



**ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ:  
НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ  
ТЕХНОЛОГИИ В РЕШЕНИИ  
РЕПРОДУКТИВНЫХ ПРОБЛЕМ**

В последние годы возможности ПЦР в реальном времени — одного из самых точных и перспективных методов — существенно расширились: наряду с идентификацией микроорганизмов стало доступным выполнение количественных исследований микрофлоры, определение вирусной нагрузки, генотипирование. Инновационные подходы в исследовании наследственной предрасположенности к различным заболеваниям, предиктивной диагностике онкопатологий, ставшие доступными для практического здравоохранения, позволяют постепенно смещать акцент с диагностики и лечения развившегося заболевания на сверхраннюю диагностику и профилактику болезней. Особенно актуальны данные исследования в решении репродуктивных проблем — при профилактике осложнений беременности, генетическом скрининге беременных, установлении причин мужского и женского бесплодия, онкопрогнозе.

Пособие подготовлено коллективом авторов компании «ДНК-Технология» и предназначено акушерам-гинекологам, дерматовенерологам, врачам клинической лабораторной диагностики и смежных специальностей.

## ИННОВАЦИОННАЯ ТЕХНОЛОГИЯ\* ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ЖЕНСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

### ФЕМОФЛОР®

Выявление дисбиотических нарушений и ИППП – факторов риска преждевременных родов, ВУИ, осложнений послеродового периода – на прегравидарном этапе и при беременности.

*Победитель  
национальной  
медицинской премии  
«Призвание», 2014*



### ИММУНОКВАНТЭКС

новое

Оценка локального воспаления репродуктивного тракта женщины: дифференциальная диагностика вагинитов и вагинозов.

*Победитель  
«Prix Galien Russia  
2016» в номинации  
«Лучший российский продукт»*



\* Разработка и клиническая апробация технологии проводилась компанией «ДНК-Технология» и ФГБУ «НЦАГиП им. В.И. Кулакова» МЗ РФ

# СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Введение .....                                                                                     | 5  |
| Диагностика инфекционно-воспалительных заболеваний органов<br>женской репродуктивной системы ..... | 6  |
| Исследования микрофлоры урогенитального тракта<br>мужчин «Андрофлор®» .....                        | 21 |
| Молекулярно-генетическое тестирование .....                                                        | 28 |
| ❖ HLA-типирование II класса .....                                                                  | 28 |
| ❖ Диагностика мужского бесплодия: делеции локуса AZF,<br>мутации гена CFTR .....                   | 30 |
| ❖ Диагностика женского бесплодия .....                                                             | 37 |
| • Определение генных полиморфизмов, ассоциированных<br>с риском развития тромбофилии .....         | 38 |
| • Определение дефектов генов ферментов фолатного цикла .....                                       | 43 |
| Диагностика онкологических заболеваний органов репродуктивной системы .....                        | 48 |
| • Рак молочной железы и яичников .....                                                             | 48 |
| • Рак шейки матки .....                                                                            | 55 |
| Список литературы .....                                                                            | 60 |

# ВВЕДЕНИЕ

Основными тенденциями современной медицины являются персонализация подхода, смещение акцента в сторону ранней диагностики и профилактики заболеваний. Прорыв в развитии лабораторных технологий, произошедший в последнее десятилетие, сделал доступными для практического здравоохранения инновационные методики, позволяющие выполнять количественные исследования микрофлоры, оценивать риски и устанавливать роль наследственных факторов в развитии заболеваний, существенно повышая информативность обследования.

Охрана репродуктивного здоровья населения России объявлена руководством страны важнейшей государственной задачей и является одной из приоритетных составляющих Национального проекта «Здоровье». Определение полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии — одного из главных факторов репродуктивных потерь — в ходе прегравидарной подготовки, генетический скрининг беременных, установление причин мужского и женского бесплодия имеют доказанное клиническое значение и могут широко применяться в практике акушеров-гинекологов, андрологов и врачей смежных специальностей.

Онкопрогноз — новое перспективное направление, включающее профилактику рака шейки матки и превентивную диагностику наследственной формы рака молочной железы и яичников. Включение в программы диспансеризации подобных исследований может способствовать сохранению здоровья и качества жизни населения при снижении затрат на медицинскую помощь.

# ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ЖЕНСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

Проблема распространения социально значимых инфекций, в том числе инфекций, передающихся половым путем (ИППП), является одной из ключевых в снижении репродуктивного потенциала населения, в связи с чем внедрение высокочувствительной и высокоспецифичной диагностики на основе молекулярно-генетических методов исследования — стратегически важное решение.

Клиническая важность своевременной эффективной диагностики инфекционно-воспалительных заболеваний репродуктивной системы определяется высокой распространенностью данной патологии, влиянием на репродуктивную функцию и качество жизни женщин, а также ассоциацией с акушерскими и неонатальными осложнениями (Donders G., 2009-2012, Кира Е. Ф., 2005-2014, Анкирская А. С., 2005, Серова О. Ф., 2009, Гомберг М. А., 2011, Laxmi U., 2012, Wen A., 2014). Стертая клиническая картина, отсутствие дифференциальных патогномоничных признаков, бессимптомное течение заболеваний делают невозможной постановку этиологического диагноза на основании клинико-анамнестических данных и требуют обязательного применения лабораторных методов исследования.

Рутинные тесты и критерии, широко используемые в диагностике вульвовагинитов и бактериального вагиноза (БВ), — микроскопия мазка, критерии Amsel, тесты для выявления отдельных микроорганизмов, микробиологический посев — не всегда позволяют верифицировать возбудитель, а значит поставить этиологический диагноз и назначить обоснованное лечение. Результатом эмпирической терапии является широкая распространенность рецидивов заболеваний, хронического течения воспаления (Савичева А. М., 2008-2015, Кира Е. Ф., 2008-2014, Прилепская В. Н., 2010-2014, Тихомиров А. Л., 2009-2011). Классические методы обнаружения патогенных микроорганизмов, которые позволяют идентифицировать факт наличия возбудителя (культуральный метод, качественное определение микроорганизмов по ДНК или серодиагностика по антигенам и антителам), малоинформативны в диагностике заболеваний, вызванных условно-патогенными микроорганизмами (УПМ), из-за отсутствия возможности количественного учета и критериев оценки патологических состояний. Стоит отметить, что условно-патогенная микрофлора, являющаяся наиболее частой причиной урогенитальных заболеваний у женщин, представлена главным образом анаэробными микроорганизмами (Савичева А. М., 2008-2015, Ворошилина Е. С., 2007-2014). Подавляющее большинство лечебных учреждений практического здравоохранения в настоящее время не имеют условий для культивирования таких микроорганизмов. К недостаткам культурального метода следует отнести длительные сроки культивирования микроорганизмов (в среднем 5 дней) и необходимость сохранения их жизнеспособности до момента поступления биоматериала в лабораторию.

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) регламентирован стандартами оказания медицинской помощи в перечне лабораторных исследований для диагностики хламидийной инфекции, дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний вульвы и влагалища; использование метода согласуется с Приказом № 572н от 01.11.2012 и Клиническими рекомендациями по ведению больных с инфекциями, передаваемыми половым путем, и урогенитальными инфекциями (РОДВК, 2012 г.).

Наряду с ИППП в структуре урогенитальных заболеваний прослеживается устойчивая тенденция к увеличению доли инфекционно-воспалительных процессов, вызванных условно-патогенными микроорганизмами (УПМ). Особый интерес представляют процессы, ассоциированные с микро- и уреаплазмами, поскольку в настоящее время их роль в развитии патологии урогенитального тракта (УГТ) до конца не определена.

С 2000 г. (приказ МЗ РФ № 315 от 07.08.2000) в связи с введением в России Международной классификации болезней (МКБ-10) инфекции, ассоциированные с *U. urealyticum* и *M. hominis*, были исключены из списка ИППП и выделены в отдельный пункт: «Инфекция, вызванная микоплазмой, неутонченная» (A49.3). Существует принципиальное отличие диагностики инфекций, вызванных условно-патогенными микроорганизмами, от инфекций, вызванных облигатными патогенами.

Выделение УПМ из патологического отделяемого урогенитального тракта мужчин и женщин не является доказательством развития заболеваний урогенитального тракта, так как эти же микроорганизмы могут заселять мочеполовую систему и в норме. *M. hominis* и *U. urealyticum* обнаруживаются в уребре, влагалище, прямой кишке у 20–75 % практически здоровых людей. Вопрос о том, какие факторы микробного окружения и организма хозяина являются решающими для реализации патогенного потенциала условно-патогенных микоплазм, до настоящего времени остается невыясненным.

Изучение сложного микробного комплекса УГТ позволило установить, что для возникновения патологического процесса необходимо наличие ассоциации нескольких УПМ (анаэробных и/или аэробных и/или грибов рода *Candida*), а попытки выявления и отведения ведущей этиологической роли отдельным микроорганизмам без оценки микробного пейзажа УГТ в целом, а также без количественной оценки состояния нормофлоры (бактерии рода *Lactobacillus*) у женщин зачастую могут приводить к назначению недостаточной/избыточной лекарственной терапии.

Особого внимания заслуживает вопрос целесообразности количественного определения *Ureaplasma spp.* и *M. hominis* для клинической интерпретации полученных результатов. В Клинических рекомендациях по ведению больных с инфекциями, передаваемыми половым путем, и урогенитальными инфекциями (РОДВК, 2012 г.) указано, что при выявлении *M. hominis* и/или *Ureaplasma spp.* в количестве более 10<sup>4</sup> КОЕ/мл (или ГЭ/г) и при отсутствии клинических и/или лабораторных признаков воспалительного процесса мочеполовой системы (оценка локального воспаления производится по лейкоцитарной реакции) **лечение не проводится.**

Таким образом, выявление *U. urealyticum* и *M. hominis* в количестве, превышающем пороговое значение ( $10^4$  ГЭ/образец), при отсутствии клинической симптоматики воспалительного процесса уrogenитального тракта и жалоб пациентки в настоящее время не является аргументом для назначения лекарственной терапии. При наличии клинической симптоматики перед назначением лекарственной терапии необходимо учитывать не только количественные показатели *U. urealyticum* и *M. hominis*, но и содержание других УПМ и лактобактерий, что позволяет всесторонне описать состояние микробиоценоза у пациентки, назначить этиологически направленную терапию и избежать гиперпрагмазии.

Настоящим прорывом в исследовании состояния микрофлоры уrogenитального тракта и дифференциальной диагностике дисбиотических нарушений стала отечественная разработка «Фемофлор®», основанная на технологии ПЦР в реальном времени.

На данный момент разработаны и применяются на практике несколько вариантов исследований «Фемофлор®» с учетом возможности решения широкого спектра задач (табл. 1).

Таблица 1

## Выявляемые микроорганизмы в исследованиях «Фемофлор®»

| Группа                       | Выявляемые показатели                                                                                | Фемофлор®<br>Скрин | Фемофлор®<br>8 | Фемофлор®<br>16 |
|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|----------------|-----------------|
| Диагностика<br>нормоценоза   | Общая бактериальная масса                                                                            | •                  | •              | •               |
|                              | <i>Lactobacillus</i> spp. / BK                                                                       | •                  | •              | •               |
| Аэробные<br>микроорганизмы   | Сем. <i>Enterobacteriaceae</i>                                                                       |                    | •              | •               |
|                              | <i>Streptococcus</i> spp.                                                                            |                    | •              | •               |
|                              | <i>Staphylococcus</i> spp.                                                                           |                    |                | •               |
| Анаэробные<br>микроорганизмы | <i>Gardnerella vaginalis</i> / <i>Prevotella bivia</i> / <i>Porphyromonas</i> spp.                   | •                  | •              | •               |
|                              | <i>Eubacterium</i> spp.                                                                              |                    | •              | •               |
|                              | <i>Sneathia</i> spp./ <i>Leptotrichia</i> spp./ <i>Fusobacterium</i> spp.                            |                    |                | •               |
|                              | <i>Megasphaera</i> spp./ <i>Veillonella</i> spp./ <i>Dialister</i> spp.                              |                    |                | •               |
|                              | <i>Lachnobacterium</i> spp./ <i>Clostridium</i> spp.                                                 |                    |                | •               |
|                              | <i>Mobiluncus</i> spp./ <i>Corynebacterium</i> spp.                                                  |                    |                | •               |
|                              | <i>Peptostreptococcus</i> spp.                                                                       |                    |                | •               |
|                              | <i>Atopobium vaginae</i>                                                                             |                    |                | •               |
| Микоплазмы                   | <i>Mycoplasma hominis</i> ,<br><i>Mycoplasma genitalium</i>                                          | •                  | •              | •               |
|                              | <i>Ureaplasma</i> ( <i>urealyticum</i> + <i>parvum</i> )                                             | •                  |                | •               |
| Грибы                        | <i>Candida</i> spp./<br>контроль взятия материала                                                    | •                  | •              | •               |
| Патогенные<br>микроорганизмы | <i>Trichomonas vaginalis</i> /<br><i>Neisseria gonorrhoeae</i> /<br><i>Chlamydia trachomatis</i> /BK | •                  |                |                 |
|                              | Herpes simplex virus 2/Cytomegalovirus/<br>Herpes simplex virus 1/ BK                                | •                  |                |                 |

По результатам более чем трех тысяч исследований был разработан алгоритм оценки состояния микробиоценоза влагалища женщин репродуктивного возраста, который лежит в основе дифференциации дисбиотических нарушений, определения этиологии процесса (рис. 1), что может использоваться акушером-гинекологом для постановки диагноза и аргументированного выбора дальнейшей тактики ведения пациентки.

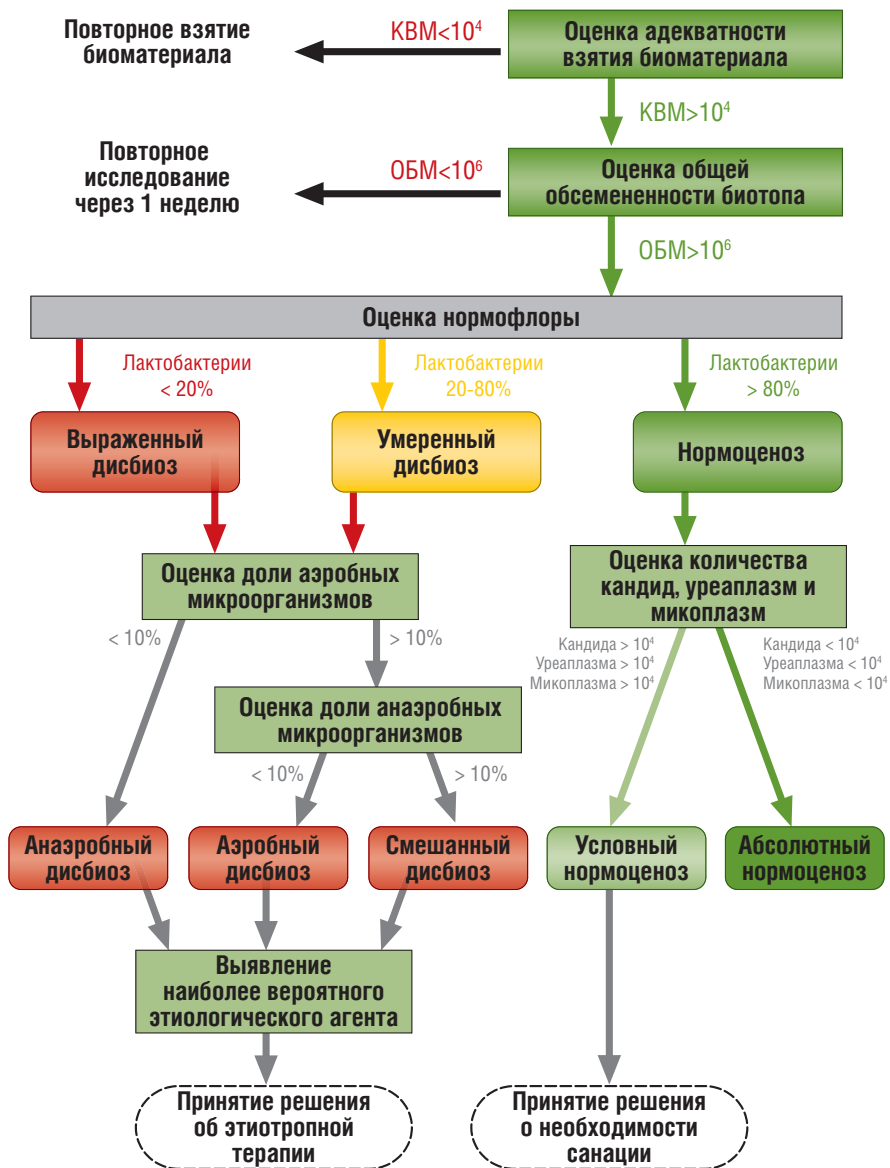
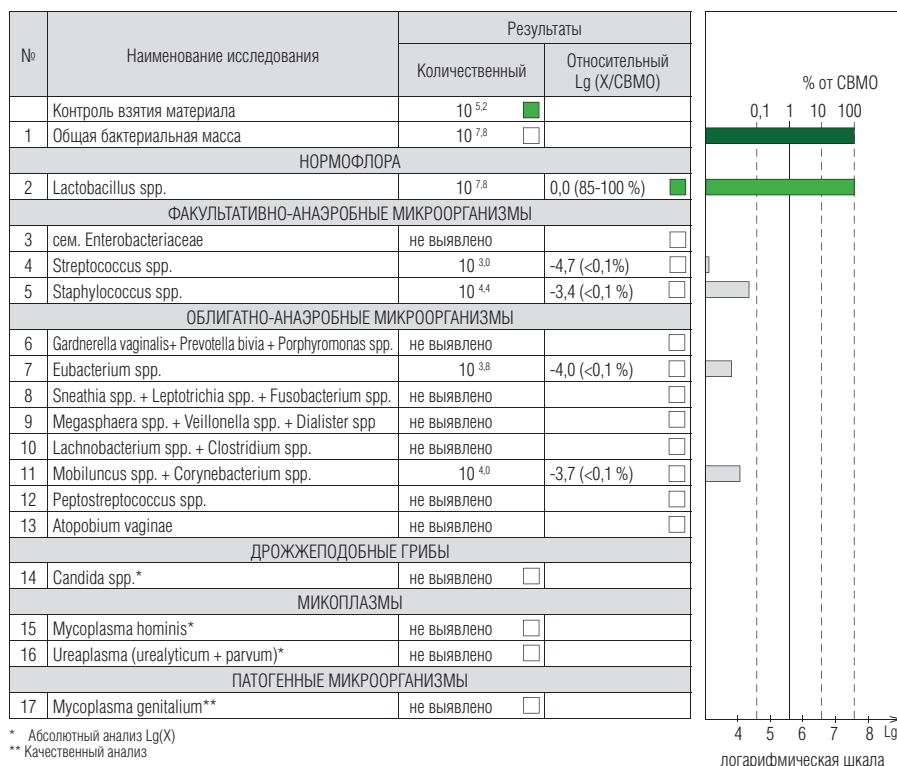


Рис. 1. Алгоритм анализа состояния микробиоценоза уrogenитального тракта у женщин репродуктивного возраста

## Исследования «Фемофлор®» позволяют:

- ❖ проводить оценку достоверности результата анализа по контрольному показателю – КВМ (адекватность биоматериала);
- ❖ сравнивать количество лактобактерий с общим количеством бактерий (общей обсемененностью) для оценки состояния микробиоценоза и степени выраженности его нарушений: *абсолютный нормоценоз, условный нормоценоз, умеренный дисбиоз и выраженный дисбиоз (рис. 1);*
- ❖ сравнивать количество представителей группы микроорганизмов с общим количеством бактерий для определения их этиологической значимости в развитии дисбиоза: *аэробный, анаэробный и смешанный дисбиоз (рис. 2).*

### А.



\* Абсолютный анализ Lg(X)

\*\* Качественный анализ

#### Заключение:

Абсолютный нормоценоз.

Нормальное состояние микробиоценоза влагалища условно здоровой женщины репродуктивного возраста.

## Б.

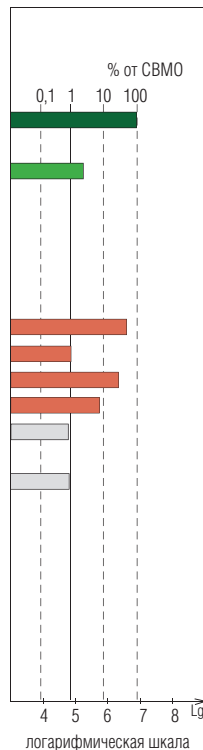
| №                                       | Наименование исследования                                    | Результаты        |                                                      |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-------------------|------------------------------------------------------|
|                                         |                                                              | Количественный    | Относительный Lg (X/СВМО)                            |
|                                         | Контроль взятия материала                                    | 10 <sup>4,8</sup> | <input checked="" type="checkbox"/>                  |
| 1                                       | Общая бактериальная масса                                    | 10 <sup>6,9</sup> | <input type="checkbox"/>                             |
| НОРМОФЛОРА                              |                                                              |                   |                                                      |
| 2                                       | Lactobacillus spp.                                           | 10 <sup>5,2</sup> | -1,6 (2,0-2,7 %) <input checked="" type="checkbox"/> |
| ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ |                                                              |                   |                                                      |
| 3                                       | сем. Enterobacteriaceae                                      | не выявлено       | <input type="checkbox"/>                             |
| 4                                       | Streptococcus spp.                                           | не выявлено       | <input type="checkbox"/>                             |
| 5                                       | Staphylococcus spp.                                          | не выявлено       | <input type="checkbox"/>                             |
| ОБЛИГАТНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ     |                                                              |                   |                                                      |
| 6                                       | Gardnerella vaginalis+ Prevotella bivia + Porphyromonas spp. | 10 <sup>6,6</sup> | -0,2 (48-65 %) <input checked="" type="checkbox"/>   |
| 7                                       | Eubacterium spp.                                             | 10 <sup>4,9</sup> | -1,9 (1,0-1,4 %) <input type="checkbox"/>            |
| 8                                       | Sneathia spp. + Leptotrichia spp. + Fusobacterium spp.       | 10 <sup>6,3</sup> | -0,5 (25-33 %) <input checked="" type="checkbox"/>   |
| 9                                       | Megasphaera spp. + Veillonella spp. + Dialister spp          | 10 <sup>5,8</sup> | -1,0 (8-11 %) <input type="checkbox"/>               |
| 10                                      | Lachnobacterium spp. + Clostridium spp.                      | 10 <sup>4,8</sup> | -2,0 (0,9-1,2 %) <input type="checkbox"/>            |
| 11                                      | Mobiluncus spp. + Corynebacterium spp.                       | не выявлено       | <input type="checkbox"/>                             |
| 12                                      | Peptostreptococcus spp.                                      | 10 <sup>4,9</sup> | -2,0 (0,9-1,2 %) <input type="checkbox"/>            |
| 13                                      | Atopobium vaginae                                            | не выявлено       | <input type="checkbox"/>                             |
| ДРОЖЖЕПОДОБНЫЕ ГРИБЫ                    |                                                              |                   |                                                      |
| 14                                      | Candida spp.*                                                | не выявлено       | <input type="checkbox"/>                             |
| МИКОПЛАЗМЫ                              |                                                              |                   |                                                      |
| 15                                      | Mycoplasma hominis*                                          | не выявлено       | <input type="checkbox"/>                             |
| 16                                      | Ureaplasma (urealyticum + parvum)*                           | не выявлено       | <input type="checkbox"/>                             |
| ПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ               |                                                              |                   |                                                      |
| 17                                      | Mycoplasma genitalium**                                      | не выявлено       | <input type="checkbox"/>                             |

\* Абсолютный анализ Lg(X)

\*\* Качественный анализ

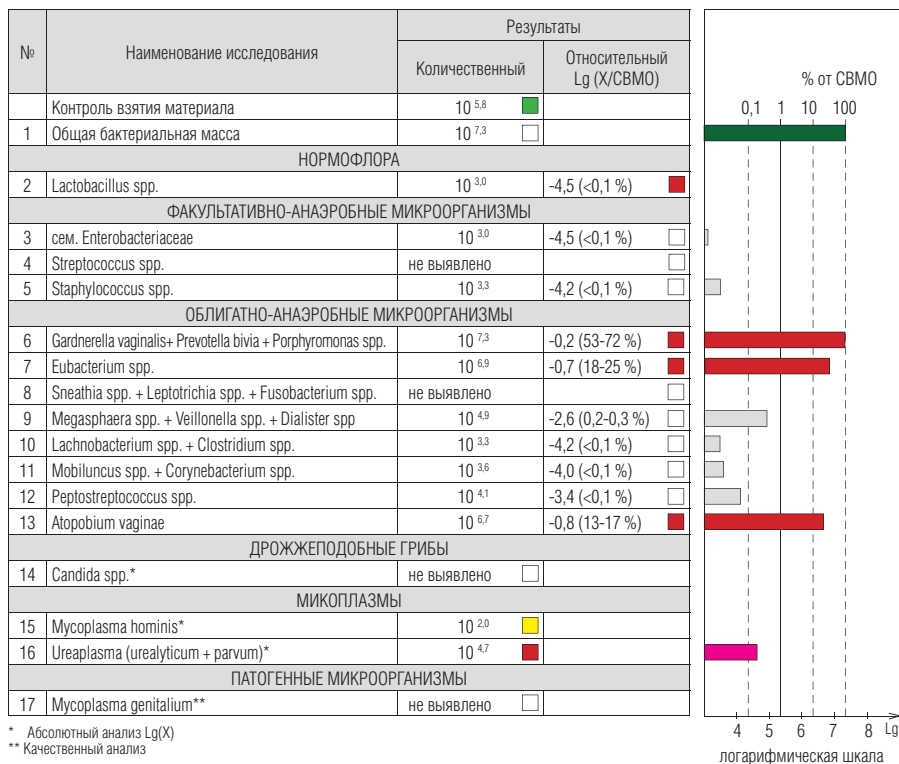
### Заключение:

Выраженный Анаэробный дисбиоз



Нарушение микробиоценоза влагалища у женщины с неспецифическим вульво-вагинитом.

## В.



\* Абсолютный анализ Lg(X)

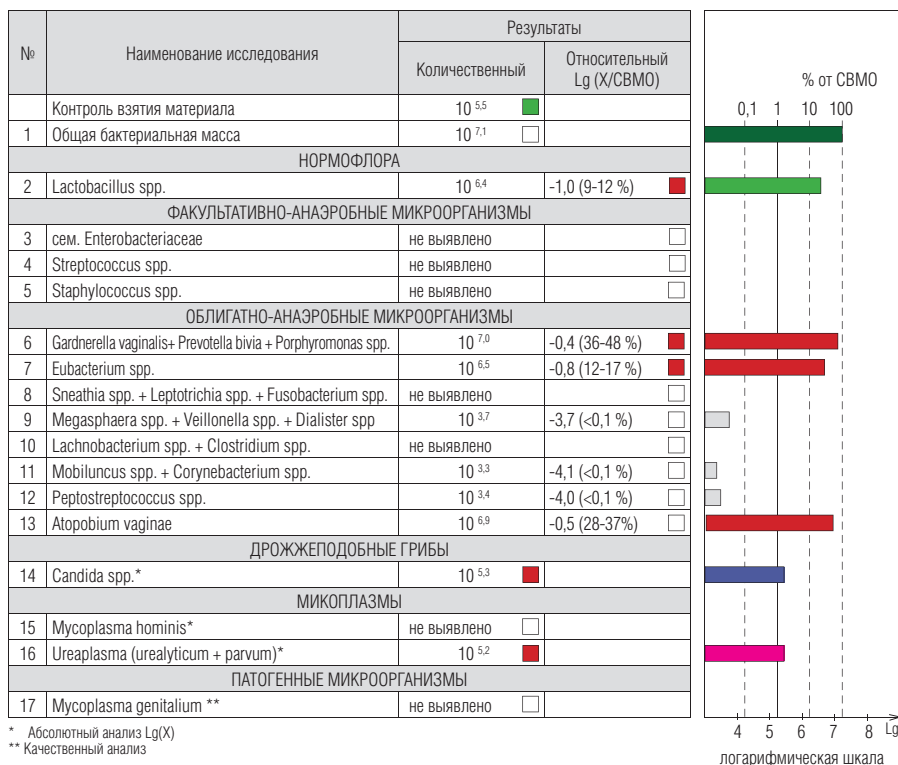
\*\* Качественный анализ

### Заключение:

Выраженный Анаэробный дисбиоз

Нарушение микробиоценоза влагалища у женщины с рецидивом бактериального вагиноза.

# Г.



\* Абсолютный анализ Lg(X)

\*\* Качественный анализ

## Заключение:

Выраженный Анаэробный дисбиоз

Нарушение микробиоценоза влагалища у женщины с вульвовагинальным кандидозом.

**Рис. 2. Результаты исследования «Фемофлор®-16» женщин репродуктивного возраста**

Данная технология рекомендована для применения в следующих ситуациях:

- ❖ клинические и/или лабораторные признаки воспалительного процесса урогенитального тракта;
- ❖ дисбиотические нарушения на фоне различных воздействий, в том числе:
  - лечение антибиотиками (как местное, так и общее), гормонами, цитостатиками,
  - использование контрацептивов, в том числе внутриматочной спирали,
  - спринцевание,
  - смена полового партнера,
  - переохлаждение;

- ❖ предстоящие оперативные манипуляции на органах малого таза с высоким риском развития инфекционных осложнений;
- ❖ наличие отягощенного акушерского или гинекологического анамнеза (невынашивание беременности, перинатальные потери, бесплодие);
- ❖ прегравидарная подготовка;
- ❖ беременность (во всех триместрах);
- ❖ в случае несовпадения данных клинических и лабораторных обследований;
- ❖ вагинит атрофический (сенильный), исследование женщин в постменопаузе;
- ❖ исследование состояния микрофлоры здоровых женщин (оптимально сдавать с гинекологическим мазком).

Обращаем ваше внимание, что тесты «Фемофлор®» позволяют объективно оценить состояние микрофлоры репродуктивного тракта женщины (*в лабораторном заключении указывается тип микробиоценоза – абсолютный или условный нормоценоз, аэробный, анаэробный или смешанный дисбиоз влагалища*), что вместе с клинико-анамнестическими данными и результатами других исследований (микроскопия, микробиология, серология и т.д.) позволяет врачу поставить обоснованный диагноз, прицельно назначить этиотропную терапию или выбрать индивидуальную тактику ведения пациента.

**В настоящее время широкое распространение получили лабораторные тесты, сопровождающиеся клиническим заключением (например при бактериальном вагинозе, вульвовагинальном кандидозе, аэробном вагините). Постановка диагноза (по МКБ-10) без учета клинико-анамнестических данных – только по результатам лабораторного теста – является клинически необоснованной и некорректной.**

**Исследования «Фемофлор®» разрабатывались для решения широкого спектра клинических задач, которые встанут перед акушером-гинекологом. Для различных случаев требуются разные профили обследования («Фемофлор®Скрин», «Фемофлор®-16»).**

Максимальную информацию врач получает при использовании полного комплекта – «Фемофлор®-16». Данное исследование проводится после исключения абсолютных патогенов, когда необходимо детально оценить состав микрофлоры. Для уменьшения времени полного обследования пациентки возможно одновременное взятие биоматериала для исследования «Фемофлор®-16» и для ПЦР-тестирования на *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* (допускается исследование клинического материала как из цервикального канала, так и из влагалища. При взятии соскоба из влагалища исследование на патогенные микроорганизмы может быть выполнено из той же пробирки, что и исследование «Фемофлор®-16»).

В ряде клинических случаев тактика обследования может быть иной. Так, *при первичном обращении пациентки с жалобами* (зуд, жжение половых органов, патологические выделения из влагалища) постановка этиологического диагноза по клинической картине затруднена или невозможна. С целью скрининга на наличие возбудителей инфекционно-воспалительных заболеваний и ориентировочной оценки состояния микрофлоры урогенитального тракта рекомендовано исследование «Фемофлор®Скрин» (рис. 3), которое объединяет тестирование на наличие основных патогенов – возбудителей ИППП и количественное исследование важнейших показателей состояния микробиоты:

### Идентификация:

- ❖ простейшие (*Trichomonas vaginalis*);
- ❖ бактерии (*Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*);
- ❖ вирусы (*Herpes simplex virus 1* и *Herpes simplex virus 2*, *Cytomegalovirus*).

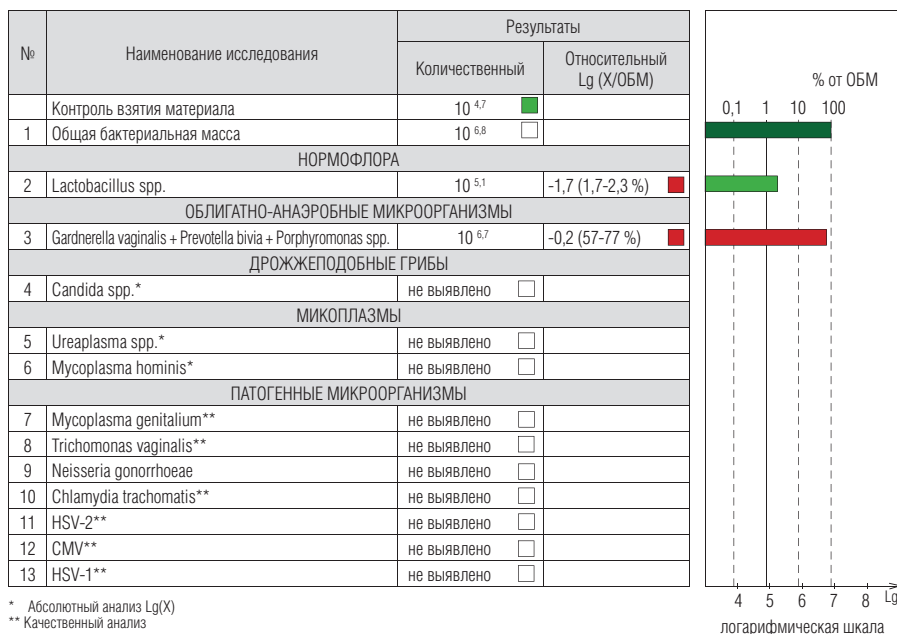
### Количественное определение:

- ❖ общая бактериальная масса;
- ❖ микроорганизмы рода *Lactobacillus*;
- ❖ условно-патогенные микроорганизмы:
  - *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.*;
  - *Ureaplasma spp.*;
  - *Mycoplasma hominis*;
  - дрожжеподобные грибы рода *Candida*.

С точки зрения клинической значимости данного исследования на первичном приеме реализуются следующие возможности:

- ❖ определение этиологической причины инфекционного процесса;
- ❖ диагностика дисбиотических нарушений и степени их выраженности;
- ❖ возможность определения объема необходимой терапии;
- ❖ возможность проведения динамических наблюдений;
- ❖ контроль эффективности проведенного лечения;
- ❖ контроль восстановления нормофлоры влагалища;
- ❖ возможность назначения или коррекции терапии в соответствии с результатом исследования (срок выполнения анализа – 1-2 дня).

Однако использование теста «Фемофлор®Скрин» малоинформативно при *отсутствии эффекта от выбранной терапии, рецидивирующем течении заболевания*, поскольку в состав исследования не входит полный перечень условно-патогенных микроорганизмов. Более подробную информацию в этом случае врач получит только при использовании «Фемофлор®-16».



**Рис. 3. Результат исследования «Фемофлор® Скрин»  
женщин репродуктивного возраста**

Для получения корректных результатов исследования необходимо учитывать ситуации, ограничивающие возможность использования технологии «Фемофлор®», а также основные требования к порядку взятия биоматериала.

| СИТУАЦИЯ                                       | КОГДА ВОЗМОЖНО ВЗЯТИЕ БИОМАТЕРИАЛА                                                                                                                                                                                                                                                    |
|------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Кольпоскопия                                   | Не ранее чем через 24-48 часов после кольпоскопии                                                                                                                                                                                                                                     |
| УЗ-исследование с помощью влагалищного датчика | Не ранее чем через 24-48 часов после УЗ-исследования с помощью влагалищного датчика                                                                                                                                                                                                   |
| Применение антибактериальных препаратов (АБП)  | Технически исследование можно проводить на фоне применения АБП, однако вследствие нестабильности микробиоценоза в этот период результаты малоинформативны.<br>Рекомендуется брать биоматериал в следующем менструальном цикле или не ранее чем через 2 недели после окончания лечения |
| Применение пробиотиков, зубиотиков             | Не ранее чем через 2 недели после применения препаратов, содержащих микроорганизмы                                                                                                                                                                                                    |

| СИТУАЦИЯ                                                                                                                           | КОГДА ВОЗМОЖНО ВЗЯТИЕ БИОМАТЕРИАЛА                                  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| Применение препаратов – ингибиторов ПЦР (ультразвуковой контактный гель, гепарин, хлоргексидин и другие хлоросодержащие препараты) | Не ранее чем через 24 часа после применения препарата               |
| Пациентка после защищенного полового контакта                                                                                      | Не ранее чем через 24 часа после защищенного полового контакта      |
| Пациентка после незащищенного полового контакта                                                                                    | Не ранее чем через 48-72 часа после незащищенного полового контакта |
| Менструальное кровотечение                                                                                                         | После окончания кровотечения                                        |

Соблюдение перечисленных пунктов позволяет избежать типичных ошибок преаналитического этапа.

| ОШИБКА                                                                                                                                                                  | КАК ПРАВИЛЬНО                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Взятие для исследования отделяемого влагалища, слизистой пробки                                                                                                         | При необходимости удалить избыток слизи и взять соскоб с заднебоковых сводов влагалища с помощью специального зонда                                                                                                            |
| Проведение пациенткой в день обследования глубокого туалета половых органов, спринцевания влагалища                                                                     | Не проводить туалет половых органов и спринцевания влагалища в день обследования                                                                                                                                               |
| Взятие биоматериала из различных локализаций (V, C, U) в одну пробирку с транспортной средой                                                                            | При необходимости получения клинического материала из нескольких биотопов необходимо каждый раз забирать биоматериал новым зондом в новую пробирку                                                                             |
| Нарушение методики взятия биоматериала – зонд обламывается и оставляется в пробирке с транспортной средой или отжимание материала с зонда в пробирку с помощью перчатки | Зонд со взятым клиническим материалом необходимо поместить в пробирку с транспортной средой, тщательно прополоскать, легко отжать о верх стенок пробирки, извлечь и выбросить. Пробирку плотно закрыть крышкой, промаркировать |

Исследования «Фемофлор®» защищены патентом (№2008 105 063 от 13.02.2008 «Способ диагностики дисбаланса микробиоты различных биотопов человека и степени его выраженности»), разрешены к применению на территории РФ (регистрационное удостоверение № ФСР 2009/04663 от 01.04.2010), с 2011 г. ежегодно вводятся в Перечень видов высокотехнологичной медицинской помощи по профилю «Акушерство и гинекология». Получено РАЗРЕШЕНИЕ ФС №2011/375 от 22 ноября 2011 г. на применение новой медицинской технологии «Применение метода полимеразной цепной реакции в реальном времени для оценки микробиоценоза урогенитального тракта у женщин (тест «Фемофлор®»)». «Фемофлор®» включен в Программу государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи на 2015 год и плановый период 2016 и 2017 годов (ВМП) по профилю «Акушерство и гинекология» (<http://government.ru/media/files/z4YWAm1KswA.pdf>).

Данная технология может быть эффективна при подготовке пациенток к гинекологическим операциям с целью предупреждения гнойно-септических осложнений, обусловленных широким спектром облигатных анаэробных условно-патогенных микроорганизмов, что согласуется с Приказом МЗ РФ от 21.02.2000 № 64 «Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований» (раздел 9.1.2.1.3).

В 2014 г. авторский коллектив врачей и ученых под руководством д.б.н. Д. Ю. Трофимова за создание технологии «Фемофлор®» был признан победителем национальной медицинской премии лучшим врачам России «Призвание» в номинации «За создание нового метода диагностики».

Развитием концепции исследования сложных полимикробных сообществ («Фемофлор®») стала работа по изучению локального воспаления, поскольку интенсивность воспалительного процесса при одном и том же возбудителе может широко варьировать среди разных пациенток. В значительной степени развитие инфекционного процесса определяется состоянием мукозального (локального) иммунитета и зависит от иммунологической реактивности макроорганизма (Серов В. Н., 2006). В связи с этим изучение мукозального иммунитета представляет чрезвычайный интерес, в частности, для целей дифференциальной диагностики неспецифического вагинита и бактериального вагиноза (БВ), а также вульвовагинального кандидоза и кандидоносительства. До последнего времени единственным способом рутинного исследования локального иммунитета оставалась микроскопическая оценка лейкоцитарной реакции.

Впервые в мире для этой цели компанией «ДНК-Технология» совместно с врачами ФГБУ «НЦАГиП им. В. И. Кулакова» МЗ РФ была разработана тест-система «ИммуноКвантэкс», позволяющая на основе интегральной оценки экспрессии мРНК-генов врожденного иммунитета (IL1B, IL10, IL18, TNFa, TLR4, GATA3, CD68, B2M) провести объективную диагностику воспалительного процесса.

Оба теста («Фемофлор®» и «ИммуноКвантэкс») могут быть выполнены из одного образца (соскоб клеток эпителия влагалища или цервикального канала) с использованием универсального метода – ПЦР в режиме реального времени, что позволяет сократить время диагностики (до четырех часов) и снизить нагрузку на лабораторию. Использование молекулярно-генетического метода, для работы с которым не требуется соблюдения сложных условий культивирования микроорганизмов, существенно упрощает внедрение и масштабирование методики в лечебно-профилактических учреждениях, снижает вероятность ошибок, связанных с человеческим фактором.

Использование чувствительных молекулярно-генетических маркеров, способных выявить развитие заболевания на начальной стадии, позволяет проводить раннюю и сверхраннюю диагностику репродуктивных заболеваний, смещать акцент с лечения на профилактику болезней, минимизировать риск возникновения рецидивов.

## Исследования методом Real-time PCR

| Наименование исследования                                                                   | Результат | Единицы измерения | Интер-претация | Референсный интервал | Био-материал |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|-------------------|----------------|----------------------|--------------|
| Оценка локальной воспалительной реакции влагалища методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени |           |                   |                |                      | “V”          |
| IL1B                                                                                        | 4,7       | Log               |                |                      |              |
| IL10                                                                                        | 4,1       | Log               |                |                      |              |
| SIL18                                                                                       | 6,3       | Log               |                |                      |              |
| TNFA                                                                                        | 4,9       | Log               |                |                      |              |
| TLR4                                                                                        | 3,5       | Log               |                |                      |              |
| GATA3                                                                                       | 5,0       | Log               |                |                      |              |
| CD68                                                                                        | 5,7       | Log               |                |                      |              |
| B2M                                                                                         | 6,6       | Log               | валиден        | >>4                  |              |
| TLR4/GATA3                                                                                  | 0,0       | отн. ед.          | <-X-]-         | <<0,07]              |              |
| TNFA/IL18                                                                                   | 0,0       | отн. ед.          | <-X-]-         | <<0,05]              |              |
| IL10/IL18                                                                                   | 6,2       | отн. ед.          | <-]-X          | <<4]                 |              |
| IL1B/CD68                                                                                   | 0,1       | отн. ед.          | <-X-]-         | <<12,7]              |              |
| Индекс воспаления                                                                           | 1,5       | %                 | нет воспаления | <50                  |              |

**Рис. 4. Пример выдачи результата исследования «ИммуноКвантэкс»**

Акушерско-гинекологические проблемы невозможно решить изолированно — с точки зрения анализа микроорганизмов, населяющих нижние отделы репродуктивного тракта, или оценки локального воспаления. Подобный подход к трактовке отдельных компонентов сложной системы может приводить к диагностическим ошибкам. Проведенная работа доказала важность и клиническую необходимость формирования новой концепции — комплексной оценки состояния вагинальной флоры и локального воспаления репродуктивного тракта женщин («Фемофлор®» + «ИммуноКвантэкс») с применением молекулярно-генетического метода диагностики. Дальнейшее развитие данной инновации может привести к изменениям в традиционном взгляде на диагностику и, как результат, в клинической парадигме и отношении к терапии и профилактике репродуктивно значимых заболеваний, привести к обновлению национальных и международных клинических рекомендаций по лечению.

Разработанный комплексный подход официально номинирован на получение международной премии «Prix Galien Russia 2016 Исследование» за выдающиеся достижения в деле улучшения качества человеческой жизни.

# ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОФЛОРЫ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА МУЖЧИН «АНДРОФЛОР®»

В настоящее время актуальным направлением в исследовании биоценозов является сравнение микробного состава УГТ половых партнеров с целью разработки эффективного алгоритма лабораторного обследования пар и подбора терапии в случае выявления у одного/обоих партнеров заболеваний репродуктивной системы инфекционной этиологии либо нарушений репродуктивной функции.

Например, при обследовании половых партнеров пациенток с бактериальным вагинозом морфотипы ассоциированных с бактериальным вагинозом микроорганизмов выявлялись у 25 % мужчин, при этом клинические проявления (баланопостит) наблюдались у 3 % пациентов. Кроме того, условно-патогенные микроорганизмы – потенциальные возбудители воспалительных заболеваний УГТ могут попадать в уретру при анальных и оргогениальных контактах, что создает опасность заражения обоих половых партнеров.

Наиболее частой причиной болезней мочеполовой системы у мужчин является инфекционно-воспалительный процесс, длительность и интенсивность которого определяет степень нарушений репродуктивной функции: хроническое воспаление оказывает продолжительное токсическое действие на сперматогенный эпителий, нарушает гематотестикулярный барьер, реологические свойства и химический состав семенной жидкости, а также может приводить к развитию аутоиммунных реакций, например к образованию антиспермальных антител.

В процессе развития воспалительной реакции происходит увеличение количества активированных клеток иммунной системы, сопровождающееся ускорением образования свободных радикалов кислорода, повышением секреции лимфокинов и монокинов, результатом чего является вторичное воспаление в тканях репродуктивного тракта.

Значительную роль в нарушении репродуктивного здоровья мужчин играет воспаление предстательной железы. Простатит – самый частый урологический диагноз у мужчин моложе 50 лет и третий по частоте у мужчин старше 50 лет, при этом приблизительно у 10 % мужчин заболевание диагностируется уже на стадии хронического течения.

Острый бактериальный простатит (ОБП) чаще всего является результатом восходящей инфекции мочевого тракта или процедур, затрагивающих мочевой тракт, например уретральной катетеризации или трансректальной биопсии простаты. Бактериальный простатит протекает в острой форме с яркими клиническими проявлениями только в 5 % случаев, что требует обязательной лабораторной диагностики при подозрении на заболевание простаты.

Наиболее часто при ОБП определяются бактерии группы *Enterobacteriaceae* (87 %), другие грамотрицательные бактерии, такие как *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus spp.* и др., встречаются приблизительно в 10 % случаев. В развитии хронической формы заболевания большое значение имеют анаэробные бактерии, в том числе *Bacteroides/ Prevotella/ Porphyromonas spp.*, ассоциированные с развитием бактериального вагиноза у женщин, а также *Burkholderia spp.*

При хроническом течении заболевания более 70 % случаев также имеют инфекционную этиологию, при этом наиболее распространенными микроорганизмами являются: *C. trachomatis* (>30 %), *T. vaginalis* (11 %) и *U. urealyticum* (5 %).

Принимая во внимание клиническую и социальную значимость заболеваний мочеполовой системы у мужчин, часто стертого или асимптомного течения, а также важность равноценного обследования обоих половых партнеров при нарушениях репродуктивной функции и наличии заболеваний урогенитального тракта, компания «ДНК-Технология» разработала и внедрила уникальную технологию «Андрофлор®», которая позволяет осуществлять диагностику инфекционно-воспалительных заболеваний мочеполовой системы у мужчин.

#### **«Андрофлор®» – это:**

- ❖ идентификация возбудителей инфекций, передающихся половым путем (ИППП);
- ❖ анализ условно-патогенных микроорганизмов, которые могут присутствовать в мочеполовом тракте у мужчин в качестве нормобиоты или вызывать инфекционно-воспалительные заболевания мочеполовой системы, в клинически значимом, количественном формате;
- ❖ определение этиологии инфекционного процесса;
- ❖ возможность прогнозирования объема назначаемой терапии;
- ❖ возможность проведения динамических наблюдений;
- ❖ контроль качества взятия биоматериала (количественная оценка геномной ДНК человека).

Интерпретация результатов исследования формируется согласно алгоритму (рис. 5).

ПРИНЦИПАЛЬНАЯ СХЕМА АЛГОРИТМА  
АВТОМАТИЧЕСКОЙ ТРАКТОВКИ РЕЗУЛЬТАТОВ  
ИССЛЕДОВАНИЙ ТЕСТ-СИСТЕМОЙ  
«АНДРОФЛОР®»

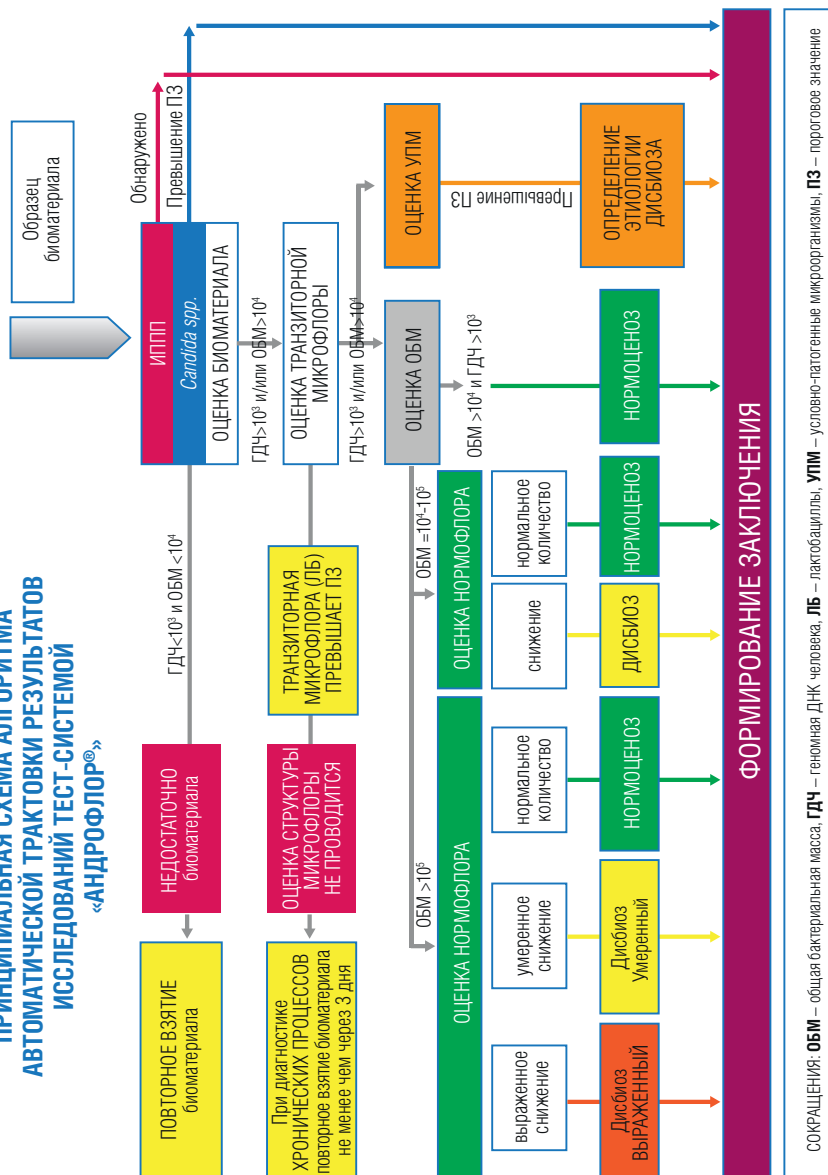


Рис. 5. Принципиальная схема алгоритма автоматической трактовки результатов

Варианты комплектации набора «Андрофлор®» созданы для решения различных клинических задач и включают разные перечни выявляемых микроорганизмов (табл. 2).

Таблица 2

Показатели, определяемые наборами реагентов для исследования микрофлоры урогенитального тракта мужчин методом ПЦР в режиме реального времени «Андрофлор®» и «Андрофлор® Скрин»

| ПОКАЗАТЕЛИ                                                                   | Андрофлор® Скрин | Андрофлор® |
|------------------------------------------------------------------------------|------------------|------------|
| <b>Общая бактериальная масса (ОБМ)</b>                                       | √                | √          |
| <b>Геномная ДНК человека (ГДЧ)</b>                                           | √                | √          |
| <b>Транзиторная микрофлора: <i>Lactobacillus spp.</i></b>                    | √                | √          |
| <b>Нормофлора</b>                                                            |                  |            |
| <i>Staphylococcus spp.</i>                                                   | √                | √          |
| <i>Streptococcus spp.</i>                                                    | √                | √          |
| <i>Corynebacterium spp.</i>                                                  | √                | √          |
| <b>Сумма: Нормофлора</b>                                                     | √                | √          |
| <b>УПМ, ассоциированные с бактериальным вагинозом (БВ)</b>                   |                  |            |
| <i>Gardnerella vaginalis</i>                                                 | √                | √          |
| <i>Ureaplasma urealyticum</i>                                                | √                | √          |
| <i>Ureaplasma parvum</i>                                                     | √                | √          |
| <i>Mycoplasma hominis</i>                                                    | √                | √          |
| <i>Atopobium cluster</i>                                                     | —                | √          |
| <i>Megasphaera spp./ Veillonella spp./ Dialister spp.</i>                    | —                | √          |
| <i>Sneathia spp./ Leptotrichia spp./ Fusobacterium spp.</i>                  | —                | √          |
| <b>Сумма: УПМ, ассоциированные с бактериальным вагинозом (БВ)</b>            | √                | √          |
| <b>УПМ анаэробы</b>                                                          |                  |            |
| <i>Bacteroides spp./ Porphyromonas spp./ Prevotella spp.</i>                 | —                | √          |
| <i>Anaerococcus spp.</i>                                                     | —                | √          |
| <i>Eubacterium spp.</i>                                                      | —                | √          |
| <i>Peptostreptococcus spp./ Parvimonas spp.</i>                              | —                | √          |
| <b>Сумма: УПМ анаэробы</b>                                                   | —                | √          |
| <b>УПМ: <i>Pseudomonas aeruginosa/ Ralstonia spp./ Burkholderia spp.</i></b> | —                | √          |
| <b>УПМ: <i>Haemophilus spp.</i></b>                                          | —                | √          |
| <b>УПМ: <i>Enterobacteriaceae spp./ Enterococcus spp.</i></b>                | √                | √          |
| <b>Дрожжеподобные грибы: <i>Candida spp.</i></b>                             | √                | √          |
| <b>Патогены</b>                                                              |                  |            |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i>                                                 | √                | √          |
| <i>Chlamydia trachomatis</i>                                                 | √                | √          |
| <i>Mycoplasma genitalium</i>                                                 | √                | √          |
| <i>Trichomonas vaginalis</i>                                                 | √                | √          |

### Назначение технологии «Андрофлор®»:

- ❖ технология «Андрофлор®» предназначена для диагностики и мониторинга эффективности лечения инфекционно-воспалительных заболеваний мочеполовой системы у мужчин (рис. 6 А);
- ❖ технология «Андрофлор® Скрин» предназначена для диагностики и мониторинга лечения острых инфекционно-воспалительных заболеваний мочеполовой системы у мужчин (рис. 6 Б).

**Материал для исследования:** соскобы с головки полового члена, соскобы из уретры, моча, секрет (сок) простаты, эякулят, биопсийный материал из ткани простаты.

A

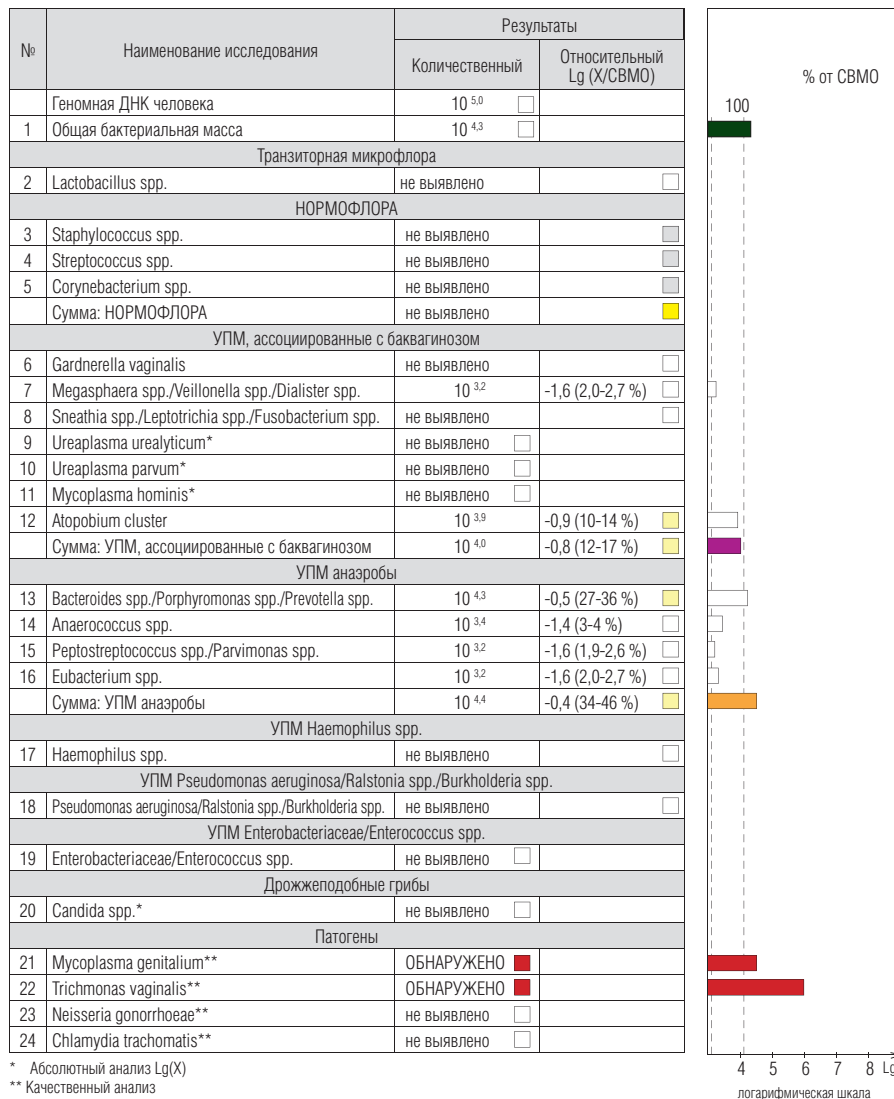
# Исследование микрофлоры урогенитального тракта мужчин методом ПЦР в режиме реального времени «Андрофлор®»

Дата  
Номер пробы  
Ф.И.О. пациента  
Пол  
Возраст  
Организация  
Врач  
Примечание  
Идентификатор образца Образец\_1

1 Июнь 2017, 9:57:15

ЛОГОТИП

Информация о лаборатории



\* Абсолютный анализ Lg(X)

\*\* Качественный анализ

## Заключение:

ОБНАРУЖЕНО: Mycoplasma genitalium, Trichomonas vaginalis. Дисбиоз смешанный.

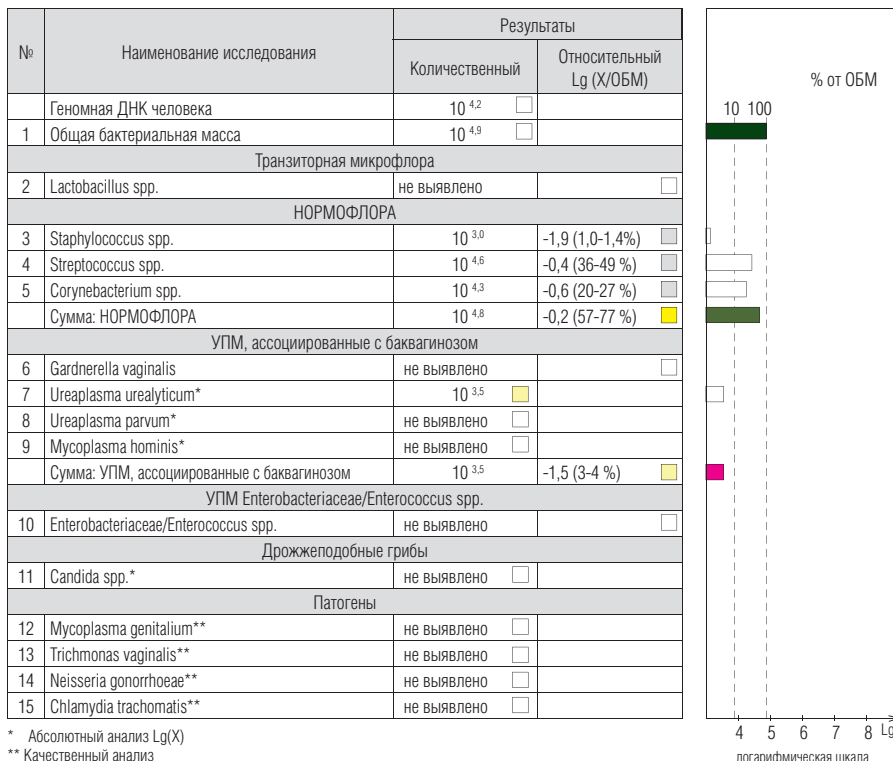
Примечание: степень дисбиоза указывается при уровне общей бактериальной массы более 10<sup>5</sup>.

# **Исследование микрофлоры урогенитального тракта мужчин методом ПЦР в режиме реального времени «Андрофлор® Скрин»**

Дата 3 Май 2017, 16:27:19  
 Номер пробирки  
 Ф.И.О. пациента  
 Пол  
 Возраст  
 Организация  
 Врач  
 Примечание  
 Идентификатор образца: Образец\_1

ЛОГОТИП

Информация о лаборатории



\* Абсолютный анализ Lg(X)

\*\* Качественный анализ

## **Заключение:**

ДИСБИОЗ неясной этиологии (общая бактериальная масса превышает сумму выделенных микроорганизмов в сочетании со снижением уровня нормофлоры). Примечание: степень дисбиоза указывается при уровне общей бактериальной массы более 10<sup>5</sup>.

## **Исследование микрофлоры урогенитального тракта мужчин методом ПЦР в режиме реального времени «Андрофлор®», «Андрофлор®Скрин»** **Описание бланка результатов**

Исследование проводится методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. С целью этиологической диагностики инфекционно-воспалительных заболеваний мочеполовой системы мужчин в анализируемом биоматериале одновременно выполняют:

- ❖ определение наличия/отсутствия патогенов: Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Mycoplasma genitalium, Trichomonas vaginalis;
- ❖ количественную оценку всех бактерий (общая бактериальная масса – ОБМ), нормофлоры и условно-патогенных микроорганизмов; Термин «УПМ, ассоциированные с баквагинозом» используют

для обозначения группы микроорганизмов, впервые выявленных у женщин. В настоящее время доказана роль этих микроорганизмов в развитии урогенитальных заболеваний у мужчин\*.

❖ количественную оценку грибов рода *Candida*.

Количественные результаты исследования представлены в геном-эквивалентах (ГЭ), значения которых пропорциональны микробной обсемененности урогенитального биотопа. Абсолютные значения ГЭ приводятся в столбце бланка «Результаты. Количественный».

Относительные показатели представлены в столбце бланка «Результаты. Относительный» в двух форматах: в виде разницы абсолютных значений каждого из показателей и ОБМ (Lg10) и в процентах (%) от ОБМ. Значения показателей в процентах (%), традиционном формате для количественных данных, приведены справочно, однако в расчетном алгоритме заключения они не используются, суммировать проценты (%) некорректно.

Для дрожжеподобных грибов и микоплазм (*Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*) выдаются только абсолютные значения.

При формировании заключения используются показатели соотношений разных микроорганизмов/групп микроорганизмов с ОБМ и между собой, которые характеризуют состояние биоценоза.

Для удобства трактовки результатов\*\* в таблице использована цветовая маркировка. В зависимости от измеряемого параметра маркеры обозначают следующее:

#### Контрольные показатели

- соответствие критериям
- не соответствие критериям



#### Нормофлора:

- соответствие критериям нормы
- умеренное отклонение от критериев нормы
- выраженное отклонение от критериев нормы

#### УПМ и дрожжеподобные грибы:

- соответствие критериям нормы
- умеренное отклонение от критериев нормы
- не выявлено
- выраженное отклонение от критериев нормы

#### Патогены:

- не выявлено
- обнаружено

Дополнительно с целью визуализации, результаты исследования представлены на гистограмме в процентном/логарифмическом форматах.

\* Horner PJ et al. 2016 European guideline on the management of non-gonococcal urethritis. *Int J STD AIDS*, 2016 Oct;27(11):928-37.

\*\* Более подробно алгоритм трактовки результатов — на <http://www.dna-technology.ru>.

**Рис. 6. Примеры выдачи результатов исследования «Андрофлор®» (А) и «Андрофлор® Скрин» (Б)**

Одно исследование микрофлоры урогенитального тракта мужчин методом ПЦР в режиме реального времени «Андрофлор®» позволяет полностью заменить комплекс методов, предлагаемых в стандартах медицинской помощи, которые утверждены Минздравом России в 2012 г., а также расширить его за счет дополнительной диагностики облигатных анаэробов.

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ

## HLA-типирование II класса

По данным ВОЗ, 10-12 % семейных пар в мире в ходе своей репродуктивной жизни сталкиваются с проблемой бесплодия. При этом примерно у 5 % причины бесплодия связаны с анатомическими, *генетическими*, эндокринологическими или иммунологическими факторами. Частота бесплодных браков в России превышает 15 %, что, по данным ВОЗ, является критическим уровнем. В стране зарегистрировано более 5 миллионов бесплодных супружеских пар. При этом 1,63 млн нуждаются во вспомогательных репродуктивных технологиях.

Важным аспектом установления причин бесплодия супружеских пар является определение иммунной составляющей, в первую очередь, влияния генов системы HLA.

**HLA (Human Leukocyte Antigen)** – это главный комплекс тканевой совместимости человека, гены иммунного ответа.

*Молекулы главного комплекса гистосовместимости I класса (A, B, C)* присутствуют на поверхности всех типов клеток, кроме эритроцитов и клеток трофобласта.

*Молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса (DP, DM, DQA, DQB, DQ, DR)* находятся на поверхности антигенпредставляющих клеток (дендритные, макрофаги, В-лимфоциты).

*Молекулы главного комплекса гистосовместимости III класса* кодируют компоненты системы комплемента, белков, присутствующих в крови.

HLA-типирование широко применяется в следующих областях медицины: определение тканевой совместимости донора и реципиента при трансплантации органов и тканей, дифференциальная диагностика и прогноз развития аутоиммунных заболеваний, диагностика причин репродуктивных нарушений неясной этиологии.

Различие супругов по вариантам генов HLA является одним из важных условий успешного наступления и вынашивания беременности. Сходство супругов между собой по вариантам генов HLA ведет к увеличению вероятности появления зародыша с двойным набором одинаковых вариантов генов, то есть HLA-гомозигот, что является неблагоприятным фактором, следствием которого могут быть репродуктивные потери. Для диагностики причин репродуктивных неудач используют HLA-типирование супругов, чтобы установить сходство между ними по вариантам генов HLA.

Кроме того, установлено, что из 60 % известных причин спонтанных аборт на долю аутоиммунного фактора приходится 20 %. Нарушение фертильности было обнаружено у больных системной красной волчанкой, ревматоидным артритом, диффузным токсическим зобом, сахарным диабетом 1 типа (СД1), эндометриозом.

Для диагностических целей наиболее часто используют HLA-типирование гена DRB1 на уровне *низкого* разрешения или на уровне 13 групп аллелей. В некоторых случаях необходимо также типирование генов HLA DQA1 и DQB1. В подавляющем большинстве случаев необходимый уровень типирования – группы аллелей: для гена DQA1 – 8 групп, для гена DQB1 – 12 групп.

## HLA DRB1-варианты и сцепленные с ними DQA1-DQB1-гаплотипы

|              |                             |                       |
|--------------|-----------------------------|-----------------------|
| DRB1*01      | DQA1*0101–*0104–*0105–*0107 | DQB1*0501             |
| DRB1*15 (02) | DQA1*0102-0103/*0103        | DQB1*0602-0602/*0601  |
| DRB1*16 (02) | DQA1*0102                   | DQB1*0502/*0504/*0505 |
| DRB1*03      | DQA1*05                     | DQB1*02               |
| DRB1*04      | DQA1*03/*04                 | DQB1*02/*03/*04       |
| DRB1*11 (05) | DQA1*0501                   | DQB1*0301             |
| DRB1*12 (05) | DQA1*0501/0601              | DQB1*0301             |
| DRB1*13 (06) | DQA1*0102–*0103/*0501       | DQB1*0602-0620/*0301  |
| DRB1*14 (06) | DQA1*0101/*0501             | DQB1*0503/*0301       |
| DRB1*07      | DQA1*0201                   | DQB1*0201/*0303       |
| DRB1*08      | DQA1*04/*06                 | DQB1*03/*04           |
| DRB1*09      | DQA1*03                     | DQB1*0303             |
| DRB1*10      | DQA1*0101                   | DQB1*0501             |

Вклад генов HLA DR в структуре репродуктивных неудач проявляется, в том числе, в хроническом невынашивании беременности на ранних сроках (DRB1\*01, DRB1\*03, DRB1\*04 и DRB1\*10) и преждевременной идиопатической недостаточности яичников (DRB1\*03, DRB1\*04).

Выявление роли HLA в структуре репродуктивных неудач супружеской пары является одним из важных шагов на пути преодоления данной проблемы.

## Диагностика мужского бесплодия: делеции локуса AZF, мутации гена CFTR

На сегодняшний день известно, что на долю мужского фактора — изолированного либо в комбинации с женским — приходится около половины всех случаев бесплодия в паре. Инфекции в этиологии мужского бесплодия отходят на второй план, ведущими являются тканевые пролиферативные реакции, аутоиммунный компонент, нейроэндокринные реакции и генетические нарушения.

Последние присутствуют в 30-50 % случаев при обнаружении олигозооспермии, азооспермии и прочих тяжелых нарушений в спермограмме (базовое исследование при бесплодном браке).

**Согласно письму МЗ РФ от 11 апреля 2003 г. № 2510/3797-03-32, для выявления генетических факторов мужского бесплодия рекомендуется генетическая диагностика.**

Наиболее частым генетическим фактором мужского бесплодия является **делеция Y-хромосомы в регионе AZF (фактор азооспермии)** (рис. 4).

У мужчин с азооспермией или олигозооспермией микроделеции могут присутствовать в трех локусах Y-хромосомы – **AZFa**, **AZFb** и **AZFc**. При нормоспермии и при концентрации сперматозоидов > 5 млн/мл данные делеции крайне редки.

*Микроделеции Y-хромосомы не определяются с помощью цитогенетического анализа, что делает обоснованным их молекулярно-генетический поиск. Европейская Академия андрологов (ЕАА) рекомендует тестировать на AZF-делеции всех мужчин с азооспермией и тяжелой олигозооспермией (< 5 млн сперматозоидов/мл эякулята).*

**Субрегион AZFa** содержит три гена – UTY, USP9Y и DBY, делеции в которых приводят к азооспермии с синдромом «только клетки Сертоли» 1 типа (отсутствие клеток сперматогенного ряда в семенных канальцах), что характерно для полной делеции локуса AZFa. *Для мужчин – носителей указанных делеций процедуры по выделению сперматозоидов хирургическим путем неэффективны.*

Следует отметить, что субрегион не содержит повторяющихся последовательностей и его делеции встречаются с низкой частотой (примерно 5 % от всех микроделеций Y-хромосомы). К STS-маркерам, достаточным для идентификации делеций AZFa, относят sY84, sY86 и sY615. Диагностически значимым является использование хотя бы двух маркеров – sY84 и sY86.

**Субрегион AZFb** содержит последовательности, которые представлены как одной копией, так и в виде высокоповторяющихся прямых и инвертированных палиндромных последовательностей. Делеции локуса AZFb встречаются примерно в 16 % всех микроделеций Y-хромосомы. *Большое клиническое значение имеет полная делеция AZFb-субрегиона, которая приводит к задержке созревания сперматозоидов в ходе сперматогенеза. Прогноз TESA в этом случае неблагоприятный.*

В указанном субрегионе картирован высококопийный ген RBMY, делеции которого выявляются у мужчин с азооспермией или тяжелой олигозооспермией. STS-маркерами данного субрегиона являются sY127 и sY134. В соответствии с указаниями European Academy of Andrology (ЕАА) и European Molecular Genetics Quality Network (ЕМQN), при потере этих маркеров наблюдаются тяжелые нарушения сперматогенеза с высоким риском синдрома «только клетки Сертоли» 1 типа.

Делеции **субрегиона AZFc** встречаются чаще всего (более 60 % всех микроделеций Y-хромосомы). Одним из главных генов в этом субрегионе является ген DAZ. Делеция **b2/b4** приводит к потере всех его копий. Для ее идентификации используют маркеры sY254, sY255, sY1291, sY1206, sY1197 и sY1125.

Гистологическая картина яичка при делеции b2/b4 может быть различной, так как блок сперматогенеза наблюдается гораздо реже, чем при делециях AZFa и AZFb. Редко обнаруживается синдром «только клетки Сертоли» 2 типа (в семенных канальцах присутствует незначительное число клеток сперматогенного ряда). Таким образом, сперматозоиды могут быть выявлены как в яичках, так и в эякуляте.

В локусе AZFc описан еще один тип Y-делеций – **gr/gr-делеция**, при которой наблюдается делеция маркера sY1291. В этом случае выпадает половина субрегиона AZFc, что приводит к изменению количества копий генов, расположенных внутри этой



области. У носителей gr/gr-делеций в семь раз повышен риск олигозооспермии и возможно развитие герминогенных опухолей яичка.

Микроделеции сразу нескольких субрегионов Y-хромосомы встречаются в 15 % случаев и практически всегда приводят к азооспермии и синдрому «только клетки Сертоли». При этом нарушения сперматогенеза в случае дистальной делеции AZFb и AZFc могут быть менее тяжелыми.

### Внимание!

Среди определяемых маркеров есть несколько групп, связанных жестким сцеплением:

- ❖ sY84, sY86,
- ❖ sY127, sY134,
- ❖ sY254 и sY255.

При выявлении генетических причин бесплодия, особенно неполных AZF-делеций, его можно преодолеть с помощью метода ИКСИ – интрацитоплазматической инъекции сперматозоида. Следует учитывать, что в случае зачатия делеции Y-хромосомы обязательно передадутся всем сыновьям мужчины, при этом размеры их микроделеций могут быть более обширными, вплоть до полной делеции. В связи с этим необходимо диспансерное наблюдение за мальчиками, рожденными в результате применения ИКСИ, для оценки их фертильного статуса.

При выявлении микроделеций локуса AZF у отца в рамках применения **вспомогательных репродуктивных технологий** рекомендуется преимплантационная генетическая диагностика и перенос эмбрионов только женского пола.

### Показания к генетическому анализу:

- ❖ обследование бесплодной пары в комплексе диагностических методов;
- ❖ выбор адекватных способов преодоления бесплодия;
- ❖ оценка вероятности выделения сперматозоидов при TESE, MESA, PESA или TESA;
- ❖ оценка риска нарушений фертильности у сыновей.

Компания «ДНК-Технология» разработала набор реагентов для определения делеций AZF, ассоциированных с мужским бесплодием. В аналитическую панель включено 13 непалиморфных маркеров, позволяющих выявлять делеции во всех локусах AZF.

Тем не менее, делеции AZF – не единственная причина генетически обусловленного мужского бесплодия. Важной составляющей являются мутации гена **CFTR** (от англ. CFTR – Cystic Fibrosis Transmembraneconductance Regulator), ассоциированного с развитием **муковисцидоза** (кистозного фиброза) – наследственного заболевания (OMIM: 219700), связанного с нарушением ионного транспорта в эпителии.

| №  | Название маркера | Локус | Результат                                                                                 |
|----|------------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | sY86             | AZFa  |  Норма   |
| 2  | sY84             | AZFa  |  Норма   |
| 3  | sY615            | AZFa  |  Норма   |
| 4  | sY127            | AZFb  |  Норма   |
| 5  | sY134            | AZFb  |  Норма   |
| 6  | sY142            | AZFb  |  Норма   |
| 7  | sY1197           | AZFc  |  Норма   |
| 8  | sY254            | AZFc  |  Делеция |
| 9  | sY255            | AZFc  |  Делеция |
| 10 | sY1291           | AZFc  |  Делеция |
| 11 | sY1125           | AZFc  |  Норма   |
| 12 | sY1206           | AZFc  |  Делеция |
| 13 | sY242            | AZFc  |  Делеция |

**Бланк выдачи результатов исследования  
«Определение делеций локусов AZF»**

В зависимости от степени повреждения белка мутации гена CFTR подразделяют на классы. К фенотипически тяжелым относят мутации I-III классов. Случаи муковисцидоза, вызванные этими мутациями, чаще имеют тяжелое течение и характеризуются ранним развитием серьезных осложнений и внешнесекреторной недостаточностью поджелудочной железы. Выявление таких мутаций может являться основанием для коррекции тактики ведения пациентов.

## Классы мутаций в гене CFTR и их фенотипические проявления (Zielenski&Tsui, 1995, Greenetal, 2010)

| КЛАСС     | СТЕПЕНЬ ПОВРЕЖДЕНИЯ БЕЛКА                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| Класс I   | <b>Синтез белка с измененной первичной структурой</b><br>Мутации гена приводят к критичному снижению числа хлорных каналов на поверхности клетки или их полному отсутствию. Это может быть обусловлено дефектом мРНК (нестабильная форма), нарушением процесса сплайсинга мРНК и/или нарушением синтеза аминокислотной последовательности белка. Последнее приводит к образованию неустойчивой структуры белка, который разрушается еще в цитоплазме клетки, или его усеченной и нефункциональной форме. Последнее связано с преждевременной терминацией трансляции стоп-кодонами | Преимущественно тяжелые   |
| Класс II  | <b>Нарушение созревания белка (формирования его вторичной и третичной структур). Белок не достигает мембраны клетки и разрушается в цитоплазме</b><br>Мутации гена CFTR приводят к формированию маленьких неполноценных каналов или их полному отсутствию на поверхности клетки из-за нарушения процессинга и транспортировки белка                                                                                                                                                                                                                                               | Преимущественно тяжелые   |
| Класс III | <b>Нарушение ответа хлорного канала на стимуляцию цАМФ</b><br>На клеточной мембране формируется нормальное количество нефункционального белка (в российской популяции практически не встречается)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Преимущественно тяжелые   |
| Класс IV  | <b>Снижение проводимости хлорного канала</b><br>Мутации гена CFTR обуславливают формирование белка с нормальным ответом на стимуляцию цАМФ, но низкой амплитудой тока ионов и более коротким временем нахождения канала в открытом состоянии                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Варьирующие/мягкие        |
| Класс V   | <b>Снижение количества функционально активного белка, нарушение транспорта белка к мембране клетки</b><br>Мутации гена CFTR приводят к снижению количества мРНК и нарушению процесса трансляции. Как следствие, формируется недостаточное количество хлорных каналов для поддержания ионного гомеостаза                                                                                                                                                                                                                                                                           | Преимущественно мягкие    |

У мужчин с муковисцидозом МВ практически всегда имеется азооспермия и бесплодие из-за двухсторонней аплазии семявыносящего протока (ОМIM: 277180 – врожденное двухстороннее отсутствие семявыносящих протоков, ВДОСП).

В некоторых случаях у мужчин наблюдается «генитальная» форма муковисцидоза, приводящая к бесплодию при практически полном отсутствии или наличии минимальных клинических проявлений муковисцидоза.

Считается, что до 70 % мужчин, которые страдают бесплодием и имеют азоосперию (отсутствие сперматозоидов в эякуляте) или олигозоосперию тяжелой степени, являются носителями мутаций в гене CFTR, при этом мутации часто выявляются только в одном аллеле.

*Клинически отсутствие семьявыносящих протоков часто не выявляется, поэтому всех пациентов с азооспермией, особенно при количестве сперматозоидов менее 1,5 млн и pH < 7, для исключения ВДОСП рекомендуется обследовать на носительство мутаций в гене CFTR.*

При генетической причине бесплодия лечение пациентов консервативными методами (гормональная терапия) неэффективно, но введение в практику методов ЭКО и ИКСИ позволило таким пациентам иметь собственных детей. При этом, учитывая высокую популяционную частоту носительства мутаций в гене CFTR, в такой ситуации значительно повышается риск рождения больных МВ детей. В связи с этим необходима генетическая диагностика носительства мутаций гена CFTR у женщины. При выявлении мутации у женщины супружеской паре необходимо планировать проведение предимплантационной или пренатальной генетической диагностики, так как имеется высокая вероятность рождения больного ребенка (25 %). Генетическая диагностика может быть рекомендована и ближайшим родственникам пациента.

*В 1997 году на конференции Национального института (США) было рекомендовано проводить тестирование на носительство мутаций в гене CFTR всем семейным парам, планирующим беременность, даже без семейной истории МВ.*

В США в 2005 году FDA рекомендовало молекулярно-диагностическое тестирование для диагностики муковисцидоза. Согласно Приказу МЗ РФ от 22.03.2006 №185 «О массовом обследовании новорожденных детей на наследственные заболевания» диагностика муковисцидоза включена в неонатальный скрининг. Приказом от 28 декабря 2012 г. № 1605н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при кистозном фиброзе (муковисцидозе)» в перечень лабораторных методов исследования введено положение об идентификации генов, ассоциированных с муковисцидозом.

### **Показания к генетическому анализу:**

- ❖ в комплексе диагностических методов для постановки или верификации диагноза МВ;
- ❖ для предимплантационной и пренатальной диагностики МВ при известных мутациях у пробанда, родителей пробанда;
- ❖ учитывая высокую частоту носительства мутаций гена CFTR, рекомендуется проводить определение носительства у родственников больных (I, II степени) и их мужа/жены при планируемой беременности;
- ❖ в составе комплекса мероприятий во время планирования беременности, особенно при кровнородственных браках;

- ❖ в комплексе диагностических методов для установления причин бесплодия у мужчины (особенно при двухсторонней или односторонней аплазии семявыносящих протоков и/или обструктивной азооспермии);
- ❖ при решении вопроса о применении вспомогательных репродуктивных технологий для преодоления бесплодия.

### Мутации гена CFTR, ассоциированные с муковисцидозом

| ГЕН                                                         | ФУНКЦИИ ГЕНА                                                           | МУТАЦИЯ        | ГЕНОТИП* | КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ                                   |
|-------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|----------------|----------|----------------------------------------------------------|
| <b>CFTR – трансмембранный регулятор ионной проводимости</b> | Кодирует белок, который функционирует как цАМФ-зависимый хлорный канал | F508del        | NN       | Без особенностей                                         |
|                                                             |                                                                        |                | Nm       | Степень повреждения белка соответствует <b>классу II</b> |
|                                                             |                                                                        |                | mm       |                                                          |
|                                                             |                                                                        | dele2,3 (21kb) | NN       | Без особенностей                                         |
|                                                             |                                                                        |                | Nm       | Степень повреждения белка соответствует <b>классу I</b>  |
|                                                             |                                                                        |                | mm       |                                                          |
|                                                             |                                                                        | 2143delT       | NN       | Без особенностей                                         |
|                                                             |                                                                        |                | Nm       | Степень повреждения белка соответствует <b>классу I</b>  |
|                                                             |                                                                        |                | mm       |                                                          |
|                                                             |                                                                        | W1282X         | NN       | Без особенностей                                         |
|                                                             |                                                                        |                | Nm       | Степень повреждения белка соответствует <b>классу I</b>  |
|                                                             |                                                                        |                | mm       |                                                          |
|                                                             |                                                                        | N1303K         | NN       | Без особенностей                                         |
|                                                             |                                                                        |                | Nm       | Степень повреждения белка соответствует <b>классу II</b> |
|                                                             |                                                                        |                | mm       |                                                          |
|                                                             |                                                                        | 3849+10kbC>T   | NN       | Без особенностей                                         |
|                                                             |                                                                        |                | Nm       | Степень повреждения белка соответствует <b>классу V</b>  |
|                                                             |                                                                        |                | mm       |                                                          |
|                                                             |                                                                        | 2184insA       | NN       | Без особенностей                                         |
|                                                             |                                                                        |                | Nm       | Степень повреждения белка соответствует <b>классу I</b>  |
|                                                             |                                                                        |                | mm       |                                                          |
|                                                             |                                                                        | G542X          | NN       | Без особенностей                                         |
|                                                             |                                                                        |                | Nm       | Степень повреждения белка соответствует <b>классу I</b>  |
|                                                             |                                                                        |                | mm       |                                                          |

\* **Примечание:** N – норма, m – мутация, NN – гомозигота (норма), mm – гомозигота (мутация), Nm – гетерозигота (мутация)

Совокупность данных, которые могут быть получены при проведении генетического тестирования на наличие у мужчины делеций AZF и мутаций гена CFTR, позволяет принять аргументированное решение по тактике ведения пациента и выбрать оптимальную схему ВРТ.

## Алгоритм генетического тестирования при нарушениях в спермограмме

| Генетическое тестирование            | Результаты спермиологического анализа                                          |                                                                                |                                                                                            |
|--------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                      | Азооспермия                                                                    | Олигозооспермия тяжелой степени (количество сперматозоидов $< 10 \cdot 10^6$ ) | Олигозооспермия умеренной степени (количество сперматозоидов $< 10\text{-}20 \cdot 10^6$ ) |
| Цитогенетический анализ              | В ходе диагностики.<br>В начале программы ВРТ                                  | В ходе диагностики.<br>В начале программы ВРТ                                  | Бесплодие в течение 1 года.<br>В начале программы ВРТ                                      |
| Поиск микроделеций AZF               | В ходе диагностики ( <b>отсутствие обструкции</b> ).<br>В начале программы ВРТ | В ходе диагностики.<br>В начале программы ВРТ                                  |                                                                                            |
| Молекулярно-генетический анализ CFTR | <b>Обструктивная азооспермия.</b><br>В начале программы ВРТ                    | В ходе диагностики.<br>В начале программы ВРТ                                  |                                                                                            |

## Диагностика женского бесплодия

Важным фактором, снижающим репродуктивный потенциал населения страны, является бесплодие в браке, которое наблюдается у 4-5 млн женщин. В стране зарегистрировано 6,5 млн женщин, страдающих бесплодием. При этом профилактика заболеваний, в том числе и заболеваний, приводящих к бесплодию, клинически эффективнее и экономически целесообразнее, чем лечение.

Кроме того, отмечается неуклонный рост частоты осложнений беременности (до 80 %) и родов (до 70 %); доля нормальных родов не превышает в среднем 33 % (2006 г.).

Проблема невынашивания беременности является одной из актуальных проблем акушерства. В настоящее время практически 20 % беременностей прерывается до срока рождения жизнеспособного плода. Не каждая беременность может быть сохранена, так как спорадические ранние потери — это проявления естественного отбора в связи с аномальным кариотипом 60 % абортусов.

Тем не менее до 40 % ранних выкидышей и до 80 % поздних выкидышей происходят с эмбрионом/плодом с нормальным кариотипом, их вполне можно предотвратить. 35 % всех беременностей протекает с угрозой прерывания на всех этапах беременности — это наиболее частая акушерская патология.

Выявление причин привычной потери беременности требует высокотехнологичных методов обследования: генетических, иммунологических, тромбофилических, эндокринных, микробиологических, вирусологических, функциональных.

Отдельного внимания требует «вклад» в структуру репродуктивных неудач и гинекологических осложнений наследственной (генетически обусловленной) тромбофилии.

## Определение полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии

**Тромбофилия** (от греч. *thrombos* – сгусток и *philia* – склонность) – состояние системы крови, проявляющееся в нарушении гемостаза и склонности к развитию рецидивирующих сосудистых тромбозов (преимущественно венозных) различной локализации и часто возникающее в связи с беременностью, после хирургического вмешательства, травмы или физического перенапряжения. В 30-50 % случаев заболевание обусловлено генетической патологией клеток крови, а также дефектами свертывающей системы крови.

### Структурно в системе гемостаза выделяют:

- ❖ *плазменное звено* (факторы свертывания и образования фибрина – гены **F2, F5, F7, F13, FGB, PAI-1**);
- ❖ *тромбоцитарное звено* (адгезия тромбоцитов к сосудистой стенке, сокращение сосудов, агрегация тромбоцитов, формирование тромба – гены **ITGA2, ITGB3**).

Функционально выделяют системы: *свертывания, противосвертывания (антикоагулянтную) и фибринолиза*.

Отдельные полиморфизмы по-разному влияют на развитие патологических состояний. Наибольшее значение имеют мутации в генах F2 и F5. Дефект коагуляционного фактора V (мутация Лейдена) передается по аутосомно-доминантному типу наследования. В результате мутации фактор V становится резистентным к воздействию активированного протеина C, что приводит к неконтролируемому тромбообразованию в венозном и артериальном русле, зонах микроциркуляции и в том числе в сосудах плаценты. Дефект фактора II свертывания также передается по аутосомно-доминантному типу наследования и обуславливает высокий риск тромбообразования. Влияние других генетических факторов менее выражено, однако сочетание нескольких полиморфизмов существенно увеличивает риск развития тромбофилических состояний.

Следует отметить, что у женщин генетически обусловленная склонность к тромбофилии чаще всего клинически проявляется именно во время беременности в виде тромбозов и акушерских осложнений, что связано с особенностями системы гемостаза при физиологически протекающей беременности. Во время беременности тенденция к стазу крови в сочетании с гиперкоагуляцией предрасполагает к развитию тромбозов и тромбоэмболий; при этом преобладают венозные тромбозы (около 80 %). Генетические факторы повышают риск тромбоэмболии у беременных в десятки раз, поэтому генетическую диагностику тромбофилии для профилактики акушерских осложнений следует проводить до наступления беременности.

Однако необходимо помнить, что генетическая предрасположенность к тромбофилии – это не диагноз, а склонность к развитию тромбозов и других ССЗ в определенных ситуациях. Для того чтобы понять, реализуется ли генетическая предрасположенность, за состоянием пациенток необходимо наблюдать с помощью рутинных лабораторных исследований.

### **Показания к генетическому анализу:**

- a. повторные тромбозы;
- d. тромбоз непонятной этиологии после 50 лет;
- b. случай тромбоза в любом возрасте при наличии семейного анамнеза;
- d. тромбозы необычной локализации (портальные, брыжеечные, мозговые вены);
- a. ситуации высокого риска:
  - массивные хирургические вмешательства;
  - беременность и послеродовой период;
  - применение гормональной контрацепции или гормональной заместительной терапии;
  - длительная иммобилизация.
- a. принадлежность к группе риска;
- b. семейный характер заболевания;
- c. раннее начало;
- d. атипично тяжелое течение;
- e. толерантность к терапии.

Кроме рассмотренных, крайне важной проблемой является назначение оральных контрацептивов и менопаузальной гормональной терапии (МГТ). Показано, что сама по себе гормональная контрацепция и МГТ незначительно повышают риск тромбозов, но при носительстве определенного генотипа опасность резко возрастает.

Согласно Национальным медицинским критериям приемлемости методов контрацепции 2012 года и четвертой редакции «Медицинских критериев приемлемости для использования методов контрацепции», разработанных ВОЗ в 2009 году, для предотвращения тромбозов и тромбоэмболических осложнений при приеме оральных контрацептивов рекомендовано выявление тромбогенных мутаций (F2 – протромбиновая мутация и F5 – фактор Лейдена).

В соответствии с Критериями, при наличии тромбогенной мутации Лейдена назначение препаратов, содержащих эстроген, противопоказано (четвертая категория критериев приемлемости). При назначении контрацепции, основанной на прогестинах, или внутриматочных средствах медьсодержащих, либо гормоносодержащих, женщины с тромбогенными мутациями (F2 и F5) «падают» во вторую категорию критериев приемлемости (прием препарата под наблюдением врача).

# Полиморфизмы генов, ассоциированных с риском развития тромбофилических состояний, их возможные проявления и лабораторный контроль

| Ген                                                 | Полиморфизм         | Белковый продукт               | Распространенность в популяции        | Лабораторный контроль                                                                                                                                                                                                                                                | Возможность проявления и риск, ОР*                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----------------------------------------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Плазменное звено гемостаза. Свертывающаяся система. |                     |                                |                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>FGB</b>                                          | <b>-455 G&gt;A</b>  | Фибриноген, beta – субъединица | Аллель A: 20–30 %, генотип AA: 5–10 % | <ul style="list-style-type: none"> <li>Определение фибриногена</li> <li>Тромбиновое время (укорочение)</li> <li>Интегральная оценка гемостаза – тромбозластограмма (гиперкоагуляционные изменения в формировании фибрин–тромбоцитарной структуры сгустка)</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Склонность к гиперфибриногемии</li> <li>Инфаркт миокарда</li> <li>Лакунарные инфаркты церебральных сосудов, OR&gt;2,6</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>F2</b>                                           | <b>20210 G&gt;A</b> | Протромбин                     | Аллель A: 1–4 %                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>ПТИ</li> <li>МНО</li> <li>Протромбиновое время</li> <li>Тромбозластограмма</li> </ul>                                                                                                                                         | <ul style="list-style-type: none"> <li>Повышение уровня протромбина в плазме</li> <li>Венозные тромбозы, OR=2,5–3,8</li> <li>Ранний инфаркт миокарда, OR5&gt;[10]</li> <li>Инфаркт миокарда у курящих, OR&gt;40</li> <li>Ишемический инсульт, OR=1,4. Для детей, OR&gt;4</li> <li>Проллапс тазовых органов</li> </ul> <p><b>При беременности:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Венозные тромбозы в III триместре и 3 месяца после родов, OR=30</li> <li>Потеря плода в первом триместре, OR=4,6</li> <li>Гипотрофия плода</li> <li>Привычное невынашивание беременности</li> </ul> |

|              |                                                        |                                                         |                                             |                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|--------------|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>F5</b>    | <b>16916 G&gt;A</b><br>(Arg506Gln,<br>мутация Лейдена) | Проакцелерин                                            | Аллель A:<br>2–6 %                          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Протеин C</li> <li>• Протеин S</li> <li>• Определение уровня антиромбина III</li> <li>• Тромбоэластограмма</li> <li>• АПТВ (активированное парциальное тромбопластиновое время)</li> </ul>    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Тромбоз вен нижних конечностей, OR=3,8–9,45</li> <li>• Риск тромбоэмболии легочной артерии, OR&gt; 18 у гомозигот AA</li> <li>• Повторные эпизоды венозной тромбоэмболии, OR=4</li> <li>• Риск тромбозов церебральных сосудов и ишемического инсульта, ангиопатии</li> <li>• Инфаркт миокарда у пациентов без выраженного коронарного стеноза, OR=2,8</li> <li>• Венозный тромбоз при приеме КОК, OR=10–15 (у гетерозигот); OR&gt;30 (у гомозигот AA)</li> </ul> <p><b>При беременности:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Привычное невынашивание беременности</li> <li>• Потеря плода на поздних сроках: во втором триместре, OR=6, в III триместре, OR=9</li> <li>• Снижение риска потери плода на протяжении всего первого триместра, OR=0,16</li> <li>• Успех подсадов зародышей при ЭКО, OR=2</li> </ul> |
| <b>F7</b>    | <b>10976 G&gt;A</b><br>(Arg353Gln)                     | Прокоинвертин                                           | Аллель A:<br>14–16 %                        | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Тромбоэластограмма</li> <li>• Определение уровня VII фактора свертывания крови</li> <li>• Активность фактора VII (при лечении антикоагулянтами непрямого действия)</li> <li>• АПТВ</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Снижение риска инфаркта миокарда, даже при наличии заметного коронарного атеросклероза, OR=0,47</li> <li>• Риск кровотечения на фоне антикоагулянтной терапии</li> <li>• Тяжелое течение гемофилии</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>F13A1</b> | <b>103(163) G&gt;T</b><br>(Val34Leu)                   | Плазменная трансглутаминаза, фибринстабилизующий фактор | Аллель T:<br>40 %<br>(гомозиготы TT: 2–3 %) | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Тромбоэластограмма</li> <li>• Определение уровня XIII фактора свертывания крови</li> <li>• Активность фактора XIII</li> <li>• АПТВ</li> </ul>                                                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Уменьшение риска венозного тромбоза, OR=0,7–0,8</li> <li>• Уменьшение риска инфаркта миокарда и инсульта в случае высокого уровня фибриногена</li> <li>• Повышение риска отсроченных кровотечений</li> <li>• Субарахноидальные кровотечения</li> </ul> <p><b>При беременности:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Привычное невынашивание беременности</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

| Плазменное звено гемостаза. Система фибринолиза                                                                                                                                                                                             |                                         |                                                                                    |                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>SERPINE1</b><br>(PAI-1)                                                                                                                                                                                                                  | <b>-675 5G&gt;4G</b>                    | Ингибитор активатора плазминогена тип 1                                            | Аллель 4G:<br>50–60 %<br>(гомозиготы<br>4G/4G: 58 %) | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Определение концентрации ингибитора активатора плазминогена</li> <li>• Активность плазминогена</li> <li>• Уровень протеина S</li> <li>• Тромбоэластограмма с пробирочной активацией фибринолиза</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Снижение фибринолитической активности крови</li> <li>• Тромбозы, OR=1,7</li> <li>• Инфаркт миокарда (при наличии ITGB3:1565C – варианта), OR=6,4 для мужчин; OR=4,5 для женщин</li> <li>• Сердечно-сосудистые заболевания, OR=1,5 для 4G/4G гомозигот</li> <li>• Венозные тромбозы при дефиците протеина S у 4G/4G</li> </ul> |
| <b>При беременности:</b>                                                                                                                                                                                                                    |                                         |                                                                                    |                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Привычное невынашивание беременности у 4G/4G</li> <li>• Преэклампсия, OR=1,62 у 4G/4G; OR=1,49 у 5G/4G</li> <li>• Снижение вероятности имплантации эмбриона при ЭКО для 4G/4G гомозигот</li> </ul> |                                         |                                                                                    |                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Тромбоцитарное звено гемостаза                                                                                                                                                                                                              |                                         |                                                                                    |                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>ITGA2</b><br>(VLA-2<br>receptor,<br>Gpla)                                                                                                                                                                                                | <b>807 C&gt;T</b><br>(F224F)            | Тромбоцитарный гликопротеин Ia                                                     | Аллель T:<br>40 %                                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Определение количества тромбоцитов</li> <li>• Тесты на агрегацию тромбоцитов</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Сердечно-сосудистые заболевания, OR=3</li> <li>• Резистентность к аспирину, OR=3,76</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>При беременности:</b>                                                                                                                                                                                                                    |                                         |                                                                                    |                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Риск потери плода на ранних сроках для TT гомозигот                                                                                                                                                                                         |                                         |                                                                                    |                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>ITGB3</b><br>(GpIIb,<br>GP3a)                                                                                                                                                                                                            | <b>1565 T&gt;C</b><br>(L33P, PIA1/PIA2) | Тромбоцитарный гликопротеин IIb <sub>3</sub> , тромбоцитарный рецептор фибриногена | Аллель C:<br>15–18 %                                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Определение количества тромбоцитов</li> <li>• Тесты на агрегацию тромбоцитов</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Инфаркт миокарда, OR=2,8–6; при наличии PAI-1; 4G – варианта; OR=6,4 для мужчин; OR=4,5 для женщин</li> <li>• Резистентность к терапии аспирином</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>При беременности:</b>                                                                                                                                                                                                                    |                                         |                                                                                    |                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ранние потери плода, OR=2,7–4,4</li> <li>• Привычное невынашивание беременности</li> </ul>                                                                                                         |                                         |                                                                                    |                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

Генетический анализ позволяет выявить полиморфизмы генов факторов и компонентов системы гемостаза, которые приводят к их аномальному синтезу или нарушению функциональной активности. Это позволяет оценить риски развития сердечно-сосудистой патологии и акушерско-гинекологических осложнений, тромбоэмболии, венозных и артериальных тромбозов.

**Скрининг генетических особенностей тромбофилии помогает на раннем этапе выявить пациенток группы риска и внести соответствующие коррективы в тактику их ведения.**

### **Определение дефектов генов ферментов фолатного цикла**

Усугубляющим фактором тромбогенных рисков, а также самостоятельным фактором патологий развития плода и репродуктивных неудач являются генетические дефекты ферментов фолатного цикла: **MTHFR, MTR и MTRR**.

Нарушения фолатного цикла приводят к накоплению гомоцистеина в клетках и повышению общего уровня гомоцистеина в плазме. Гомоцистеин обладает выраженным токсическим, атерогенным и тромбофилическим действием. Полиморфизмы генов фолатного цикла ассоциированы со следующими явлениями:

- ❖ осложнения беременности (фетоплацентарная недостаточность, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, поздний токсикоз беременных);
- ❖ дефекты развития плода (незаращение нервной трубки, анэнцефалии, деформации лицевого скелета);
- ❖ внутриутробная гибель плода, привычное невынашивание беременности;
- ❖ развитие гомоцистинурии (повторные тромбозы и тромбоэмболии, эктопия хрусталика, ранний остеопороз и множественные деформации костей);
- ❖ сердечно-сосудистые заболевания (ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, атеросклероз, атеротромбоз);
- ❖ канцерогенез (колоректальная аденома, рак молочной железы и яичника);
- ❖ усиление побочных эффектов при химиотерапии.

## Генетические полиморфизмы, ассоциированные с нарушениями фолатного цикла

| Ген                                                | Поли-морфизм          | Аллель риска, распространенность в популяции, % | Возможные проявления полиморфизма                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|----------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>MTHFR</b><br>(метилентетрагидрофолат-редуктаза) | 677C>T<br>(Ala222Val) | ТТ – 7–13 %<br>СТ – 35–40 %                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Дополнительный фактор риска тромбофилии</li> <li>• Поздний токсикоз беременных, другие осложнения беременности</li> <li>• Риск раннего выкидыша</li> <li>• Пороки развития плода</li> <li>• Риск онкологических заболеваний</li> <li>• Гомозиготы ТТ: привычное невынашивание беременности</li> </ul>          |
|                                                    | 1298 A>C<br>(E429A)   | СС – 10–11 %<br>АС – 40 %                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Повышенная потребность в фолатах</li> <li>• Пороки развития плода</li> <li>• При приеме антагонистов фолиевой кислоты в I триместре – повышенный риск пороков развития плода, особенно его нервной трубки или сердечно-сосудистых дефектов</li> <li>• Риск онкологических заболеваний</li> </ul>               |
| <b>MTR</b><br>(метионин-синтаза)                   | 2756 A>G<br>(D919G)   | GG – 2–8 %<br>AG – 35 %                         | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Гомозиготы СС: привычное невынашивание беременности</li> <li>• Гипергомоцистеинемия</li> <li>• Риск сердечно-сосудистых заболеваний</li> <li>• Акушерские формы патологии</li> <li>• Фетоплацентарная недостаточность при дефиците В12</li> <li>• Незаращение костномозгового канала, синдром Дауна</li> </ul> |
| <b>MTRR</b><br>(метионин-синтаза-редуктаза)        | 66 A>G<br>(I22M)      | GG – 28–33 %<br>AG – 50 %                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Увеличение риска рака молочной железы у носителей мутаций генов BRCA</li> <li>• Гипергомоцистеинемия</li> <li>• Риск сердечно-сосудистых заболеваний</li> <li>• Дефекты нервной трубки у плода</li> <li>• Ассоциация с низким уровнем В12 в плазме</li> </ul>                                                  |

Алиментарными факторами (недостаток фолатов в рационе) фолатдефицитных состояний и гипергомоцистеинемии являются:

- ❖ длительный прием «Метотрексата», противосудорожных средств, других лекарственных средств (антагонистов фолиевой кислоты, «Аспирина», «Бисептола»), прием оральных контрацептивов и эстрогенов;
- ❖ патологии желудка и кишечника с нарушением всасывания витамина В12;
- ❖ злокачественные образования поджелудочной железы и кишечника;
- ❖ длительно протекающие хронические инфекции;
- ❖ патологии почек.

### **Показания к генетическому анализу:**

- ❖ плановая подготовка к беременности;
- ❖ повышенный уровень гомоцистеина в крови (гипергомоцистеинемия);
- ❖ невынашивание беременности, гибель плода во II и III триместрах беременности;
- ❖ рождение плода с изолированными пороками нервной трубки, сердца или урогенитального тракта;
- ❖ антифосфолипидный синдром;
- ❖ назначение оральных контрацептивов и гормональной заместительной терапии;
- ❖ семейная предрасположенность к онкологическим заболеваниям;
- ❖ назначение химиотерапии;
- ❖ наличие ИБС, артериальной гипертензии, атеросклероза и атеротромбоза.

### **Практические рекомендации при выявлении генетических полиморфизмов, ассоциированных с нарушениями фолатного цикла:**

- ❖ Богатая фолатами диета. Высокий уровень фолиевой кислоты (витамин B9) стабилизирует измененный фермент или способствует активации альтернативных путей реметилирования. Продукты, содержащие фолиевую кислоту: темно-зеленые листовые овощи (шпинат, салат-латук, спаржа), свекла, морковь, брюссельская капуста, брокколи, томатный сок, дрожжи, печень, яичный желток, сыр, дыня, абрикосы, тыква, авокадо, бобы, цельная пшеничная и темная ржаная мука.
- ❖ При обнаружении в генетическом паспорте ребенка полиморфизмов, связанных с дефектами фолатного цикла, имеет большое значение пожизненный запрет на вегетарианскую диету и поддержка ослабленного витаминного обмена.
- ❖ Не рекомендуется злоупотребление кофе (более 5 чашек в день).
- ❖ С осторожностью применять препараты, влияющие на метаболизм фолатов. Уровень фолиевой кислоты в сыворотке крови снижает ряд препаратов: «Аспирин», «Бисептол», противосудорожные средства, эстрогены, контрацептивы и др.
- ❖ При применении КОК целесообразен профилактический прием фолиевой кислоты, витаминов B6 и B12.
- ❖ Периконцепционный (в течение 3 месяцев до и первых 3 месяцев после наступления беременности) прием 400 мкг фолиевой кислоты ежедневно. Для пациенток, несущих аллель 677T, может быть рекомендовано до 4 мг/сутки фолиевой кислоты в период подготовки и на протяжении всей беременности. Во время приема фолиевой кислоты может проявляться относительный дефицит витамина B12, поэтому назначение фолиевой кислоты необходимо сочетать с приемом витаминов B12 и B6.

- ❖ Важно обратить внимание врачей на тот факт, что у пациенток с незаподозренной гипергомоцистеинемией стандартная терапия, применяемая в стационарах и направленная на устранение проявлений гестоза, может не только оказаться малоэффективной, но и ухудшить состояние больной. Это касается таких препаратов, как «Метионин», «Эуфиллин», достаточно часто применяемых для лечения гестоза. Прием «Метионина» и «Эуфиллина» достоверно приводит к повышению уровня гомоцистеина крови, что может включить или дополнить каскад патологических реакций, приводящих к развитию генерализованной микроангиопатии и тромбофилических состояний.
- ❖ В I триместре беременности не рекомендованы ингибиторы дигидрофолатредуктазы, блокирующие фолиевую кислоту от преобразования в активную форму (например «Триметоприм», «Сульфасалазин»), и другие антагонисты фолиевой кислоты (например «Карбамазепин», «Фенитоин», вальпроевая кислота и «Хлестирамин»).

### **Дополнительные исследования:**

- ❖ определение уровня гомоцистеина,
- ❖ определение уровня фолиевой кислоты,
- ❖ определение уровня витамина В12 и метилмалоновой кислоты,
- ❖ определение активности протеина С.

Комплексный подход к выявлению генетических полиморфизмов, ассоциированных с тромбогенными рисками и дефектами фолатного цикла, обоснован и с той точки зрения, что генетические особенности родителей наследуются и оказывают влияние на развитие ребенка. В настоящее время, согласно данным российской и зарубежной литературы, генетические нарушения у плода и/или условия, создающиеся в родах и в перинатальном периоде, обуславливают высокий риск неонатального инсульта.

Результаты наблюдения детей, рожденных от матерей с мутацией Лейдена, показали, что риск неонатального инсульта выше популяционного в 8,5 раза, а при наличии у матери мутации гена протромбина — в 2,1 раза. В 68 % случаев (при генетическом тестировании 60 пар *мать—ребенок*) при наличии полиморфизма гена MTHFR C677T в гомо- или гетерозиготном состоянии у плода в сочетании с гипергомоцистеинемией у матери наблюдалось возникновение неонатального инсульта (Simchen M. J., 2009).

Совокупное влияние генетических полиморфизмов системы гемостаза и фолатного цикла на увеличение рисков развития тромбофилических состояний нашло отражение в действующей нормативной документации и стандартах оказания медицинской помощи:

- ❖ **Приказ Минздрава России от 20.12.2012 № 1273Н** «Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при привычном невынашивании беременности»  
A12.05.041. Определение полиморфизма G20210A протромбина  
A12.05.042. Определение полиморфизма C677T метилентетрагидрофолат-редуктазы
- ❖ **Приказ Минздрава России от 07.11.2012 № 588н** «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при гипоксии плода, недостаточном росте плода, других плацентарных нарушениях»  
A12.05.041. Определение полиморфизма G20210A протромбина  
A12.05.042. Определение полиморфизма C677T метилентетрагидрофолат-редуктазы
- ❖ **ПИСЬМО МЗ РФ от 27 ноября 2002 г. № 2510/11891-02-32** «Профилактика тромбоэмболии легочной артерии в акушерской практике»
- ❖ **ПРИКАЗ МЗ РФ от 21 февраля 2000 г. № 64** «Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований»  
5.2.2.10. Аномалии фактора Va Лейдена (ПЦР-анализ)  
5.2.2.11. Аномалии фактора II (ПЦР-анализ)
- ❖ **Приказ Минздрава России от 20.12.2012 N1237н** «Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи детям при гемофилии А, гемофилии В, болезни Виллебранда, редких геморрагических коагулопатиях и тромбоцитопатиях, протромботических состояниях, плановая первичная диагностика»  
A08.30.008.007 Молекулярно-генетическое исследование мутации G1691A в гене фактора V (мутация Лейдена в пятом факторе свертывания) – 0,3
- ❖ **ГОСТ Р 56377-2015 «Клинические рекомендации (протоколы лечения). Профилактика тромбоэмболических синдромов»**
- ❖ **Национальные медицинские критерии приемлемости методов контрацепции, 2012 г.**
- ❖ **Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений, 2015 г.**

# ДИАГНОСТИКА ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

## Рак молочной железы и яичников

Показатель заболеваемости женского населения РФ злокачественными новообразованиями составляет в среднем 309,8 на 100000 женщин. Первое место занимают новообразования молочной железы (19,4 %), большая доля принадлежит также опухолям тела матки (6,7 %), шейки матки (5,2 %), яичников (5,1 %).

При этом в России показатели активного выявления злокачественных новообразований абсолютно не соответствуют современным возможностям медицины и свидетельствуют о необходимости проведения специальных скрининговых программ. Показатель летальности среди больных злокачественными заболеваниями молочной железы (умерлив течение первого года с момента установления диагноза) в РФ составил 11,9 %; при раке шейки матки – 20,3 %.

В соответствии с Приказом МЗ РФ №572н **«Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «Акушерство и гинекология» от 01.11.2012:** *«Медицинская помощь женщинам с целью выявления заболеваний молочных желез оказывается врачом – акушером-гинекологом, прошедшим тематическое усовершенствование по патологии молочной железы (маммологии)... Женщины с выявленными кистозными и узловыми изменениями молочных желёз направляются в онкологический диспансер для верификации диагноза. После исключения злокачественных новообразований женщины с доброкачественными заболеваниями молочных желез находятся под диспансерным наблюдением врача – акушера-гинеколога...».*

Таким образом, скрининговые программы, нацеленные на профилактику и выявление заболеваний молочной железы на ранних стадиях, с возможностью высокоспецифичной дифференциальной диагностики патологического состояния являются приоритетной задачей в акушерстве и гинекологии.

Значительное число случаев онкологических заболеваний являются наследственными и связаны с носительством мутаций в определенных генах, полученных от одного из родителей. Носительство онкогенных мутаций широко распространено и регистрируется у 1–2 % людей в любых популяциях.

Наследуемые мутации характеризуются по частоте встречаемости в популяции в целом, а также по степени их пенетрантности. Пенетрантность отражает вероятность того, что у носителя данного генетического маркера разовьется заболевание, в данном случае – онкологическое. Чем выше пенетрантность, тем выше вероятность.

- ❖ Мутации **первого класса** встречаются редко среди населения в целом, но имеют высокую пенетрантность. Пример: мутации генов BRCA1 и BRCA2 при раке молочной железы (РМЖ) и/или яичников. Примерно 50–70 % наследственных случаев такого рака обусловлены мутациями в одном из этих генов (чаще – BRCA1).
- ❖ **Второй класс** наследственных онкогенных мутаций имеет средний риск развития заболевания, эти мутации также достаточно редко встречаются в общей популяции.
- ❖ **Третий класс** – мутации низкого риска, широко распространенные в популяции. Клиническая значимость выявления данного класса мутаций во многом определяется наличием дополнительных факторов риска.

### Гены предрасположенности к РМЖ

| ПЕНЕТРАНТНОСТЬ     | УВЕЛИЧЕНИЕ РИСКА | ГЕНЫ                            |
|--------------------|------------------|---------------------------------|
| Высокопенетрантные | В 5–20 раз       | BRCA1, BRCA2                    |
| Среднепенетрантные | В 1,5–5 раз      | CHEK2, ATM, PALB2, NBN, RECQL3  |
| Низкопенетрантные  | До 1,5 раза      | ESR1, FGFR2, TOX3, LSP1, MAP3K1 |

Известно, что 5–10 % случаев рака молочной железы и рака яичников являются наследственными и их развитие может быть связано с мутациями в генах **BRCA1** и **BRCA2**, оба гена увеличивают риск развития РМЖ у женщин к 80 годам на 80–85 %.

Гены BRCA1 и BRCA2 кодируют белки, участвующие в регуляции репарации ДНК и поддержании таким образом целостности генома. Семьи, несущие мутации генов BRCA1 и BRCA2, проявляют аутосомно-доминантное наследование новообразований.

Было показано, что BRCA1-ассоциированный рак молочной железы в отличие от спорадического характеризуется более высокой степенью злокачественности, высокой частотой развития эстроген- и прогестеронотрицательных опухолей, частотой развития медуллярного рака, выраженной лимфоидной инфильтрацией, выраженным лечебным патоморфозом вплоть до полной регрессии.

Установлено, что выживаемость больных наследственным раком органов женской репродуктивной системы значительно выше, чем в общей группе больных, независимо от стадии и проводимого лечения: 5-летняя выживаемость больных наследственным раком молочной железы составляет 75 % (при прочих формах рака – 43 %).

Гены BRCA1 и BRCA2 не являются строго специфичными для РМЖ. Патологический генотип BRCA1/2 повышает риск возникновения рака яичников (ПЯ), желудка, толстой кишки, поджелудочной железы, мочевого пузыря, опухолей головы и шеи, эндометрия, желчевыводящих путей, а также возникновения меланомы.

Компанией «ДНК-Технология» совместно с РОНЦ им. Н. Н. Блохина была проведена работа по определению частоты встречаемости одиннадцати описанных в литературе мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 в неотобранной выборке больных РМЖ в российской популяции на выборке из 1091 человека.

По результатам проведенного исследования был разработан набор реагентов для определения полиморфизмов, ассоциированных с риском развития рака молочной железы, методом ПЦР в режиме реального времени.

### Генетические полиморфизмы, ассоциированные с риском развития РМЖ

| Ген   | Полиморфизм (мутация) | Аллель риска | Частота встречаемости | Оценка риска при различных генотипах                   |
|-------|-----------------------|--------------|-----------------------|--------------------------------------------------------|
| BRCA1 | 185delAG              | delAG        | 0,1 %                 | Ins/Ins – популяционный риск<br>Ins/Del – высокий риск |
|       | 4153delA              | delA         | 0,7 %                 | Ins/Ins – популяционный риск<br>Ins/Del – высокий риск |
|       | 5382insC              | insC         | 4,0 %                 | Del/Del – популяционный риск<br>Del/Ins – высокий риск |
|       | 3819delGTAAA          | delGTAAA     | 0,2 %                 | Ins/Ins – популяционный риск<br>Ins/Del – высокий риск |
|       | 3875delGTCT           | delGTCT      | 0,1 %                 | Ins/Ins – популяционный риск<br>Ins/Del – высокий риск |
|       | 300T>G (Cys61Gly)     | G            | 0,4 %                 | TT – популяционный риск<br>TG – высокий риск           |
|       | 2080delA              | delA         | 0,2 %                 | Ins/Ins – популяционный риск<br>Ins/Del – высокий риск |
| BRCA2 | 6174delT              | delT         | 0,2 %                 | Ins/Ins – популяционный риск<br>Ins/Del – высокий риск |

Важным аспектом внедрения скрининговых программ по выявлению носителей мутаций генов BRCA1 и BRCA2 в практику акушеров-гинекологов является тот факт, что РМЖ встречается у беременных женщин в возрасте 32–38 лет с частотой 1 случай на 3000 беременностей. При этом ранняя диагностика опухоли молочных желез у беременных женщин либо женщин, кормящих грудью, затруднена по причине физиологических изменений в ткани молочных желез (нагрубания и увеличения в размере). Поэтому у беременных женщин опухоль молочных желез выявляется часто на поздней стадии и характеризуется неблагоприятным прогнозом. В то же время, частота выявления опухолей яичников у беременных составляет 0,076–1,14 %. В этих случаях встает вопрос о целесообразности операции во время беременности, что сопряжено с высоким риском ее прерывания.

Необходимо учитывать не только прогностическую значимость теста, но и тот факт, что для носителей мутаций генов BRCA, ассоциированных с РМЖ и РЯ, установлена определенная чувствительность к ряду препаратов:

- ❖ не чувствительны к таксанам,
- ❖ высокочувствительны к антрациклам и «Цисплатину».

### **Показания к молекулярно-генетическому тестированию:**

- ❖ онкологически отягощенный семейный анамнез (два случая и более РМЖ/РЯ в семье у родственников I–II степени родства, РМЖ в возрасте до 50 лет, РЯ в любом возрасте, двусторонний РМЖ, РМЖ у мужчин);
- ❖ РМЖ в молодом возрасте (до 45 лет, а при отсутствии возможности собрать информативный семейный анамнез – до 50 лет);
- ❖ двусторонний (синхронный, метахронный) РМЖ;
- ❖ первично-множественные злокачественные новообразования, в том числе сочетание РМЖ и РЯ;
- ❖ морфологические особенности РМЖ: трижды негативный (опухоли ER–, PR–, HER2/neu–) и медуллярный РМЖ;
- ❖ рак яичников, рак фаллопиевых труб, метастатическое поражение брюшины в любом возрасте;
- ❖ рак молочной железы у мужчин в личном и семейном анамнезе;
- ❖ этническая принадлежность (ашкеназские евреи).

Образец выдачи результата исследования представлен в виде выявленного генотипа пациента по исследуемым показателям и сопровождается комментарием.

| № | Наименование исследования                                                    | Генотип | Характеристика   |
|---|------------------------------------------------------------------------------|---------|------------------|
| 1 | BRCA1:185delAG<br>(ген, ассоциированный с раком молочной железы 1)           | Ins/Ins | норма            |
| 2 | BRCA1:4153delA<br>(ген, ассоциированный с раком молочной железы 1)           | Ins/Ins | норма            |
| 3 | BRCA1:5382insC<br>(ген, ассоциированный с раком молочной железы 1)           | Del/Del | норма            |
| 4 | BRCA1:3819delGTAAA<br>(ген, ассоциированный с раком молочной железы 1)       | Ins/Del | требует внимания |
| 5 | BRCA1:3875delGTCT<br>(ген, ассоциированный с раком молочной железы 1)        | Ins/Ins | норма            |
| 6 | BRCA1:300 T>G (Cys61GLy)<br>(ген, ассоциированный с раком молочной железы 1) | T/T     | норма            |
| 7 | BRCA1:2080delA<br>(ген, ассоциированный с раком молочной железы 1)           | Ins/Ins | норма            |
| 8 | BRCA2:6174delT<br>(ген, ассоциированный с раком молочной железы 2)           | Ins/Ins | норма            |

**Заключение:**

Обнаружена делеция 3819delGTAAA в гене BRCA1 в гетерозиготном состоянии.

Мутации в гене BRCA1 (185delAG, 4153delA, 5382insC, 3875delGTCT, 300 T>G (Cys61GLy), 2080delA), BRCA2 (6174delT) не обнаружены.

Необходимо обратиться к врачу — маммологу-онкологу или в специализированные онкологические центры для выбора индивидуальной схемы наблюдения и лечения.

**Бланк выдачи результатов исследования  
«Определение мутаций в генах BRCA1, BRCA2»**

При обнаружении мутаций в генах BRCA1 или BRCA2 при РМЖ и/или РЯ врачу рекомендуется:

- ❖ рассмотреть возможность проведения контралатеральной мастэктомии и двусторонней сальпингоооариэктомии;
- ❖ учитывать возможность использования специализированных препаратов для таргетной терапии при РМЖ и РЯ (PARP-ингибиторов: «Олапариба», «Велипариба» и других);
- ❖ обсудить возможность проведения генетического тестирования с целью выявления герминальной мутации в гене BRCA1 или BRCA2 у совершеннолетних родственников I степени родства.

Выявление отсутствия мутаций генов BRCA1 и BRCA2 не исключает возможности развития генетически обусловленного рака молочной железы и других онкопатологий, ассоциированных с генетическими нарушениями. В связи с этим пациентам, попадающим в группу риска, целесообразно рекомендовать второй этап генетического тестирования для выявления средненепенетрантных генов предрасположенности к РМЖ.

**Ген CHEK2** (от англ. *Cellcyclecheckpointkinase 2*) кодирует синтез белкового регулятора контрольной точки клеточного цикла 2, которая участвует в процессах репарации ДНК и контроле процессов деления клеток. Мутации в гене относятся ко второму классу мутаций в генах, которые участвуют в процессах репликации, транскрипции, рекомбинации и репарации ДНК, кодируют разнообразные ферменты (например полимеразы, геликазы, топоизомеразы и др.) и белки, регулирующие клеточный цикл. Дефекты в таких генах приводят к хромосомной нестабильности и, соответственно, могут приводить к разным онкологическим заболеваниям.

*Клиническое значение выявления мутаций гена CHEK2 не ниже, чем у генов BRCA1 и BRCA2, особенно в случае семейных случаев онкологических заболеваний.* Исследование ряда мутаций в данных генах рекомендуется как тест второй линии при получении негативного результата на носительство мутаций генов BRCA1 и BRCA2. Кроме того, описаны наследственные синдромы, основной характеристикой которых является предрасположенность к хромосомной нестабильности. Для некоторых таких синдромов доказана ассоциация с гетерозиготным носительством мутаций гена CHEK2.

В гене CHEK2 наиболее значимы три мутации: 1100delC, IVS2+1G>A и 470T>C (Ile157Thr).

**Мутация 1100delC** в гене CHEK2 распространена во многих странах. Частота мутантного аллеля составляет 1,1–1,4 % в европейской популяции. Было показано, что мутация 1100delC ассоциирована с раком молочной железы. Согласно крупномасштабным исследованиям Международного консорциума *Breast Cancer Case-Control*, включающим более 10000 пациенток с раком молочной железы и 9000 здоровых женщин из пяти стран, отношение рисков для носителей мутации 1100delC в гене CHEK2 составляло 2,34.

Помимо четкой ассоциации с развитием рака молочной железы показано, что мутация 1100delC ассоциирована с раком предстательной железы.

**Мутация IVS2+1G>A** гена CHEK2 – более редкая по сравнению с 1100delC и приводит к образованию нефункционального белка. Ассоциирована с возникновением онкологической патологии различной локализации, в первую очередь рака молочной железы. Чаще встречается у жителей Восточной Европы и Северной Америки. На большой выборке восточноевропейской популяции (около 2000 пациентов) была установлена четкая ассоциация аллеля IVS2+1G>A с развитием рака предстательной железы.

**Миссенс-мутация 470T>C (Ile157Thr)** в гене CHEK2 ассоциирована с синдромом Ли – Фраумени, раком молочной и предстательной желез, раком ободочной и прямой кишки, как спорадическим, так семейным. Эта мутация чаще, чем 1100delC и IVS2+1G>A, встречается в популяции (с частотой 4-5 %). В среднем наличие мутации Ile157Thr в гене CHEK2 повышает риск развития РМЖ в меньшей степени, чем носительство других мутаций CHEK2.

Образец выдачи результата исследования

| № | Наименование исследования                                                | Генотип | Характеристика     |
|---|--------------------------------------------------------------------------|---------|--------------------|
| 1 | CHEK2:1100delC<br>(киназа контрольной точки клеточного цикла 2)          | Ins/Ins | норма              |
| 2 | CHEK2:IVS2+1G>A<br>(киназа контрольной точки клеточного цикла 2)         | G/G     | норма              |
| 3 | CHEK2:470T>C(Ile157Thr)<br>(киназа контрольной точки клеточного цикла 2) | T/C     | требуется внимания |

**Заключение:**

Обнаружена замена 470T>C(Ile157Thr) в гене CHEK2 в гетерозиготном состоянии.

Мутация в гене CHEK2 (1100delC, IVS2+1G>A) не обнаружена.

Рекомендуется консультация врача-генетика и врача-онколога.

**Показания к генетическому тестированию:**

- ❖ семейный анамнез (рак молочной железы, рак простаты или колоректальный рак в первой линии родства);
- ❖ один родственник или более с тем же типом опухоли;
- ❖ атипические пролиферативные заболевания молочной железы;
- ❖ множественные первичные опухоли в том же органе;
- ❖ множественные первичные опухоли в различных органах;
- ❖ множественные первичные опухоли в парных органах;
- ❖ мультифокальность внутри одного органа;
- ❖ проявление опухоли в раннем возрасте;
- ❖ два родственника и более с редкими формами рака;
- ❖ два родственника или более с опухолью, относящейся к семейному раку;
- ❖ три родственника или более в двух поколениях с опухолями одной локализации;
- ❖ негативный результат тестирования на мутации генов BRCA1 и BRCA2.

В настоящее время порядок обследования на генетически обусловленный рак молочной железы регламентирован следующими документами:

- ❖ Рекомендации по здоровому образу жизни. Методическое пособие для терапевтов и врачей общей практики (утв. Минздравсоцразвития РФ 29.12.2006), пп. 3.2. *Онкологическая настороженность.*
- ❖ МР 2.2.9.0012-10. Модель региональной программы первичной профилактики рака. Методические рекомендации (утв. Роспотребнадзором 08.10.2010), пп. 4.1. *Группы повышенного онкологического риска.*
- ❖ Клинические аспекты применения BRCA-тестирования приведены в издании: Медико-генетическое консультирование и ДНК-диагностика при наследственной предрасположенности к раку молочной железы и яичников: Пособие для врачей. ФГБНУ «Российский онкологический научный центр имени Н. Н. Блохина», 2014.
- ❖ Клинические рекомендации по диагностике и лечению больных раком молочной железы». Общероссийский союз общественных объединений «Ассоциация онкологов России», 2014 г.
- ❖ «Клинические рекомендации по диагностике и лечению больных раком яичников, маточной трубы или первичным раком брюшины». Общероссийский союз общественных объединений «Ассоциация онкологов России», 2014 г.
- ❖ «Клинические рекомендации РООМ по профилактике РМЖ, дифференциальной диагностике, лечению, предопухолевых и доброкачественных заболеваний молочных желез», 2015 г.
- ❖ «Рекомендации по органосохраняющему лечению рака молочной железы» РООМ, 2015 г.
- ❖ «Клинические рекомендации РООМ по скринингу РМЖ», 2015 г.
- ❖ «Рекомендации РООМ по диагностике и лечению наследственного РМЖ» 2014 г.
- ❖ «Рак молочной железы и беременность». Клинические рекомендации РООМ, 2015 г.

### **Рак шейки матки**

Важным аспектом в диагностике злокачественных опухолей репродуктивной системы является своевременное выявление факторов развития рака шейки матки (РШМ). Это заболевание находится на втором месте по распространенности (после рака молочной железы) и составляет около 14 % от всех злокачественных опухолей у женщин.

На территории Российской Федерации отмечается высокий уровень запущенных стадий рака шейки матки – более чем 40 % всех выявленных случаев. Ежегодно в России от РШМ умирают более 6 000 женщин. В возрастной группе 16–40 лет РШМ является второй по значимости причиной смертности больных злокачественными новообразованиями после рака молочной железы.

Работы Георгиоса Папаниколау (Γεώργιος Παπανικολάου) показали, что с помощью цитологического исследования мазков (ПАП-мазок, PAP Smear Test), взя-

тых из шейки матки и шеечного канала, можно выявить стадию предрака (дисплазию) и начальные стадии рака шейки матки. В 40-х годах XX века были впервые сформулированы теоретические основы цитологического скрининга РШМ.

**Рак шейки матки (РШМ) – практически единственное онкологическое заболевание, полностью удовлетворяющее всем рекомендованным ВОЗ условиям для проведения популяционного скрининга.**

Многочисленные исследования показали, что доля охвата скринингом женского населения имеет приоритетное значение для сокращения числа смертельных исходов от РШМ. К сожалению, сегодня ни одна страна не может обеспечить 100 %-й цитологический скрининг. По мнению экспертов ВОЗ (Csaky-Szunyogh M., 2014), стратегия цитологического скрининга РШМ должна основываться на **наиболее рациональном размещении имеющихся всегда ограниченных ресурсов** для достижения максимальной эффективности скрининга.

На сегодняшний день установлено, что этиологическим агентом РШМ является папилломавирусная инфекция. Показано, что ДНК вируса папилломы человека (ВПЧ) выявляется более чем в 99,5 % всех биоптатов у пациенток с раком шейки матки.

Известно более 120 типов ВПЧ, из них около 30 могут инфицировать эпителий уrogenитального тракта. По способности вызывать злокачественные перерождения эпителия их делят на две группы: **высокого и низкого онкогенного риска.**

К группе высокого онкогенного риска относят следующие типы ВПЧ: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82. При этом тип 16 является наиболее распространенным в Европе и выявляется более чем в 50 % всех случаев РШМ.

Таким образом, рак шейки матки – один из немногих видов злокачественных новообразований с установленной этиологией заболевания.

Это открытие позволило совершенно по-новому подойти к проблеме скрининга РШМ. Генетический материал вируса – прекрасная мишень для лабораторной диагностики, что позволило использовать для скрининга современные молекулярно-генетические методы. Главные достоинства этих методов: объективность, технологичность и финансовая доступность. Именно использование молекулярно-генетических методов позволяет обеспечить главное условие эффективного скрининга РШМ – максимальный охват населения. Соответственно, для целей скрининга тест-система должна выявлять максимальное количество наиболее распространенных в обследуемой популяции высокоонкогенных типов ВПЧ.

Большое количество исследований, проведенных в разных странах, показало, что молекулярно-генетические методы обладают более высокой клинической чувствительностью, тогда как цитологический метод характеризуется высокой клинической специфичностью при выявлении неопластических изменений (Czeizel A. E., 2009). Это означает, что использование молекулярно-генетического метода при скрининге выявляет больше женщин с признаками неопластической трансформации (меньше вероят-

ность «пропустить» рак), но количество ложноположительных результатов скрининга (здоровые женщины, ошибочно включенные в группу риска) будет выше, чем при использовании цитологического метода. **При этом скрининг на основе выявления ВПЧ эффективнее на 60–70 % и обеспечивает 5-летнюю «защиту» от РШМ по сравнению с цитологическим скринингом.**

Жидкостная цитология имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционными методами цитологического исследования. Хотя это дорогостоящая технология, которая требует передовых методов и высококвалифицированных специалистов, но даже при использовании жидкостной цитологии диагностическая чувствительность цитологического исследования ниже, чем при ВПЧ-скрининге.

По рекомендациям ВОЗ, ключевым вопросом для **выбора стратегии скрининга РШМ** является наличие ресурсов для ВПЧ-тестирования (Comprehensive cervical cancer control. A guide to essential practice. Second edition. /World Health Organization, 2014). В качестве приоритетных рассматриваются две возможные стратегии:

- ❖ ВПЧ-тест, затем проба с уксусной кислотой;
- ❖ ВПЧ-тест, затем кольпоскопия.

Обе эти стратегии соответствуют концепции **двухэтапного скрининга**. Опыт многолетних наблюдений за 176 464 женщинами в возрасте 20–64 лет из Швеции (Swedescreen), Нидерландов (POBASCAM), Англии (ARTISTIC) и Италии (NTCC) однозначно показал, что наиболее эффективным является **использование молекулярно-генетических методов в качестве первого этапа скрининга** (Czeizel A. E., 2009). При этом все **ВПЧ-положительные пациентки обязательно нуждаются в дополнительном (цитологическом или ином) исследовании** для выбора тактики дальнейшего наблюдения и, при необходимости, лечения. **Все ВПЧ-отрицательные пациентки не нуждаются в дальнейшем обследовании в течение последующих 5 лет**, что позволяет на 80–90 % освободить цитологическую лабораторию от ненужной работы.

Особо отмечается, что проведение т.н. «одномоментного» скрининга, когда всем пациенткам сразу проводится и молекулярно-генетическое, и цитологическое исследование, нецелесообразно, поскольку не улучшает «защиту» от РШМ по сравнению только с ВПЧ-исследованием, но существенно перегружает цитологическую лабораторию бессмысленной работой.

При отсутствии ресурсов для проведения ВПЧ-скрининга ВОЗ рекомендует стратегию: цитология, затем кольпоскопия (Comprehensive cervical cancer control. A guide to essential practice. Second edition. /World Health Organization, 2014). Важно отметить, что при выборе в качестве первичного скрининга цитологического метода ВПЧ-тест вообще не используется.

Выявление ВПЧ с использованием метода ПЦР также позволяет определять вирусную нагрузку.

Существенным преимуществом подхода, предлагаемого компанией «ДНК-Технология», является возможность **одновременной реализации качественного и количественного мультиплексного анализа.**

Количественное определение ДНК ВПЧ представлено двумя типами анализа: **абсолютным и относительным.**

При абсолютном типе анализа после прохождения амплификации автоматически рассчитывается количество копий ДНК вируса в образце. При относительном типе анализа используется подход нормализации количества ДНК вируса по отношению к количеству геномной ДНК человека.

| № | Наименование исследования  | Результаты                 |                                |              |
|---|----------------------------|----------------------------|--------------------------------|--------------|
|   |                            | Относительный, Lg (X/КВМ)* | Абсолютный, Lg (копий/образец) | Качественный |
| 1 | HPV 16, 31, 33, 35, 52, 58 | 6,5                        | 6,5                            |              |
| 2 | HPV 56                     | не выявлено                | не выявлено                    |              |
| 3 | HPV 18, 39, 45, 59         | не выявлено                | не выявлено                    |              |
| 4 | HPV 6, 11                  | не выявлено                | не выявлено                    |              |
| 5 | HPV 51                     | не выявлено                | не выявлено                    |              |
| 6 | HPV 68                     | 4,1                        | 3,1                            |              |
| 7 | КВМ                        |                            | 4,0                            |              |
| 8 | Суммарная нагрузка HPV     | 6,5                        | 6,5                            |              |

\* Копий ДНК ВПЧ на  $10^5$  клеток

### Бланк выдачи результатов исследования «Квант-15»

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Коллектив авторов выражает благодарность за проявленный интерес и надеется, что инновационные методики, выполняемые методом ПЦР в реальном времени, окажут помощь акушерам-гинекологам и врачам смежных специальностей в решении широкого круга практических задач, способствуя повышению информативности диагностики, эффективности лечения и качества жизни пациентов.

Существенным аспектом, побуждающим к активному внедрению современных методов исследования, должен стать курс здравоохранения на модернизацию, экономическую оценку новых медицинских технологий и импортозамещение. В этой связи описанные в пособии методики ПЦР в реальном времени крайне актуальны, поскольку являются полностью российским изобретением, обладают оптимальным соотношением клинико-экономических показателей, способствуют снижению затрат. Замена малоинформативных устаревших технологий на новые позволит сокращать время обследования пациента, осуществлять первичную и вторичную профилактику заболеваний, будет способствовать решению демографических проблем и улучшению имиджа российской медицины.

*С искренним уважением  
и благодарностью за долговременное  
и плодотворное сотрудничество,  
коллектив компании «ДНК-Технология»*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андосова Л. Д., Конторщикова К. Н., Куделькина С. Ю. Характеристика биоценозов урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста с применением теста «ФЕМОФЛОР» // Медицинский альманах. — 2010. — № 4. — С. 177-179.
2. Андосова Л. Д., Белов А. В., Куделькина С. Ю., Михалева О. В. Новый подход к исследованию биоценоза урогенитального тракта у женщин с инфекционно-воспалительными поцессами репродуктивной сферы // Уральский медицинский журнал. — 2011. — № 3. — С. 19-21.
3. Андосова Л. Д. Исследование биоценозов урогенитального тракта у женщин с патологией шейки матки // Уральский медицинский журнал. — 2011. — № 3. — С. 22-25.
4. Андосова Л. Д., Конторщикова К. Н., Михалева О. В., Куделькина С. Ю., Блатова О. Л., Кузнецова И. А. Исследование биоценозов урогенитального тракта у женщин с патологией шейки матки с использованием метода полимеразной цепной реакции в реальном масштабе времени // Современные технологии в медицине. — 2011. — № 4. — С. 113-116.
5. Андосова Л. Д., Качалина О. В., Белов А. В., Куделькина С. Ю. Изменения вагинальной микробиоты у женщин с заболеваниями шейки матки // Казанский медицинский журнал. — 2012. — Т. 93. — № 1. — С. 76-79.
6. Андосова Л. Д., Конторщикова К. Н., Качалина О. В., Белов А. В., Гонова Е. С., Куделькина С. Ю. Характеристика биоценозов урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста // Клиническая лабораторная диагностика. — 2013. — № 1 — С. 51-53.
7. Батенева Е. И. Частота одиннадцати мутаций генов BRCA1 и BRCA2 в неотобранной выборке больных раком молочной железы россиянок // Уральский медицинский журнал. — 2011. — № 3. — С. 69-73.
8. Башмакова Н. В., Погорелко Д. В., Тарасова М. Н., Брусницина В. Ю. Влияние метода кавитационного орошения полости матки на состояние микробиоты половых путей у женщин с регрессирующей беременностью // Уральский медицинский журнал. — 2012. — № 11. — С. 16.
9. Билимова С. И., Чистякова Г. Н., Ремизова И. И. Комплексная оценка вагинальной микробиоты методом ПЦР в режиме реального времени // Уральский медицинский журнал. — 2010. — № 5. — С. 135-138.
10. Болдырева М. Н., Липова Е. В., Алексеев Л. П., Витвицкая Ю. Г., Гуськова И. А. Характеристика биоты урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста методом ПЦР в реальном времени // Журнал акушерства и женских болезней. — 2009. — Т. LVIII. — № 6 — С. 36-42.
11. Болдырева М. Н., Липова Е. В., Витвицкая Ю. Г. Урогенитальные инфекции у женщин, обусловленные условно-патогенной биотой: способы выявления и коррекция // Вестник дерматологии и венерологии. — 2010. — № 2. — С. 26-31.
12. Бочков Н. П. Клиническая генетика. 2 изд., перераб. и доп. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. — 448 с.
13. Буданов П. В., Мусаев З. М., Асланов А. Г., Чурганова А. А. Эффективная борьба с патогенными биопленками: восстановление нормоценоза влагалища // Гинекология. — 2013. — Т. 15. — № 5. — С. 88-91.
14. Воронин К. В., Бен С. Н., Чуйко В. И., Демченко Т. В., Кривой В. А. Прогнозирование акушерских осложнений у беременных с бактериальным вагинозом с учетом характеристики микробного спектра влагалищного содержимого // Медико-социальные проблемы семьи. — 2012. — Т. 17. — № 3-4. — С. 23-25.

15. Воронин К. В., Алале А. М., Алале И. И., Дзюба Ю. Н. Стратегия диагностики и коррекции влагалищного дисбиоза в плане подготовки беременной к плановому кесареву сечению и профилактике послеродового эндометрита // Медичні перспективи. – 2013. – Т. XVIII. – № 4. – С. 24-32.
16. Воронцова А. В., Звычайный М. А. Состояние биоценоза влагалища при применении микронизированного прогестерона // Акушерство и гинекология. – 2011. – № 7-1. – С. 70-72.
17. Ворошилина Е. С., Плотко Е. Э., Хаютин Л. В. Применение молекулярных методов диагностики для профилактики инфекционной патологии у беременных женщин // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2009. – № 4 (27). – С. 114-116.
18. Ворошилина Е. С., Тумбинская Л. В., Донников А. Е., Плотко Е. Э., Хаютин Л. В. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: состояние во время беременности // Уральский медицинский журнал – 2010 – № 3. – С. 103-107.
19. Ворошилина Е. С., Тумбинская Л. В., Донников А. Е., Плотко Е. Э., Хаютин Л. В. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: изменения и коррекция во время беременности // Уральский медицинский журнал. – 2010. – № 3. – С. 108-111.
20. Ворошилина Е. С., Ежова С. А., Плотко Е. Э., Тумбинская Л. В., Донников А. Е., Хаютин Л. В. ВИЧ-инфекция, репродуктивный выбор и состояние биоценоза влагалища у беременных в I триместре // Уральский медицинский журнал. – 2010. – № 5. – С. 160-165.
21. Ворошилина Е. С., Гончарова Е. В., Тумбинская Л. В. Роль различных видов лактобактерий в формировании биоценоза влагалища у женщин с сохранной нормофлорой // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2011. – № 1 (33). – С. 99-103.
22. Ворошилина Е. С., Тумбинская Л. В., Донников А. Е., Плотко Е. Э., Хаютин Л. В. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной полимеразной цепной реакции: что есть норма? // Акушерство и гинекология. – 2011. – № 1. – С. 57-65.
23. Ворошилина Е. С., Тумбинская Л. В., Ежова С. А., Хаютин Л. В., Плотко Е. Э. Характеристика биоценоза влагалища ВИЧ-инфицированных беременных // Уральский медицинский журнал. – 2011. – № 3. – С. 64-68.
24. Гомболевская Н. А., Марченко Л. А. Современные критерии диагностики хронического эндометрита (обзор литературы) // Проблемы репродукции. – 2012. – № 1. – С. 42-46.
25. Давыдов М. И., Аксель Е. М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2007 году // Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. – 2009. – Т. 20. – № 3 (прил. 1). – С. 158.
26. Диагностика и лечение урогенитальных инфекций в акушерстве и гинекологии: Учебное пособие для врачей / Сост. И. Б. Манухин, Т. П. Захарова, С. В. Фириченко, О. А. Паевская. – М., 2013. – 96 с.
27. Дмитриева Т. Т., Курбанова Ж. А., Яцук И. Г., Мишина С. В., Родохлеб Е. А., Писарева В. В. Применение тест-системы «ФЕМОФЛОР-16» для выявления дисбиоза влагалища // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2012. – Т. 1-2. – № 47-48. – С. 183-185.
28. Донников А. Е., Тумбинская Л. В., Ворошилина Е. С., Муллабаева С. М., Меджидова М. К., Касабулатов Н. М. Качественный и количественный состав микробиоценоза влагалища беременных женщин // Четвертый международный конгресс по репродуктивной медицине: Материалы конгресса. 18-21 января. – М., 2010. – С. 67-68.
29. Дурпалова К. М., Омаров Н. С. М. Бальнеотерапия хлоридно-сульфатно-натриевыми водами в лечении многорожавших женщин с бактериальным вагинозом // Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – Т. 16. – № 4. – С. 126-128.
30. Дурпалова К. М., Омаров Н. С. М., Нурмагомедова С. С. Перинатальные исходы у многорожавших женщин с бактериальным вагинозом // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. XVII. – № 1. – С. 182-184.

31. Жук С. И., Таран О. А., Кашμερινская А. М. Перспективы применения тест-системы «ФЕМОФЛОР-16» при дисбиозе влагалища // Здоровье женщины. – 2013. – № 1 (77). – С. 159.
32. Занько С. Н., Занько А. С. Санация беременных // Медицинские новости. – 2011. – № 10. – С. 31-36.
33. Захарова Т. П., Галкина И. С. Объективные проблемы и современные решения в диагностике заболеваний нижнего отдела урогенитального тракта женщин. Подход к назначению индивидуального лечения // Тезисы научно-практической конференции «Современные аспекты клинической лабораторной медицины». – М., 2012.
34. Захарова Т. П., Станкевич Л. И., Галкина И. С. Новые возможности в диагностике заболеваний нижнего отдела урогенитального тракта. Выбор тактики лечения // Тезисы V Общероссийского научно-практического семинара «Репродуктивный потенциал России: версии и контрверсии». – М., 2012. – С. 167-169.
35. Зильберберг Н. В., Воронова О. А., Евстигнеева Н. П. Сравнительная характеристика современных методов диагностики неспецифических инфекций нижних отделов половых путей у женщин // Практическая медицина. – 2011. – Т. 54. – № 6. – С. 80-84.
36. Зильберберг Н. В., Воронова О. А., Евстигнеева Н. П., Кузнецова Ю. Н. Принципы и методы диагностики неспецифических вагинитов // Уральский медицинский журнал. – 2011. – № 8. – С. 67-72.
37. Иванова О. С., Сельчук В. Ю., Иванова Л. Ф. Сравнительный анализ морфологических особенностей BRCA1-ассоциированного, семейного (без герминальных мутаций генов BRCA1/2) и спорадического рака молочной железы // Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. – 2007. – Т. 18. – №4. – С. 50 – 53.
38. Игнатовский А. В., Соколовский Е. В., Щипицына Е. В., Савичева А. М. Урогенитальный кандидоз и биоценоз уретры у мужчин – изучение и оценка с помощью метода ПЦР // Проблемы медицинской микологии. – 2012. – Т. 14. – № 1. – С. 21-24.
39. Имянитов Е. Н. Наследственный рак молочной железы // Практическая онкология. – 2010. – Т. 11. – № 4. – С. 258-266.
40. Исследование биоценоза урогенитального тракта у женщин методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени: Методическое пособие для лаборантов / Сост. Болдырева М. Н., Донников А. Е., Тумбинская Л. В. – М., 2009. – 42 с.

**Методика исследования «Фемофлор®» используется в научных и научно-клинических исследованиях, по материалам которых защищены диссертации на соискание ученых степеней кандидата и доктора медицинских наук:**

1. Байрамова Г. Р. Рецидивирующий вульвовагинальный кандидоз: клиника, диагностика, лечение. *Работа выполнена в научно-поликлиническом отделении ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и защищена на заседании диссертационного совета Д 208.125.01 при ФГБУ «НЦ АГиП им. акад. В. И. Кулакова» Минздрава России 16.04.2013 г.*
2. Витвицкая Ю. Г. Неспецифические урогенитальные инфекции женщин (этиология, клиника, диагностика, терапия). *Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия последипломного образования» Росздрава и защищена на заседании диссертационного совета Д 208.072.10 при ГОУ ВПО РГМУ Росздрава 28.12.2009 г.*

3. Ворошилина Е. С. Совершенствование методических подходов к оценке микробиоценоза влагалища у женщин репродуктивного возраста. Работа выполнена на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России и защищена на заседании диссертационного совета Д 208.117.03 при Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Челябинская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России в 2012 г.
4. Меджидова М. К. Течение послеродового периода в зависимости от особенностей микробиоценоза и локального иммунитета влагалища у беременных перед родами. Работа выполнена в ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова» Минздравсоцразвития России и родильном доме № 6 им. А. А. Абрикосовой Департамента здравоохранения г. Москвы и защищена на заседании диссертационного совета Д208.125.01 ФГБУ «НЦ АГиП им. акад. В. И. Кулакова» Минздравсоцразвития России 19.06.2012 г.
5. Мелкумян А. Р. Инновационные методы видовой идентификации лактобактерий в оценке состояния микробиоты влагалища у беременных женщин. Работа выполнена в ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и защищена на заседании диссертационного совета Д 208.046.01 при ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в 2013 г.
6. Чекмарев А. С. Сравнительная эффективность методов идентификации возбудителей заболеваний урогенитального тракта у мужчин. Работа выполнена на кафедре дерматовенерологии, микологии и косметологии ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздравсоцразвития России и защищена на заседании диссертационного совета (Д 208.115.01) при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научный центр дерматологии и косметологии» Минздравсоцразвития России в 2012 г.

## СОСТАВИТЕЛИ:

Баранова Елена Евгеньевна, к.м.н.

Батенева Елена Ильинична, к.м.н.

Галкина Ирина Сергеевна, к.х.н.

Донников Андрей Евгеньевич, к.м.н.

Зорина Виктория Владимировна, к.б.н.

Тумбинская Лидия Викторовна, к.б.н.

Шигорина Галина Геннадиевна



#### **КОНТАКТЫ ОФИСА:**

ООО «ДНК-Технология» Адрес: Москва, Варшавское шоссе, д. 125 Ж, корп. 6  
Тел./факс: +7 (495) 640-17-71 [www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru), [mail@dna-technology.ru](mailto:mail@dna-technology.ru)

#### **СЛУЖБА КЛИЕНТСКОЙ ПОДДЕРЖКИ:**

8 800 200-75-15 (звонок по России бесплатный), [hotline@dna-technology.ru](mailto:hotline@dna-technology.ru)