73,3 (72,3-74,6)	71,7 (71,0-73,2)	71,2 (70,6-71,8)
АЛТ (Ед/л)							
$\bar{X}$	16,4	13,8*	17,6*	19,9*	17,9*	16,9	14,8
P_{50}	16,4	14,1*	17,8*	17,2*	16,3*	14,6	15,7
$P_{2,5}$	8,0 (7,1-8,4)	7,7 (7,6-8,6)	4,6 (2,0-5,4)	5,9 (1,9-7,6)	5,1 (2,0-8,9)	6,3 (1,7 – 6,7)	3,7 (3,4-5,3)
$P_{97,5}$	38,5 (32,3-40,4)	23,0 (22,1-23,2)	28,6 (28,6-28,7)	44,4 (41,5-45,1)	29,9 (29,0-32,2)	35,1 (33,1 – 35,5)	26,2 (23,6-26,5)
АСТ (Ед/л)							
$\bar{X}$	17,2	17,4*	18,1*	21,7*	21,3*	20,2*	22,6*
P_{50}	15,6	17,9*	17,6*	19,7*	20,6*	19,4*	22,1*
$P_{2,5}$	9,7 (9,4-10,5)	5,4 (5,1-5,5)	9,9 (9,8-10,9)	8,8 (7,3-11,8)	9,5 (7,9-10,8)	9,3 (5,1-9,7)	12,8 (12,2-14,8)
$P_{97,5}$	38,5 (32,3-40,4)	28,6 (27,5-29,0)	26,3 (24,8-34,0)	38,0 (35,6-41,7)	39,1 (33,1-39,8)	36,7 (31,0-37,2)	36,9 (31,0 -37,2)
Щелочная фосфатаза (Ед/л)							
$\bar{X}$	59,9	50,6*	44,1*	53,2*	62,8*	104,1*	168,9*
P_{50}	56,8	48,9*	42,1*	50,7*	61,0*	100,3*	161,9*
$P_{2,5}$	28,5 (27,0-31,5)	26,8 (26,8-28,8)	25,0 (25,0-28,9)	33,4 (30,8-34,3)	39,4 (34,0-41,5)	52,9 (40,0-55,8)	85,6 (80,5-94,1)
$P_{97,5}$	97,9 (96,5-98,7)	104,7 (102,0-104,7)	72,1 (69,5-72,1)	92,0 (83,4-101,0)	102,6 (90,4-113,1)	187,1 (176,0-200,5)	304,2 (256,3-310,3)
γ-Глутамилтрансфераза (Ед/л)							
$\bar{X}$	14,2	12,7*	10,8*	11,0*	10,1*	10,3*	11,7*
P_{50}	14,0	10,8*	9,7*	9,1*	8,7*	9,0*	10,3*
$P_{2,5}$	4,8 (4,8-4,9)	2,1 (2,0-2,5)	2,9 (2,5-3,8)	3,6 (3,5-4,4)	2,7 (2,5-3,9)	2,0 (1,9-3,0)	4,5 (4,5-4,8)
$P_{97,5}$	26,7 (25,1-28,4)	24,1 (22,8-25,7)	22,7 (20,9-23,8)	23,3 (21,9-24,7)-	21,7 (20,2-23,2)	21,4 (20,3-22,6)	23,2 (21,9-24,6)

*- различие с показателем у небеременных женщин достоверно при $p < 0,05$

Таблица 6.3 (окончание)

Лактатдегидрогеназа (Ед/л)							
Хср	304	269*	269*	288*	297	305	330*
P ₅₀	297	250*	255*	287*	288	303	320*
P _{2,5}	205 (196-213)	201 (182-209)	198 (109-203)	213 (205-218)	205 (190-224)	223 (217-239)	220 (205-235)
P _{97,5}	410 (407-411)	384 (361-397)	358 (347-369)	373 (358-383)	401 (388-413)	401 (387-406)	439 (424-465)
Общий билирубин (мкмоль/л)							
Хср	10,6	10,1	8,9*	9,6*	9,3*	9,7*	10,9
P ₅₀	9,9	10,3	8,4*	9,0*	8,5*	8,9*	10,1
P _{2,5}	4,9 (4,8-5,2)	5,8 (5,0-6,6)	3,2 (3,2-3,9)	4,2 (3,8-4,6)	3,0 (2,4-3,4)	4,0 (3,4-4,3)	4,3 (4,0-5,8)
P _{97,5}	19,6 (19,3-20,5)	18,3 (17,5-19,1)	17,2 (16,2-18,2)	17,7 (16,9-18,6)	17,6 (16,6-18,6)	18,1 (17,3-19,0)	19,8 (18,7-20,9)
Общий холестерин (ммоль/л)							
Хср	4,31	4,36	5,07*	5,91*	6,64	7,47*	7,27*
P ₅₀	4,40	4,26	5,20*	5,78*	6,97	7,32*	7,30*
P _{2,5}	2,52 (2,5-3,10)	2,90 (2,82-3,16)	3,58 (3,58-3,70)	3,88 (3,40-4,42)	4,30 (4,00-4,89)	5,00 (4,32-5,28)	4,53 (4,51-5,7)
P _{97,5}	5,20 (5,11-5,25)	5,53 (5,36-5,70)	6,91 (6,15-6,91)	8,70 (7,92-8,82)	9,03 (8,10-9,04)	10,81 (10,19-11,39)	10,2 (9,90-10,02)
Триглицериды (ммоль/л)							
Хср	0,92	1,20*	1,36*	1,55*	2,22*	2,65*	3,10*
P ₅₀	0,80	1,11*	1,22*	1,50*	2,13*	2,73*	3,00*
P _{2,5}	0,40 (0,40-0,50)	0,50 (0,50-0,60)	0,52 (0,50-0,70)	0,71 (0,70-0,85)	1,00 (0,97-1,09)	1,29 (1,20-1,36)	1,38 (1,38-1,70)
P _{97,5}	1,83 (1,80-1,90)	2,08 (2,01-2,25)	2,50 (2,29-2,76)	2,72 (2,50-2,94)	3,85 (3,74-4,03)	4,13 (3,80-4,47)	4,79 (4,48-4,82)
Холестерин ЛПВП (ммоль/л)							
Хср	1,46	1,71*	1,96*	2,03*	2,07*	2,03*	1,96*
P ₅₀	1,44	1,71*	1,95*	2,01*	2,02*	2,01*	1,94*
P _{2,5}	1,06 (1,06-1,09)	1,32 (1,28-1,37)	1,46 (1,40-1,52)	1,25 (1,20-1,42)	1,30 (1,25-1,40)	1,32 (1,12-1,36)	1,25 (1,17-1,33)
P _{97,5}	1,94 (1,91-1,95)	2,10 (2,08-2,15)	2,46 (2,40-2,52)	2,86 (2,66-2,92)	2,87 (2,76-2,97)	2,85 (2,77-2,94)	2,67 (2,61-2,74)
Холестерин ЛПНП (ммоль/л)							
Хср	2,04	2,14	2,52*	2,82*	3,37*	3,96*	3,85*
P ₅₀	2,13	2,13	2,46*	2,67*	3,40*	3,93*	3,90*
P _{2,5}	1,03 (0,90-1,17)	1,03 (1,02-1,26)	1,09 (1,08-1,35)	1,58 (1,40-1,75)	1,75 (1,18-2,00)	2,31 (1,63-2,65)	2,08 (1,90-2,33)
P _{97,5}	3,04 (2,91-3,18)	3,14 (2,87-3,16)	3,81 (3,69-3,83)	4,24 (4,15-4,65)	5,04 (4,84-5,10)	6,03 (5,80-6,46)	6,27 (5,30-6,27)
Креатинин (мкмоль/л)							
Хср	71,1	63,0*	62,6*	58,7*	61,3*	60,5*	62,1*
P ₅₀	70,5	62,0*	59,4*	59,4*	60,2*	59,9*	61,9*
P _{2,5}	54,3 (53,9-54,8)	39,8 (37,0-42,5)	38,8 (35,9-41,7)	37,4 (35,0-39,7)	38,0 (35,1-40,8)	36,0 (33,6-38,4)	36,0 (33,9-36,7)
P _{97,5}	91,8 (90,1-94,3)	86,2 (83,5-89,0)	86,5 (83,6-89,3)	80,1 (77,8-82,4)	84,7 (81,9-87,6)	84,9 (82,5-87,2)	83,4 (78,7-89,6)
Мочевина (ммоль/л)							
Хср	3,70	3,16*	3,22*	3,11*	3,00*	3,05*	3,30*
P ₅₀	3,40	2,90*	3,30*	3,20*	3,00*	3,05*	3,25*
P _{2,5}	1,79 (1,57-2,02)	1,55 (1,50-1,60)	1,60 (1,41-1,61)	1,64 (1,47-1,79)	1,25 (1,20-1,46)	1,28 (1,11-1,46)	1,46 (1,26-1,65)
P _{97,5}	5,60 (5,37-5,82)	5,51 (5,42-5,60)	4,84 (4,64-5,03)	4,58 (4,43-4,74)	4,75 (4,54-4,97)	4,81 (4,64-4,98)	5,17 (4,95-5,34)

Таблица 6.4

Достоверность различия значений биохимических показателей между подгруппами беременных женщин

	Общий белок	Альбумин	АЛТ	АСТ	ЩФ	ГГТ	ЛДГ	Билирубин	ХС	ТГ	ХС ЛПВП	ХС ЛПНП	Креатинин	Мочевина
Контроль/I	*	*	*	*	*	*	*	NS	NS	*	*	NS	*	*
Контроль/II	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Контроль/III	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Контроль/IV	*	*	*	*	*	*	NS	*	*	*	*	*	*	*
Контроль/V	*	*	NS	*	*	*	NS	*	*	*	*	*	*	*
Контроль/VI	*	*	NS	*	*	*	*	NS	*	*	*	*	*	*
I/II	*	*	*	NS	*	*	NS	*	*	*	*	*	NS	*
I/III	*	*	NS	*	NS	*	*	*	*	*	*	*	NS	*
I/IV	*	*	NS	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NS	*
I/V	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NS	*
I/VI	*	*	*	*	*	NS	*	NS	*	*	*	*	NS	*
II/III	*	*	*	*	*	NS	*	NS	*	*	NS	*	NS	NS
II/IV	*	*	*	*	*	NS	*	NS	*	*	NS	*	NS	*
II/V	*	*	*	*	*	NS	*	NS	*	*	NS	*	NS	*
II/VI	*	*	NS	*	*	NS	*	*	*	*	NS	*	NS	NS
III/IV	*	*	NS	NS	*	NS	*	NS	*	*	NS	*	NS	NS
III/V	*	*	*	NS	*	NS	*	NS	*	*	NS	*	NS	NS
III/VI	*	*	*	*	*	NS	*	*	*	*	NS	*	NS	NS
IV/V	NS	NS	*	NS	*	NS	NS	NS	*	*	NS	*	NS	NS
IV/VI	NS	NS	*	NS	*	NS	*	*	NS	*	NS	*	NS	*
V/VI	NS	NS	NS	*	*	NS	*	*			NS	NS	NS	*

*- различие достоверно при $p < 0,05$, NS- различие недостоверно

Повышенные концентрации циркулирующих в крови эстрадиола и прогестерона во время беременности приводят к определенным изменениям в гепатобилиарной системе.

Аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспартатаминотрансфераза (АСТ) хорошо известны как индикаторы функциональной активности печени. По сравнению с показателями у небеременных женщин уровень АЛТ в сыворотке крови был в среднем повышен на протяжении всей беременности, исключая первые её недели и период непосредственно перед родами (таблица 6.3). Средние значения уровня АСТ тоже были повышены с первых недель беременности и до ее завершения и колебались в диапазоне от 17 до 23 Ед/л. При этом на протяжении всего гестационного процесса уровень аминотрансфераз оставался в пределах референсных интервалов для небеременных.

Уровень щелочной фосфатазы (ЩФ) после незначительного снижения в первом триместре постепенно увеличивался и достигал пика в третьем триместре, превышая исходные значения почти в 3,1 раза (таблица 6.3, рисунок 6.1). Повышение концентрации ЩФ происходит за счет нескольких источников, основным из которых во время беременности является плацента.

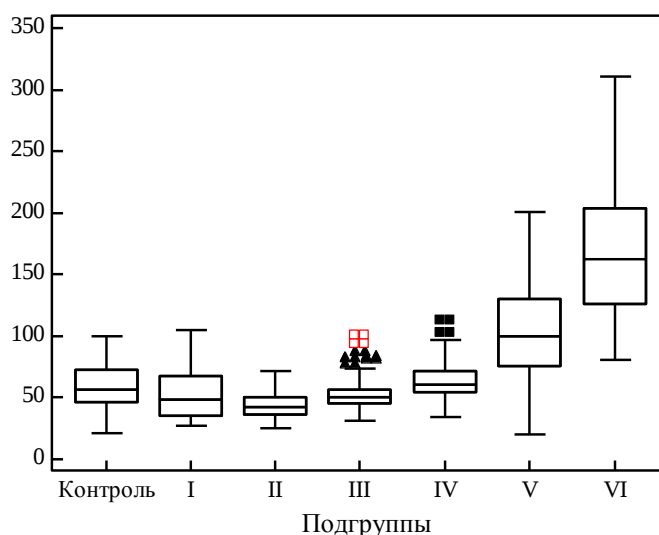


Рисунок 6.1. Уровень щелочной фосфатазы (Ед/л) в сыворотке крови в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

Концентрация лактатдегидрогеназы (ЛДГ), синтезирующейся не только в мышечной ткани, печени, легких, почках, но и в плаценте, оставалась в пределах нормативных значений на протяжении всей беременности. Достоверное повышение выявлялось только в конце третьего триместра (таблица 6.3 и 6.4). Следует отметить, что в плаценте экспрессируются все пять изоформ ЛДГ [96]. Гаммаглутамилтрансфераза (ГГТ) тоже синтезируется в плацентарной ткани, однако уровень данного фермента был незначительно ниже такового у здоровых небеременных женщин и находился в интервале от 10,1 до 12,7 Ед/л. При этом уровни всех перечисленных ферментов в крови оставались в пределах референсных значений для здоровой популяции (таблица 6.3, 6.4).

Уровень общего билирубина у беременных женщин сохранялся в пределах нормальных значений для небеременных. Выявлялось небольшое снижение концентрации во второй половине беременности, что может быть обусловлено физиологической гемодилюцией.

Уровень общего белка в крови здоровых беременных женщин постепенно снижался, достигая минимума к 21 неделе, и оставался на уровне 63-64 г/л до конца гестации (таблица 6.3, рисунок 6.2). Аналогичная картина наблюдалась в отношении концентрации альбумина (рисунок 6.3).

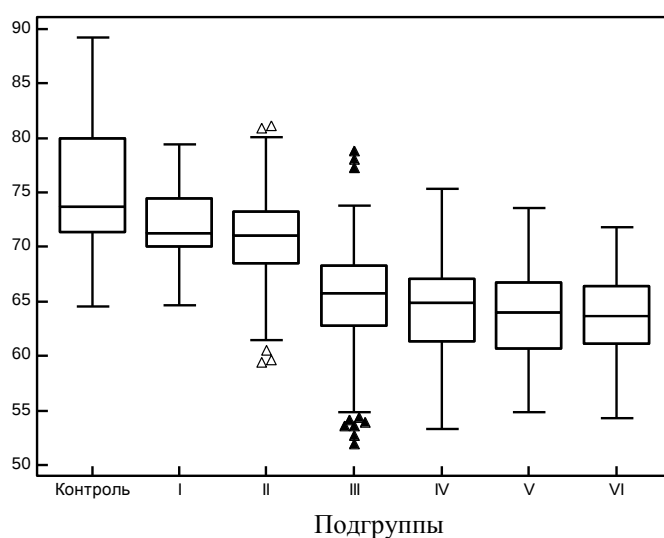


Рисунок 6.2. Концентрация общего белка (г/л) в сыворотке крови в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

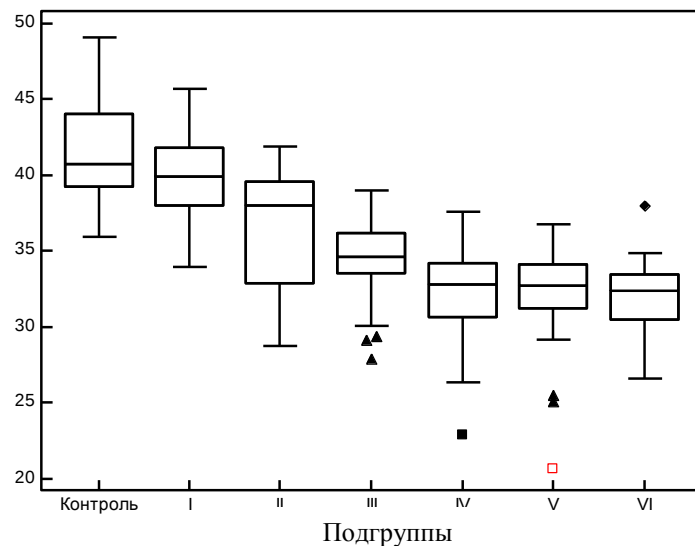


Рисунок 6.3. Концентрация альбумина (г/л) в сыворотке крови в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

Лipoppoтeины кpoви oбeспeчивaют тpaнcпopт xолeстepинa и липидoв в oргaнизмe. Oкoлo 25% oбщeгo xолeстepинa cывopoткe тpaнcпopтиpyeтcя вo фpaкции липoпpoтeинов выcoкoй плoтнocти (ЛПBП). ЛПBП ocyщecтвляют тpaнcпopт xолeстepинa из ткaнeй в пeчeнь. Липoпpoтeины низкoй плoтнocти (ЛПHП) ocyщecтвляют пpoтивoпoложнyю фyнкцию - тpaнcпopтиpyют в ткaни cинтeзирoвaнный в пeчeни xолeстepин.

Пpи aнaлизe ypoвня кaк oбщeгo xолeстepинa (XC), тaк и тpиглицepидoв (TГ) в cывopoткe кpoви в динaмикe физиoлoгичecкoй бepeмeннocти былo oтмeчeнo нeпpepывнoe eгo yвeличeниe, нaчинaя c 9 нeдeли бepeмeннocти. К тpeтьeмy тpимecтpy cpeдниe знaчeния пpeвышaли тaкoвыe y здopoвых нeбepeмeнных жeнщин в 1,7 и в 3 paзa, cooтвeтcтвeннo (тaблицa 6.2, pиcyнoк 6.4 и 6.5).

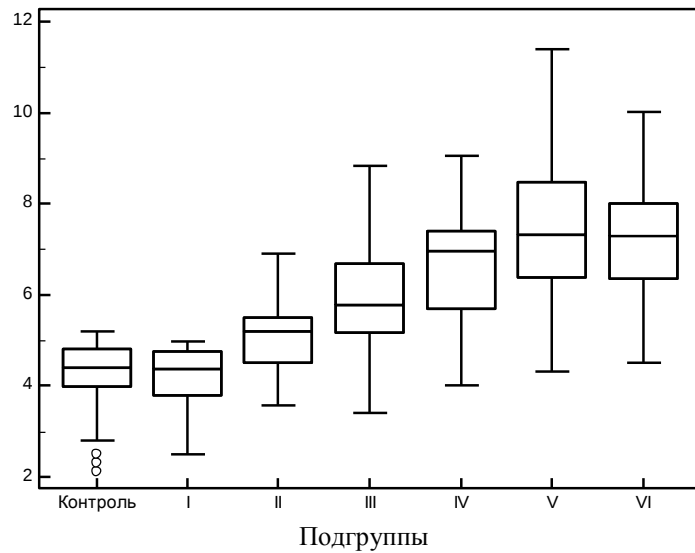


Рисунок 6.4. Уровень общего холестерина (ммоль/л) в сыворотке крови в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

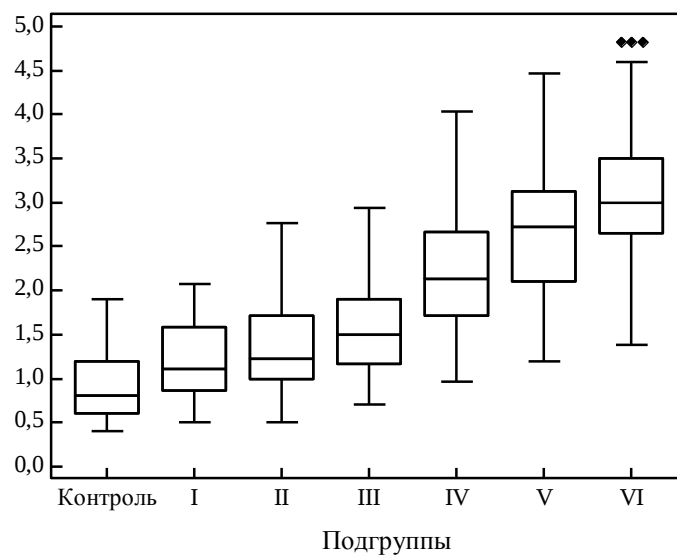


Рисунок 6.5. Уровень триглицеридов (ммоль/л) в сыворотке крови в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

Концентрация холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) возрастала уже в первом триместре беременности на 30-50% и оставалась на этом уровне вплоть до родов (таблица 6.2, рисунок 6.6). В свою очередь, уровень холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП)

увеличивался непрерывно в течение беременности, достигая к третьему триместру значений, в 2 раза превосходящих исходные (таблица 6.2, рисунок 6.7).

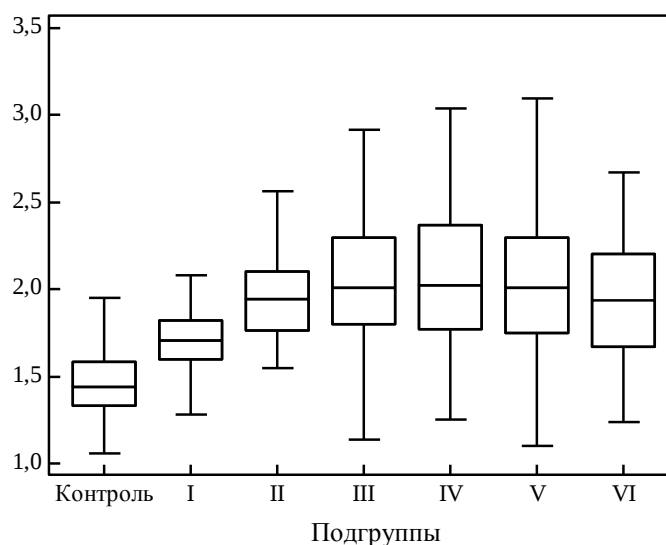


Рисунок 6.6. Уровень холестерина ЛПВП (ммоль/л) в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

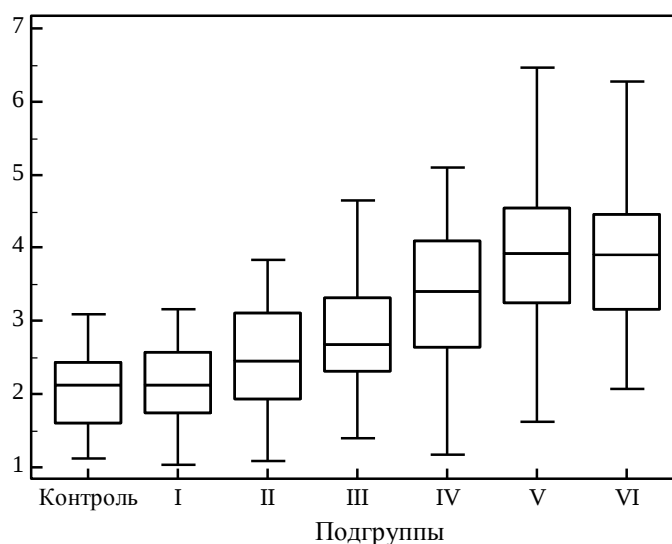


Рисунок 6.7. Уровень холестерина ЛПНП (ммоль/л) в динамике физиологической беременности (на графике: бокс - 50% всех значений, горизонтальная линия внутри бокса – медиана, верхний и нижний бары – 2,5 и 97,5 перцентили)

Несмотря на существенное возрастание уровня всех показателей липидного профиля, расчетные величины коэффициента атерогенности ($КА = (ХС\text{ общий} - ХС\text{ ЛПВП})/ХС\text{ ЛПВП}$) при исходных значениях 2,0-2,1 снижались в первом триместре до 1,5-1,6, во втором восстанавливались до исходного уровня, а в третьем возрастали до 2,6-2,7.

Для благополучного развития беременности, так же, как и для физиологического состояния здоровья беременной женщины, чрезвычайно важно функциональное состояние мочевыделительной системы, которое характеризуют такие биохимические параметры, как содержание в сыворотке крови креатинина, мочевины, натрия, калия, хлоридов.

Анализ уровня креатинина в сыворотке крови здоровых беременных показал, что он был достоверно ниже, чем у здоровых женщин вне беременности. Средние значения данного показателя находились в диапазоне 59-63 мкмоль/л на протяжении всего гестационного процесса против 79,5 мкмоль/л у небеременных женщин (таблица 6.3, 6.4). Аналогично уровень мочевины в течение беременности был достоверно ниже, чем у здоровых небеременных женщин, и колебался от 2,9 до 3,3 ммоль/л.

При оценке уровня основных электролитов (ионы калия, натрия, хлора) было продемонстрировано, что эти показатели остаются постоянными в течение всей физиологической беременности и не выходят за границы физиологических интервалов для небеременных женщин (таблица 6.5).

Таблица 6.5

Среднее ($\bar{X}$), медиана (P_{50}) и 95% интервал ($P_{2,5}-P_{97,5}$) для уровня электролитов в сыворотке крови в динамике физиологической беременности

	Контрольная группа	Срок беременности (недели)					
		4-8 недель	9-13 недель	14-20 недель	21-27 недель	28-34 недель	35-40 недель
Калий (ммоль/л)							
$\bar{X}$	4,31	4,43	4,43	4,40	4,41	4,49	4,58
P_{50}	4,20	4,41	4,40	4,40	4,34	4,42	4,50
$P_{2,5}$	3,60	3,99	3,81	3,73	3,91	3,86	3,95
$P_{97,5}$	5,53	4,84	5,29	5,07	5,19	5,23	5,50

Натрий (ммоль/л)							
Хср	138,9	139,1	139,4	139,2	139,1	139,0	139,6
P ₅₀	138,6	139,1	139,7	138,7	138,7	139,0	139,5
P _{2,5}	133,4	134,9	134,9	133,7	134,7	133,8	134,2
P _{97,5}	147,1	143,8	145,4	145,0	146,2	144,2	145,5
Хлор (ммоль/л)							
Хср	104,7	104,5	105,6	105,5	105,4	105,1	105,0
P ₅₀	104,5	104,7	105,5	105,6	105,5	105,5	105,7
P _{2,5}	100,2	100,5	100,8	102,1	101,2	100,7	100,3
P _{97,5}	107,2	106,9	107,0	107,2	107,0	106,9	107,2

Таким образом, сравнительный анализ 17 биохимических показателей вне и во время физиологической беременности показал необходимость коррекции референсных интервалов на тех или иных гестационных сроках для 10 из них (общий белок, альбумин, креатинин, мочеви́на, общий холестерин, триглицериды, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП, щелочная фосфатаза, ЛДГ).

6.2. Сравнительный анализ биохимических показателей в динамике физиологической беременности и беременности после ЭКО и ПЭ

Было проведено обследование пациенток с длительным бесплодием, включенных в исследование, перед вступлением в программу ЭКО и ПЭ и полученные результаты сопоставлены с соответствующими показателями здоровых небеременных женщин (таблица 6.6).

Таблица 6.6.

Основные показатели биохимического состава крови у небеременных здоровых женщин и у женщин с длительным бесплодием (среднее $\pm$ SD)

	Небеременные женщины (контрольная группа; n=132)	Пациентки с бесплодием (n=49)
Общий белок (г/л)	75,3 $\pm$ 6,4	74,6 $\pm$ 5,9
Альбумин (г/л)	41,4 $\pm$ 3,5	42,8 $\pm$ 4,8
АЛТ (Ед/л)	16,4 $\pm$ 7,1	15,2 $\pm$ 5,3
АСТ (Ед/л)	17,2 $\pm$ 6,9	18,7 $\pm$ 7,4
Щелочная фосфатаза (Ед/л)	59,9 $\pm$ 18,7	52,1 $\pm$ 12,4

ГГТ (Ед/л)	14,2±7,0	15,2±8,5
ЛДГ (Ед/л)	304±60	311±59
Общий билирубин (мкмоль/л)	10,6±3,4	11,5±3,8
Общий холестерин (ммоль/л)	4,31±0,64	4,4±0,7
Триглицериды (ммоль/л)	0,92±0,47	1,03±0,28
Холестерин ЛПВП (ммоль/л)	1,46±0,24	1,38±0,44
Холестерин ЛПНП (ммоль/л)	2,04±0,51	1,9±0,8
Креатинин (мкмоль/л)	71,1±9,8	75,0±9,5
Мочевина (ммоль/л)	3,70±0,97	3,8±0,9

Как видно из приведенных данных, не было выявлено различий в определявшихся биохимических показателях у здоровых небеременных женщин и женщин с длительным бесплодием.

Следующим этапом работы был сравнительный анализ биохимических показателей в группах женщин со спонтанной беременностью и с беременностью после ЭКО и ПЭ в зависимости от гестационного срока. Распределение пациенток программы ЭКО по подгруппам представлено в таблице 6.7.

Таблица 6.7

Распределение пациенток программы ЭКО и ПЭ по подгруппам

Группы	Количество пациенток
Небеременные женщины с бесплодием (группа сравнения)	49
Беременные:	
Подгруппа I (4-8 недель)	42
Подгруппа II (9-13 недель)	58
Подгруппа III (14-20 недель)	44
Подгруппа IV (21-27 недель)	56
Подгруппа V (28-34 недели)	40
Подгруппа VI (35-40 недель)	36

При анализе уровня АЛТ и АСТ у пациенток программы ЭКО были обнаружены изменения, аналогичные таковым при спонтанной беременности, за исключением более высоких средних значений концентрации обоих

ферментов в начале первого триместра (таблица 6.8, рисунок 6.8, 6.9), что, скорее всего, связано с сохранением на этих сроках повышенного уровня половых гормонов в крови. При этом на сроке 4-8 недель беременности верхняя граница 95- процентного интервала для АЛТ составила 61,4 Ед/л, для АСТ – 52,5 Ед/л, т.е. превышала верхнюю границу этого интервала при физиологической беременности в 2,6 и 1,8 раза, соответственно.

Таблица 6.8

Среднее ($\bar{X}$), медиана (P_{50}) и 95% интервал ($P_{2,5}$ - $P_{97,5}$) для уровня ферментов в сыворотке крови в динамике ЭКО-беременности

Показатель	Группа сравнения	Подгруппы беременных					
		I	II	III	IV	V	VI
АЛТ (Ед/л)							
Xcp	15,2	22,9*	14,6	18,5*	21,4*	17,7*	17,5*
P ₅₀	14,7	18,0*	13,6	17,3*	21,6*	17,9*	16,0*
P _{2,5}	7,0	3,3	4,6	8,2	7,4	5,4	2,9
P _{97,5}	35,5	61,4	38,5	34,8	34,7	33,0	37,5
АСТ (Ед/л)							
Xcp	16,7	23,4*	16,1	18,3*	21,8*	19,0*	21,8*
P ₅₀	16,2	22,0*	14,5	17,5*	19,9*	18,1*	22,9*
P _{2,5}	10,0	8,4	6,6	8,7	10,9	9,7	10,4
P _{97,5}	35,1	52,5	29,7	32,6	40,2	33,6	36,6
Щелочная фосфатаза (Ед/л)							
Xcp	52,1	54,5	46,7*	52,9	72,2*	109,6*	141,5*
P ₅₀	51,5	55,8	44,4*	50,2	67,9*	107,9*	131,0*
P _{2,5}	30,1	33,7	30,2	35,8	40,5	43,9	88,3
P _{97,5}	95,5	77,1	74,1	77,2	155,1	197,7	258,0

*- различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении с исходным уровнем (до беременности)

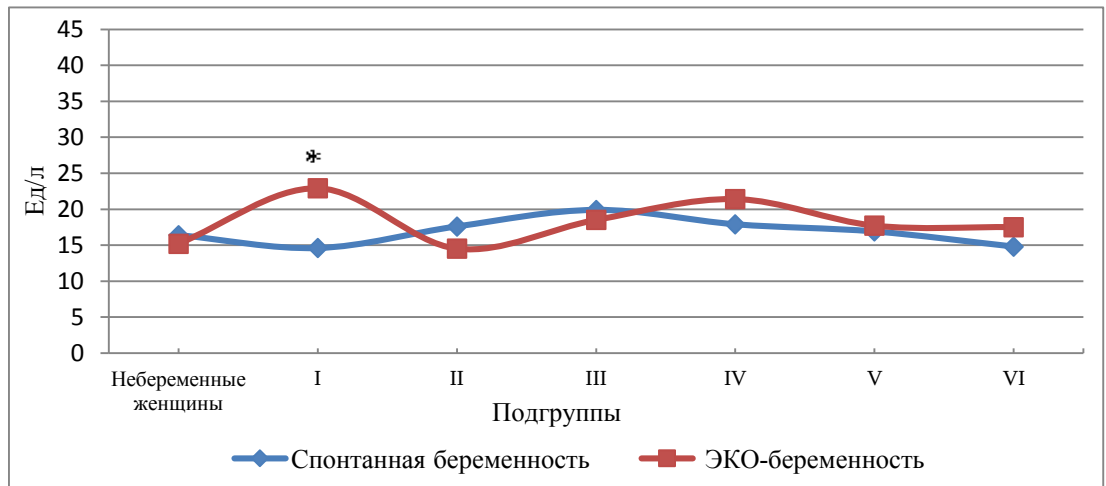


Рисунок 6.8. Уровень АЛТ (Ед/л) в сыворотке крови в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

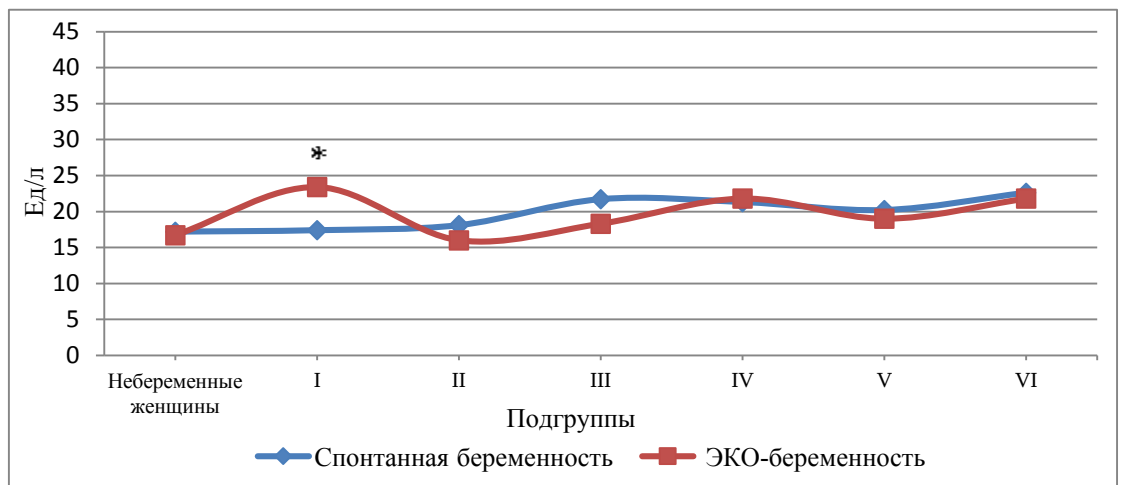


Рисунок 6.9. Уровень АСТ (Ед/л) в сыворотке крови в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

Концентрация щелочной фосфатазы в крови беременных женщин группы ЭКО, как и в случае спонтанной беременности, начинала повышаться в конце второго триместра, достигая максимальных значений к концу беременности (таблица 6.8, рисунок 6.10). Следует отметить, что в конце третьего триместра (35-40 недель) среднее значение данного показателя в группе ЭКО было

достоверно ниже, чем при физиологической беременности. При этом не потребовался расчет собственного референсного интервала для данной подгруппы пациенток, поскольку 95-процентный перцентиль находился в пределах допустимого интервала для верхней границы уровня ЩФ у здоровых беременных (таб. 6.3).

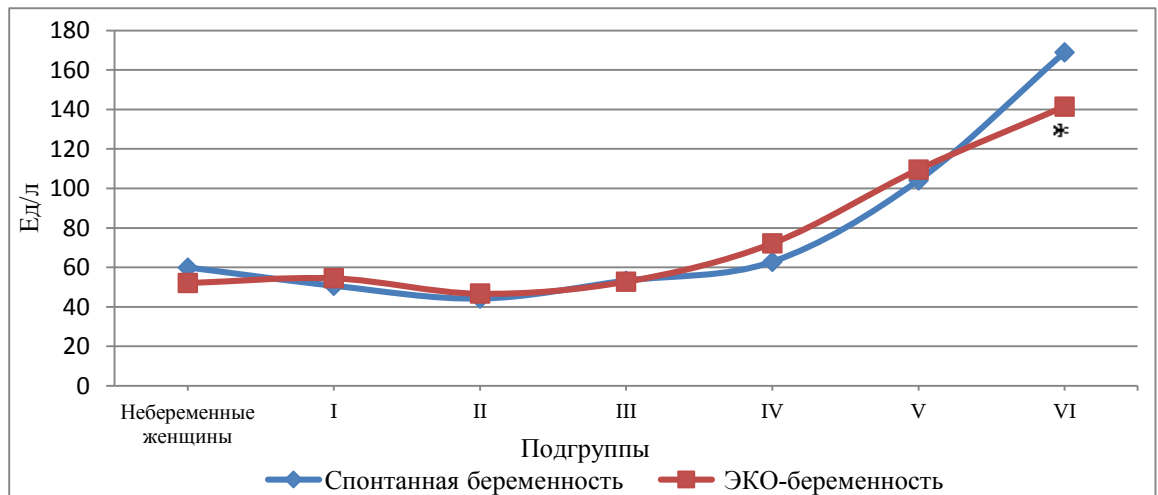


Рисунок 6.10. Уровень щелочной фосфатазы (Ед/л) в сыворотке крови в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*-различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

Динамика уровня ГГТ в случае ЭКО-беременности не имела достоверных отличий от таковой при спонтанной беременности. Все значения находились в пределах референсных интервалов для здоровых небеременных женщин (таблица 6.3). Была выявлена более высокая концентрация лактатдегидрогеназы на первых неделях ЭКО-беременности (рисунок 6.11). Верхняя граница 95% интервала в данной подгруппе составила 486 Ед/л (уровень при спонтанной беременности на том же сроке – 384 Ед/л). Самые низкие значения ЛДГ имели место на 9-14 неделях беременности после ЭКО и ПЭ. В дальнейшем различия исчезали.

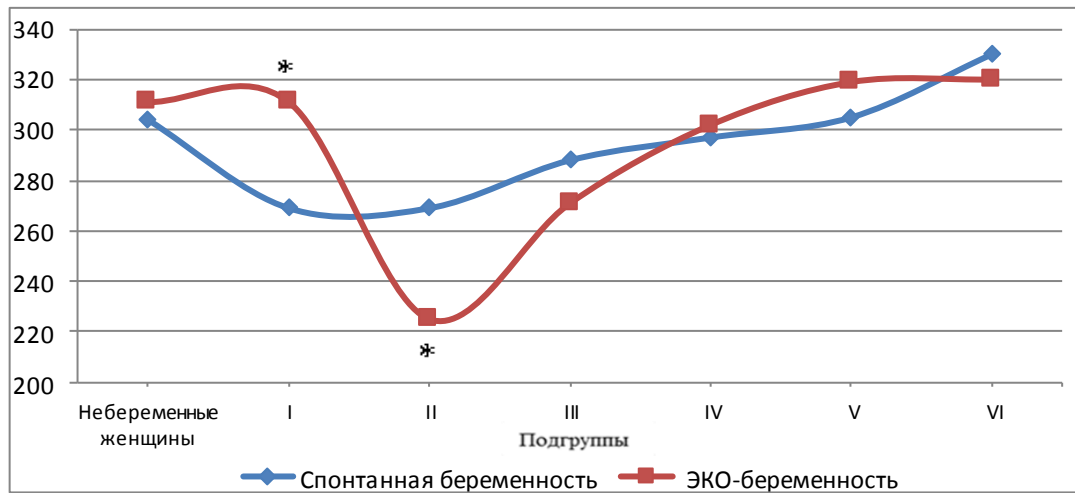


Рисунок 6.11. Уровень лактатдегидрогеназы (Ед/л) в сыворотке крови в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*-различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

Концентрация общего билирубина у пациенток программы ЭКО, как и в случае спонтанной беременности, была несколько снижена на всех сроках по сравнению с исходными значениями и находилась в интервале 8,5-11,1 мкмоль/л, не выходя за пределы референсных значений для здоровых беременных (таблица 6.3, рисунок 6.12).

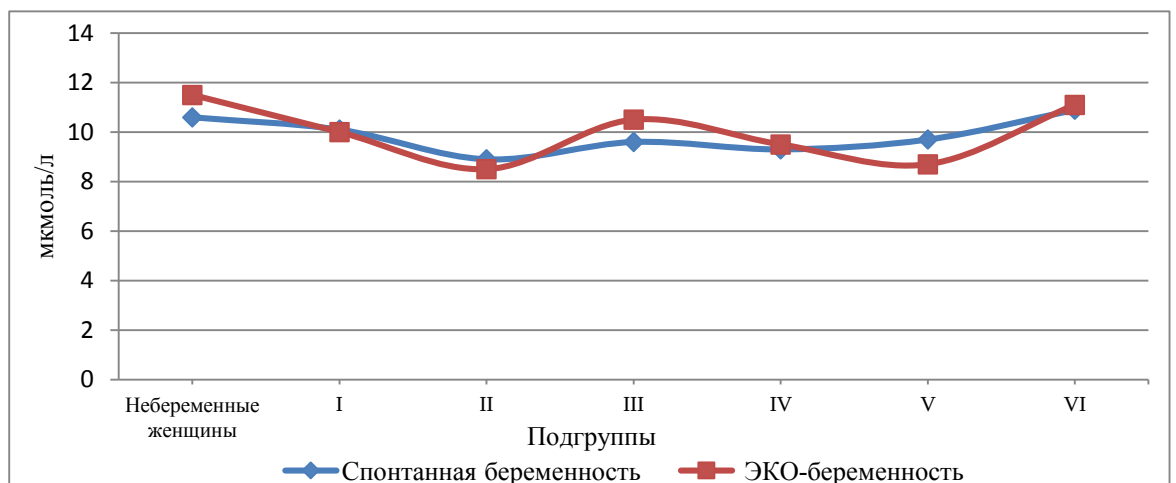


Рисунок 6.12. Уровень общего билирубина (мкмоль/л) в сыворотке крови в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ

Динамика изменения концентраций общего белка и альбумина была одинакова в группах пациенток со спонтанной беременностью и с беременностью после ЭКО и ПЭ (таблица 6.3, 6.9, рисунок 6.13). Минимальных значений данные показатели в обоих случаях достигали к 21 неделе.

Таблица 6.9

Среднее ($\bar{X}$), медиана (P_{50}) и 95% интервал ($P_{2,5}$ - $P_{97,5}$) для концентрации альбумина и общего белка в сыворотке крови в динамике ЭКО-беременности

Показатель	Группа сравнения	Подгруппы беременных					
		I	II	III	IV	V	VI
Общий белок (г/л)							
$\bar{X}$	74,6	71,1*	68,7*	66,8*	64,7*	63,2*	63,1*
P_{50}	72,2	71,0*	69,5*	66,3*	64,5*	63,4*	63,4*
$P_{2,5}$	66,9	61,9	57,6	60,7	58,0	57,3	55,7
$P_{97,5}$	84,5	79,0	77,2	75,7	71,5	68,7	69,8
Альбумин (г/л)							
$\bar{X}$	42,8	38,2*	37,3*	36,2*	31,1*	31,0*	32,7*
P_{50}	41,5	38,2*	37,3*	35,5*	32,9*	31,5*	32,6*
$P_{2,5}$	38,0	35,0	28,9	33,3	26,8	26,5	27,0
$P_{97,5}$	47,5	42,5	43,5	40,9	35,9	35,1	34,3

*- различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении с исходным уровнем (до беременности)

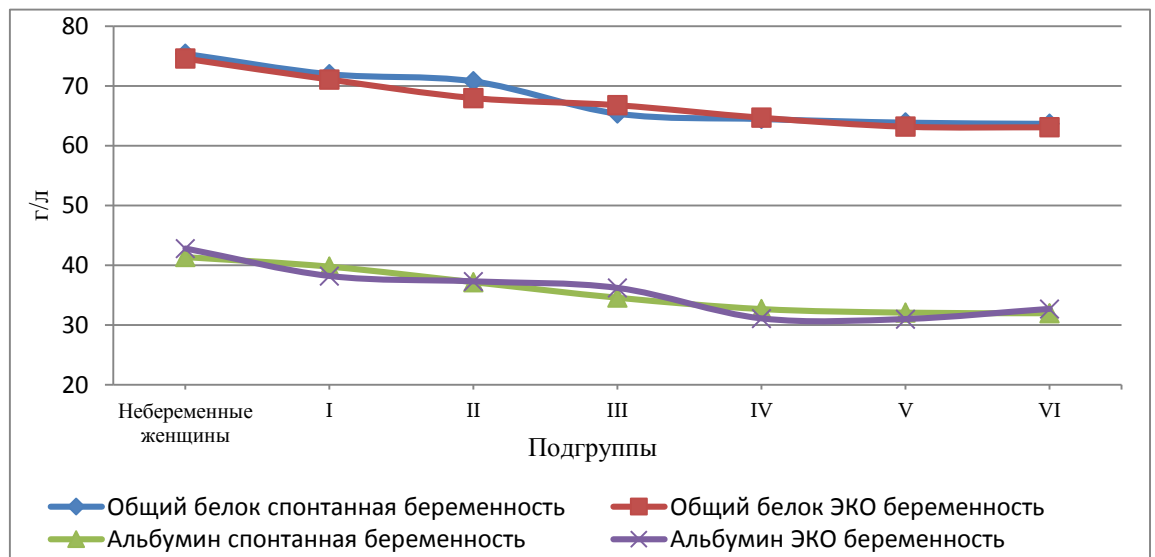


Рисунок 6.13. Концентрации общего белка и альбумина (г/л) в сыворотке крови в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ

При этом, оба показателя на всех сроках беременности оставались в пределах референсных интервалов для физиологической беременности (таблица 6.3).

Анализ липидного профиля у пациенток программы ЭКО дал следующие результаты (таблица 6.10). Уровни общего холестерина и триглицеридов в крови прогрессивно возрастали с конца первого – начала второго триместра беременности (как и при физиологической беременности), достигая максимума к 35-40 неделе.

Таблица 6.10

Среднее ($\bar{X}$), медиана (P_{50}) и 95% интервал ($P_{2,5}$ - $P_{97,5}$) для показателей липидного профиля сыворотки крови в динамике ЭКО-беременности

	Группа сравнения	Подгруппы беременных					
		I	II	III	IV	V	VI
Общий ХС (ммоль/л)							
Хср	4,40	4,29	5,02*	6,15*	7,00*	7,41*	7,33*
P ₅₀	4,35	4,20	5,13*	5,73*	7,19*	7,49*	7,41*
P _{2,5}	2,81	2,70	2,82	3,94	5,57	5,72	5,51
P _{97,5}	5,34	5,33	6,80	7,55	9,06	9,18	9,00
Триглицериды (ммоль/л)							
Хср	1,03	1,20*	1,30*	2,02*	2,40	2,81*	2,95*
P ₅₀	0,99	1,21*	1,20*	1,96*	2,32	2,79*	2,86*
P _{2,5}	0,65	1,16	0,62	1,30	1,69	1,89	1,89
P _{97,5}	1,69	2,14	2,51	2,59	3,03	3,14	3,94
ХС ЛПВП (ммоль/л)							
Хср	1,38	1,75*	1,80*	2,03*	2,08*	1,99*	1,91*
P ₅₀	1,40	2,00*	1,85*	1,97*	2,08*	1,98*	1,98*
P _{2,5}	1,01	1,26	1,10	1,41	1,71	1,34	1,49
P _{97,5}	1,87	2,25	2,49	2,48	2,48	2,73	2,53
ХС ЛПНП (ммоль/л)							
Хср	1,90	1,85	1,97*	3,03*	3,82*	3,98*	4,04*
P ₅₀	1,98	1,82	2,02*	2,98*	3,67*	3,99*	4,00*
P _{2,5}	1,05	1,05	1,10	2,08	2,32	2,32	2,44
P _{97,5}	2,90	2,56	3,26	4,43	4,76	4,70	5,41

*- различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении с исходным уровнем (до беременности)

Однако у пациенток программы ЭКО выявлялся достоверно более высокий уровень триглицеридов в период с 14 по 34 неделю гестации (рисунок 6.14).

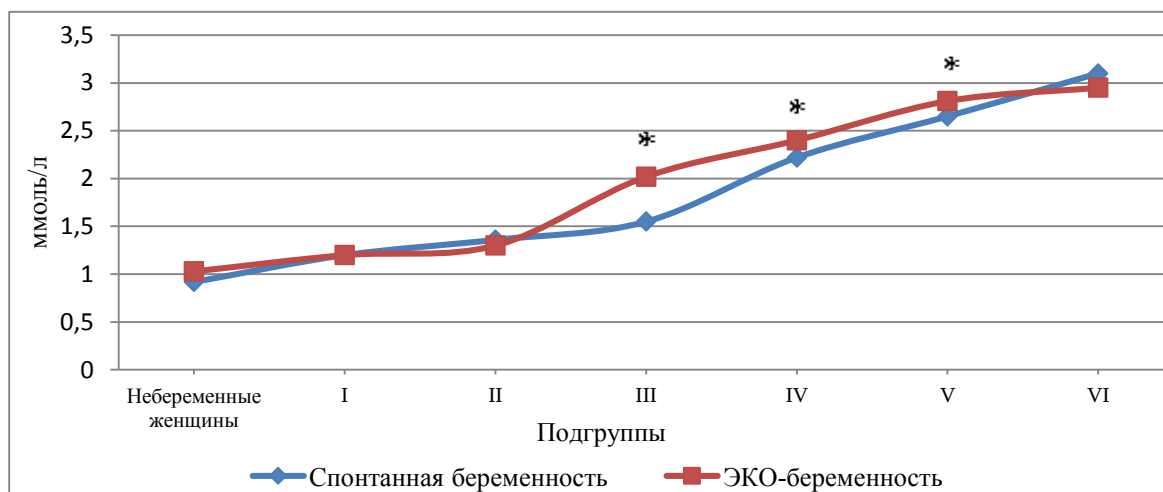


Рисунок 6.14. Триглицериды (ммоль/л) в сыворотке крови в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

Характер изменения концентрации холестерина ЛПВП и ЛПНП в случае ЭКО-беременности практически не отличался от такового в контрольной группе (таблица 6.3, 6.10, рисунок 6.15, 6.16). Однако, при ЭКО-беременности отмечались достоверно более низкие средние концентрации ЛПВП и ЛПНП на сроке 9-14 недель и более высокие средние значения холестерина ЛПНП на сроке 21-27 недель.

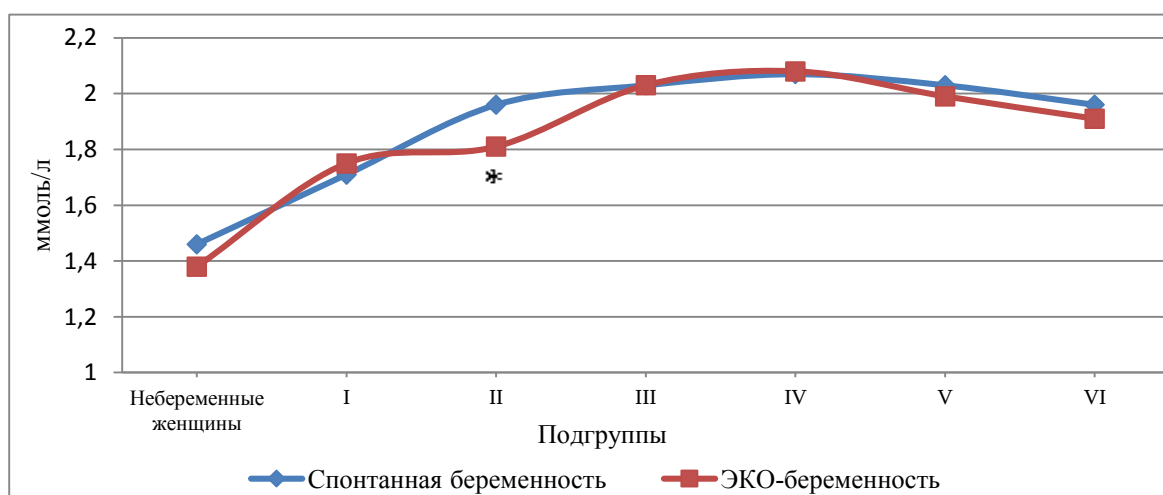


Рисунок 6.15. Холестерин ЛПВП (ммоль/л) в сыворотке крови в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

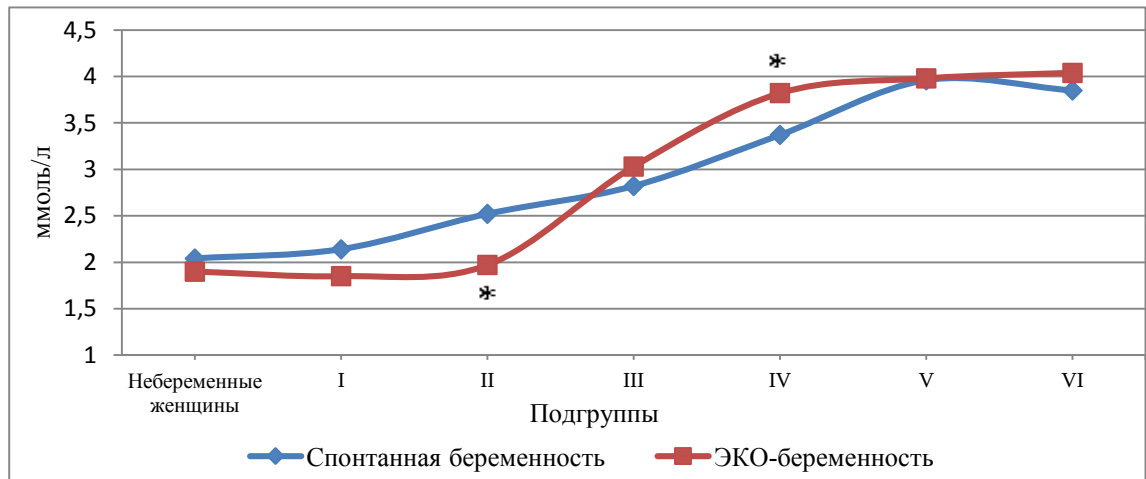


Рисунок 6.16. Холестерин ЛПНП (ммоль/л) в сыворотке крови в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

Следует отметить, что, несмотря на некоторые различия, все значения показателей липидного профиля в динамике ЭКО-беременности не выходили за пределы референсных интервалов для спонтанной беременности.

При анализе показателей, характеризующих функциональное состояние мочевыделительной системы у пациенток программы ЭКО в динамике беременности, были получены следующие результаты (таблица 6.11).

Таблица 6.11

Среднее ($\bar{X}$), медиана (P_{50}) и 95% интервал ($P_{2,5}-P_{97,5}$) для уровня креатинина и мочевины в сыворотке крови в динамике ЭКО-беременности

	Группа сравнения	Подгруппы беременных					
		I	II	III	IV	V	VI
Креатинин (мкмоль/л)							
Хср	75,0	78,9*	64,1*	68,5*	64,8*	66,5*	66,9*
P ₅₀	74,5	82,2*	62,7*	67,8*	61,2*	67,9*	66,5*
P _{2,5}	55,0	42,8	43,0	42,7	45,5	38,9	45,0
P _{97,5}	92,1	99,0	84,5	89,3	84,6	84,9	79,7
Мочевина (ммоль/л)							
Хср	3,80	3,43*	3,18*	3,41*	3,02*	2,89*	3,31*
P ₅₀	3,60	3,40*	3,05*	3,50*	3,10*	2,80*	2,80*
P _{2,5}	1,80	1,78	2,0	2,31	1,50	1,25	1,25
P _{97,5}	5,70	5,00	4,90	4,70	4,54	4,55	4,55

*- различия достоверны при $p < 0,05$ при сравнении с исходным уровнем (до беременности)

Уровень креатинина в динамике ЭКО-беременности так же, как и при спонтанной, был ниже, по сравнению с исходным, за исключением первых недель беременности. Так, верхняя граница 95% интервала составила 99,0 мкмоль/л по сравнению с 86,2 мкмоль/л у здоровых беременных. Более высокие средние значения данного показателя по сравнению со значениями у здоровых беременных выявлялись практически на всем протяжении ЭКО-беременности (рисунок 6.16).

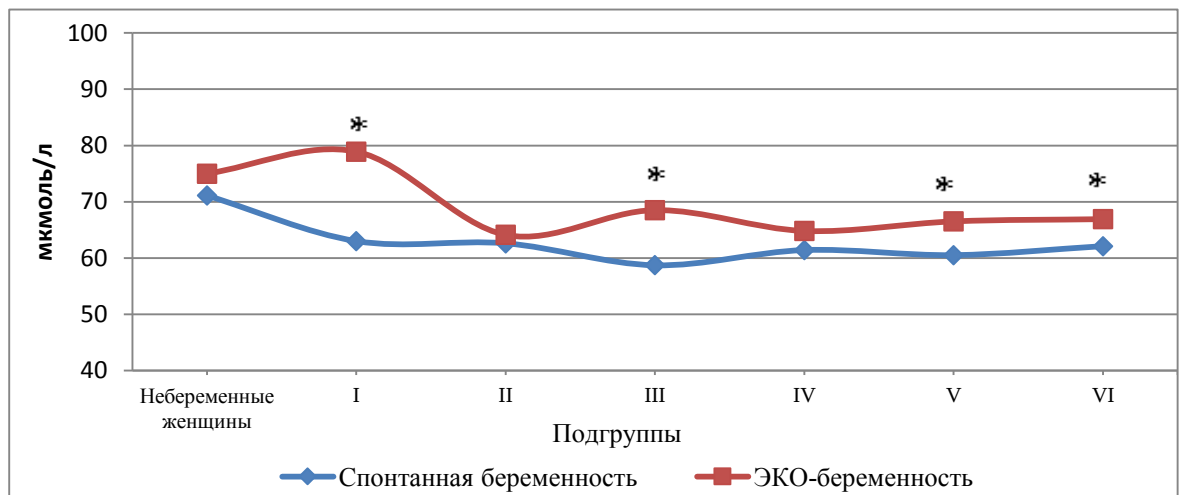


Рисунок 6.16. Уровень креатинина (мкмоль/л) в сыворотке крови в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке)

Уровень мочевины был ниже исходного уровня на всех сроках и, в целом, соответствовал таковому при физиологической беременности (рисунок 6.18).

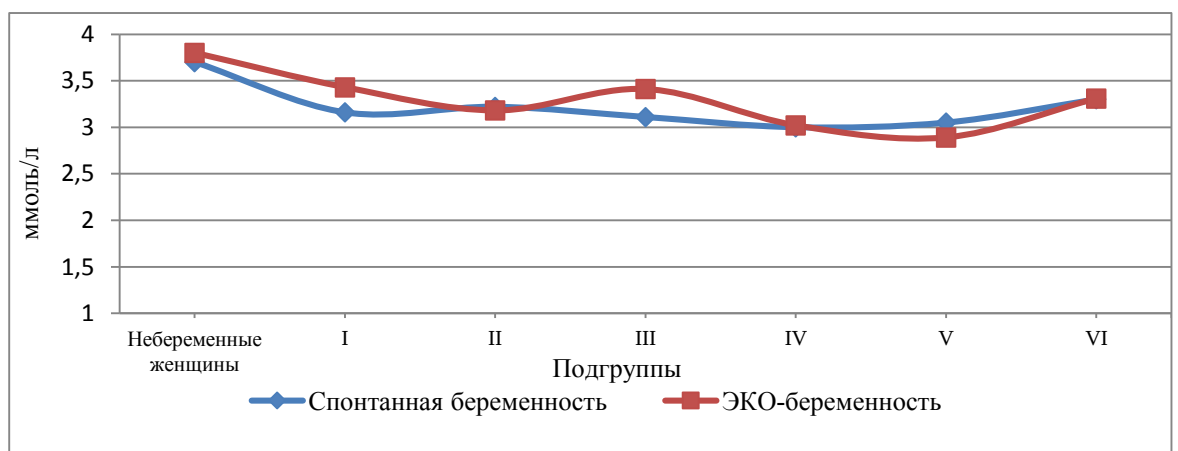


Рисунок 6.17. Уровень мочевины (ммоль/л) в сыворотке крови в динамике спонтанной беременности и беременности после ЭКО и ПЭ

Уровень электролитов (натрия, калия, хлора) в крови беременных после ЭКО и ПЭ был стабилен и оставался в рамках физиологического диапазона.

Представленные в этом разделе данные позволяют сделать следующие заключения:

1. Большинство исследованных биохимических параметров крови претерпевают в динамике физиологической беременности определенные изменения.
2. Сравнительный анализ 17 биохимических показателей до и во время физиологической беременности показал необходимость коррекции референсных интервалов на тех или иных гестационных сроках для 10 из них (общий белок, альбумин, креатинин, мочевины, общий холестерин, триглицериды, холестерин ЛПНП и ЛПВП, щелочная фосфатаза, ЛДГ). Применительно к остальным 7 показателям можно использовать референсные значения, установленные для здоровых небеременных женщин.
3. Исходные биохимические показатели у здоровых женщин активного репродуктивного возраста и у пациенток с бесплодием, включенных в данное исследование, не различались.
4. Большинство исследованных биохимических показателей крови как у беременных после реализации программы ЭКО, так и у здоровых беременных женщин, претерпевают идентичные изменения. Исключение составили такие показатели, как АЛТ, АСТ, ЛДГ и креатинин, для которых на сроке 4-8 недель ЭКО-беременности верхняя граница 95% интервала превышала таковую в случае спонтанной беременности в 2,6, 1,8, 1,3 и 1,2 раза соответственно. Кроме того, перед родами в группе ЭКО отмечались более низкие значения щелочной фосфатазы. Все остальные биохимические показатели крови оставались в пределах референсных интервалов для физиологической беременности.

5. Представленный анализ биохимических параметров в динамике неосложненной беременности, явившейся результатом реализации программы ЭКО и ПЭ, продемонстрировал отсутствие каких-либо принципиальных особенностей, требующих разработки специального мониторинга. Особого внимания заслуживает лишь начало первого триместра ЭКО-беременности.

ГЛАВА 7. ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЛАЦЕНТАРНОГО ФАКТОРА РОСТА И РАСТВОРИМОЙ fms-ПОДОБНОЙ ТИРОЗИНКИНАЗЫ-1 В КАЧЕСТВЕ МАРКЕРОВ ПРЕЭКЛАМПСИИ

В обзоре литературы были приведены данные, показывающие, что в число наиболее высокочувствительных и специфичных маркеров преэклампсии входят маркеры ангиогенеза – плацентарный фактор роста (PlGF) и растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 (sFlt-1), являющаяся одним из рецепторов сосудисто-эндотелиального фактора роста [70,277]. Увеличение концентрации sFlt-1 и уменьшение концентрации PlGF регистрируется за несколько недель до появления клинических признаков преэклампсии. Определение уровней PlGF, sFlt-1 и их соотношения можно проводить в качестве скрининговых тестов уже в конце I триместра беременности [114].

Однако для получения достоверной диагностической информации необходимо сформировать корректные референсные интервалы («нормативы») уровня определяемых маркеров.

В задачи данного этапа исследования входило: получение референсных интервалов концентраций PlGF, sFlt-1 и соотношения уровней этих маркеров в динамике физиологической беременности; сравнение полученных данных с результатами аналогичных определений при ЭКО-беременности, а также выявление особенностей продукции указанных маркеров при развитии преэклампсии различной степени тяжести.

7.1. Маркеры преэклампсии при физиологической беременности

На этом этапе исследования в него вошли 374 женщины с одноплодной неосложненной физиологической беременностью на сроке от 11 до 40 недель.

Полученные данные показали, что при неосложненном течении физиологической беременности концентрация плацентарного фактора роста возрастала в период с 11 до 33 недели беременности и затем снижалась вплоть до момента родов (рисунок 7.1). В то же время уровень растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 у здоровых беременных женщин начинал достоверно увеличиваться только с 34 недели и достигал максимальных значений на сроке 37-40 недель, что, по-видимому, отражает процесс адаптации эндотелия сосудистой стенки, направленный на предотвращение массивного кровотечения в период родов (рисунок 7.2).

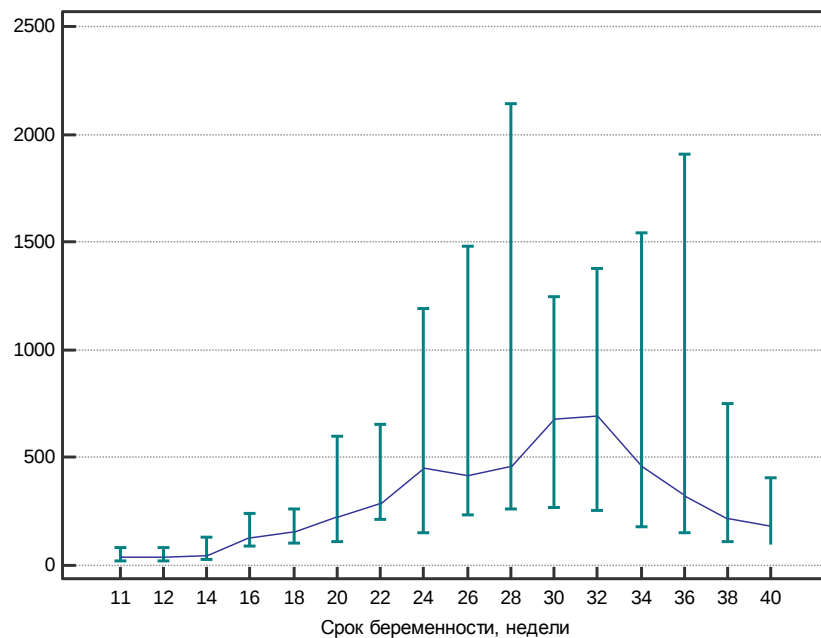


Рисунок 7.1. Концентрация плацентарного фактора роста (пг/мл) в зависимости от срока спонтанной неосложненной беременности

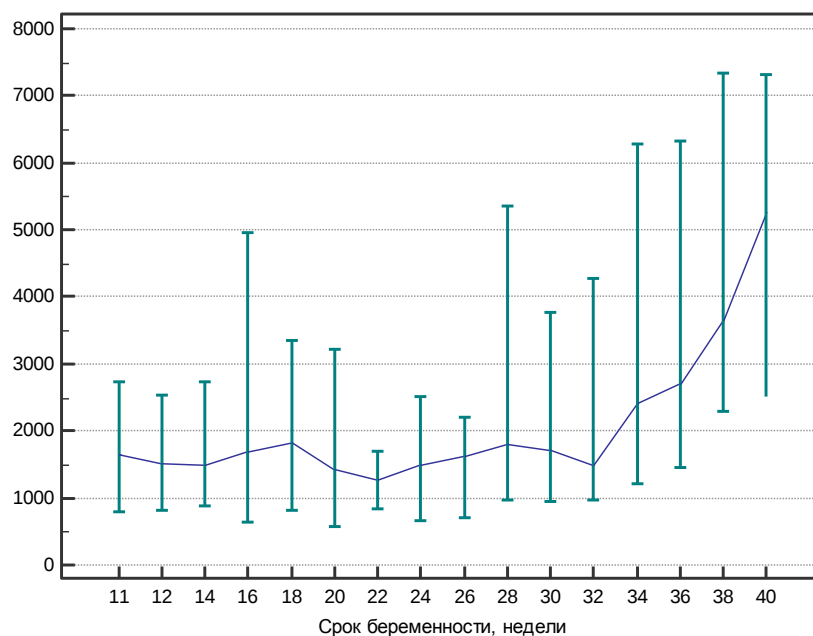


Рисунок 7.2. Концентрация растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 (пг/мл) в зависимости от срока спонтанной неосложненной беременности

Соотношение sFlt-1/PlGF имело максимальные значения в периоды 11-14 и 37-40 недель, а минимальные значения - в период 22-32 недели гестации (рисунок 7.3).

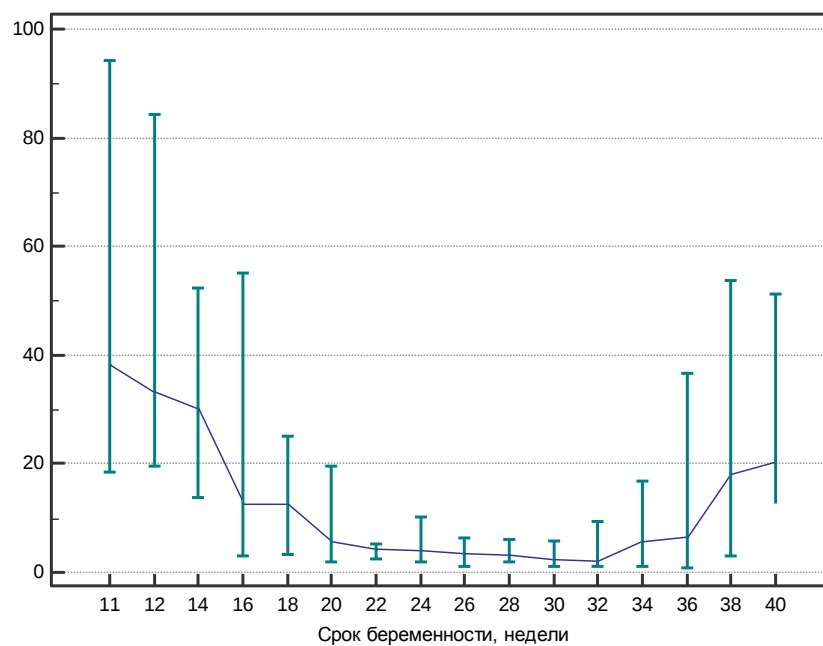


Рисунок 7.3. Динамика соотношения sFlt-1/PlGF в зависимости от срока спонтанной неосложненной беременности

Полученные результаты позволили сформировать референсные интервалы для концентраций плацентарного фактора роста и растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1, а также их соотношения в динамике физиологической беременности с 11 по 40 неделю. В таблице 7.1 представлены медианы (P_{50}) и 95% референсные интервалы (2,5 и 97,5 перцентили) этих показателей.

Таблица 7.1

Медиана (P_{50}) и 95% референсный интервал ($P_{2,5}$ - $P_{97,5}$) концентраций PlGF, sFlt-1 и значения их соотношения на разных сроках неосложненной физиологической беременности

Недели беременности	PlGF, пг/мл	sFlt-1, пг/мл	sFlt-1/ PlGF
11-14	43,4 22,0 – 108,2	1568,5 753,4 – 2883,8	34,2 17,2 – 81,5
15-19	158,2 91,8 – 487,1	1774,0 730,7 – 4488,1	11,1 2,1 – 26,3
20-23	334,1 106,2 – 1138,6	1357,0 468,8 – 2781,8	4,2 1,8-14,3
24-28	450,8 206,7 – 2094,6	1800,0 742,5 – 5289,9	3,6 1,3 – 8,8
29-33	649,4 240,5 – 1555,4	1857,0 950,8 – 6751,7	2,6 1,1 – 8,3
34-36	376,9 138,3 – 2005,0	2639,0 1230,3 – 6170,5	6,2 0,8 – 29,8
37-40	219,1 97,5 – 853,5	4095,0 2232,3 - 7527,6	18,3 3,1 – 52,4

Следует особо отметить, что эти интервалы разработаны при использовании диагностических тест-систем Elecsys PlGF и Elecsys sFlt-1 (Hoffman La Roche, Швейцария) и диагностической платформы Core E (Hitachi, Япония). Результаты, полученные с помощью иных диагностических тест-систем и оборудования, могут несколько отличаться от полученных в настоящем исследовании.

7.2. Сравнительный анализ маркеров преэклампсии при физиологической беременности и беременности после ЭКО и ПЭ

Было обследовано 22 пациентки с неосложненной ЭКО-беременностью на разных сроках гестации. При оценке уровня исследуемых маркеров было показано, что 90% полученных значений располагались в пределах референсных интервалов, рассчитанных для спонтанной неосложненной беременности (рисунки 7.4 - 7.6).

При этом следует отметить, что уровень плацентарного фактора роста в 85% случаев ЭКО-беременности был ниже значений медианы, полученных при спонтанной беременности, независимо от срока гестации (рисунок 7.4).

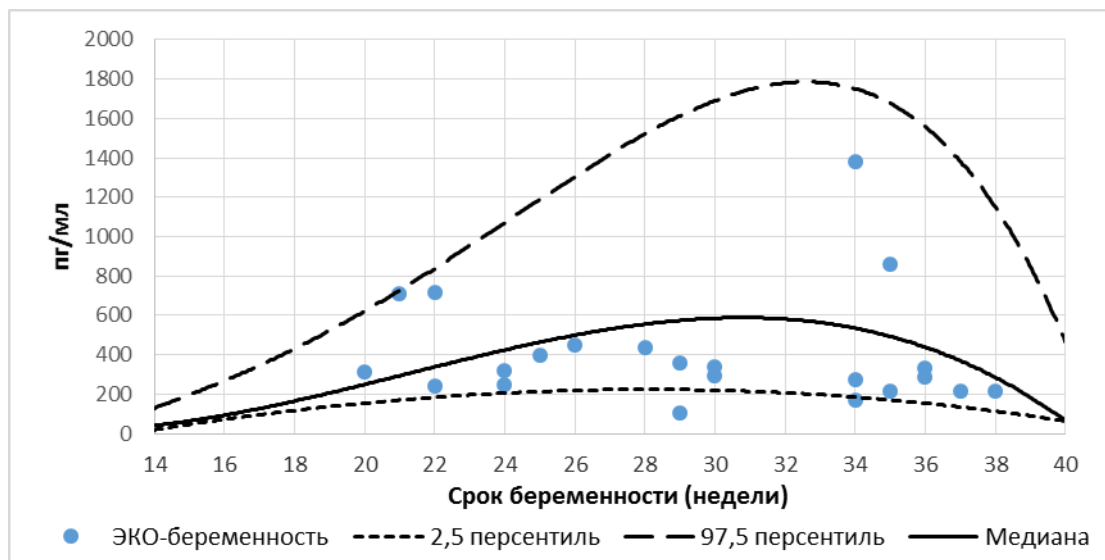


Рисунок 7.4. Концентрация плацентарного фактора роста (пг/мл) при неосложненной беременности после ЭКО и ПЭ (для сравнения представлены медиана и 95% референсные интервалы (2,5 и 97,5 перцентиль) для спонтанной неосложненной беременности)

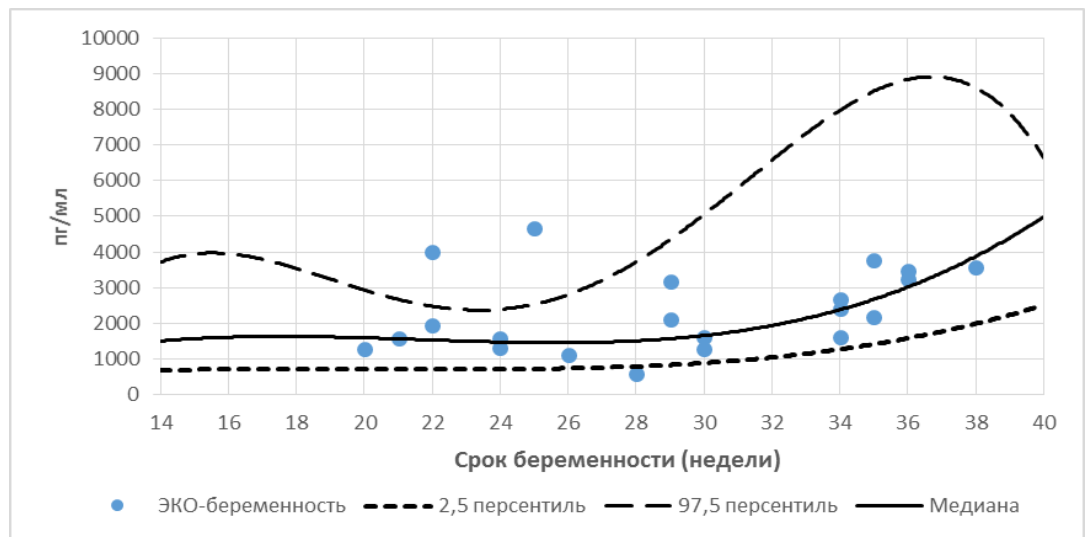


Рисунок 7.5. Концентрация растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 (пг/мл) при неосложненной беременности после ЭКО и ПЭ (для сравнения представлены медиана и референсные интервалы (2,5 и 97,5 перцентиль) для спонтанной неосложненной беременности)

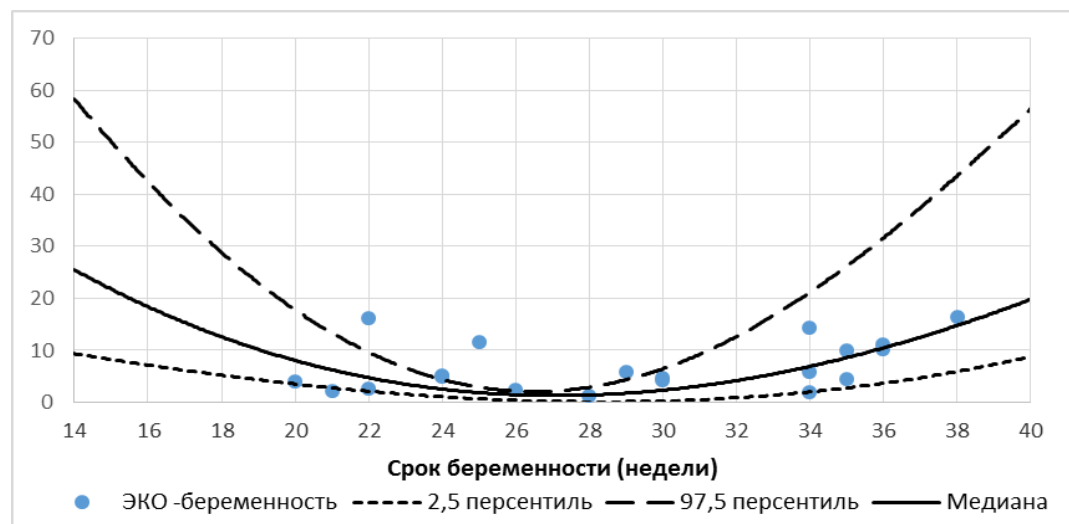


Рисунок 7.6. Соотношение sFlt-1/PlGF при неосложненной беременности после ЭКО и ПЭ (для сравнения представлены медиана и референсные интервалы (2,5 и 97,5 перцентиль) для спонтанной неосложненной беременности)

Согласно принятым критериям верификации референсных интервалов [43], полученные значения для трех маркеров (плацентарного фактора роста, растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 и их соотношения) для физиологической беременности могут быть использованы также и при диагностике преэклампсии в случае беременности, наступившей в результате реализации программы ВРТ и ПЭ.

7.3. Роль соотношения растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 и плацентарного фактора роста при развитии преэклампсии различной степени тяжести

Для оценки диагностической значимости уровня PlGF, sFlt-1 и их соотношения были обследованы 148 пациенток со спонтанной беременностью, осложнившейся развитием преэклампсии различной степени тяжести (с умеренной – 56 пациенток, с тяжелой – 92) в период с 20 по 40 неделю гестации. При сравнении с показателями, полученными при физиологической неосложненной беременности, были выявлены статистически значимые различия как концентраций маркеров, так и их соотношения. Более того, прослеживалась зависимость выявленных изменений от степени тяжести преэклампсии (рисунки 7. 7 – 7.9).

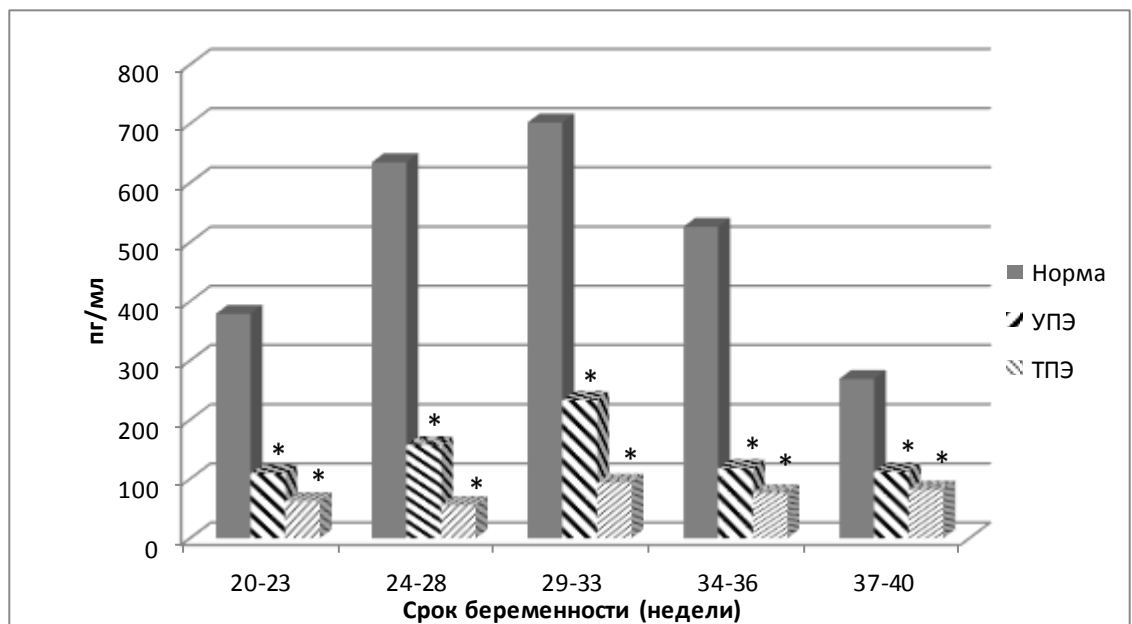


Рисунок 7.7. Уровень плацентарного фактора роста (пг/мл) в сыворотке крови при неосложненной беременности и при умеренной и тяжелой преэклампсии в зависимости от срока гестации (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке; УПЭ – умеренная преэклампсия; ТПЭ – тяжелая преэклампсия)

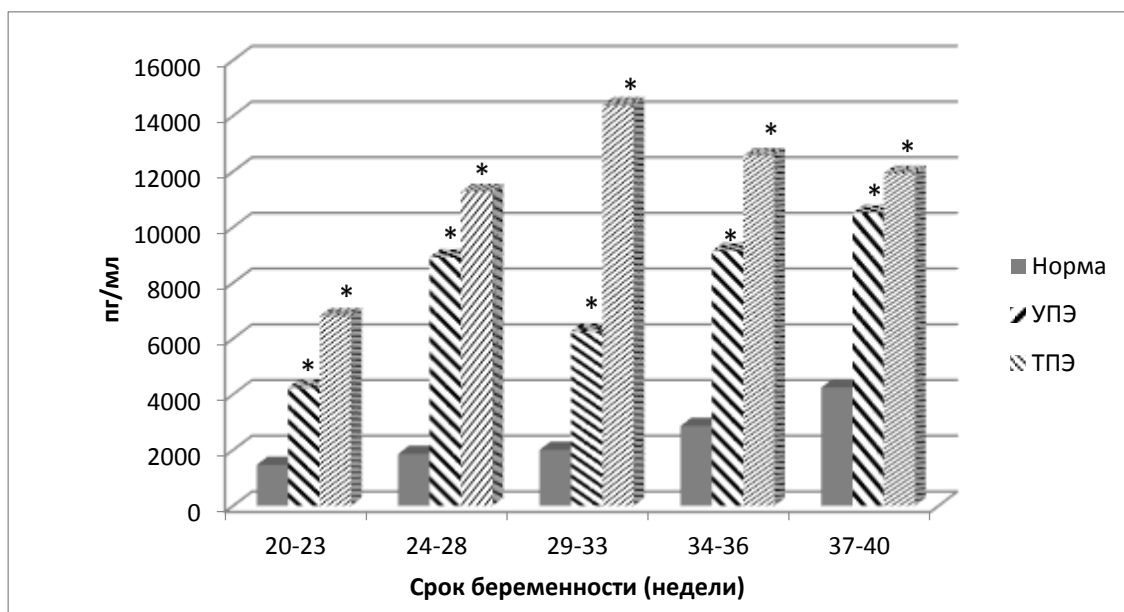


Рисунок 7.8. Уровень растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 (пг/мл) в сыворотке крови при неосложненной беременности и при умеренной и тяжелой преэклампсии в зависимости от срока гестации (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке; УПЭ –умеренная преэклампсия; ТПЭ – тяжелая преэклампсия)

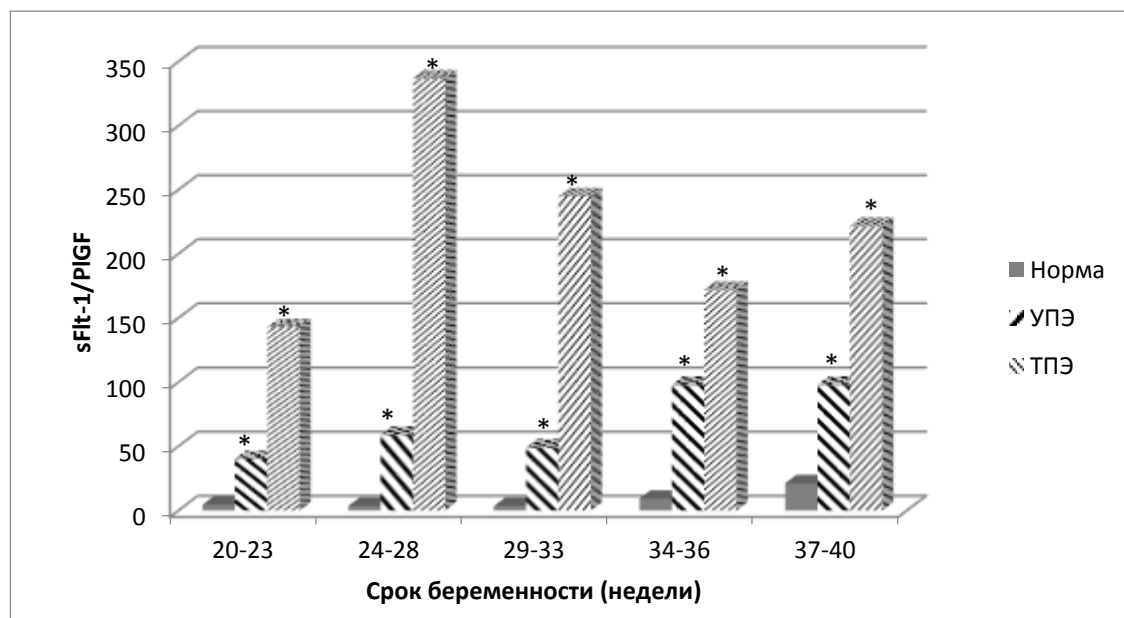


Рисунок 7.9. Соотношение sFlt-1/PlGF при неосложненной беременности и при умеренной и тяжелой преэклампсии в зависимости от срока гестации (*- различие достоверно при $p < 0,05$ при сравнении со спонтанной беременностью на том же сроке; УПЭ –умеренная преэклампсия; ТПЭ – тяжелая преэклампсия)

При более детальном сравнении двух групп с умеренной и тяжелой преэклампсией было выявлено, что достоверно более значимым маркером тяжести преэклампсии является именно соотношение растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 и плацентарного фактора роста (таблица 7.2). Так, если разница в уровнях определяемых маркеров при УПЭ и ТПЭ была достоверной для парного их определения лишь на сроках 24 -36 недель, то разница в соотношении sFlt/PlGF оказалась достоверной на всем протяжении тестирования, т.е. с 20 до 40 недели.

Таблица 7.2

Уровни ангиогенных маркеров в сыворотке крови и их соотношение при умеренной и тяжелой преэклампсии в зависимости от срока беременности

	Умеренная преэклампсия		Тяжелая преэклампсия		p
	n	Медиана (25-75%)	n	Медиана (25-75%)	
Плацентарный фактор роста, пг/мл					
20-23 недели	10	109,0 (93,9–124,2)	11	38,9 (29,6-103,8)	0,02
24-28 недель	10	140,7 (130,9-185,6)	25	46,2 (27,3-83,2)	0,0001
29-33 недели	13	161,0 (137,9–294,4)	30	71,4 (41,9-123,9)	0,0036
34-36 недель	11	124,0 (58,7-172,7)	16	68,6 (56,5-78,3)	0,05
37-40 недели	24	107,9 (74,1–141,8)	13	73,2 (55,4-112,7)	0,09
Растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1, пг/мл					
20-23 недели	10	4194,0 (3358,0-5112,5)	11	5732,0 (3168,8-8046,5)	0,15
24-28 недель	10	6087,5 (4671,0-13154,5)	25	9887,0 (7562,8-14789,5)	0,08
29-33 недели	13	6799,0 (4923,0-7095,8)	30	11918,0 (9197-15151)	<0,0001
34-36 недель	11	9067,0 (7391,3-10743,3)	16	11513 (9972,0-13672,5)	0,03
37-40 недели	24	9745,0 (7556,5-11748,0)	13	10996,0 (8466,0-15429,8)	0,32
Соотношение sFlt/PlGF					
20-23 недели	10	37,6 (30,1-50,0)	11	165,9 (61,5-205,1)	0,05
24-28 недель	10	36,0 (28,1-90,6)	25	258,2 (95,2-438,6)	0,0008
29-33 недели	13	29,7 (20,8-39,2)	30	179,6 (108,4-266,6)	<0,0001
34-36 недель	11	73,1 (60,4-147,6)	16	161,2 (135,3-210,0)	0,0028
37-40 недели	24	87,8 (74,1 – 106,9)	13	159,1 (109,2-221,1)	0,0056

Таким образом, при преэклампсии уровень плацентарного фактора роста достоверно ниже, а уровень sFlt-1 достоверно выше, чем при неосложненной беременности. Показано также, что соотношение sFlt-1/PlGF является более значимым маркером преэклампсии, чем отдельное определение этих факторов; при этом степень увеличения данного соотношения демонстрирует прямую зависимость от тяжести преэклампсии на всех определяемых сроках гестации (20-40 недель). Максимальный дисбаланс маркеров характерен для тяжелой преэклампсии, развивающейся на сроке до 34 недель.

Подводя итог результатам настоящего исследования можно сделать следующие выводы:

1. Концентрации sFlt-1 и PlGF, а также их соотношение являются высокоинформативными показателями развивающейся преэклампсии.
2. Определение концентрации указанных биомаркёров и расчет их соотношения следует проводить в I и II триместрах беременности в рамках скрининговой программы диагностики внутриутробной патологии плода, что позволит формировать группы риска и решать вопрос о тактике ведения пациенток с развивающейся преэклампсией.
3. Определение биомаркёров преэклампсии в III триместре беременности может служить основой для окончательной постановки диагноза и решения вопроса о сроках родоразрешения в целях сохранения жизни матери и плода.

ГЛАВА 8. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В последние годы широкое распространение различных методов вспомогательных репродуктивных технологий привело к значительному увеличению доли индуцированной беременности, т.е. беременности, наступившей в результате использования гормональных стимуляторов овуляции и применения инвазивных манипуляций. При этом наступление беременности в программах ВРТ является только первым этапом, после которого не менее важным является этап вынашивания и рождения здорового ребенка («take home baby») [10,27,28].

С момента начала клинического использования методов ВРТ (первый ребенок в результате реализации метода ЭКО и ПЭ был рожден в Англии в 1978 г. [304,305]) накоплен большой фактический материал, посвященный сравнению течения и исходов спонтанной и стимулированной беременности. Однако имеющиеся в современной литературе данные неоднозначны. До настоящего времени дискутируется вопрос о течении, исходах и частоте акушерских и перинатальных осложнений беременности, полученной в результате применения ВРТ [34,161,261].

Лабораторная медицина является фундаментальным компонентом диагностики в области акушерства и перинатологии. Различные лабораторные тесты используются для постановки диагноза, скрининга, мониторинга течения беременности и состояния плода [151]. Физиологические и метаболические изменения во время беременности возникают как следствие гормональной перестройки и отражаются на результатах многих биохимических, гормональных, гематологических лабораторных тестов. Оценка этих результатов требует использования адекватных референсных интервалов – в противном случае существует вероятность того, что окажутся пропущены значимые изменения или же значения определяемых показателей будут неправильно интерпретированы как проявление патологического процесса.

Во время неосложненной беременности происходят многочисленные гематологические изменения. Считается, что они необходимы для создания оптимальных условий жизнедеятельности как матери, так и плода. Наиболее значимыми гематологическими изменениями считаются физиологическая анемия, лейкоцитоз, умеренная тромбоцитопения, увеличение синтеза прокоагулянтных факторов, снижение фибринолиза, что подтверждается многочисленными публикациями, посвященными оценке референсных интервалов в течение физиологической беременности [54,73,151,272].

Интерпретация данных, указывающих на снижение уровня гемоглобина и количества эритроцитов у беременных женщин, требует осторожности при диагностировании анемий. Согласно рекомендациям ВОЗ (1989), диагноз анемии, требующей медикаментозной коррекции, подтверждается при уровне гемоглобина в первом и третьем триместрах ниже 110 г/л (гематокрит ниже 33%), во втором триместре – ниже 105 г/л (гематокрит ниже 32%). Однако наше исследование показало, что при нормальном течении беременности могут отмечаться и более низкие значения гемоглобина, что согласуется с данными других авторов [54,270].

Основной фактор, влияющий на скорость оседания эритроцитов - белковый состав плазмы. Физиологическое увеличение СОЭ во время беременности и в послеродовом периоде объясняется повышением уровня плазменных глобулинов и фибриногена. Имеющиеся в литературе данные указывают на значительное влияние гестационного возраста и концентрации гемоглобина на скорость оседания эритроцитов [327]. Согласно результатам работы, Van der Broek N.R. и соавт. при отсутствии анемии референсный интервал для СОЭ составил в первом триместре 18-48 мм/час, во втором – 30-70 мм/час, тогда как для беременных пациенток с анемией соответствующие референсные интервалы составили 21-62 и 40-95 мм/час.

По нашим данным, верхняя граница референсного интервала для СОЭ возрастает с 8 мм/час в первом триместре, до 45 мм/час к моменту родов.

Поскольку значительное изменение данного показателя в динамике физиологической беременности не позволяет его использовать в качестве маркера воспалительных процессов у беременных женщин, возникает вопрос о целесообразности определения СОЭ у данного контингента, особенно на поздних гестационных сроках.

Физиологическая беременность сопровождается лейкоцитозом при отсутствии клинических признаков инфекционно-воспалительных заболеваний, при этом увеличение общего числа лейкоцитов происходит в основном за счет фракции зрелых нейтрофилов [250]. Известно, что нейтрофилез связан с нарастанием концентрации гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, а моноцитоз - с ростом уровня макрофагального колониестимулирующего фактора с увеличением срока беременности [77,286]. В целом, полученные нами результаты, касающиеся направленности изменений показателей лейкоцитарной формулы, согласуются с имеющимися в литературе данными [132,270].

В настоящее время существуют разные точки зрения относительно изменения количества тромбоцитов во время беременности. По мнению ряда авторов, беременность не оказывает никакого влияния на данный показатель [118,204,291], другие исследователи выявили тенденцию к снижению числа тромбоцитов при увеличении гестационного срока, но при этом не считают эти изменения клинически значимыми [117,200,234].

По нашим данным, имеет место снижение нижней границы (2,5-й перцентиль) референсного интервала для количества тромбоцитов со $165-175 \times 10^9/\text{л}$ в первом триместре до $118 \times 10^9/\text{л}$ к концу неосложненной беременности.

Гестационная тромбоцитопения (случайная тромбоцитопения беременных) составляет 75-80% всех тромбоцитопений во время беременности. В этой ситуации общее количество тромбоцитов редко опускается ниже $100 \times 10^9/\text{л}$, но иногда отмечается падение значений до $70 \times 10^9/\text{л}$ [147]. Случайная

тромбоцитопения не сопровождается выраженными клиническими симптомами и, по-видимому, не связана с другими факторами риска. Механизмы развития такой случайной тромбоцитопении беременных неизвестны; повышенного риска развития тромбоцитопении или кровотечения у детей, родившихся от этих матерей, не выявлено [63,217,254]. Возможные причины снижения количества тромбоцитов во время беременности – увеличение объема циркулирующей плазмы, снижение образования и повышенное разрушение тромбоцитов из-за активации протромботических процессов. Это приводит не только к постепенному снижению общего содержания тромбоцитов в периферической крови, но и к росту количества более крупных молодых форм тромбоцитов и, как следствие, к увеличению среднего объема тромбоцитов [250,291].

Следует отметить, что очень трудно отличить тромбоцитопению при легкой форме заболеваний, сопровождающихся данным симптомом, от случайной тромбоцитопении беременных, если у женщины не проводилось определение количества тромбоцитов до беременности.

В последние годы большое значение придается изучению системы гемостаза при использовании гормональной контрацепции, при различных осложнениях беременности, родов и послеродового периода, а также на фоне применения ВРТ, т.е. во всех ситуациях, сопровождающихся серьезной гормональной перестройкой в организме женщины. Изменения в системе гемостаза являются уникальной особенностью гестационного процесса, они поддерживаются существованием фетоплацентарного комплекса и после завершения беременности подвергаются регрессу. Однако в случае развития патологических состояний во время беременности система гемостаза универсально и неспецифически реагирует на них в виде формирования синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС) крови, пусковые моменты которого кроются в физиологических гемостатических реакциях [2].

В современной литературе приводятся референсные интервалы для гемостазиологических показателей у беременных [38,149,155,150,246,313]. Однако внедрение новых лабораторных методов, разнообразие применяемых методик определения и производимая в последнее время переоценка «нормальных значений» требуют периодической коррекции референсных значений.

В норме у здоровой женщины во время беременности последовательно развивается ряд существенных изменений в системе гемостаза, непосредственно связанных с меняющимся гормональным фоном [270,334]. Беременность влияет на регуляцию свертывания крови преимущественно за счет повышения уровня эстрогенов, которое приводит к увеличению выработки тромбина и повышению свертывающей способности крови. Это изменение можно рассматривать как подготовку к ожидаемой кровопотере в родах [7,24,157,314].

Рутинные тесты, которые включают в себя определение протромбинового времени, АЧТВ, тромбинового времени и уровня фибриногена, играют значимую роль в диагностике различных типов нарушений коагуляции [196]. Полученные нами данные продемонстрировали тенденцию к укорочению всех трех из исследуемых временных показателей (протромбинового времени, АЧТВ и тромбинового времени) с возрастанием срока неосложненной беременности. При этом часть результатов (с ориентацией на медиану и доверительный интервал) не выходила за пределы интервалов для здоровых небеременных женщин, что согласуется с данными различных авторов [6,85,269], которые интерпретируют эти изменения как физиологические и не имеющие существенного клинического значения.

В то же время основным доказательством протромботической активации во время беременности является изменение концентрации коагуляционных, фибринолитических и антикоагулянтных белков. Согласно разным источникам, уровень фибриногена постепенно возрастает к моменту родов на 20-50%,

фактора Виллебранда – на 50-300%, увеличиваются концентрации факторов свертывания X, IX, VII и II (протромбина) [148,153,269].

В нашем исследовании уровни фактора Виллебранда и фибриногена к концу беременности тоже значительно превышали верхнюю границу референтного интервала для небеременной популяции.

Оба физиологических антикоагулянта, а именно протеин С и антитромбин, которые регулируют генерацию тромбина, имели более низкий уровень у беременных женщин, при этом не отмечалось существенных колебаний в динамике беременности, что согласуется с данными других авторов [39,78].

Указанные изменения требуют осторожности при интерпретации гемостазиограммы у беременных женщин, поскольку пока нет доказательств существования четкой зависимости между концентрацией маркеров активации коагуляции и риском развития тромботических осложнений при физиологической беременности [59,151,268]. В данной ситуации становится малоинформативным и использование уровня фибриногена в качестве одного из белков острой фазы воспаления и чувствительного маркера некроза тканей.

D-димер является продуктом деградации фибрина, и его количественное определение в настоящее время используют для мониторинга фибринолитической активности, поскольку тесты *in vitro*, позволяющие оценивать глобальную фибринолитическую активность и количественно определять концентрации активатора тканевого плазминогена, циркулирующего плазминогена и их ингибиторов, не вошли в рутинную практику клинических лабораторий. Кроме того, при использовании указанных тестов были получены противоречивые результаты, свидетельствующие о разнонаправленном изменении фибринолитической активности во время беременности [151].

По нашим данным, уровень D-димера к концу физиологической беременности превышал таковой до беременности в 3-5 раз, при этом верхняя граница референтного интервала к моменту родов находилась в диапазоне 1,8-

2,2 мкг/мл. По данным различных авторов, во втором триместре концентрацию D-димера выше 0,5мкг/мл имеют до 70% здоровых беременных женщин, а в третьем триместре – до 95% [188,271,274]. Чувствительность теста на протяжении беременности остается на высоком уровне, но его специфичность снижается, поэтому данный тест не рекомендован для исключения венозных тромбоэмболических осложнений у беременных [91]. Прогрессивный рост концентрации продуктов деградации фибрина и, в том числе D-димера, во время неосложненной беременности может свидетельствовать скорее о локализованном образовании и лизисе фибрина в маточно-плацентарном кровотоке, чем о состоянии системного диссеминированного внутрисосудистого свертывания [151], и указывать на наличие эффективных защитных механизмов, препятствующих тромбообразованию в этот период [19].

Логично, что меняющийся при беременности гормональный профиль женщин и перестройка обмена веществ, продиктованные необходимостью удовлетворения условий питания и обеспечения жизнедеятельности плода, неизбежно ведут к физиологическим изменениям основных биохимических параметров у беременной женщины. В обзоре литературы нами были подробно проанализированы имеющиеся данные об основных биохимических показателях у здоровых женщин в динамике развивающейся беременности. В результате многолетней работы целого ряда лабораторий были определены референсные значения этих показателей для каждого триместра в сравнении с аналогичными показателями здоровых небеременных женщин активного репродуктивного периода [151,275] и было показано, что беременность сопровождается изменениями многих лабораторных биохимических показателей. Эти изменения отражают в основном физиологическую адаптацию организма женщины к повышенной нагрузке на ряд органов и систем [151].

Понимание физиологических изменений, происходящих в гепатобилиарной системе во время беременности, является обязательным для

диагностики и лечения беременных женщин с заболеваниями печени и желчного пузыря. Однако отклонения соответствующих лабораторных данных могут выявляться и при нормально протекающей беременности, а также при внепеченочной патологии у беременных, а потому необходима осторожность при интерпретации этих результатов [83].

При анализе полученных нами данных было выявлено отсутствие изменений у беременных таких показателей функции гепатобилиарной системы, как концентрации в сыворотке крови трансаминаз (АЛТ и АСТ), ЛДГ, ГГТ, билирубина, что согласуется с результатами большого числа исследований других авторов [67,139,151,197]. Все значения этих показателей, даже если и имели векторы снижения или повышения в динамике гестационного процесса, оставались в пределах референсных интервалов для небеременных. Поэтому любое превышение верхней границы допустимого диапазона для перечисленных параметров требует проведения дополнительного обследования беременной женщины.

Однако в нашем исследовании было также показано, что ряд биохимических показателей претерпевают существенные изменения в течение физиологической беременности, но они носят характер компенсаторных.

Так, уровень альбумина начинал снижаться уже в конце первого триместра и достигал минимального (в 1,3-1,4 раза ниже исходного) уровня к концу беременности. Указанное снижение связано с физиологической гемодилюцией, поскольку общая масса альбумина у беременных женщин не отличается от таковой у небеременных, а скорость синтеза альбумина в печени и его обмена остаются неизменными [197,221]. По этой же причине происходило снижение уровня общего белка в сыворотке крови, так как именно альбумин составляет две трети от общего содержания белков плазмы.

Согласно данным литературы, перед родами у 50% женщин уровень щелочной фосфатазы превышает верхнюю границу диапазона значений для небеременных в один-два раза, у 30% - в два-три раза и 6% рожениц имеют

концентрацию фермента более чем в три раза превышающую верхний предел указанного интервала; у остальных 15% пациенток уровень ЩФ не выходит за пределы референсного интервала для небеременных [67,197,317]. Повышение концентрации ЩФ происходит за счет нескольких источников, основным из которых является плацента (40-60% всей ЩФ), что позволяет использовать данный маркер в диагностике нарушения развития плаценты, фетоплацентарной недостаточности, преэклампсии.

По нашим данным, уровень щелочной фосфатазы значительно возрастал к третьему триместру неосложненной беременности, при этом верхняя граница референсного интервала в 3,1 раза превышала исходные значения.

Холестерин синтезируется в организме повсеместно и является необходимым компонентом клеточных мембран, а также предшественником синтеза желчных кислот и стероидных гормонов; в сыворотке крови присутствует как в свободном виде, так и в составе липопротеинов. Концентрации холестерина и триглицеридов в сыворотке крови характеризуют состояние липидного обмена. Во время беременности повышенный уровень эстрогенов приводит— путем угнетения активности липазы— к увеличению синтеза холестерина и триглицеридов и, как следствие, к развитию гиперлипотеинемии [87,92,203]. Было обнаружено, что связанные с беременностью изменения в липидном профиле аналогичны тем, которые были выявлены у женщин, получающих экзогенные эстрогены [257,328].

Knorr R.N. и соавт. показали, что к третьему триместру беременности уровень общего холестерина в крови возрастает на 46%, холестерина липопротеидов высокой плотности (ЛПВП)— на 48%, холестерина ЛПНП— на 49%. Результаты, полученные в ходе нашей работы, согласуются с данными Ramsay M.B., согласно которым в течение беременности происходит удвоение концентрации общего холестерина сыворотки крови и трехкратное увеличение концентрации триглицеридов [270], а также с данными Piechota W. и соавт.

относительно 95% персентильного распределения фракций холестерина во втором и третьем триместрах физиологической беременности [248].

Несмотря на существенный рост всех показателей липидного профиля, значения отношений общего ХС к ХС ЛПВП и общего ХС к ХС ЛПВП снижались в первом триместре, во втором восстанавливались до исходного уровня, а в третьем возрастали. Эти данные, по мнению Piechota W. и соавт. указывают на то, что гиперлипидемия во время беременности не является атерогенной. Результаты исследования случай-контроль Lippi G. и соавт. показали, что физиологическая беременность ассоциируется с существенной модификацией метаболизма липидов и липопротеинов, что требует введения отдельных контрольных диапазонов для традиционных предикторов риска сердечно-сосудистых заболеваний на протяжении всего периода гестации [195].

Описанные выше изменения лабораторных показателей липидного профиля специфичны для физиологической беременности и требуют внимания при интерпретации результатов липидограммы у беременных, поскольку существует мнение, что повышенное содержание липопротеинов в плазме крови у беременных играет определенную роль в патофизиологическом процессе развития такого осложнения беременности, как преэклампсия, и ассоциируется с тяжестью данного заболевания [107,116]. Гиперлипидемия может усиливать дисфункцию клеток сосудистого эндотелия, возможно, путем стимуляции в них процессов окислительного стресса [14,205].

Хорошо известно, что во время беременности в связи с увеличением объема циркулирующей крови на 40% возрастает сердечный выброс и, как следствие, усиливается почечный кровоток [280]. В результате происходит увеличение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) до 50% от исходного уровня, повышается скорость экскреции мочевины и креатинина, из-за чего беременные женщины, как правило, имеют относительно низкий уровень данных метаболитов в сыворотке крови [89], что подтвердилось результатами нашего исследования.

Хотя концентрации мочевины и креатинина в плазме в определенной степени отражают СКФ и влияют на нее, более чувствительный и специфичный способ определения почечной недостаточности на ранних стадиях этого заболевания у беременных—измерение концентрации креатинина в сыворотке и в суточной моче с расчетом клиренса креатинина (проба Реберга).

Электролитный баланс зависит от концентрации в плазме различных ионов. По нашим данным, концентрации основных электролитов (натрия, калия, хлорида), отвечающих за поддержание гомеостаза, остаются неизменными в течение всей беременности. Однако некоторые авторы указывают на то, что уровень натрия к концу третьего триместра может снижаться (несмотря на увеличение его канальцевой реабсорбции, из-за более интенсивной задержки воды в организме беременной женщины [280].

Представленные выше данные свидетельствуют о том, что референсные значения гематологических, гемостазиологических и биохимических показателей, установленные в группе здоровых небеременных женщин, не подходят для интерпретации результатов, полученных у беременных. Кроме того, должны учитываться особенности диагностического оборудования и реагентной базы, поскольку референсные интервалы для большого количества лабораторных исследований являются метод-зависимыми [94,298,311].

Гормональная регуляция и течение беременности, наступившей в результате использования ВРТ, имеют ряд особенностей по сравнению со спонтанной беременностью [34]. Кроме того, течение индуцированной беременности может сопровождаться повышенной частотой развития осложнений гестационного процесса и родов [185]. Однако вопрос о необходимости корректировки референсных диапазонов показателей лабораторного обследования у данной группы пациенток в литературе не освещен.

Для адекватного сравнения представлялось необходимым начать анализ с характеристики исходного состояния женщин (до беременности). Существует

мнение, что частота неблагоприятных исходов индуцированной беременности прямо пропорциональна частоте и тяжести исходной экстрагенитальной патологии и осложнений ВРТ. В случае использования мягких схем стимуляции, при отсутствии осложнений, обусловленных экзогенной стероидной нагрузкой, и при наступлении одноплодной беременности, её течение и исходы сопоставимы с таковыми при самопроизвольной [3]. В данное исследование были отобраны женщины с трубно-перитонеальным фактором бесплодия без сопутствующей патологии для исключения её влияния на течение беременности, полученной в результате реализации программы ЭКО и ПЭ. Проведенный нами анализ четко продемонстрировал, что исходные (до начала реализации программы ЭКО и ПЭ) значения всех исследуемых показателей у женщин, включенных в данное исследование, не отличались от таковых у здоровых небеременных женщин. Исключение составил возраст пациенток: $34,0 \pm 4,1$ года у пациенток с одноплодной индуцированной беременностью и $29,9 \pm 4,7$ лет в группе пациенток с самопроизвольной беременностью ($p < 0,05$).

Гормональные параметры при стимуляции суперовуляции отличаются от таковых при физиологическом (спонтанном) менструальном цикле (уровень эстрадиола и прогестерона в циклах стимуляции в несколько раз выше, чем в физиологических), что определяется реализацией основной задачи программы ЭКО и ПЭ – инициации одновременного созревания когорты фолликулов и что, в свою очередь, создает экстремальные условия для процесса имплантации эмбриона и последующего его развития [34].

Как известно, имплантация связана с проращением трофобласта (наружного слоя бластоцисты) в эндометрий и формированием ворсин хориона, из которых затем формируется плацента. Плацента выполняет основную роль в регуляции гестационного процесса. Она осуществляет разделение кровотока матери и плода, перенос питательных веществ из крови матери в кровь плода и удаление продуктов его жизнедеятельности, а также продукцию стероидных и белковых гормонов, жизненно важных для беременности [144,223].

Оценка функционирования фето-плацентарного комплекса в первом триместре как спонтанной, так и индуцированной беременности проводилась нами на основании данных о концентрациях хорионического гонадотропина, прогестерона и эстрадиола в сыворотке крови.

Начало беременности, полученной в циклах ЭКО и ПЭ, протекало на фоне достоверно более высоких концентраций половых гормонов в сыворотке крови. Так, уровень эстрадиола превышал таковой при спонтанной беременности в 4,2 раза, а прогестерона – в 8 раз. Также начало стимулированной беременности характеризовалось более высокими концентрациями ХГч.

Дальнейшая динамика уровня ХГч в обеих группах пациенток была идентична. Максимальный уровень ХГч отмечался на 8-9 неделе беременности (акушерский срок). Затем по мере прогрессирования беременности концентрация гормона в крови постепенно снижалась. Различие состояло в том, что у пациенток программы ЭКО и ПЭ уровень ХГч на первых неделях был в 1,4–2,3 раза выше, чем при физиологической беременности. Это может быть связано с тем, что некоторые препараты синтетических гестагенов, широко применяемые на ранних сроках беременности в рамках программы ЭКО и ПЭ, могут вызывать активацию синтеза ХГч. По имеющимся данным, активный синтез ХГч продолжается до момента окончательного формирования плаценты [31].

Также в случае ЭКО-беременности нами получены достоверно более высокие, чем при естественном зачатии, концентрации прогестерона и эстрадиола на всем протяжении первого триместра, что согласуется с наблюдениями других авторов [3,15]. Наиболее вероятными причинами повышенного уровня стероидных гормонов в крови являются остаточное влияние стимуляции суперовуляции, лютеинизация не одного, как в естественном цикле, а множества фолликулов и более длительное функционирование большого количества желтых тел, а также использование для поддержания беременности больших доз синтетических гестагенов [135].

Следует отметить, что, по данным работы Александровой Н.В. при наступлении беременности после криопереноса (перенос криоконсервированных эмбрионов без стимуляции суперовуляции в данном цикле) уровни ХГч, прогестерона и эстрадиола в крови приближаются к показателям физиологической беременности [3].

Сравнительный анализ гематологических показателей показал одинаковую динамику при физиологической беременности и при беременности, наступившей в результате реализации программы ЭКО и ПЭ. Исключение составило значимое повышение в первые недели ЭКО-беременности общего количества лейкоцитов, абсолютного числа нейтрофилов и моноцитов, а также количества тромбоцитов, однако коррекция референсных интервалов потребовалась только для общего числа лейкоцитов и тромбоцитов на гестационном сроке 4-8 недель. Согласно полученным данным, референсные интервалы для этих показателей достоверно ($p < 0,05$) отличаются от установленных при спонтанной беременности на том же сроке и составляют: для общего количества лейкоцитов – $6,6 \times 10^9/\text{л}$ - $17,7 \times 10^9/\text{л}$, для количества тромбоцитов – $214 \times 10^9/\text{л}$ - $415 \times 10^9/\text{л}$.

Хорошо известно, что общее число лейкоцитов во время физиологической беременности возрастает, в основном, за счет фракции зрелых нейтрофилов под воздействием гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) [250]. В норме пик концентрации Г-КСФ отмечается в овуляторную фазу менструального цикла, а затем его уровень постепенно возрастает в динамике физиологической беременности, предположительно под влиянием гормонально-цитокиновых взаимодействий [286]. Лютеинизация не одного, как в естественном цикле, а множества фолликулов, функционирование большого количества желтых тел и гормональная поддержка, по-видимому, могут приводить к повышенному синтезу Г-КСФ и, как следствие, к увеличению количества лейкоцитов и нейтрофилов в первые недели индуцированной беременности.

Для физиологического гестационного процесса характерно скорее развитие тромбоцитопении, чем тромбоцитоза. Реактивный тромбоцитоз наблюдается обычно после родов, и некоторые исследователи рассматривают его как фактор риска тромботических осложнений [53]. В обследованной нами группе пациенток программы ЭКО и ПЭ увеличение количества тромбоцитов может быть результатом активации сосудисто-тромбоцитарного гемостаза на фоне сохраняющегося влияния стимуляции суперовуляции.

Коагуляционные изменения, ожидаемые в группе беременных после ЭКО и ПЭ, представляются в определенной степени закономерными. Они обусловлены массивной гормональной терапией, направленной сначала на стимуляцию фолликулогенеза, а затем на поддержание гестационного процесса [34].

Проведенный нами сравнительный анализ основных параметров гемостаза при спонтанной и индуцированной беременности показал, что при одинаковом исходном состоянии пациенток обеих групп в случаях ЭКО-беременности отмечались более выраженные изменения в системе гемостаза в первые недели беременности, когда ещё сохраняется влияние стимуляции и остается высоким риск развития тромботических осложнений и неблагоприятного течения гестационного процесса. При этом до середины второго триместра на фоне повышенной концентрации половых гормонов отмечались повышенные уровни фибриногена, фактора Виллебранда и D-димера, что потребовало коррекции отдельных референсных интервалов для данных показателей применительно к конкретному гестационному сроку.

Следует подчеркнуть, что ФВ—важный компонент адгезии тромбоцитов, синтезирующийся в клетках сосудистого эндотелия. Высокий уровень ФВ в крови наблюдается при его интенсивном синтезе и высвобождении из эндотелиальных клеток в результате длительного воздействия на них различных повреждающих факторов (в данном случае - высоких концентраций половых гормонов) [5,209]. При этом отмечается прямая зависимость уровня

ФВ от степени сосудистых повреждений. Дополнительным фактором является имплантация (наступление беременности), связанная с прорастанием трофобласта в эндометрий, нарушением целостности эндотелия и обнажением коллагеновых субэндотелиальных структур [40]. Из всего сказанного следует, что выявляемое в первые недели ЭКО-беременности почти двухкратное повышение уровня фактора Виллебранда может служить неспецифическим маркером повреждения сосудистого эндотелия, которое обусловлено резким повышением уровня половых гормонов в крови в сочетании с процессом имплантации. Повышенный синтез ФВ является фактором риска патологической активации тромбоцитов, повышения их адгезии и агрегации, запуска внешнего и внутреннего механизмов свертывания и, как следствие, развития диссеминированного сосудистого свертывания.

Принципиально важно различать высокий коагуляционный потенциал и патологическую активацию свертывания. Повышение активности большинства прокоагулянтов в крови, включая фибриноген, может рассматриваться только как фактор риска расстройства микроциркуляции [12]. Для выявления признаков возможной активации системы свертывания и фибринолиза служит определение продукта деградации фибрина и одного из маркеров тромбинемии - D-димера.

Многократное повышение концентрации D-димера в плазме крови в первые недели индуцированной беременности, как и в поздние сроки физиологического гестационного процесса, может быть обусловлено тем, что в маточно-плацентарном кровотоке происходит повышенный лизис растворимого фибрина, не достигшего состояния фибринового сгустка. Если такой процесс действительно имеет место, то это указывает на наличие эффективных компенсаторных механизмов, препятствующих повышенному тромбообразованию.

Также к компенсаторным механизмам можно, по-видимому, отнести повышенный уровень физиологического антикоагулянта протеина С на протяжении всей индуцированной беременности.

В более поздние сроки тромбогенные изменения остальных параметров гемостаза при спонтанной и при ЭКО-беременности были идентичными и отражали процесс естественного системного нарастания гемостатического и фибринолитического потенциала крови, направленного на благополучное течение беременности и снижение кровопотери в родах.

В целом, полученные данные свидетельствуют о необходимости тщательного мониторинга состояния системы гемостаза в течение первого триместра ЭКО-беременности для предупреждения тромботических осложнений и своевременной медикаментозной коррекции.

Гиперэстрогенное состояние, развивающееся при физиологической беременности, приводит к многочисленным изменениям в гепатобилиарной системе [275,328], но при этом уровни аминотрансфераз, лактатдегидрогеназы и гамма-глутамилтрансферазы в крови у здоровых беременных, как правило, остаются в рамках референсных значений для небеременных женщин, что было подтверждено в нашем исследовании. Однако мы обнаружили, что выраженный гормональный дисбаланс на ранних сроках ЭКО-беременности сопровождается выраженной ферментемией, связанной, по-видимому, с воздействием на печень цитолитических факторов и с сопутствующей метаболической компенсацией [20]. Так, на сроке 4-8 недель беременности, наступившей в циклах программы ЭКО и ПЭ, верхняя граница 95% доверительного интервала для АЛТ составила 61,4 Ед/л, для АСТ – 52,5 Ед/л, для ЛДГ - 486 Ед/л, что, соответственно, в 2,6, 1,8 и 1,3 раза превышает верхнюю границу данных интервалов при физиологической беременности. При дальнейшем мониторинге этих показателей не было выявлено различий между сравниваемыми группами беременных.

Также необходимо отметить, что в первые недели ЭКО-беременности верхняя граница 95% интервала для уровня креатинина составила 99,0 мкмоль/л по сравнению с 86,2 мкмоль/л у здоровых беременных, что может быть связано с активацией биоэнергетических процессов и усилением белкового обмена. Несмотря на то, что в дальнейшем более высокие средние значения креатинина по сравнению с таковыми в контрольной группе выявлялись практически на всем протяжении индуцированной беременности, коррекции референсных интервалов не потребовалось.

Остальные биохимические показатели крови, включенные в наше исследование (альбумин, общий белок, мочевины, билирубин, параметры липидного профиля), у беременных после реализации программы ЭКО, как и у здоровых беременных женщин, претерпевали те или иные изменения, характерные для физиологической адаптации.

Стимуляция суперовуляции и повышенная гормональная нагрузка оказывают влияние на уровень белков, синтезируемых трофобластом, которые используются в качестве маркеров пренатального скрининга.

В нашей стране проведение комплексной пренатальной (дородовой) диагностики нарушений развития плода осуществляется в рамках стандарта обследования в I триместре беременности, регламентированного приказом Министерства здравоохранения РФ от 1 ноября 2012 г. №572н (Об утверждении порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология»). Согласно стандарту, при сроке беременности 11-14 недель беременная женщина должна быть направлена в медицинскую организацию, обеспечивающую экспертный уровень пренатальной диагностики, т.е. проведение ультразвукового скринингового обследования, определение материнских сывороточных маркеров (связанного с беременностью плазменного протеина А (РАРР-А) и свободной бета-субъединицы хорионического гонадотропина) и последующий программный комплексный расчет индивидуального риска рождения ребенка с хромосомной патологией.

Ранняя диагностика хромосомной патологии плода при беременности, полученной в результате использования ВРТ, в последнее время становится все более актуальной. Действительно, пациентки программы ЭКО, как правило, имеют больший возраст, чем женщины со спонтанной беременностью, и, следовательно, их дети более предрасположены к появлению хромосомных нарушений (прежде всего, синдрома Дауна) [265].

В настоящее время не существует окончательного мнения об уровне в сыворотке крови биохимических маркеров комбинированного пренатального скрининга первого триместра (свободная β -субъединица ХГч и РАРР-А) в случае беременности, наступившей в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий.

В литературе, посвященной результатам скрининга I триместра, представлены противоречивые данные как о зависимости уровня биохимических маркеров от способа получения беременности, так и о частоте хромосомных аномалий плода при использовании ВРТ по сравнению с самопроизвольной беременностью [48,58,235]. Так, в большинстве исследований было показано снижение уровня РАРР-А в сочетании с неизменной концентрацией свободной β -субъединицы ХГч [125,219,260,321], но сообщалось также об её увеличении [129] или даже снижении [131]. В некоторых работах не было обнаружено изменений в значениях материнских сывороточных маркеров при индуцированной беременности по сравнению со спонтанной [122,124]. Также приводятся неоднозначные данные относительно уровня свободной β -субъединицы ХГч, которые указывают либо на его низкие [42,130,321], либо, наоборот, на повышенные значения при ЭКО-беременности [263]. Эти противоречивые результаты, вероятно, объясняются небольшими размерами использованных выборок и отсутствием разделения пациенток на группы в зависимости от метода ВРТ, течения беременности и применения гормонотерапии.

Полученные нами данные показали, что при беременности, наступившей в результате реализации ВРТ, на сроке 11-13 недель уровень РАРР-А снижен, а уровень свободной β -субъединицы ХГч повышен по сравнению с аналогичными показателями при самопроизвольной беременности.

Причины различия в уровне определяемых скрининговых маркеров при сравнении спонтанной и индуцированной беременности остаются неясными, и их изучению в последние годы уделяется большое внимание. Не исключается влияние изменений метаболизма фето-плацентарного комплекса, возникающих под действием избыточной гормональной нагрузки, формирования большого числа желтых тел и избыточной продукции ингибина А, который подавляет секрецию РАРР-А [321]. Существует также предположение, что относительно низкие значения РАРР-А при неосложненной индуцированной беременности могут быть результатом метаболических нарушений, связанных с бесплодием у матери [219]. Причиной более высоких значений свободного β -ХГч на сроке 11-13 недель может быть, как и в первые недели ЭКО-беременности, использование препаратов синтетических гестагенов, применяемых для поддержки беременности в рамках программы ЭКО и ПЭ и способных вызвать активацию синтеза ХГч.

В любом случае описанные изменения требуют повышенного внимания и должны учитываться при расчете риска хромосомной патологии плода в рамках пренатального скрининга для снижения числа ложноположительных результатов у пациенток с нормальным кариотипом и неосложненным течением беременности.

Несмотря на то, что на данный момент основная роль в пренатальной диагностике хромосомных аномалий у плода отводится комбинированному скринингу на 11-13 неделе беременности, приказом Министерства здравоохранения РФ от 1 ноября 2012 г. №572н, приведенным выше, регламентируется определение биохимических маркеров в материнской сыворотке крови (тройной тест: эстриол, АФП, ХГч) на сроке 16-18 недель

беременности в том случае, если женщина не смогла пройти своевременно скрининг первого триместра.

В предшествующих исследованиях скрининговых маркеров, определяемых на 16-18 неделе беременности, были получены противоречивые данные, что свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения причин, приводящих к различиям в концентрации биохимических маркеров при спонтанной беременности и при беременности после ЭКО и ПЭ. В нескольких работах различий выявлено не было или определялось лишь незначительное повышение концентрации ХГч во втором триместре [214,287,288], в то время как другие авторы описывают более выраженное увеличение уровня ХГч и низкие значения АФП и неконъюгированного эстриола при ЭКО-беременности по сравнению с физиологической беременностью [101,289].

В нашем исследовании при сравнении двух групп пациенток не было выявлено достоверных различий в уровнях ХГч, АФП и эстриола в сыворотке крови в период с 17 до 20 недели гестации. Как при спонтанной, так и при ЭКО-беременности уровень ХГч снижался, а концентрации АФП и эстриола возрастали одновременно с увеличением срока.

Кроме того, в рамках биохимического скрининга во втором триместре нами проводилось определение дополнительного маркера в сыворотке крови матери – 17- α -гидроксипрогестерона (17-ОП), включенного в пренатальную диагностику врожденных пороков развития [16]. В норме данный стероидный гормон служит субстратом для синтеза кортизола в надпочечниках. При врожденной гиперплазии коры надпочечников (ВГКН) выявляются мутации генов, ответственных за определенные этапы стероидогенеза. Чаще всего мутации затрагивают ген, ответственный за синтез фермента 21-гидроксилазы. В результате синтез кортизола резко снижается, а в крови плода, амниотической жидкости и крови матери возрастает концентрация 17-ОН-прогестерона. Таким образом, 17-ОП является патогенетическим маркером ВГКН, и включение его в схему обследования беременных женщин позволяет

своевременно диагностировать заболевание плода и начать терапию уже на пренатальном этапе [113].

Абсолютные значения концентрации 17-ОН-прогестерона на всем протяжении второго триместра беременности у пациенток программы ЭКО и ПЭ были достоверно выше, чем у здоровых беременных женщин. Более того, верхняя граница 95% доверительного интервала в случае ЭКО-беременности соответствовала более высокой концентрации данного гормона с 17 по 20 неделю гестации, что требует осторожности при интерпретации результатов в этой группе пациенток.

Важно отметить, что при реализации программы ЭКО и ПЭ на фоне контролируемой стимуляции суперовуляции происходит значительное увеличение уровня 17-ОН прогестерона в крови женщины. Orvieto P. и соавт. показали, что в циклах стимуляции существует корреляция между уровнями 17-ОН-прогестерона, эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови и количеством получаемых ооцитов, и предлагают использовать данный гормон как маркер развития синдрома гиперстимуляции [86].

По-видимому, высокие значения 17-ОН-прогестерона во втором триместре могут быть обусловлены остаточным влиянием стимуляции и повышенным уровнем прогестерона в крови у пациенток с индуцированной беременностью.

Следует также отметить, что изученные маркеры могут использоваться не только при оценке риска хромосомных нарушений. Изменения этих показателей могут наблюдаться при других патологических состояниях плода и сопутствующей акушерской патологии у матери (нарушения метаболизма, грубые пороки развития, фетоплацентарная недостаточность, синдром задержки развития плода, преэклампсия и т.д.). В настоящее время идет поиск маркеров, определение которых позволило бы предотвратить поздние акушерские осложнения [88].

К числу самых тяжелых осложнений беременности, родов и послеродового периода относится преэклампсия, составляющая одну из

ведущих причин материнской и перинатальной заболеваемости и смертности. В патогенезе преэклампсии центральную роль играет эндотелиальная дисфункция, возникающая в результате нарушения плацентарного васкулогенеза [14]. Как известно, причиной эндотелиальной дисфункции во время беременности является нарушение баланса в материнском кровотоке про- и антиангиогенных факторов, ответственных за формирование плаценты и процесс имплантации. Это нарушение может наблюдаться, по данным различных авторов, в период от 6 недель беременности до дебюта преэклампсии, и до 5-8 лет после перенесенного заболевания [103,108,330].

По мнению ряда исследователей, наиболее высокочувствительными и специфическими маркерами преэклампсии в настоящее время, наряду с плацентарным фактором роста, являются растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 (sFlt-1), один из вариантов рецепторов сосудисто-эндотелиального фактора роста, а также их соотношение [43,82,299,312].

Плацентарный фактор роста (PlGF), относящийся к подсемейству сосудистых эндотелиальных факторов роста, синтезируется в ворсинчатом и вневорсинчатом цитотрофобласте и выполняет как васкулогенную, так и ангиогенную функции. Концентрация плацентарного фактора роста в крови постепенно возрастает с ранних сроков физиологической беременности и достигает максимальных значений к 32-33 неделе гестации. И напротив, уровень анти-ангиогенного фактора sFlt-1 остается стабильным в первом и втором триместрах и увеличивается к родам [213,232].

Преэклампсия ассоциирована со снижением продукции плацентарного фактора роста, и существующее мнение о том, что снижение сывороточного уровня этого маркера предшествует клинической манифестации заболевания, находит свое подтверждение в исследованиях различных авторов, показавших значимость проведения скрининга на наиболее тяжелую раннюю форму преэклампсии (требующую родоразрешения до 34 недели беременности) путем

комбинированной оценки PlGF в материнской сыворотке и доплерометрии маточных артерий уже на 11-13 неделе [256,310].

Имеющиеся данные относительно взаимосвязи концентрации sFlt-1 в первом триместре и развитием преэклампсии противоречивы. Так, крупное исследование случай-контроль, выполненное в Норвегии и включающее 30000 беременных женщин, показало, что низкий уровень sFlt-1 в I триместре ассоциирован с ранним началом заболевания [74,108]. В то же время, по данным Levine R.J. и соавт. за 5 недель до клинического дебюта преэклампсии происходит повышение уровня циркулирующего sFlt-1, но не обнаруживается никакой взаимосвязи между уровнем sFlt-1 в I триместре беременности и частотой развития заболевания [79]. В ряде работ было показано, что уровни PlGF, sFlt-1 и их соотношение могут использоваться в качестве скрининговых тестов уже в конце I триместра беременности [302]. На более поздних сроках соотношение уровней sFlt-1 и PlGF оказалось более надежным прогностическим и диагностическим маркером преэклампсии, чем каждый из этих показателей по отдельности [43,82,213,312].

В нашем исследовании установлено, что после 20-й недели беременности при развитии преэклампсии уровень плацентарного фактора роста был достоверно ниже, а уровень sFlt-1 – достоверно выше, чем при неосложненной беременности, а соотношение sFlt-1/PlGF является более значимым маркером преэклампсии, чем раздельное определение этих факторов; при этом степень увеличения данного соотношения прямо пропорциональна тяжести преэклампсии. Максимальный дисбаланс маркеров характерен для тяжелой преэклампсии, развивающейся на сроке до 34 недель. Аналогичные данные были получены Wikström A.K. и соавт. [253], которыми было показано увеличение концентрации sFlt-1 в 43 раза при ранней форме и в 3 раза – при поздней форме заболевания по сравнению с физиологически протекающей беременностью, и оценена значимость соотношения sFlt-1 и PlGF при прогнозировании развития преэклампсии [52,312]. По мнению Husse S. и соавт.

абсолютное значение отношения sFlt-1 к PlGF, равное 85 или превышающее эту величину, является реальным прогностическим маркером преэклампсии у пациенток высокого риска [258].

Однако до настоящего времени дискуссионными остаются вопросы о возможности использования данных биомаркеров в различных популяциях и когортах беременных. Кроме того, возрастающая частота беременностей, наступивших в результате применения ВРТ, предопределяет актуальность изучения диагностической значимости указанных биомаркеров.

По данным Lee M.S. и соавт. индуцированная беременность сопровождается повышением уровня sFlt-1 и снижением уровня PlGF в сыворотке крови матери на разных сроках гестации по сравнению со спонтанной беременностью при отсутствии клинических признаков плацентарной дисфункции, в частности преэклампсии. По мнению авторов, выявленные различия могут быть проявлением субклинических изменений ангиогенеза и требовать более тщательного наблюдения за данной группой пациенток с целью своевременной оценки риска неблагоприятных исходов [45].

Согласно нашим данным, уровень плацентарного фактора роста в сыворотке крови как в группе индуцированной, так и спонтанной беременности возрастает с увеличением срока гестации. Также не отмечено различий между группами в динамике уровня растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1. Показано, что 90% полученных значений располагались в пределах референсных интервалов, рассчитанных для спонтанной неосложненной беременности. Однако на всех сроках отмечались достоверно более низкие значения PlGF в группе пациенток с беременностью после ЭКО и ПЭ, что может быть обусловлено особенностями формирования фетоплацентарного комплекса. При этом значения соотношения sFlt-1/PlGF были сопоставимы с таковыми при физиологической беременности. Отметим, что все проанализированные случаи ЭКО-беременности протекали без осложнений и закончились своевременным рождением здорового ребенка.

Таким образом, проведенное исследование показало обоснованность и целесообразность использования изученных маркеров для прогнозирования и диагностики преэклампсии как при спонтанной беременности, так и при беременности, наступившей в результате ВРТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мониторинг развивающейся беременности, а особенно беременности, являющейся результатом реализации программы ЭКО и ПЭ, необходим для проведения ранней диагностики возникающих нарушений и их своевременной коррекции, а потому требует четких представлений о допустимых пределах колебаний тех или иных лабораторных показателей. Обычно основные показатели гомеостаза у беременных сравниваются с референсными значениями для небеременных женщин, что представляется не совсем правомочным, так как не отражает физиологических адаптационных изменений, свойственных гестационному процессу.

Под «нормой беременности» следует понимать среднестатистические показатели гомеостаза и функциональных тестов, характерные для неосложненного развития беременности у практически здоровой женщины в зависимости от срока гестации. Знание физиологических изменений в организме при спонтанной беременности необходимо врачу любой специальности, так как позволяет быстро ориентироваться в распознавании патологии, предшествующей осложнениям течения беременности, родов и послеродового периода. Игнорирование врачом этих изменений может привести как к недооценке тяжести состояния, так и к ятрогенной избыточной коррекции при лечении осложнений или критических состояний.

В то же время меняющиеся экологические и социальные условия не позволяют рассматривать указанные референсные значения как постоянную величину и требуют их своевременного обновления.

В проведенном нами исследовании были получены обновленные референсные интервалы для основных гормональных, биохимических, гематологических и гемостазиологических лабораторных показателей в динамике физиологической беременности в сравнении с аналогичными параметрами у небеременных женщин. Полученные результаты и их анализ в

полном соответствии с литературными данными продемонстрировали, что на фоне меняющегося гормонального профиля женщины происходят изменения в ее основных системах жизнеобеспечения, обусловленные развивающейся беременностью и адаптацией к ней организма матери.

Сравнительный анализ динамики основных показателей лабораторного мониторинга при спонтанной беременности и беременности, наступившей в результате реализации программы ЭКО и ПЭ, в целом продемонстрировал отсутствие существенных различий, которые бы требовали разработки специфического алгоритма мониторинга неосложненной индуцированной беременности. Более пристального внимания заслуживает первый триместр индуцированной беременности, когда отмечаются изменения гематологических, гемостазиологических и биохимических параметров, обусловленные массивной гормональной терапией, направленной сначала на стимуляцию фолликулогенеза, а затем на поддержание гестационного процесса.

ВЫВОДЫ

1. Полученные референсные интервалы для гормональных, гематологических, гемостазиологических и биохимических показателей, используемых в настоящее время в рамках стандартов лабораторного обследования здоровых беременных женщин, отражают физиологические изменения в организме женщины и не только отличаются от референсных диапазонов для небеременных, но и зависят от гестационного срока.
2. Начало беременности, полученной в циклах ЭКО и ПЭ, протекает на фоне более высоких концентраций половых гормонов и хорионического гонадотропина в сыворотке крови: уровень эстрадиола превышает таковой при спонтанной беременности в среднем в 4 раза, прогестерона – в 6-8 раз, ХГч - в 1,4–2,3 раза.
3. Сравнительный анализ гематологических показателей показал значимое повышение в первые недели беременности, наступившей в результате реализации ВРТ, общего количества лейкоцитов, абсолютного числа нейтрофилов и моноцитов, количества тромбоцитов. Скорректированный референсный интервал для срока 4-8 недель ЭКО-беременности для общего количества лейкоцитов составил $6,6 \times 10^9/\text{л}$ – $17,7 \times 10^9/\text{л}$, для количества тромбоцитов – $214 \times 10^9/\text{л}$ – $415 \times 10^9/\text{л}$.
4. При индуцированной беременности на фоне повышенного уровня половых гормонов в первом триместре концентрация фибриногена превышает таковую при спонтанной беременности в среднем в 1,3 раза, фактора Виллебранда – в 1,4, а D-димера - в 2,2 – 4,5 раза, что требует коррекции референсных интервалов для данных показателей.
5. Выраженный гормональный дисбаланс на ранних сроках беременности после ЭКО и ПЭ сопровождается ферментемией и повышенным уровнем креатинина. Верхняя граница референсного интервала для АЛТ, АСТ, ЛДГ и креатинина при индуцированной беременности на сроке 4-8

недель превышает таковую при спонтанной беременности в 2,6, 1,8, 1,3 и 1,2 раза, соответственно.

6. Для индуцированной беременности в сроке 11-13 недель при нормальном кариотипе плода характерен более высокий уровень свободной β -субъединицы ХГч и более низкие концентрации PAPP-A и плацентарного фактора роста в сыворотке крови, чем при спонтанной беременности. При этом динамика уровня указанных маркеров при физиологической беременности и при беременности, наступившей в результате реализации программы ЭКО и ПЭ не различается.
7. Уровень биохимических маркеров PlGF, sFlt-1 и значения их соотношения зависят от срока гестации и могут использоваться для диагностики и предикции преэклампсии как при спонтанной беременности, так и при беременности, наступившей в результате применения ВРТ. Соотношение sFlt-1/PlGF является более значимым маркером преэклампсии, чем раздельное определение этих факторов; при этом степень увеличения данного показателя коррелирует с тяжестью заболевания независимо от срока гестации. Максимальный дисбаланс маркеров характерен для тяжелой преэклампсии, развивающейся на сроке до 34 недель.

8. Сравнительный анализ результатов, полученных при спонтанной и при индуцированной беременности, показал необходимость коррекции в первом триместре ЭКО-беременности референсных интервалов таких показателей, как общее количество лейкоцитов, количество тромбоцитов, уровни фибриногена, фактора Виллебранда, D-димера, АЛТ, АСТ, ЛДГ, креатинина, а также 17-гидроксипрогестерона во втором триместре. В целом, беременность, наступившая в результате реализации программы ЭКО и ПЭ, при отсутствии исходной экстрагенитальной патологии у женщины и осложнений ВРТ, не нуждается в специфическом алгоритме лабораторного обследования.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

– Полученные в настоящей работе референсные значения для 17 биохимических, 16 гематологических, 8 гемостазиологических показателей и маркеров пренатального скрининга рекомендуются для использования в других клинико-диагностических лабораториях после соответствующей валидации согласно требованиям Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI); согласно этим требованиям, любая лаборатория может использовать публикуемые референсные интервалы как свои собственные, если при тестировании 20 образцов крови пациенток со сходными клиническими характеристиками не более 2 результатов выходят за границы данных референсных интервалов. Кроме того, должны учитываться особенности диагностического оборудования и реагентной базы.

– Определение скорости оседания эритроцитов в рамках клинического анализа крови у беременных, особенно во II и III триместрах, представляется нецелесообразным ввиду низкой диагностической значимости данного показателя.

– При расчете риска хромосомной патологии плода, выполняемом в рамках пренатального скрининга у пациенток программы ЭКО и ПЭ, требуется коррекция медиан показателей биохимических маркеров для снижения числа ложноположительных результатов у пациенток с нормальным кариотипом и неосложненным течением беременности.

– В течение первого триместра ЭКО-беременности необходим тщательный мониторинг состояния системы гемостаза и гепатобилиарной системы для предупреждения осложнений и своевременной медикаментозной коррекции, особенно у пациенток с исходной экстрагенитальной патологией.

– Для оценки риска и возможности предупреждения развития ранней или поздней преэклампсии целесообразно в рамках скрининговых программ диагностики внутриутробной патологии плода проводить определение уровня биохимических маркеров PlGF и sFlt-1 в сыворотке крови матери и расчет их

соотношения. Рекомендуется широкое использование данных маркеров в практическом здравоохранении как при спонтанной, так и при индуцированной беременности на сроке 20-40 недель для комплексной диагностики и оценки степени тяжести преэклампсии, а также для решения вопроса о тактике ведения пациенток с данным осложнением беременности. Такой подход должен способствовать снижению частоты акушерских осложнений, улучшению перинатальных исходов и оптимизации использования ресурсов перинатальных центров.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ	аланинаминотрансфераза
АСТ	аспартатаминотрансфераза
АФП	альфа-фетопротейн
АЧТВ	активированное частичное тромбопластиновое время
ВРТ	вспомогательные репродуктивные технологии
ГГТ	гамма-глутамилтрансфераза
ДГА-С	дигидроэпиандростендион сульфат
Е2	эстрадиол
ЛПВП	липопротеины высокой плотности
ЛПНП	липопротеины низкой плотности
ПВ	протромбиновое время
Р	прогестерон
ТВ	тромбиновое время
ТГ	триглицериды
ФВ	фактор Виллебранда
ХГч	хорионический гонадотропин человека
ХС	холестерин
ЩФ	щелочная фосфатаза
ЭКО-беременность	беременность, наступившая в результате реализации программы ЭКО и ПЭ
ЭКО и ПЭ	экстракорпоральное оплодотворение и перенос эмбрионов в полость матки
17-ОП	17- α -гидроксипрогестерон
PAPP-A	ассоциированный с беременностью плазменный белок А
PlGF	плацентарный фактор роста
sFlt – 1	растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акушерство и гинекология: Клинические рекомендации / Под ред. В.И. Кулакова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. - 538 с.
2. Акушерство: национальное руководство / под ред. Г.М. Савельевой, Г.Т. Сухих, В.Н. Серова, В.Е. Радзинского. - 2-е изд., перераб. и доп. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 1080 с.
3. Александрова, Н.В. Состояние системы мать-плацента-плод, течение и исходы беременности, наступившей с использованием вспомогательных репродуктивных технологий: дис. ... д-ра мед. наук 14.01.01 / Александрова Наталья Владимировна. – Москва, 2013.
4. Баграмян, Э.Р. Содержание стероидных гормонов плаценты в плазме крови при физиологической беременности / Э.Р. Баграмян, Н.Д. Фанченко, В.Г. Колодыко // Акушерство и гинекология. – 1986. - №6. - С.33-36.
5. Баркаган, З.С. Геморрагические заболевания и синдромы / З.С. Баркаган. – М.: Медицина, 1989. – 385 с.
6. Диапазоны нормальных значений для параметров стандартных коагулологических тестов и теста тромбодинамики при физиологической беременности на разных сроках гестации / Е.С. Ворошилина [и др.] // Вестник РГМУ. – 2015. - №4. – С.40-43.
7. Инициация свертывания крови в разные сроки физиологически протекающей беременности / А.П. Момот [и др.] // Сиб. научн. мед. журн. – 2014. – Т. 34, № 5. – С. 58–66.
8. Клинико-патогенетические особенности ранней и поздней преэклампсии / З.С., Ходжаева [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2015. – № 1. – С. 12-17.
9. Корсак, В.С. Регистр Центров ВРТ в России: отчет за 2014 г. / В.С. Корсак, А.А. Смирнова, О.В. Шурыгина // Проблемы репродукции. – 2016. –Т. 22, № 5. – С. 10-21.

10. Курцер, М.А. Беременность и роды у пациенток после ЭКО / М.А. Курцер, К.В. Краснопольская, Л.Х. Ероян // Акушерство и гинекология. – 2001. – №4. – С. 24-28.
11. Лабораторный мониторинг гестационного процесса / В.И. Кулаков [и др.] // Проблемы репродукции. – 1995. – № 3. – С. 77-81.
12. Макацария, А.Д. Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови в акушерской практике / А.Д. Макацария, А.Л. Мищенко, В.О. Бицадзе. – М.: Триада-Х, 2002. – 496 с.
13. Назаренко, Т.А. Стимуляция функции яичников / Т.А. Назаренко М.: МЕДпресс-информ,. 2008.
14. Преэклампсия: руководство / Под ред. Г.Т.Сухих, Л.Е. Мурашко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 576 с.
15. Проблемы вынашивания беременности после ЭКО / О.Н. Аржанова [и др.] // Проблемы репродукции. – 1999. – Т.5, №3. – С.54-58.
16. Профилактика и пренатальная диагностика врожденной патологии плода и новорожденного: Пособие для врачей / Под ред. В.И.Кулакова, Ю.И.Барашнева, В.А.Бахарева, Н.Д.Фанченко, Т.В.Лопатиной. – М., 2003.
17. Регуляция репродукции и алгоритмы диагностики ее нарушений / М.Л. Алексеева [и др.] // Проблемы репродукции. – 2007. – № 3. – С. 15-24.
18. Риск и течение преэклампсии во время беременности после ЭКО и ИКСИ / П. Лятошинская [и др.] // Пробл. Репродукции. – 2012. – № 5. – С. 59-63.
19. Роль фибринолитической активности крови в предупреждении тромбозов при физиологической беременности / А. П. Момот [и др.] // Доктор.Ру. Гематология. – 2016. – № 5 (122). – С. 21–28.
20. Рослый, И.М. Ферментемия - адаптивный механизм или маркер цитолиза? / И.М. Рослый, С.В. Абрамов, В.И. Покровский // Вестник Рос. Академии мед. наук. – 2002. – № 8. – С. 3-9.

21. Серов В.Н. Прогностическое значение отношения растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 к плацентарному фактору роста у беременных с преэклампсией / Серов В.Н., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л. // Акушерство и гинекология. – 2016. – № 6. – С. 5-10.
22. Серов, В.Н. Руководство по практическому акушерству / В.Н. Серов, А.Н. Стрижаков, С.А. Маркин. – М.: МИА, 1997.
23. Сидельникова, В.М. Эндокринология беременности в норме и при патологии / В.М. Сидельникова. – М.: МЕДпрессинформ, 2007. – 352 с.
24. Сидельникова, В.М. Невынашивание беременности: руководство для практикующих врачей / В.М. Сидельникова, Г.Т. Сухих. – М.: МИА, 2010. – 536 с.
25. Современные алгоритмы и новые возможности пренатальной диагностики наследственных и врожденных заболеваний: методические рекомендации / Под ред. В.С. Баранова, Э.К. Айламазяна. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2013. – 156 с.
26. Современные возможности пренатальной диагностики генетической патологии в ранние сроки беременности / Н.А. Каретникова [и др.] // Пробл. репродукции. – 2010. – № 2. – С. 82-86.
27. Сравнительный анализ течения и исходов беременности после применения вспомогательных репродуктивных технологий при различных вариантах гормональной поддержки (предварительные результаты) / Н.В. Башмакова [и др.] // Уральский медицинский журнал. – 2010. – № 5. – С. 139-143.
28. Течение беременности и перинатальные исходы после ЭКО / Н.А. Новицкая [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2005. – Т. 4, № 2. – С. 24-29.
29. Фанченко, Н.Д. Изменения в эндокринной системе во время беременности / Н.Д. Фанченко // В кн: Руководство по экстрагенитальной

патологии у беременных / Под ред. М.М. Шехтмана. – М.: Триада-Х, 2011. – С. 723-730.

30. Ходжаева, З.С. Тактика ведения беременных после экстракорпорального оплодотворения / З.С. Ходжаева, С.Г. Перминова, В.М. Сидельникова // Российский медицинский журнал. – 2008. – № 1. – С. 8-12.

31. Хорионический гонадотропин. Структура, функция, диагностическая значимость / М.Л. Алексеева [и др.] // Проблемы репродукции. – 2006. № 3. – С. 7-14.

32. Щедрина, Р.Н. Роль эндокринных факторов в реализации вспомогательных репродуктивных технологий / Р.Н. Щедрина, К.А. Яворовская, Н.Д. Фанченко. – М.: МЕДпресс-информ, 2012. – 256 с.

33. ЭКО в лечении бесплодия. Ведение беременности и родов / Г.М. Савельева [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2003. – Т. LII, № 3. – С. 9-13.

34. Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского и мужского бесплодия (теоретические подходы): Руководство для врачей / Под ред. В.И. Кулакова, Б.В. Леонова. – М.: МИА, 2000. – 782 с.

35. A prospective controlled study of karyotyping for 430 consecutive babies conceived through intracytoplasmic sperm injection / H. Aboulghar [et al.] // Fertil. Steril. – 2001. – Vol. 76. – P. 249–253.

36. A reevaluation of the risk for venous thromboembolism with the use of oral contraceptives and hormone replacement therapy / J.D. Douketis [et al.] // Arch. Intern. Med. – 1997. – Vol. 157 (14). – P. 1522-1530.

37. A rise of the serum level of von Willebrand factor occurs before clinical manifestation of the severe form of ovarian hyperstimulation syndrome / S. Ogawa [et al.] // J. Assist. Reprod. Genet. – 2001. – Vol. 18 (2). – P. 114-119.

38. Abbassi-Ghanavati, M. Reference Table of Normal Laboratory Values in Uncomplicated Pregnancies / M. Abbassi-Ghanavati, L.G. Greer // In: Williams

Obstetrics - 23rd ed. / Ed. F.G. Cunningham, K.J. Leveno, S.Bloom et al. – New York: McGraw-Hill, 2010.

39. Activated protein C sensitivity, protein C, protein S and coagulation in normal pregnancy / P. Clark [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 1998. – Vol. 79. – P. 1166–1170.

40. Alpin, J.D. The cell biological basis of human implantation / J.D. Alpin // *Best Pract. Res.Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2000. – Vol. 14, № 5. – P. 757–764.

41. Alstrom, T. Evolution and nomenclature of the reference value concept / T. Alstrom // In: *Reference values in laboratory medicine* / Ed. T. Alstrom. - Chichester, UK: Wiley, 1981. – P. 3-13.

42. Amniotic fluid human chorionic gonadotrophin and alphafetoprotein levels in pregnancies conceived after assisted reproduction / P.W. Hui [et al.] // *Prenat. Diagn.* – 2003. – Vol. 23. – P. 484–487.

43. An automated method for the determination of the sFlt-1/PIGF ratio in the assessment of preeclampsia / S. Verlohren [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2010. – Vol. 202 (161). – P. 1-11.

44. Angiogenic factors for the prediction of preeclampsia in high-risk women / T.A. Moore Simas [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2007. – Vol. 197 (3). – P. 244.e1-8.

45. Angiogenic markers in pregnancies conceived through in vitro fertilization / M.S. Lee [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2015. – Vol. 213. – P. 212.e1-8.

46. Assisted reproduction technologies impair placental steroid metabolism / A.C. Collier [et al.] // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2009. – Vol. 116. – P. 21-28.

47. Assisted reproductive technology and intrauterine inseminations in Europe, 2005: results generated from European registers by ESHRE: ESHRE. The European IVF Monitoring Programme (EIM), for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) / A. Nyboe Andersen [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 24. – P. 1267.

48. Assisted reproductive technology and pregnancy outcome / T. Shevell [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2005. – Vol. 106. – P. 1039-1045.
49. Assisted reproductive technology and the risk of pregnancy-related complications and adverse pregnancy outcomes in singleton pregnancies: a meta-analysis of cohort studies / J. Qin [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2016. – Vol. 105, № 1. – P. 73-85.
50. Assisted reproductive technology in Europe, 2007: results generated from European registers by ESHRE / J. De Mouzon [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2012. – Vol. 27. – P. 954–966.
51. Assisted reproductive technology in Europe, 2012: results generated from European registers by ESHRE // *Hum. Reprod.* – ГОД. – Vol. 31, № 8. – P. 1638-1652.
52. Association of early preterm birth with abnormal levels of routinely collected first- and second-trimester biomarkers / L.L. Jelliffe-Pawlowski [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2013. – Vol. 208 (6). – P. 492.e1-11.
53. Atalla, R.K. Reactive thrombocytosis after cesarean section and vaginal delivery: implications for maternal thromboembolism and its prevention / R.K. Atalla, J.R. Thompson, C.A. Oppenheimer // *Br. J. Obstet. Gynaecol.* – 2000. – Vol. 107. – P. 411–414.
54. Balloch, A.J. Cauchi MN: Reference ranges for haematology parameters in pregnancy derived from patient populations / A.J. Balloch, M.N. Cauchi // *Clin. Lab. Haemat.* . – 1993. – Vol. 15. – P. 7.
55. Baumann, P. Thromboembolic complications associated with reproductive endocrinologic procedures / P. Baumann, K. Diedrich // *Hematol. Oncol. Clin. NA.* – 2000. – Vol. 14(2). – P. 431-443.
56. Beeser, H. Critical evaluation of the so far experience using the WHO model of prothrombin time calibration and outlook for further development / H. Beeser // *Haemostasis.* – 1988. – Vol. 18 (Suppl. 2). – P. 181-182.

57. Benirschke, K. Pathology of the Human Placenta. 4th Ed. / K. Benirschke, P. Kaufmann - New York: Springer, 2000.
58. Bettio, D. Chromosomal abnormalities in miscarriages after different assisted reproduction procedures / D. Bettio, A. Venci, P.E. Levi Setti // Placenta. – 2008. – Vol. 29 (Suppl. B). – P. 126–128.
59. Bombeli, T. Coagulation activation markers do not correlate with the clinical risk of thrombosis in pregnant women / T. Bombeli, P. Raddatz-Mueller, J. Fehr // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2001. – Vol. 184. – P. 382–389.
60. Bousser, M.B. Cerebral venous thrombosis, pregnancy and oral contraceptives / M.B. Bousser, I. Crassard // Thromb. Res. – 2012. – Vol. 130 (Suppl. 1). – P. 19-22.
61. Brenner, B. Haemostatic changes in pregnancy / B. Brenner // Thromb Res.— 2004.—Vol. 114, № 5–6.— P. 409–414.
62. Bucolo, G. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes / G. Bucolo, H.David // Clin. Chem. – 1973. – Vol. 19. – P. 476-482.
63. Burrows, R.F. Fetal thrombocytopenia and its relation to maternal thrombocytopenia / R.F. Burrows, J.G. Kelton // N. Engl. J. Med. – 1993. – Vol. 329. – P. 1463–1466.
64. Butler, S.A. Detection of early pregnancy forms of hCG by home pregnancy test devices / S.A. Butler, S.A. Khanlian, L.A. Cole // Clin. Chem. – 2001. – Vol. 47. – P. 2131–2136.
65. Canick, J.A. Second Trimester Serum Markers / J.A. Canick, A.R. MacRae // Semin. Perinatol. – 2005. – Vol. 29. – P. 203-208.
66. Carr, B.R. Cholesterol synthesis in human fetal tissues / B.R. Carr, E.R. Simpson // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1985. – Vol. 55. – P. 447.
67. Carter, J. Liver function in normal pregnancy / J. Carter // Aust. NZ J. Obstet. Gynaecol. – 1990. – Vol. 30. – P. 296–302.

68. CDC criteria for anemia in children and childbearing-aged women. Centers for Disease Control (CDC) // MMWR Morb Mortal Wkly Rep. – 1989. – Vol. 38. – P. 400.
69. Ceriotti, F. Prerequisites for Use of Common Reference Intervals / F. Ceriotti // Clin. Biochem. Rev. – 2007. – Vol. 28. – P. 115-121.
70. Chadiramani, M. Management of hypertension and preeclampsia in pregnancy / M. Chadiramani, J. Waugh, A. Shennan // Trends Urol. Gynaecol. Sex Health. – 2007. – Vol. 12. – P. 23-28.
71. Chan, W.S. A review of upper extremity deep vein thrombosis in pregnancy: unmasking the ‘ART’ behind the clot / W.S. Chan, J.S. Ginsberg // J. Thromb. Haemost. – 2006. – Vol. 4 (8). – P. 1673-1677.
72. Chan, W.S. The “ART” of thromboembolism: A review of assisted reproductive technology and thromboembolic complications / W.S. Chan, M.E. Dixon // Thromb. Res. – 2008. – Vol. 121. – P. 713–726.
73. Chang, A.B. Physiologic changes of pregnancy / A.B. Chang // In: Obstetric Anesthesia: Principles and Practice / Ed. D.H. Chestnut. – Philadelphia: Elsevier-Mosby, 2004. – P. 15–36.
74. Changes in circulating level of angiogenic factors from the first to second trimester as predictors of preeclampsia / L.J. Vatten [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2007. – Vol. 196 (3). – P. 239-246.
75. Changes in LDL size and HDL concentration in normal and preeclamptic pregnancies / L. Belo [et al.] // Atherosclerosis. – 2002. – Vol. 162. – P. 425.
76. Changes in lymphocyte subsets during normal pregnancy / M. Kuhnert [et al.] // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 1998. – Vol. 76. – P. 147–151.
77. Changes in maternal plasma macrophagecolony stimulating factor levels during normal pregnancy / D.P.Tsakonas [et al.] // Clin. Lab. Haemat. – 1995. – Vol. 7. – P. 57–59.

78. Changes in protein C and protein S levels in normal pregnancy / W. Faught [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1995. – Vol. 172. – P. 147–150.
79. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia / R.J. Levine [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 350 (7). – P. 672-683.
80. Circulating angiogenic factors determined by electrochemiluminescence immunoassay in relation to the clinical features and laboratory parameters in women with preeclampsia / A. Molvarec [et al.] // *Hypertens. Res.* – 2010. – Vol. 33. – P. 892-898.
81. Clauss, A. Gerringungsphysiologische Schnellmethods zur Bestimmung des Firinogens / A.Clauss // *Acta Haematol.* – 1957. – Vol. 17. – P. 237-246.
82. Clinical characterization and outcomes of preeclampsia with normal angiogenic profile / S. Rana [et al.] // *Hypert. Pregn.* – 2013. – Vol. 32 (2). – P. 189-201.
83. Clinical chemistry alterations in pregnancy and oral contraceptive use / R.H. Knopp [et al.] // *Obstet Gynecol* 1985; 66: 682–690.
84. CLSI Document EP17-A: Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation; approved guideline: First Edition. – 2004. – Vol. 24, № 34.
85. Coagulation and fibrinolysis changes in normal pregnancy increased levels of procoagulants and reduced levels of inhibitors during pregnancy induce a hypercoagulable state, combined with a reactive fibrinolysis / F. Cerneca [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 1997. – Vol. 73. – P. 31.
86. Controlled ovarian hyperstimulation: are we monitoring the appropriate sex-steroid hormones? / R. Orvieto [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2008. – Vol. 89 (5). – P. 1269-1272.
87. Correlation of hormones with lipid and lipoprotein levels during normal pregnancy and postpartum / G. Desoye [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1987. – Vol. 64. – P. 704.

88. Cuckle, Y. Development of prenatal screening—A historical overview / Y. Cuckle, R. Maymon // *Semin. Perinat.* – 2016. – Vol. 40. – P. 12-22.
89. Davison, J.M. Glomerular filtration during and after pregnancy / J.M. Davison, F.E. Hytten // *J. Obstet. Gynecol.* – 1974. – Vol. 81. – P. 588–595.
90. Daya, S. Human chorionic gonadotropin increase in normal early pregnancy / S. Daya // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1987. – Vol. 156. – P. 286–290.
91. D-dimers as a screening test for venous thromboembolism in pregnancy: is it of any use / M. Damodaram [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol.* – 2009. – Vol. 29. – P. 101–103.
92. De novo cholesterologenesis in pregnancy / K.R. Feingold [et al.] // *J. Lab. Clin. Med.* – 1983. – Vol. 101. – P. 256–263.
93. Decreased ovarian reserve relates to pre-eclampsia in IVF/ICSI pregnancies / G.H. Woldringh [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2006. – Vol. 21 (11). – P. 2948-2954.
94. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline—CLSI document C28-A3, Third ed. / Horowitz G. L. [et al.] – Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2008.
95. Delvigne, A. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a review / A. Delvigne, S. Rozenberg // *Hum. Reprod. Update.* – 2002. – Vol. 8. – P. 559.
96. Differential expression of lactate dehydrogenase isozymes (LDH) in human placenta with high expression of LDH-A(4) isozyme in the endothelial cells of pre-eclampsia villi / Tsoi SC, [et al.] // *Placenta.* – 2001. – Vol. 22. – P. 317–322.
97. Does ovarian stimulation for in-vitro fertilization induce a hypercoagulable state? / B. Aune [et al.] // *Hum. Reprod.* – 1991. – Vol. 6 (7). – P. 925-927.
98. Dosage du fibrinogène par la microméthode de coagulation de von A / F. Destain [et al.] // *Clauss. Pathol. Biol.* – 1960. – Vol. 8, № 17-18. – P. 1615-1621.

99. Double-monoclonal immunofluorometric assays for pregnancy-associated plasma protein A / proeosinophil major basic protein (PAPP-A/proMBP) complex in first-trimester maternal screening for Down syndrome / Q-P. Qin [et al.] // Clin. Chem. – 1997. – Vol. 43. – P. 2323-2332.
100. Doumas, B.T. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green / B.T. Doumas, W.A. Watson, H.G. Biggs // Clin. Chim. Acta. – 1971. – Vol. 31. – P. 87-96.
101. Down's syndrome screening marker levels following assisted reproduction / G. Barkai [et al.] // Prenat. Diagn. – 1996. – Vol. 16. – P. 1111–1114.
102. Dybkrer, R. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values: part 6. Presentation of observed values related to reference values / R. Dybkrer, H.E. Solberg // Clin. Chim. Acta. – 1987. – Vol. 170. – P. S36–37.
103. Dysregulation of anti-angiogenic agents (sFlt-1, PLGF, and sEndoglin) in preeclampsia – a step forward but not the definitive answer / Y.M. Foidart [et al.] // J. Reprod. Immunol. – 2009. – Vol. 82 (2). – P. 106-111.
104. Effect of iron supplementation on serum ferritin levels during and after pregnancy / D.J. Taylor [et al.] // Br. J. Obstet. Gynaecol. – 1982. – Vol. 89. – P. 1011–1017.
105. Effect of urinary versus recombinant follicle-stimulating hormone on platelet function and other hemostatic variables in controlled ovarian hyperstimulation / J. Bar [et al.] // Fertil. Steril. – 2004. – Vol. 82 (6). – P. 1564-1569.
106. Elective single embryo transfer versus double embryo transfer in in vitro fertilization / A. Thurin [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2004. – Vol. 351. – P. 2392-2402.
107. Elevated levels of lipoprotein(a) in women with preeclampsia / J. Wang [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1998. – Vol. 178. – P. 146–149.
108. Endothelial function and circulating biomarkers are disturbed in women and children after preeclampsia / A.S. Kvehaugen [et al.] // Hypertension. – 2011 – Vol. 58 (1). – P. 63-69.

109. Enzymatic determination of total serum cholesterol / C.C. Allain [et al.] // Clin. Chem. – 1974. – Vol. 20. – P. 470-475.
110. Estradiol production during controlled ovarian hyperstimulation correlates with treatment outcome in women undergoing in vitro fertilization-embryo transfer / M. Mitwally [et al.] // Fertil. Steril. – 2006. – Vol. 86 (3). – P. 588-596.
111. Europium as a label in time-resolved immunofluorometric assays / I. Hemmila [et al.] // Anal. Biochem. – 1984. – Vol. 137. – P. 335-343.
112. Evidence-based approach to harmonised reference intervals / G. Koerbin [et al.] // Clin. Chem. Acta. – 2014. – Vol. 432. – P. 99–107.
113. Evolution of steroids during pregnancy: Maternal, placental and fetal synthesis / Y. Morel [et al.] // Ann. Endocrinol. – 2016. – Vol. 77. – P. 82–89.
114. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia / S.E. Maynard [et al.] // J. Clin. Invest. – 2003. – Vol. 111. – P. 649-658.
115. Fabiny, D.L. Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with CentrifChem / D.L. Fabiny, G. Ertingshausen // Clin. Chem. – 1971. – Vol. 17. – P. 696-700.
116. Fasting serum triglycerides, free fatty acids, and malondialdehyde are increased in preeclampsia, are positively correlated, and decrease within 48 hours post partum / C.A. Hubel [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1996. – Vol. 174. – P. 975–982.
117. Fay, R.A. Platelets in pregnancy: hyperdestruction in pregnancy / R.A. Fay, A.O. Hughes, N.T. Farron // Obstet. Gynecol. – 1983. – Vol. 61. – P. 238–240.
118. Fenton, V. The platelet count in pregnancy / V. Fenton, K. Saunders, I. Cavill // J. Clin. Path. – 1977. – Vol. 30. – P. 68–69.
119. Fertility treatments and multiple births in the United States / A.D. Kulkarni [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2013. – Vol. 369. – P. 2218.
120. Fibrinolytic parameters in women undergoing ovulation induction / V.C. Rice [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1993. – Vol. 169 (6). – P. 1549-1553.

121. First trimester biochemical screening for Down syndrome: free beta hCG versus intact hCG / T. Hallahan [et al.] // *Prenat. Diagn.* – 2000. – Vol. 20. – P. 785–789.
122. First trimester biochemical screening for Down's syndrome in singleton pregnancies conceived by assisted reproduction / J. Bellver [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2005. – Vol. 20. – P. 2623–2627.
123. First trimester maternal serum PIGF, free b-hCG, PAPP-A, PP-13, uterine artery Doppler and maternal history for the prediction of preeclampsia / G. Di Lorenzo [et al.] // *Placenta.* – 2012. – Vol. 33. – P. 495-501.
124. First trimester screening for Down syndrome and assisted reproduction: no basis for concern / K.R. Wøjdemann [et al.] // *Prenat. Diagn.* – 2001. – Vol. 21. – P. 563–565.
125. First trimester screening with free beta-hCG, PAPP-A and nuchal translucency in pregnancies conceived with assisted reproduction / F. Orlandi [et al.] // *Prenat. Diagn.* – 2002. – Vol. 22. – P. 718–721.
126. First-trimester combined screening for Down syndrome: prediction of low birth weight, small for gestational age and pre-term delivery in a cohort of non-selected women / K. Pihl, [et al.] // *Prenat. Diagn.* – 2008. – Vol. 28. – P. 247–253.
127. First-trimester maternal serum ADAM12-s and PAPP-A levels are altered in pregnancies conceived after assisted reproduction techniques (ART) / M. Sahraravand [et al.] // *Prenat. Diagn.* – 2016. – Vol. 36. – P. 163–169.
128. First-trimester maternal serum PAPP-A and free-beta subunit human chorionic gonadotropin concentrations and nuchal translucency are associated with obstetric complications: a population-based screening study (the FASTER Trial) / L. Dugoff [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2004. – Vol. 191. – P. 1446–1451.
129. First-trimester screening for trisomy 21 in singleton pregnancies achieved by assisted reproduction / A.W. Liao [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2001. – Vol. 16. – P. 1501-1504.

130. First-trimester screening markers are altered in pregnancies conceived after IVF/ICSI / A.C. Gjerris [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2009. – Vol. 33. – P. 8–17.
131. First-trimester serum marker distribution in singleton pregnancies conceived with assisted reproduction / M.A.J. Engels [et al.] // *Prenat. Diagn.* – 2010. – Vol. 30. – P. 372– 377.
132. Fluctuations in C-reactive protein concentration and neutrophil activation during normal human pregnancy / L. Belo [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2005. – Vol. 123. – P. 46.
133. Fossati, P. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide / P. Fossati, L. Prencipe // *Clin. Chem.* – 1982. – Vol. 28. – P. 2077-2080.
134. Franchini, M. Haemostasis and pregnancy / M. Franchini // *Thromb. Haemost.* — 2006. – Vol. 95, № 3. – P. 401–413.
135. Fritz, M.A. Luteal function after ovulation induction / M.A. Fritz // In: *Ovulation induction* / Ed. R.L. Collins. – Berlin and Heidelberg: Springer-Verlag, 1990. – p. 103.
136. Functional and immunologic protein S levels are decreased during pregnancy / P.C. Comp [et al.] // *Blood.* – 1986. – Vol. 68. – P. 881–885.
137. Gerhard, I. Predictive value of hormone determinations in the first half of pregnancy / I. Gerhard, B. Runnebaum // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 1984. – Vol. 17 (1). – P. 1-17.
138. Gill, K.K. Management of idiopathic thrombocytopenic purpura in pregnancy / K.K. Gill, J.G. Kelton // *Sem. Hematol.* – 2000. – Vol. 37. – P. 275–289.
139. Girling, J.C. Liver function tests in pre-eclampsia: importance of comparison with a reference range derived for normal pregnancy / J.C. Girling, E. Dow, J.H. Smith // *Br. J. Obstet. Gynaecol.* – 1997. – Vol. 104. – P. 246–250.

140. Goonewardene, M. Anaemia in pregnancy / M. Goonewardene, M. Shehata, A. Hamad // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2012. – Vol. 26. – P. 3e24.
141. Gornall, A.G. Determination of serum proteins by means of the Biuret reaction / A.G. Gornall, C.S. Bardawill, M.M. David // *J. Biol. Chem.* – 1949. – Vol. 177. – P. 751-766.
142. Grasbeck, R. The evolution of the reference value concept / R. Grasbeck // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2004. – Vol. 42 (7). – P. 692–697.
143. Green, E.D. Asparagine-linked oligosaccharides on lutropin, follitropin and thyrotropin / E.D. Green, Y. U. Baenzider // *J. Biol. Chemistry.* – 1988. – Vol. 263. – P. 36-44.
144. Grenache, D.G. Pregnancy and Prenatal Testing. / D.G. Grenache, G. Lambert-Messerlian // In: *Tietz fundamentals of clinical chemistry* – 7th ed. / Ed. C.A. Burtis, D.E. Bruns. – St. Louis, Saunders/Elsevier, 2015. – P.848-869.
145. Gutmann, I. Methods of enzymatic Analysis / I. Gutmann, H.U. Bergmeyer / Ed. H.U. Bergmeyer. – NY: Academic Press, 1974. - Vol. 4. – P. 1794-1798.
146. Haddow, J.E. Response to Hallahan et al. / J.E. Haddow, G.E. Palomaki, G.J.Knight // *Prenat. Diagn.* – 2000. – Vol. 20. – P. 790–791.
147. Haematological problems in obstetrics / M. Rodger [et al.] // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2015. – Vol. 29. – P. 671-684.
148. Haemostasis in normal pregnancy / Y. Stirling [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 1984. – Vol. 52. – P. 176–182.
149. Haemostatic changes and acquired activated protein C resistance in normal pregnancy / B. Mahieu [et al.] // *Blood Coagul. Fibrinol.* – 2007. – Vol. 18. – P. 686–687.
150. Haemostatic reference intervals in pregnancy / P.B. Szecsi [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 2010. – Vol. 103. – P.718–727.

151. Handbook of Clinical Laboratory Testing During Pregnancy / Ed. A.M. Gronowski. – Humana Press Inc., 2004. – 474 p.
152. Harris, E.K. Statistical bases of reference values in laboratory medicine / E.K. Harris, J.C. Boyd. - New York: CRC Press, 1995.
153. Hellgren, M. Studies on blood coagulation and fibrinolysis in pregnancy, during delivery, and in the puerperium / M. Hellgren, M. Blomback // Gynecol. Obstet. Invest. – 1981. – Vol. 12. – P. 141–154.
154. Hemostasis parameters during ovarian stimulation for in vitro fertilization: results of a prospective study / C. Biron [et al.] // Fertil. Steril. – 1997. – Vol. 67 (1). – P. 104-109.
155. Hemostatic parameters and platelet activation by flow-cytometry in normal pregnancy: a longitudinal study / L. Gatti [et al.] // Int. J. Clin. Lab. Res. – 1994. – Vol. 24. – P. 218–219.
156. High risk pregnancy: management options – 4th ed. / D. James [et al.] – Elsevier, 2011. – 1495 p.
157. High tissue factor activity and low tissue factor pathway inhibitor concentrations in patients with preterm labor / O. Erez [et al.] // J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. – 2010. – Vol. 23, № 1. – P. 23–33.
158. Hiss, RG. Evaluation of the anemic patient / R.G. Hiss // In: Laros RK, ed. Blood Disorders in Pregnancy. – Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. – P. 1–18.
159. Hollingsworth, D.R. Maternal metabolism in normal pregnancy and pregnancy complicated by diabetes mellitus. / D.R. Hollingsworth // Clin. Obstet. Gynecol. – 1985. – Vol. 28 (3). – P. 457–472.
160. Horn, P.S. Reference intervals: an update / P.S. Horn, A.J. Pesce // Clin. Chim. Acta. – 2003. – Vol. 334. – P. 5-23.
161. Hornstein, M. Assisted Reproduction / M. Hornstein, C. Racowsky // In: Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology and Clinical Management, 6th Edition / Ed. J.F. Strauss, R.L. Barbieri. – 6th ed. – 2009. V P. 725-758.

162. Human Choriogonadotropin (HCG): Comparisons between Determinations of Intact HCG, Free HCG β -Subunit, and "Total" HCG + β in Serum during the First Half of High-Risk Pregnancy / C.M.G.Thomas [et al.] // Clin. Chem. – 1990. – Vol. 36 (4). – P. 651-655.

163. Hypercoagulability, high tissue factor and low tissue factor pathway inhibitor levels in severe ovarian hyperstimulation syndrome: possible association with clinical outcome / A. Rogolino [et al.] // Blood Coagul. Fibrin. – 2003. – Vol. 14 (3). – P. 277-282.

164. Hypertensive pregnancy complications in poor and normal responders after in vitro fertilization / J. Van Disseldorp [et al.] // Fertil. Steril. – 2009. – Vol. – P.

165. Hytten, F.E. Diagnostic Indices in Pregnancy / F.E. Hytten, T. Lind. – Summit, New Jersey, CIBAGEIGY Corporation, 1975.

166. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 4. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase // Clin. Chem. Lab. Med. – 2002. – Vol. 40. – P. 718-724.

167. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 5. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase // Clin. Chem. Lab. Med. – 2002. – Vol. 40. – P. 725-733.

168. IFCC Primary reference Procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 6. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of γ -Glutamyltransferase // Clin. Chem. Lab. Med. – 2002. – Vol. 40. – P. 734-738.

169. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 9. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase // Clin. Chem. Lab. Med. – 2011. – Vol. 49. – P. 1439-1446.

170. IFCC reference procedures for measurement of catalytic concentrations of enzymes: corrigendum, notes and useful advice // Clin. Chem. Lab. Med. – 2010. – Vol. 48. – P. 615-621.
171. Impaired placental nutrient transport in mice generated by in vitro fertilization / E. Bloise [et al.] // Endocrinol. – 2012. – Vol. 153. – P. 3457-3467.
172. Improved first-trimester Down syndrome screening performance by lowering the false-positive rate: a prospective study of 9941 low-risk women / K.R.Wøjdemann [et al.] // Ultrasound Obstet. Gynecol. – 2005. – Vol. 25. – P. 227–233.
173. In vitro fertilization and embryo culture strongly impact the placental transcriptome in the mouse model / P. Fauque [et al.] // PLoS One. – 2010. – Vol. 5. – P. e9218.
174. In vitro fertilization is associated with an increased risk for preeclampsia / X.K. Chen [et al.] // Hypert. Pregn. – 2009. – Vol. 28. – P. 1-12.
175. In vitro fertilization. Do short-term changes in estrogen levels produce increased fibrinolysis? / B. Magnani [et al.] // Am. J. Clin. Pathol. – 1999. – Vol. 112 (4). – P. 485-491.
176. In vitro fertilization-induced alterations in coagulation and fibrinolysis as measured by thromboelastography / M.J. Harnett [et al.] // Anesth. Analg. – 2002. – Vol. 95 (4). – P. 1063-1066.
177. In vitro platelet function in controlled ovarian hyperstimulation cycles / G. Richard-Davis [et al.] // Fertil. Steril. – 1997. – Vol. 67 (5). – P. 923-927.
178. Infertility, assisted reproductive technology, and adverse pregnancy outcomes: executive summary of a National Institute of Child Health and Human Development workshop / U.M. Reddy [et al.] // Obstet. Gynecol. – 2007. – Vol. 109. – P. 967.
179. Irani, R.A. Overview of the mechanisms of induction of labor. Review article / R.A. Irani, S. Foster // Semin. Perinat. – 2015. – Vol. 39, № 6. – P. 426-429.

180. Iron status and iron balance during pregnancy: a critical reappraisal of iron supplementation / N. Milman [et al.] // *Acta Anaesthesiol. Scand.* – 1999. – Vol. 78. – P. 749–757.

181. Is maternal serum total hCG a marker of trisomy 21 in the first trimester of pregnancy? / K. Spencer, [et al.] // *Prenat. Diagn.* – 2000. – Vol. 20. – P. 311–317.

182. Is the obstetric outcome of in vitro fertilized singleton gestations different from natural ones? A controlled study / B.E. Reubinoff [et al.] // *Fertil. Steril.* – 1997. – Vol. 67. – P. 1077-1083.

183. IVF pregnancies: neonatal outcomes after the new Italian law on assisted reproduction technology (law 40/2004). / D. Caserta [et al.] // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2008. – Vol. 87 (9). – P. 935-939.

184. Jauniaux, E. Do assisted-reproduction twin pregnancies require additional antenatal care? / E. Jauniaux, I. Ben-Ami, R. Maymon // *Reprod. BioMed. Online.* – 2013. – Vol. 26 (2). – P. 107-119.

185. Jauniaux, E.R.M. Pregnancy after assisted reproductive technology / E.R.M. Jauniaux, B.R. Rizk. – Cambridge University Press, 2012.

186. Kase, N.G. Endocrinology of pregnancy / N.G. Kase, J.V. Reyniak, P.A. Bergh // In: *Complications of Pregnancy: Medical, surgical, gynecologic, psychosocial, and perinatal* / Ed. S.H. Cherry, I.R. Merkatz. – Baltimore: Williams & Wilkins, 1991. – P. 916–939.

187. Kierkegaard, A. Incidence and diagnosis of deep vein thrombosis associated with pregnancy / A.Kierkegaard // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 1983. – Vol. 62. – P. 239-243.

188. Kline, J.A. D-Dimer concentrations in normal pregnancy: new diagnostic thresholds are needed / J.A. Kline, G.W. Williams, J. Hernandez-Nino // *Clin. Chem.* – 2005. – Vol. 51. – P. 825–829.

189. Kluft, C. Effect of oral contraceptives on haemostasis variables / C. Kluft, M. Lansink // *Thromb. Haemost.* – 1997. – Vol. 78. – P. 315–326.

190. Kurtzman, J.T. A proposed role for hCG in clinical obstetrics / J.T. Kurtzman, H. Willson, Ch.V. Rao // *Semin. Reprod. Med.* – 2001. – Vol. 19. – P. 63-68.
191. Laboratory reference intervals during pregnancy, delivery and the early postpartum period / A. Klajnbard [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2010. – Vol. 48 (2). – P. 237-248.
192. Lamarca, B. Endothelial dysfunction. An important mediator in the pathophysiology of hypertension during pre-eclampsia / B. Lamarca // *Minerva Ginecol.* – 2012. – Vol. 64 (4). – P. 309-320.
193. Lefkowitz, J.B. Comparison of protein S functional and antigenic assays in normal pregnancy / J.B. Lefkowitz, S.H. Clarke, L.A. Barbour // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1996. – Vol. 175. – P. 657-660.
194. Lindquist, P. Thrombotic risk during pregnancy: A population study / P. Lindquist, B. Dahlback, K. Marsal // *Obstet. Gynecol.* – 1999. – Vol. 94. – P. 595-599.
195. Lipid and lipoprotein profile in physiological pregnancy / G. Lippi [et al.] // *Clin. Lab.* – 2007. – Vol. 53(3-4). – P. 173-177.
196. Liu, J. Gestational age-specific reference intervals for routine haemostatic assays during normal pregnancy / J. Liu, E. Yuan, L. Lee // *Clin. Chim. Acta.* – 2012. – Vol. 413. – P. 258–261.
197. Liver function tests in normal pregnancy: a prospective study of 103 pregnant women and 103 matched controls / Y. Bacq [et al.] // *Hepatology.* – 1996. – Vol. 23. – P. 1030–1034.
198. Lockitch, G. Handbook of diagnostic biochemistry and hematology in normal pregnancy / G. Lockitch. – Boca Raton (FL): CRC Press, 1993.
199. Lognormal distribution of serum vitamin B12 levels and dependence of blood values on the B12 level in a large population heavily infected with *Diphyllobothrium latum* / R. Gräsbeck [et al.] // *J. Lab. Clin. Med.* – 1962. – Vol. 59 – P. 419-429.

200. Longitudinal analysis of platelet count and volume in normal pregnancy / E. Verdy [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 1997. – Vol. 77. – P. 806–807.
201. Longitudinal assessment of changes in reproductive hormones during normal pregnancy / P. O'Leary [et al.] // *Clin. Chem.* – 1991. – Vol. 37. – P. 667.
202. Longitudinal evaluation of predictive value for preeclampsia of circulating angiogenic factors through pregnancy / T. McElrath [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 201. – P. 407.
203. Longitudinal study of plasma lipids and lipoprotein cholesterol in normal pregnancy and puerperium / D.M. Jimenez [et al.] // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 1988. – Vol. 25. – P. 158.
204. Longitudinal study of platelet indices during normal pregnancy / S.G. Tygart [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1986. – Vol. 154. – P. 883–887.
205. Lorentzen, B. Henriksen T. Plasma lipids and vascular dysfunction in preeclampsia / B. Lorentzen, T. Henriksen // *Semin. Reprod. Endocrinol.* – 1998. – Vol. 16. – P. 33–39.
206. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology / L.A. Schieve [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2002. – Vol. 346. – P. 731.
207. Low pregnancy-associated plasma protein-A at 10+1 to 14+6 weeks of gestation and a possible mechanism leading to miscarriage / J. Santolaya-Forgas [et al.] // *Fetal. Diagn. Ther.* – 2004. – Vol. 19. – P. 456–461.
208. Lox, C. The influence of hyperestrogenism during in vitro fertilization on the fibrinolytic mechanism / C. Lox, M. Canez, S. Prien // *Int. J. Fertil. Womens. Med.* – 1998. – Vol. 43 (1). – P. 34-39.
209. Mannucci, P.M. Von Willebrand factor. A marker of endothelial damage? / P.M. Mannucci // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1998. – Vol. 18. – P. 1359-1362.
210. Marik, P.E. Venous thromboembolic disease and pregnancy / P.E. Marik L.A. Plante // *N. Engl. Med. J.* – 2008. – Vol. 359. – P. 2025–2033.

211. Maternal characteristics and pregnancy outcomes after assisted reproductive technology by infertility diagnosis: ovulatory dysfunction versus tubal obstruction / V. Grigorescu [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2014/ – Vol. 101 (4). – P. 1019-1025.

212. Maternal circulating levels of activin A, inhibin A, sFlt-1 and endoglin at parturition in normal pregnancy and pre-eclampsia / A. Reddy [et al.] // *PLoS One.* – 2009. – Vol. 4 (2). – P. e4453.

213. Maternal plasma concentrations of angiogenic/antiangiogenic factors in the third trimester of pregnancy to identify the patient at risk for stillbirth at or near term and severe late preeclampsia / T. Chaiworapongsa [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2013. – Vol. 208. – P. 287.

214. Maternal serum b-hCG levels in screening for Down syndrome are higher in singleton pregnancies achieved with ovulation induction and intrauterine insemination than in spontaneous singleton pregnancies / R. Raty [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2001. – Vol. 76. – P. 1075–1077.

215. Maternal serum placental growth factor at 11 + 0 to 13 + 6 weeks of gestation in the prediction of pre-eclampsia / R. Akolekar [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2008. – Vol. 32 (6). – P. 732-739.

216. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy / N.J. Wald [et al.] // *Br. Med. J.* – 1988. – Vol. 297. – P. 883–887.

217. Maternal thrombocytopenia at term: a population-based study / S. Saino [et al.] // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2000. – Vol. 79. – P. 744–749.

218. Maymon, R. Down's syndrome screening in pregnancies after assisted reproductive techniques: an update / R. Maymon, E. Jauniaux // *Reprod. BioMed. Online.* – 2002. – Vol 4 (3). – P. 285–293.

219. Maymon, R. Integrated first- and second-trimester Down syndrome screening test among unaffected IVF pregnancies / R. Maymon, A. Shulman // *Prenat. Diagn.* – 2004. – Vol. 24. – P. 125–129.

220. Maymon, R. Serial first- and second-trimester Down's syndrome screening tests among IVF- versus naturally conceived singletons / R. Maymon, A. Shulman // *Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 17 (4). – P. 1081–1085.

221. Mendenhall HW. Serum protein concentrations in pregnancy. I. Concentrations in maternal serum / H.W. Mendenhall // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1970. – Vol. 106. – P. 388–399.

222. Mercelina-Roumans, P.E. Leucocyte count and leucocyte differential in smoking and non-smoking females during pregnancy / P.E. Mercelina-Roumans, J.M. Ubachs, J.W. van Wersch // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 1994. – Vol. 55. – P. 169–173.

223. Mesiano, S. The Endocrinology of Human Pregnancy and Fetoplacental Neuroendocrine Development / S. Mesiano // In: Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology and Clinical Management / Ed. J. F. Strauss, R.L. Barbieri. - 6th ed. – 2009. – p. 249-288.

224. Middeldorp, S. Effect on coagulation of levonorgestrel- and desogestrel-containing low dose oral contraceptives: a cross-over study / S. Middeldorp, J.C. Meijers // *Thrombos. Haemost.* – 2000. – Vol. 84. – P. 4-8.

225. Miller, F. Medically assisted reproduction and second trimester maternal serum marker screening for Down syndrome / F. Miller, S. Dreux, A. Hemeur // *Prenatal. Diagn.* – 2003. – Vol. 23. – P. 1073-1076.

226. Milman, N. Hemoglobin and erythrocyte indices during normal pregnancy and postpartum in 206 women with and without iron supplementation / N. Milman, K.E. Byg, A.O. Agger // *Acta Anaesthesiol. Scand.* – 2000. – Vol. 79. – P. 89–98.

227. Multicenter evaluation of the first automated Elecsys sFlt-1 and PlGF assays in normal pregnancies and preeclampsia / J. Schiettecatte [et al.] // *Clin. Biochem.* – 2010. – Vol. 43 (9). – P. 768-770.

228. Multivariate analysis of factors affecting probability of pregnancy and live birth with in vitro fertilization: an analysis of the Society for Assisted

Reproductive Technology Clinic Outcomes Reporting System / V.L. Baker [et al.] // Fertil. Steril. – 2010. – Vol. 94. – P. 1410.

229. Murphy, E. The normal range: a common misuse / E. Murphy, H. Abbey // J. Chronic. Dis. – 1967. – Vol. 20. – P. 79-88.

230. Natural limits of pregnancy testing in relation to the expected menstrual period / A.J. Wilcox [et al.] // J. Am. Med. Assoc. – 2001. – Vol. 286. – P. 1759–1761.

231. Nauck, M. Methods for measurement of LDL-cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation / M. Nauck, G.R. Warnick, N. Rifai // Clin. Chem. – 2002. – Vol. 48. – P. 236-254.

232. New gestational phase-specific cutoff values for the use of the soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio as a diagnostic test for preeclampsia / S. Verlohren [et al.] // Hypertension. – 2014. – Vol. 63 (2). – P. 346-352.

233. Normal values of urinary albumin and total protein excretion during pregnancy / K. Higby [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1994. – Vol. 171. – P. 984.

234. O'Brian, J.R. Platelet counts in normal pregnancy / J.R. O'Brian // J. Clin. Path. – 1976. – Vol. 29. – P. 174.

235. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from IVF/ICSI: a systematic review and meta-analysis / S. Pandey [et al.] // Hum. Reprod. Update. – 2012. – Vol. 18. – P. 485-503.

236. Obstetric outcome in singleton pregnancies after assisted reproduction / T. Tanbo [et al.] // Obstet. Gynecol. – 1995. – Vol. 86, № 2. – P. 188-192.

237. Obstetric outcome of in vitro fertilization pregnancies compared with normally conceived pregnancies / S.L. Tan [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. 1992. – Vol. 167. – P. 778-784.

238. Obstetric outcome of singleton pregnancies after IVF: a matched control study in four Dutch university hospitals / J. Koudstaal [et al.] // Hum. Reprod. – 2000. – Vol. 15. – P. 1819–1825.

239. Odegard, O.R. Heparin cofactor activity measured with an amidolytic method / O.R. Odegard, M. Lie, U. Abildgaard // *Thromb. Res.* – 1975. – Vol. 6. – P. 287-294.
240. Ory, S.J. The national epidemic of multiple pregnancy and the contribution of assisted reproductive technology / S.J. Ory // *Fertil. Steril.* – 2013. – Vol. 100. – P. 929.
241. Peake, M. Measurement of serum creatinine-current status and future goals / M. Peake, M. Whiting // *Clin. Biochem.* – 2006. – Vol. 27. – P. 173-184.
242. Pearlman, F.C. Detection and measurement of total bilirubin in serum, with use of surfactants as solubilizing agents / F.C. Pearlman, R.T.Y. Lee // *Clin. Chem.* – 1974. – Vol. 20. – P. 447-453.
243. Perinatal outcome among singleton infants conceived through assisted reproductive technology in the United States / L.A. Schieve [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2004. – Vol. 103. – P. 1144-1153.
244. Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: a meta-analysis / R.A. Jackson [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2004. – Vol. 103. – P. 551-563.
245. Perinatal risks associated with assisted reproductive technology / ACOG Committee on Obstetric Practice, ACOG Committee on Gynecologic Practice, ACOG Committee on Genetics. ACOG Committee Opinion #324 // *Obstet. Gynecol.* – 2005. – Vol. 106. – P. 1143.
246. Peter, C. Changes of hemostasis variables during pregnancy / C. Peter // *Semin. Vasc. Med.* – 2003. – Vol. 3. – P.14–15.
247. PetitClerc, C. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values / C. PetitClerc, H.E. Solberg // *Clin. Chim. Acta.* – 1987. – Vol. 170. – P. S1-S12.
248. Piechota, W. Reference ranges of lipids and apolipoproteins in pregnancy / W. Piechota, A. Staszewski // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 1992. – Vol. 45. – P. 27.

249. Pilot study of extracorporeal removal of soluble fms-like tyrosine kinase 1 in preeclampsia / R. Thadhani [et al.] // *Circulation*. – 2011. – Vol. 124. – P. 940-950.
250. Pitkin RM, Witte DL. Platelet and leukocyte counts in pregnancy / R.M. Pitkin, D.L. Witte // *J. Am. Med. Assoc.* – 1979. – Vol. 242. – P. 2696–2698.
251. Pittaway, D.E. Doubling times of human chorionic gonadotropin increase in early viable intrauterine pregnancies / D.E. Pittaway, R.L. Reish, A.C.Wentz // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1985. – Vol. 152. – P. 299–302.
252. Pittaway, D.E. Evaluation of early pregnancy by serial chorionic gonadotropin determinations: a comparison of methods by receiver operating characteristics / D.E. Pittaway, A.C. Wentz // *Fertil. Steril.* – 1985. – Vol. 43 (4). – P. 529–533.
253. Placental growth factor and soluble FMS-like tyrosine kinase-1 in early-onset and late-onset preeclampsia / A.K. Wikström [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2007. – Vol. 109 (6). – P. 1368-1374.
254. Platelet count at term pregnancy: a reappraisal of the threshold / F. Boehlen [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2000. – Vol. 95. – P. 29–33.
255. Poikkeus, P. Does single embryo transfer improve the obstetric and neonatal outcome of singleton pregnancy? / P. Poikkeus, A. Tiitinen // *Acta Obstet. Gynecol.* – 2008. – Vol. 87. – P. 888-892.
256. Poon, L.C. First-trimester maternal factors and biomarker screening for preeclampsia / L.C. Poon, K.H. Nicolaides // *Prenat. Diagn.* – 2014. – Vol. 34. – P. 618-627.
257. Population-based lipoprotein lipid reference values for pregnant women compared to nonpregnant women classified by sex hormone usage / R.H. Knopp [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1982. – Vol. 143. – P. 626–637.
258. Predictive value of the sFlt1/PlGF ratio for the diagnosis of preeclampsia in high-risk patients / S. Husse [et al.] // *Z. Geburtshilfe Neonatol.* – 2014. – Bd. 218 (1). – S. 34-41.

259. Preeclampsia in twin gestations: association with IVF treatments, parity and maternal age / O. Erez [et al.] // J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. – 2006. – Vol. 19 (3). – P. 141-146.
260. Pregnancies conceived using assisted reproductive technologies (ART) have low levels of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) leading to a high rate of false-positive results in first-trimester screening for Down syndrome / D.J. Amor [et al.] // Hum. Reprod. – 2009. – Vol. 24. – P. 1330–1338.
261. Pregnancy outcomes after assisted reproductive technology / V.M. Allen [et al.] // J. Obstet. Gynaecol. Can. – 2006. – Vol. 28. – P. 220.
262. Pregnancy, birth, and infant outcomes by maternal fertility status: the Massachusetts Outcomes Study of Assisted Reproductive Technology / B. Luke [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2017. – Vol. 1. – P. 1-14.
263. Prenatal diagnosis after ART success: the role of early combined screening tests in counselling pregnant patients / L. Ghisoni [et al.] // Placenta. – 2003. – Vol. 24 (Suppl. B). – P. S99–S103.
264. Prenatal karyotypes of fetuses conceived by intracytoplasmic sperm injection. / E.A. Jozwiak [et al.] // Fertil. Steril. – 2004. – Vol. 82. – P. 628–633.
265. Prenatal testing among women pregnant after assisted reproductive techniques in Denmark 1995–2000: a national cohort study / A.C. Gjerris [et al.] // Hum. Reprod. – 2008. – Vol. 23. – P. 1545–1552.
266. Prenatal testing in ICSI pregnancies: incidence of chromosomal anomalies in 1586 karyotypes and relation to sperm parameters / M. Bonduelle [et al.] // Hum. Reprod. – 2002. – Vol. 17. – P. 2600–2614.
267. Pritts, E.A. Luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of randomized trials / E.A. Pritts, A.K. Atwood // Hum. Reprod. – 2002. – Vol. 17 (9). – P. 2287-2299.
268. Prospective evaluation of hemostatic system and thrombin potential in healthy pregnant women with and without factor V Leiden / S. Eichinger [et al.] // Thromb. Haemost. – 1999. – Vol. 82. – P. 1232–1236.

269. Prospective, sequential, longitudinal study of coagulation changes during pregnancy in Chinese women / X.H. Liu [et al.] // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2009. – Vol. 105 (3). – P. 240.
270. Ramsay, M. Normal Values / M. Ramsay // In: *High risk pregnancy: management options* / Ed. D.K. James, P.J. Steer - 4th ed. – Saunders, 2011. – 1495 p.
271. Reference interval of D-dimer in pregnant women / D. Giavarina [et al.] // *Clin. Biochem.* – 2001. – Vol. 34. – P. 331–333.
272. Reference intervals for haematological variables during normal pregnancy and postpartum in 434 healthy Danish women / N. Milman [et al.] // *Eur. J. Haematol.* 2007. – Vol. 79. – P. 39.
273. Reference intervals for plasma levels of fibronectin, von Willebrand factor, free protein S and antithrombin during third-trimester pregnancy / K. Wickström [et al.] // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 2004. – Vol. 64. – P. 31.
274. Reference intervals of D-dimer during the pregnancy and puerperium period on the STA-R evolution coagulation analyzer / M. Wang [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2013. – Vol. 425. – P.176–180.
275. Reference values for clinical chemistry tests during normal pregnancy / A. Larsson [et al.] // *Br. J. Obstet. Gynecol.* – 2008. – Vol. 115 (7). – P. 874.
276. Response of blood coagulation parameters to elevated endogenous 17 betaestradiol levels induced by human menopausal gonadotropins / H.C. Kim [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1981. – Vol. 140 (7). – P. 807-810.
277. Review: Biochemical markers to predict preeclampsia / U. Anderson [et al.] // *Placenta.* – 2012. – Vol. 26 (Suppl. A). – P. 42–47.
278. Risk of venous thromboembolism in users of oral contraceptives containing drospirenone or levonorgestrel: nested case–control study based on UK General Practice Research Database / L. Parkin [et al.] // *Br. Med. J.* – 2011. – Vol. 342. – P. 961.

279. Rova, K. Venous thromboembolism in relation to in vitro fertilization: an approach to determining the incidence and increase in risk in successful cycles / K. Rova, H. Passmark, P.G. Lindqvist // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 97 (1). – P. 95-100.
280. Royek, A.B. Maternal biological adaptations to pregnancy / A.B. Royek, V.M. Parisi // In: *Medicine of the Fetus and Mother* / E.A. Reece, J.C. Hobbins. – Philadelphia: Lippincott-Raven, 1999. – P. 903–920.
281. Samples: From the Patient to the Laboratory / W.G. Guder [et al.]. – Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2003. – 106 p.
282. Sasse, E. Reference intervals and clinical decision limits / E. Sasse // In: *Clinical chemistry: Theory, analysis and correlation* / Ed. S. Kazmierczak. – St.Louis, MO Mosby, 2003. – P. 362-378.
283. Schneider, A.J. Some thoughts on normal, or standard, values in clinical medicine / A.J. Schneider // *Pediatric.* – 1960. – Vol. 26. – P. 973-984.
284. Screening for Down's syndrome: effects, safety, and cost effectiveness of first and second trimester strategies / R.E. Gilbert [et al.] // *Br. Med. J.* – 2001. – Vol. 323. – P. 423–425.
285. Serial b-subunit human chorionic gonadotropin doubling times as a prognostic indicator of pregnancy outcome in an infertile population / F.R. Batzer [et al.] // *Fertil. Steril.* – 1981. – Vol. 35 (3). – P. 307–312.
286. Serum concentration of endogenous G-CSF in women during the menstrual cycle and pregnancy / S. Makinoda [et al.] // *Eur. J. Clin. Invest.* – 1995. – Vol. 25. – P. 877–879.
287. Serum free β -hCG and alpha-fetoprotein levels in IVF, ICSI and frozen embryo transfer pregnancies in maternal mid-trimester serum screening for Down's syndrome / R. Raty [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 17. – P. 481–484.
288. Serum markers for Down's syndrome in women who have had in vitro fertilisation: implications for antenatal screening / N.J. Wald [et al.] // *Br. J. Obstet. Gynaecol.* – 1999. – Vol. 106. – P. 1304–1306.

289. Serum triple-marker screening in in vitro fertilization and naturally conceived pregnancies / G.N. Frishman [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 1997. – Vol. 90. – P. 98–101.
290. Sibai, B. Pre-eclampsia / B. Sibai, G.Dekker, M. Kupferminc // *Lancet.* – 2005. – Vol. 365. – P. 785-799.
291. Sill, P.R. Platelet values during normal pregnancy / P.R. Sill, T. Lind, W. Walker // *Br. J. Obstet. Gynaecol.* – 1985. – Vol. 92. – P. 480–483.
292. Soini, E. Time-resolved fluorometer for lanthaide chelates – a new generation of nonisotopic immunoassays / E. Soini, H. Kojoa // *Clin. Chem.* – 1983. – Vol. 29. – P. 65-68.
293. Solberg, H.E. Approved recommendation (1986) on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values / H.E. Solberg // *Clin. Chim. Acta.* – 1987. – Vol. 165. – P. 111 –118.
294. Solberg, H.E. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values: determination of reference limits / H.E. Solberg // *Clin. Chim. Acta.* – 1987. – Vol. 170. – P. S33-S42.
295. Solberg, H.E. Approved recommendation (1988) on the theory of reference values. Part 4. Control of analytical variation in the production, transfer and application of reference values / H.E. Solberg, D. Stamm // *Clin. Chim. Acta.* – 1991. – Vol. 202. – P. 5–10.
296. Solberg, H.E. Approved recommendation (1988) on the theory of reference values. Part 3. Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values / H.E. Solberg, C. PetitClerc // *Clin. Chim. Acta.* – 1988. – Vol. 177. – P. S1-S12.
297. Solberg, H.E. Establishment and use of reference values / H.E. Solberg // In: *Tietz textbook of clinical chemistry* / Ed. C.A. Burtis, E.R. Aswood. – Philadelphia: W. B. Saunders, 1999.

298. Solberg, H.E. The IFCC recommendation on estimation of reference intervals / H.E. Solberg // Clin. Chem. Lab. Med. – 2004. – Vol. 42. – P. 710–714.
299. Soluble fms-like tyrosine kinase 1 is increased in preeclampsia but not in normotensive pregnancies with small-for-gestational-age neonates: relationship to circulating placental growth factor / E. Shibata [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2005. – Vol. 90. – P. 4895-4903.
300. Some new aspects of the endocrinological response to pregnancy / M.O. Aspillaga [et al.] // Br. J. Obstet. Gynaecol. – 1983. – Vol. 90. – P. 596–603.
301. Spencer, K. Aneuploidy screening in the first trimester / K. Spencer // Am. J. Med. Genet. Semin. Med. Genet. – 2007. – Vol. 145. – P. 18–32.
302. Staff, A.C. Circulating predictive biomarkers in preeclampsia / A.C. Staff // Pregn. Hypert. – 2011. – Vol. 1 (1). – P. 28-42.
303. Status of the coagulation and fibrinolytic systems in ovarian hyperstimulation syndrome / H. Kodama [et al.] // Fertil. Steril. – 1996. – Vol. 66 (3). – P. 417-424.
304. Steptoe, P.C. Birth after the reimplantation of a human embryo / P.C. Steptoe, R.G. Edwards // Lancet. – 1978. – Vol. 2. – P. 366.
305. Steptoe, P.C. Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy / P.C. Steptoe, R.G. Edwards // Lancet. – 1976. – Vol. 1. – P. 880.
306. Stewart, J.A. Thromboembolic disease associated with ovarian stimulation and assisted conception techniques / J.A. Stewart, P.J. Hamilton, A.P. Murdoch // Hum. Reprod. – 1997. – Vol. 12. – P. 2167-2173.
307. Stock, M.K. Maternal physiology during gestation / M.K. Stock, J. Metcalfe // In: The Physiology of Reproduction / Ed. E. Knobil, J.D. Neill. – New York: Raven, 1994. – P. 947–983.
308. Sunderman, F.W. Current concepts of «normal values», «reference values» and «discrimination values» in clinical chemistry / F.W. Sunderman // Clin. Chem. – 1975. – Vol. 21 (13).

309. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone chromogenic system used in the enzymic determination of serum cholesterol / F. Meattini [et al.] // Clin. Chem. – 1978. – Vol. 24. – P. 2161-2165.

310. The change in concentrations of angiogenic and anti-angiogenic factors in maternal plasma between the first and second trimesters in risk assessment for the subsequent development of preeclampsia and small-for-gestational age / O. Erez [et al.] // J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. – 2008. – Vol. 21(5). – P. 279-87.

311. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline. NCCLS document C28-A and C28-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1995, 2001 [Electronic resource] // URL: <http://www.nccls.org>

312. The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients / S. Verlohren [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2012. – Vol. 206. – P. 58.

313. The use of D-dimer with new cutoff can be useful in diagnosis of venous thromboembolism in pregnancy / M. Kovac [et al.] // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2010. – Vol. 148 (1). – P. 27–30.

314. Thornton, P. Coagulation in pregnancy / P. Thornton, J. Douglas // Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. – 2010. – Vol. 24, № 3. – P. 339–352.

315. Thromboembolic complications in patients undergoing in vitro fertilization: retrospective clinical study / M. Mara [et al.] // Ceska Gynekol. – 2004. – Bd. 69 (4). – S. 312-316.

316. Tietz clinical guide to laboratory tests – 4th ed. / Ed. A.H.B. Wu. – Philadelphia, WB Saunders/Elsevier, 2006.

317. Time-dependent changes in bone, placental, intestinal, and hepatic alkaline phosphatase activities in serum during human pregnancy / G.J. Valenzuela, [et al.] // Clin. Chem. – 1987. – Vol. 33 (10). – P. 1801–1806.

318. Time-resolved fluorometry in immunoassays / T. Lovgren [et al.] // In: *Alternative Immunoassays* / Ed. W.P. Collins. – England: John Wiley & Sons Ltd., 1985.
319. Total and differential leukocyte counts percentiles in normal pregnancy / S. Lurie [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2008. – Vol. 136 (1). – P. 16
320. Trimester-specific coagulation and anticoagulation reference intervals for healthy pregnancy / C. Cui [et al.] // *Thromb. Res.* – 2017. – Vol. 156. – P. 82–86.
321. Tul, N. Serum PAPP-A levels at 10–14 weeks of gestation are altered in women after assisted conception / N. Tul, Z. Novak-Antolic // *Prenat. Diagn.* – 2006. – Vol. 26. – P. 1206–1211.
322. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10–14 weeks of gestation / R.J. Snijders [et al.] // *Lancet.* – 1998. – Vol. 352. – P. 343–346.
323. Up regulation of Ugt1a genes in placentas and fetal livers in a murine model of assisted reproduction / A.C. Collier [et al.] // *Placenta.* – 2012. – Vol. 33. – P. 77–80.
324. Upper body venous thrombosis associated with ovarian stimulation: case report and review of the literature / A. Mancuso [et al.] // *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* – 2005. – Vol. 32. – P. 149–154.
325. Utility of commonly used commercial hCG immunoassays in the diagnosis and management of trophoblastic diseases / L.A. Cole [et al.] // *Clin. Chem.* – 2001. – Vol. 47. – P. 308–315.
326. Validation of Correction Factors for Serum Markers for First-Trimester Down Syndrome Screening in Singleton Pregnancies Conceived with Assisted Reproduction / M.A.J. Engels [et al.] // *Fetal. Diagn. Ther.* – 2013. – Vol. 34. – P. 217–224.

327. Van den Broek, N.R. Pregnancy and the erythrocyte sedimentation rate / N.R. Van den Broek, E.A. Letsky // Br. J. Obstet. Gynaecol. – 2001. – Vol. 108. – P. 1164-1167.
328. Van Thiel, D.H. Pregnancy-associated sex steroids and their effects on the liver / D.H. Van Thiel, J.S. Gavalier // Semin. Liver Dis. – 1987. – Vol. 7. – P.1-7.
329. Wald, N. Antenatal screening for Down's syndrome with the quadruple test / N. Wald, W. Huttly, A. Hackshaw // Lancet. – 2003. – Vol. 361. – P. 835–836.
330. Wang, A. Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis / A. Wang, S. Rana, S.A. Karumanchi // Physiology. – 2009. – Vol. 24. – P. 147-158.
331. Warnick, G.R. Evolution of methods for measurement of HDL-cholesterol: from ultracentrifugation to homogeneous assays / G.R. Warnick, M. Nauck, N. Rifai // Clin. Chem. – 2001. – Vol. 47. – P. 1579-1596.
332. Weber, J.A. Interferences in current methods for measurements of creatinine / J.A. Weber, A.P. Van Zanten // Clin. Chem. – 1991. – Vol. 37. – P. 695-700.
333. Whelan, J.G. The ovarian hyperstimulation syndrome / J.G. Whelan, N.F. Vlahos // Fertil. Steril. – 2000. – Vol. 73. – P. 883-896.
334. Williams Obstetrics - 24rd Edition / Ed. F.G. Cunningham, K.J. Leveno, S.L. Bloom et al. – New York: McGraw-Hill Education, 2014. – 1404 p.
335. Wotton, I. The quantitative approach to hospital biochemistry / I. Wotton, E. King, J. Smith // Br. Med. Bull. – 1951. – Vol. 7. – P. 307-311.
336. Yen, S.S.C. Endocrine metabolic adaptation in pregnancy / S.S.C. Yen // In: Reproductive Endocrinology / Ed. S.S.C. Yen, D. Jaffe. – Philadelphia: WB Saunders, 1991. – 936 p.