

Гонадотропины	99	Пролактин	100	Эстрогены	100	17 $\alpha$ -гидроксипрогестерон	102
Гормоны семейства трансформирующего фактора роста $\beta$	102	Области применения		Ингибина В и АМН	103	Релаксин	107
HLA-G	107	Диагностика аутоиммунного		бесплодия	108	Биохимические тесты в диагностике мужского бесплодия	111
Акрозин	111	Гранулоциты	111	Лабораторные тесты в протоколах ЭКО	112	Дополнительные тесты	113

## сокращения раздела:

АМН – антимюллеров гормон  
 ДГЭА – дегидроэпиандростерон  
 ИМТ – индекс массы тела  
 ЛГ – лютеинизирующий гормон  
 ЛГ-РГ – рилизинг фактор лютеинизирующего гормона

СПКЯ – синдром поликистозных яичников  
 ФСГ – фолликулостимулирующий гормон  
 ХГ – хорионический гонадотропин

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение  
 Е2 – эстрадиол

**С** появлением новых успешных методов лечения бесплодия и развития протоколов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) резко возросла необходимость в диагностических методах определения вида патологии, вызывающей бесплодие, мониторинга лечения и прогноза процедуры ЭКО. Определение содержания гормонов необходимо для установления причин как женского, так и мужского бесплодия, при которых в большинстве случаев на первом месте стоит нарушение гормональной регуляции. Для выявления нарушений беременности и предотвращения различных осложнений у пациентов, готовящихся к лечению в протоколах ЭКО, а также для оценки состояния эндокринной системы используют как рутинные тесты, так и появившиеся новые маркеры, такие как ингибины, антимюллеров гормон. Принято считать, что одной из причин нарушения фертильности является аутоиммунная патология, вызванная антиспермальными антителами, антителами к *Zona pellucida* или антиовариальными антителами. Мужское бесплодие может быть обусловлено нарушением сперматогенеза или выделения спермы. В главе подробно дается информация о маркерах, которые используются в диагностике аутоиммунного бесплодия, описаны тесты в диагностике мужского бесплодия (анализ спермы), а также тесты, используемые в протоколах ЭКО.

## Гонадотропины

У взрослых людей существует сильная координирующая обратная связь между гипоталамусом, передней долей гипофиза и половыми железами. Лютеинизирующий гормон (ЛГ) и фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) – пептидные гормоны, выделяемые передней долей гипофиза под влиянием рилизинг-гормонов гипоталамуса. Оба гормона – димеры, состоящие из  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи, определяющей гормональную специфичность. ФСГ и ЛГ осуществляют свою гормональную активность через специфические ре-

цепторы, локализованные на мембране гонадальных клеток-мишеней. Выделение гормонов имеет пульсовый характер и у женщин зависит от фазы менструального цикла.

Мишени ЛГ – клетки оболочки яичника и желтое тело. ЛГ вызывает овуляцию и лютеинизацию гранулезных клеток. Кроме того, ЛГ активизирует в клетках яичников синтез эстрогенов и прогестерона, а также синтез тестостерона в клетках Лейдига в мужских гонадах. По механизму отрицательной обратной связи тестостерон, в свою очередь, блокирует синтез и высвобождение в гипоталамусе и гипофизе люлиберина

и ЛГ. Уровень ЛГ возрастает при первичной дисфункции половых желез, в постменопаузальном периоде, при аденоме гипофиза, СПКЯ. При неэффективности лечения бесплодия у пациенток с СПКЯ с высоким уровнем ЛГ (более 15 МЕ/л) и тестостерона с использованием прямых и непрямых индукторов овуляции перспективной является схема лечения с предварительной десенситизацией гипоталамо-гипофизарной области агонистами ЛГ-РГ\*. Уровень гормона снижен при дисфункции гипоталамуса или гипофиза, тяжелом стрессе, нервной анорексии, при изолированном дефиците гормона, нарушении всасывания в кишечнике, при тяжелых заболеваниях. Имеет место суточный и циклический ритм секреции. У женщин концентрация ЛГ в крови максимальна за 12-24 ч перед овуляцией и удерживается в течение всего дня, достигая концентрации в 10 раз большей по сравнению с неовуляторным периодом.

ФСГ стимулирует созревание фолликулов яичников и синтез эстрадиола (Е2) в гранулезных клетках; у мужчин стимулирует клетки Лейдига, развитие сперматогониев и рост пре-клеток Сертоли. В половозрелом организме клетки Сертоли содержат рецепторы к ФСГ. Определение ФСГ проводится с целью диагностики нарушений генеративных органов (аменорея, олигоменорея, гипогонадизм, бесплодие у мужчин и женщин, нарушение полового развития детей). Концентрация гормона увеличена при первичном гипогонадизме/гипергонадотропном гипогонадизме, недоразвитии яичников и яичек, синдроме Кляйнфельтера, менопаузе, после кастрации, при гонадотропинсекретирующей опухоли, алкоголизме, бронхитах. Снижение наблюдается при дисфункции гипофиза и гипоталамуса, например, синдроме Калмана, неврогенной анорексии, поликистозе яичников, гиперпролактинемии. Уменьшение уровня ФСГ может отмечаться также при гемохроматозе, серповидноклеточной анемии, при тяжелых заболеваниях.

При гипогонадизме уровни ФСГ и ЛГ ниже нормы указывают на поражение гипоталамуса или гипофиза; уровни выше нормы – на первичное поражение половых желез.

Вследствие пульсового характера секреции ФСГ и ЛГ при состояниях, приводящих к понижению выделения этих гормонов, необходимо проанализировать, по крайней мере, три пробы крови с интервалом 30 мин.

В диагностическом алгоритме обследования при подозрении на эндокринное бесплодие ключевым является определение концентраций ЛГ, ФСГ, Е2 и тестостерона.\*\*

### Рилизинг фактор лютеинизирующего гормона (ЛГ-РГ)

ЛГ-РГ (люлиберин, гонадолиберин) представляет собой декапептид, синтезируемый в нейронах гипоталамуса. В передней доле гипофиза ЛГ-РГ стимулирует синтез и освобождение ЛГ и ФСГ посредством специфического связывания с рецепторами на мембране клеток аденогипофиза. Чувствительность гонадотропных клеток гипофиза к ЛГ-РГ изменяется в зависимости от возраста и фазы менструального цикла. Ингибин также оказывает модулирующее влияние на этот механизм.\*\*\* ЛГ-РГ катаболизируется и инактивируется эндопептидазами аденогипофиза.

### Пролактин

Гормон состоит из одной полипептидной цепи длиной в 198 аминокислотных остатков и секретируется лактотрофными клетками гипофиза, децидуальной оболочкой и эндометрием. Измерение уровня пролактина может быть первым этапом обследования пациентов, страдающих нарушениями репродуктивной функции. Установлено, что пролактин не оказывает непосредственного влияния на функциональную активность половых желез, в то же время уровень пролактина в крови четко коррелирует с состоянием гипоталамуса и аденогипофиза. Сдвиги в нейромедиаторной системе гипоталамуса могут нарушать гонадотропную функцию. В синергизме с эстрогенами он играет важную физиологическую роль в развитии молочных желез и процессе лактации. Кроме этого пролактин воздействует на клеточный рост других тканей и иммунную систему. Высокие концентрации пролактина оказывают ингибирующий эффект на функцию гонад: по принципу отрицательной обратной связи снижается секреция ЛГ-РГ, что приводит к низкой секреции ЛГ и ФСГ. Пролактин присутствует во многих биологических жидкостях, включая плазму, амниотическую жидкость, секрет слизистых оболочек и спинномозговую жидкость. Повышенные уровни пролактина в плазме характерны для овуляции, беременности, кормления грудью и стресса. Абnormally высокое содержание пролактина наблюдается при аденомах гипофиза, других анатомических и травматических патологиях, фармакологическом действии некоторых препаратов (фенотиазины, трициклические антидепрессанты) и гипотиреозидизме. Снижение концентрации пролактина характерно для гипофункции гипофиза.

### Эстрогены

Эстрогены – половые гормоны, производные эстрогена, ответственные за развитие и поддержание фун-

• **см. также:**

ниже в этом разделе «Лабораторные тесты в протоколах экстракорпорального оплодотворения»,

•• **см. также:**

раздел «Андрогены», стр. 123

••• **см. также:**

ниже в этом разделе, а также раздел «Пренатальная диагностика», стр. 115

кции женских половых органов и вторичных половых признаков. Секретируются в основном фолликулами яичников, желтым телом, во время беременности – плацентой, в гораздо меньших количествах – надпочечниками и тестикулами. Вместе с прогестероном они участвуют в регуляции менструального цикла, развитии беременности, росте матки и подготовке груди к лактации, влияют на обмен кальция, рост костей у девушек-подростков, сохранение костной массы и предотвращение остеопороза у взрослых женщин, а также имеют профилактическое значение для заболеваний коронарных сосудов сердца.

### Эстрадиол (E2)

Основной эстрогенный стероидный гормон, обладающий наивысшей биологической активностью. У женщин E2 синтезируется в оболочке и гранулезных клетках фолликулов. Он стимулирует развитие первой фазы овариального цикла. Во время первой фазы цикла увеличение концентрации E2 приводит к активной секреции ЛГ, который стимулирует овуляцию. В лютеиновую фазу синтезируется исключительно клетками оболочки фолликула, в то время как гранулезные клетки лютеинизируются и переключаются на синтез прогестерона. Около 97% E2 переносится кровью в связанном с белками виде: с сексстероидсвязывающим глобулином<sup>\*</sup> и альбумином. В отличие от гонадотропинов E2 и другие стероидные гормоны проявляют свой биологический эффект, проникая внутрь клетки по градиенту концентрации и связываясь с растворимыми рецепторами в цитозоле, а не с мембранными рецепторами. На гипофизарном уровне он действует на секрецию ЛГ и ФСГ (является доминирующим регулятором секреции ФСГ). Во время беременности концентрация E2 увеличивается. Для женщин уровень гормона имеет важное диагностическое значение в оценке функции яичников, нарушениях менструального цикла, аменорее гипоталамического происхождения, опухолях, вырабатывающих эстрогены, контроле за лечением бесплодия, остеопорозе.

Анализ E2 является основным параметром при контроле индукции овуляции и гиперстимуляции яичников.<sup>\*\*</sup> В норме до 90% эстрогенов у мужчин образуется вследствие периферической конверсии тестостерона путем ароматизации. Этот процесс происходит в жировой ткани, где ароматаза содержится в избытке. В связи с тем, что ароматизация – процесс необратимый, у мужчин с избытком жировой ткани имеется риск субфертильности вследствие гормонального дисбаланса, который проявляется низким уровнем тестостерона и высоким уровнем E2. Избыточное содержание E2 у мужчин приводит к подавлению продукции ФСГ гипофизом, что ведет к недостаточности

сперматогенеза. У мужчин с тяжелым бесплодием избыточные эстрогены могут вырабатываться в яичках. Для выявления избытка эстрогенов используют коэффициент Т/Э (соотношение уровней общего тестостерона (в нг/дл) и E2 (пг/мл) в сыворотке), который должен быть выше 10.

### Эстрон

Эстрон – один из трех главных естественных эстрогенов вместе с эстрадиолом и эстриолом. Синтезируется прежде всего из андростендиона надпочечникового или гонадного происхождения. У взрослых женщин большая часть эстрона (более 50%) секретируется в яичниках. В крови циркулирует в связанном с альбумином виде. У детей, женщин в период менопаузы и мужчин гормон синтезируется из андростендиона в основном в периферических тканях. В течение беременности большие количества эстрона синтезируются в плаценте из материнского и синтезированного надпочечниками плода дегидроэпиандростерона сульфата (ДГЭА-С). Эстрогенное действие эстрона меньше, чем у E2, однако его физиологическая роль определена недостаточно. Эстрон – первичный эстрогенный компонент многих фармацевтических препаратов. Может быть повышен у женщин с СПКЯ.

### Прогестерон

Является женским стероидным гормоном. Главный орган-мишень прогестерона – матка. Он способствует секреторной трансформации пролиферативно-утолщенного эндометрия, обеспечивая тем самым его готовность к имплантации оплодотворенного яйца. В эндометриальных клетках индуцирует 17β-гидроксистероид дегидрогеназу, которая является ключевым ферментом метаболизма E2 и переводит эстрадиол в практически неактивный эстрон. Таким образом, регулируется количество E2 в клетке-мишени. После оплодотворения гормон понижает чувствительность матки к веществам, вызывающим ее сократительную деятельность, чем существенно способствует сохранению беременности. Прогестерон частично ответствен за сдерживание овуляции в период беременности и развитие молочных желез. Прогестерон обладает антиандрогенной и антиальдостероновой активностью. У небеременных женщин этот гормон выделяется желтым телом, а после оплодотворения главным источником прогестерона становится плацента. Небольшие количества прогестерона образуются в надпочечниках и яичках. Измерение концентрации прогестерона в крови позволяет оценивать состояние репродуктивной функции, диагностировать врожденную патологию надпочечников, некоторые опухоли

• **см. также:** раздел «Андрогены», стр. 133

•• **см. также:** ниже в этом разделе «Лабораторные тесты в протоколах экстракорпорального оплодотворения»

надпочечников, осуществлять контроль за течением беременности. Увеличение уровня гормона наблюдается при врожденной гиперплазии надпочечников и опухолях яичников. Снижение – при гипогонадизме и угрожающем аборте. Постепенное физиологическое увеличение концентрации прогестерона имеет место при беременности от 9 до 32 недель. • Тест также применяется для наблюдения за пациентами, у которых овуляция индуцирована хорионическим гонадотропином (ХГ), менопаузальным гонадотропином, ЛГ-РГ, для мониторинга заместительного лечения прогестероном, оценки состояния пациентов с угрожающим абортом.

## 17 $\alpha$ -гидроксипрогестерон (17ОН-Рg)

Промежуточный стероид в биосинтезе глюкокортикоидов, андрогенов и эстрогенов. Он образуется из прогестерона и 17 $\alpha$ -гидроксипрегненолона. Секретируемый корой надпочечников, яичниками и семенниками, 17ОН-Рg циркулирует в крови как в свободном, так и в связанном состоянии, в основном с двумя белками: альбумином и транскортином. Период полураспада 17ОН-Рg несколько минут, он метаболизируется печенью и выделяется в мочу в виде прегнантриола. 17ОН-Рg вырабатывается в небольших количествах яичниками во время фолликулярной фазы, затем его концентрация возрастает в лютеиновой фазе и остается постоянной в течение этой фазы. Если оплодотворения не происходит, уровень 17ОН-Рg уменьшается и, наоборот, при имплантации оплодотворенной яйцеклетки желтое тело продолжает секретировать 17ОН-Рg. Высокий уровень отмечается при врожденной гиперплазии надпочечников, обусловленной дефицитом 21 $\beta$ -гидроксилазы и/или 11 $\beta$ -гидроксилазы. Пониженный уровень гормона выявляется у мужчин при болезни Аддисона. ••

## Гликоделин

Гликоделин человека – гликопротеин с сильной иммуносупрессивной и контрацептивной активностью. Гликоделин продуцируется и секретируется клетками железистого эпителия эндометрия. Кроме того, он продуцируется в семенных пузырьках. Этот белок является также прогностическим маркером ранних фетальных потерь и мужского бесплодия. Уровень гликоделина служит признаком фертильной функции эндометрия. Концентрация гликоделина в сыворотке – важный параметр мониторинга менструального цикла. Она может быть использована для отличия овуляторного менструального цикла от неовуляторного, что дает ценную информацию для диагностики бесплодия *in vitro*. Дополнительно тест используется для опреде-

ления оптимального времени переноса эмбриона в протоколах ЭКО.

## Гормоны семейства трансформирующего фактора роста $\beta$

Суперсемейство трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) включает гормоны ингибины, активины, а также антимюллеров гормон. Все члены этого семейства являются димерными гликопротеинами, вовлеченными в регуляцию роста и дифференцировки тканей.

## Ингибины

Ингибин – пептид с молекулярной массой 32 кДа, состоящий из  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц, связанных дисульфидными мостиками. Ингибин А состоит из  $\alpha$ - и  $\beta$ A-субъединиц, ингибин В – из  $\alpha$ - и  $\beta$ B-субъединиц. Биологической активностью обладают только димерные формы ингибинов. Ингибин А выявляется в основном у женщин (функция его у мужчин неизвестна). Ингибин В и антимюллеров гормон синтезируются клетками Сертоли у мужчин и гранулезными клетками у женщин. Ингибин селективно угнетает секрецию ФСГ у мужчин и у женщин, уменьшает количество рецепторов ЛГ-РГ в гипофизе и обладает паракринным действием в гонадах. Уровень ингибина А остается низким в начале фолликулярной фазы, затем плавно повышается к концу фолликулярной фазы и достигает максимума в середине лютеиновой фазы. Уровни E2 и ингибина А очень сильно коррелируют друг с другом в течение фолликулярной фазы (с –14 по 2 день менструального цикла от пика ЛГ). Приблизительно через неделю с момента образования желтого тела начинается его обратное развитие, при этом секретруется меньше E2, прогестерона и ингибина А. Падение уровня ингибина А сопровождается снижением его блокирующего действия на гипофиз и секрецию ФСГ. В ответ на повышение уровня ФСГ окончательно формируется пул антральных фолликулов, из которых в дальнейшем разовьется доминантный фолликул.

## Антимюллеров гормон (AMH, ингибирующее вещество Мюллера – MIS)

AMH вместе с тестостероном необходим для нормального развития внутренних половых органов эмбрионов мужского пола, оказывает ингибирующий эффект на рекрутирование примордиальных фолликулов в яичниках, а также может ингибировать ФСГ-зависимую селекцию доминантного фолликула на ранней антральной стадии. Снижение синтеза AMH в фолликулах более 9 мм в нормальных яичниках – при-

• **см. также:** раздел «Пренатальная диагностика», стр. 115

•• **см. также:** раздел «Гормоны коры надпочечников», стр. 127

нципальное необходимое условие селекции доминантного фолликула.

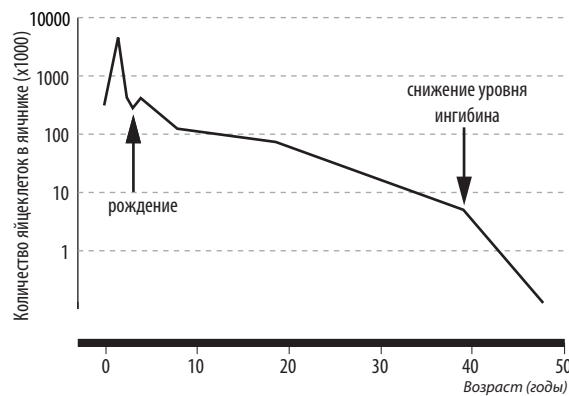
**Области применения ингибина В и АМН**

1. Определение комбинации маркеров **ингибин В, АМН и ФСГ** на 3-й день цикла является на сегодняшний день наиболее достоверным тестом для оценки **овариального резерва** – отражением точного числа функционально активных фолликулов в яичниках женщины. Ингибин В отражает овариальный резерв яичников в препубертате (измерение этого маркера в сыворотке может подтверждать приближающееся половое созревание надежнее, чем более переменные тестостерон, ЛГ и эстрадиол), в период полового созревания, женщин фертильного возраста, в перименопазе. Определение только традиционного гипофизарного ФСГ во многих случаях ограничено: значения сильно варьируют от месяца к месяцу, его высокий уровень неспецифичен для молодых женщин (может обнаруживаться у женщин с нормальной фертильностью). Этот тест недостаточно чувствителен для ранних признаков снижения овариального резерва, в отличие от ингибина В и АМН, синтезируемых непосредственно развивающимися преантральными и антральными фолликулами. Измерение ингибина В позволяет напрямую более точно оценить овариальную функцию, чем ФСГ, поскольку яичниковая недостаточность может быть спорадической («распыленной»), и нормальные уровни гонадотропинов в этом случае не исключают преждевременной яичниковой недостаточности. Концентрация АМН у женщин коррелирует с числом антральных фолликулов, с возрастом, лучше всего отражает снижение репродуктивной функции у здоровых женщин с доказанной фертильностью. Овариальный резерв пациентки по результатам тройного теста (ингибин В, АМН и ФСГ на 3-й день цикла) сравнивается с ожидаемым резервом для данного возраста, что позволяет контролировать репродуктивную функцию, например:

- восстановление активности яичников после тяжелой болезни (ингибин В снижен у девушек с анорексией *nervosa* и при успешной терапии повышается до нормы вместе с восстановлением функции яичников;
- при ожирении: в позднем репродуктивном возрасте (старше 40 лет) АМН на 65% ниже у женщин с ожирением – 0,016 против 0,046 нг/мл у женщин с нормальным ИМТ;
- при агрессивной терапии: АМН – маркер овариальной функции при химиотерапии;
- при аутопересадке ткани яичника:
  - отражает яичниковую недостаточность после стерилизующей химиотерапии,

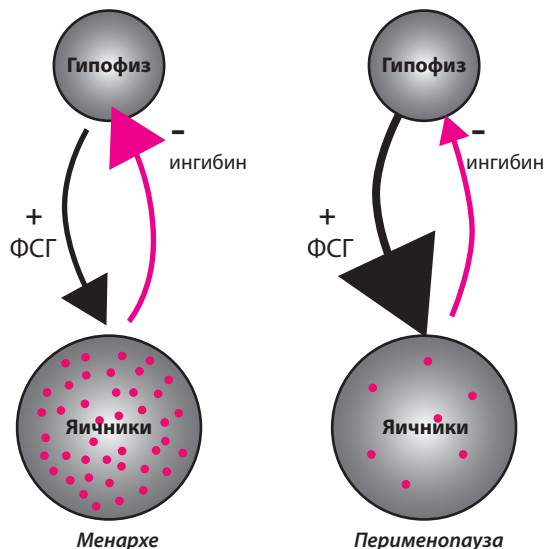
- отражает восстановление функции яичника в течение 9 мес. после трансплантации,
- коррелирует с количеством полученных яйцеклеток в цикле стимуляции гипероувуляции,
- фиксирует снижение функции и ограниченное время жизни трансплантированного яичника (22 мес.) после рождения ребенка,
- при планировании беременности (согласно статистике 20% женщин планируют рождение ребенка в возрасте 35 лет и старше);
- при прогнозе скорого наступления менопаузы (тест является эндокринным маркером овариального старения).

**Возраст-зависимое снижение числа фолликулов**



Adapted from Conway et al (1997) Current opinion in Obstetrics and Gynaecology, 9: 202-206

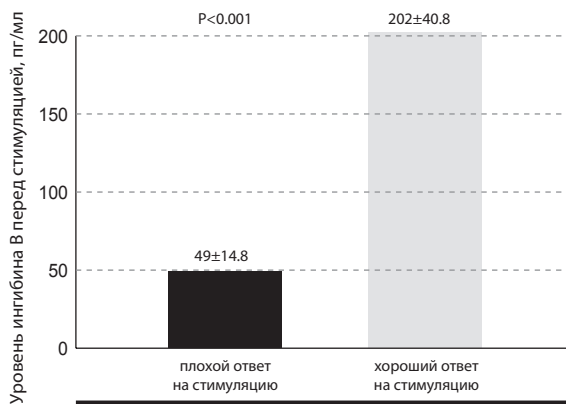
**Возрастное снижение синтеза ингибина В**



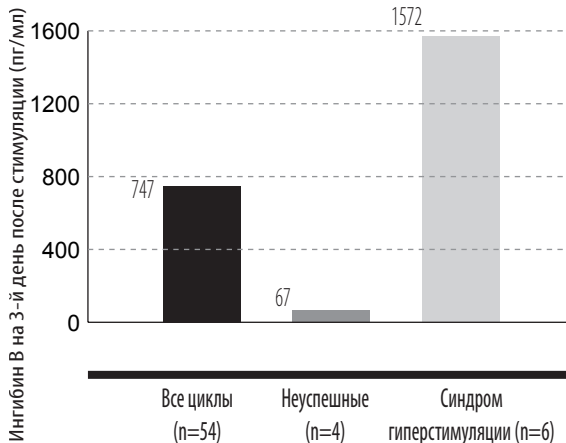
2. Диагностика и мониторинг пациенток с **нормогонадотропным ановуляторным бесплодием (НАБ)**. АМН повышен у пациенток с НАБ, коррелируя с ЛГ, тестос-

терон, объемом яичников и числом фолликулов. Синтез АМН в 75 раз выше при ановуляторном СПКЯ по сравнению со здоровыми яичниками: среднее повышение при овуляторном СПКЯ – в 4 раза, этот рост может быть одной из причин недостаточности фолликулярного роста и овуляции при этом состоянии.

### Ингибин - предиктор ответа в протоколах ЭКО



### Уровни ингибина во всех циклах, неуспешных циклах и в циклах с синдромом гиперстимуляции яичников



Adapted from Fawzy et al, Human Reprod 17:1535-1543 (2002)

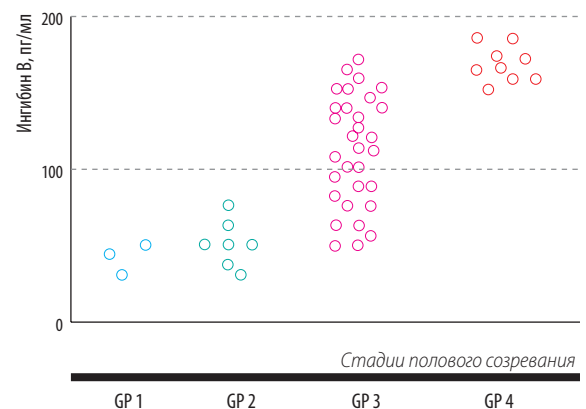
3. Ингибин В и АМН – предикторы успешного получения ооцитов и клинической беременности в протоколах ЭКО, включая операцию TESE (тестикулярная экстракция сперматозоида), а также могут помочь в подборе дозы гонадотропина для стимуляции яичников и избежать синдрома гиперстимуляции яичников (Dzik et al., 2000). При низком уровне ингибина В у женщин меньше число получаемых ооцитов и переносимых эмбрионов на цикл, меньше частота наступления беременности и в 11 раз выше частота преждевременных выкидышей по сравнению с нормой. АМН – лучший маркер овариального ответа на стимуляцию гонадотропином, а комбинация с ФСГ и ингибином В улучшает прогноз:

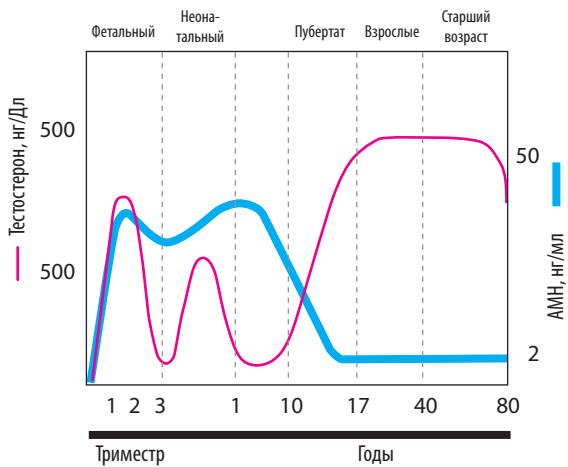
значения средних для завершенных циклов и незавершенных составляет 7,9 против 10,7 мМЕ/мл для ФСГ, 70 против 130 пг/мл для ингибина В и 1,13 против 0,18 нг/мл для АМН. АМН оказался единственным гормоном, имеющим значение (при определении в сыворотке на 3-й день цикла) в прогнозе клинической беременности в ЭКО-протоколах для женщин до 42 лет: при клинической беременности среднее значение составляет 2,4 нг/мл, в случае неуспешного цикла и отсутствия беременности – 1,1 нг/мл. При этом не отмечено различий в этих же двух группах образцов крови для ФСГ, ингибина В и Е2.

4. Выявление **преждевременного или замедленного полового созревания** у обоих полов: концентрации ингибина В и АМН отражают количество и качество клеток Сертоли у мальчиков до начала полового созревания (синтезируются этими клетками); их определение возможно в оценке мужской фертильности **в любом** возрасте, начиная с периода новорожденности. АМН подтверждает приближающееся половое созревание надежнее, чем более переменные тестостерон, ЛГ и эстрадиол. Уровень ингибина В растет, а АМН – резко снижается при половом созревании, отражая функцию клеток Сертоли в ответ на действие андрогенов (концентрация АМН обратно коррелирует с тестостероном, нет корреляции с ФСГ или с ЛГ). До наступления половой зрелости АМН продуцируется яичками в концентрации выше 30 нг/мл, а затем его уровень постепенно снижается до пост-пубертатных значений – 3-5 нг/мл. Для АМН также характерны:

- Высокий уровень при задержке полового развития
- Уровень ниже нормы при преждевременном половом развитии
- Повышение уровня при антиандрогенной терапии, как отражение эффективности лечения (тестостерон изменяется недостоверно, т.к. многие препараты действуют на его рецепторы, а не на его синтез)

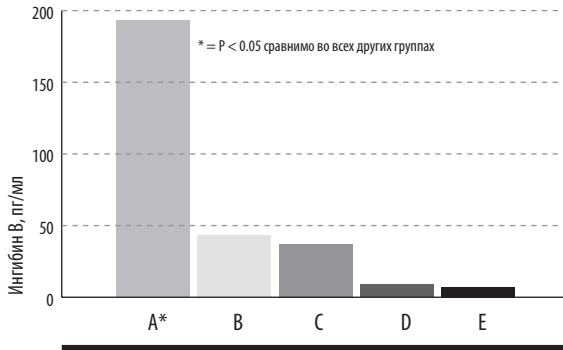
### Ингибин В на разных стадиях полового развития





**5. Ингибин В и АМН – факторы, связанные с мужским бесплодием.** Ингибин В является прямым маркером функции клеток Сертоли и экзокринной тестикулярной функции (состояния сперматогенеза). Его концентрация у здоровых мужчин обычно меньше 480 пг/мл, и, в отличие от женщин, она постоянна (не носит циклических колебаний). Однако, в патологических ситуациях (бесплодие), уровень ингибина В может быть снижен.

**Уровень ингибина В у мужчин при различных нарушениях гипоталамо-гипофизарно-тестикулярной оси**



- А - контроль (n=16)
- В - мужчины с синдромом Каллмана (n=7)
- С - бесплодные мужчины с синдромом повышенного ФСГ (n=29)
- D - мужчины с синдромом Кляйнфельтера (n=9)
- Е - мужчины с билатеральной орхидэктомией (n=10)

Ингибин В вместе с ФСГ, ЛГ, тестостероном и св. Т4 связан с параметрами качества спермы: положительно коррелирует с концентрацией сперматозоидов и их подвижностью, а АМН положительно коррелирует с концентрацией сперматозоидов и объемом спермы. Было показано, что у 100% обследованных с содержанием сперматозоидов в сперме менее 20 млн./мл концентрация ингибина В в сыворотке была ниже 80,0 пг/мл, а ФСГ – выше 10 Ед/л. **Ингибин В – ранний маркер повреждения клеток Сертоли:** подростки (4-5 ст. по Таннеру, средний возраст 14 лет) с левосторонним варикоцеле II-III степени сравнивались с группой конт-

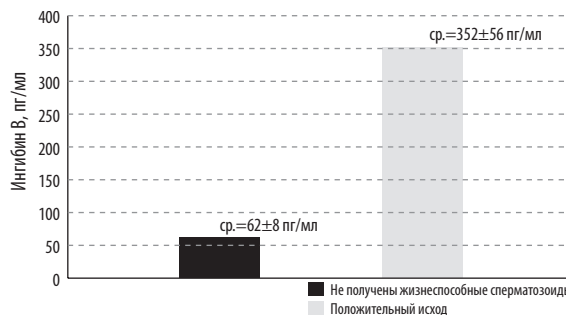
роля того же возраста. Ингибин В при этом ( $271,9 \pm 70,2$  против  $327,1 \pm 34,9$  пг/мл;  $P = 0,042$ ), коррелировал с тестикулярным объемом ( $r = 0,62$ ;  $P = 0,0097$ ). Другие гормональные параметры: базальный тестостерон, ФСГ, ЛГ – в двух группах не различались. У мужчин, прошедших лечение по поводу варикоцеле, существенно увеличивался уровень ингибина В в сыворотке крови, тогда как содержание ФСГ, ЛГ и тестостерона за все время наблюдения не менялось. Эти факты доказывают, что ингибин В может использоваться для мониторинга лечения пациентов с варикоцеле. Также ингибин В отражает восстановление функции клеток Сертоли при лечении гипогонадотропного гипогонадизма: повышается в 3 раза в среднем с 27 до 80 при лечении ХГ и рекомбинантным ФСГ вместе с объемом тестикул и количеством сперматозоидов.

**6. Подтверждение наличия тестикулярной ткани:** предсказательная ценность определения концентрации АМН выше, чем у теста стимуляции тестостерона введением ХГ у пациентов с анорхизмом и крипторхизмом. Нарушение функции АМН вызывает у мужчин сохранение дериватов мюллеровых протоков. Это состояние клинически проявляется крипторхизмом, паховыми грыжами и нарушением репродуктивной функции и названо синдромом персистенции мюллеровых протоков (СПМП), являющимся редкой формой ложного мужского гермафродитизма. Несмотря на то, что у пациентов с СПМП не нарушена дифференцировка яичек, у них часто отмечают бесплодие. Бесплодие у пациентов с СПМП может быть вследствие поздно устраненного оперативными методами крипторхизма, приводящего к атрофии семенных канальцев и вторичной андрогенной недостаточности. Возникновение СПМП может быть обусловлено мутациями как гена АМН, так и гена рецептора АМН (AMHRII).

**7. АМН отражает эффективность антиандрогенной терапии** (тестостерон может изменяться недостоверно, т.к. многие препараты действуют на его рецепторы, а не на его синтез).

**8. Ингибин В является прогностическим маркером для процедур ЭКО у мужчин, например, для опе-**

**Ингибин у мужчин с необструктивной азооспермией, подвергшихся TESE (n=46) Lockwood et al. 2000**



рации TESE. Его низкая концентрация указывает на неадекватное производство спермы и может включать хирургическую процедуру для получения жизнеспособной спермы.

9. Дифференциальная диагностика интерсексуальных состояний/определение гонадного пола/амбивалентные гениталии (синдром нечувствительности к андрогенам, аплазия клеток Лейди-га, мутации рецепторов ЛГ, дефекты ферментов стероидогенеза, дисгенезия гонад, врожденная гиперплазия надпочечников, синдром Суайра (врожденный дисгенез яичников), дефицит 5-а редуктазы). У ХУ-пациентов с амбивалентными гениталиями рекомендуется **обязательное исследование АМН** перед дорогостоящими инвазивными рентгенологическими и хирургическими исследованиями (Rey et al, 1999).

**Исследование АМН дополняет информацию, полученную при исследовании тестостерона**

У интерсексуальных пациентов 46,ХУ		
Тестостерон \ АМН	низкий или недектируемый уровень	нормальный или высокий уровень
низкий или недектируемый уровень	дисгенез гонад	дефект 5-альфа редуктазы
нормальный или высокий	дефекты рецептора ЛГ и ферментов стероидогенеза	нечувствительность к андрогенам
У мальчиков 46,ХУ с нормально вирилизированными наружными гениталиями		
Тестостерон \ АМН	низкий или недектируемый уровень	нормальный или высокий уровень
недектируемый уровень	анорхизм, синдром «исчезающих тестикул»	синдром персистенции мюллеровых протоков (мутации АМН)
низкий уровень	гипогонадотропный гипогонадизм	нормальное или преждевременное половое развитие
нормальный или высокий	задержка полового развития	билатеральный крипторхизм (мутации АМН рецептора II)

10. Ингибин В и АМН – высокочувствительные и специфичные **маркеры гранулезоклеточного рака яичников (ГРЯ)**. Специфичность ингибина В для диагностики ГРЯ – 100%, чувствительность – 89%. Комбинация общий ингибин и СА-125 может определять до 95% всех форм рака яичников. Для ГРЯ (срок наблюдения с медианой в 10 лет – 1-31 г.): в момент постановки диагноза ингибин В был повы-

шен у 89% пациенток, при рецидиве – у 85%, медиана повышения ингибина В перед клинической манифестацией рецидива – 11 мес., и ни у одной пациентки в ремиссии концентрация не была повышена.

11. **Высокая воспроизводимость:** для определения АМН достаточно единственного определения. АМН – цикл-независимый маркер овариального резерва: уровень АМН, измеренный в течение менструального цикла не имеет значительных колебаний в отличие от ФСГ, ЛГ и Е2.

### Активин

Активин – гормон, который принадлежит к суперсемейству TGF-β. Активин, также как и ингибин, состоит из двух субъединиц. βA-субъединицы могут образовать гомодимеры – активин А (βA-βA), или гетеродимеры с βB-субъединицами – активин В (βA-βB). У женщин гормон синтезируется в фолликулах, а у мужчин – в клетках Сертоли. При беременности активин синтезируется трофобластом. Активин регулирует функцию половых желез как у женщин, так и у мужчин. В клетках гранулезы он повышает активность ароматазы и угнетает синтез прогестерона. Активин стимулирует секрецию ФСГ. В других тканях активин влияет на рост и дифференцировку многочисленных типов клеток (передняя доля гипофиза, клетки гонад и нейроны, гемопоэтические предшественники и клетки эритромиелопоэза). Для активина и ингибина описаны 2 связывающих белка: фоллистатин и α2-макроглобулин. Активин А ингибирует рост сосудистого эндотелия, вместе с TGFβ может угнетать рост капилляров во время инвазии трофобласта, модулирует секрецию эндотелиальных клеток. Было показано, что активин имеет диагностическую значимость в качестве предиктора преэклампсии, преждевременных родов и при различных онкологических заболеваниях. Уровни ингибина А и активина А значительно повышаются при преэклампсии (начиная с ~30 недели гестации) в сравнении с контрольной группой того же срока гестации. Концентрация активина А снижена в 3 раза при гипертензии беременных (26-39 недели гестации). Предполагают, что нарушение баланса между ингибином и активином впоследствии приводит к неконтролируемому росту клеток и формированию опухолей.

### Фоллистатин

Фоллистатин является гликозилированным полипептидом и имеет структурное сходство с эпидермальным фактором роста и панкреатическим



ингибиторным полипептидом. У женщин гормон синтезируется в фолликулах, а у мужчин – в клетках Сертоли. При беременности фоллистатин синтезируется трофобластом. Фоллистатин связан с ингибином и активином, косвенно регулирует высвобождение ФСГ и ингибирует образование эстрогенов клетками гранулезы. Кроме того, фоллистатин регулирует биологическую активность ингибина и активина.

## Релаксин

NEW

Релаксин (Р), наряду с инсулином и инсулиноподобными факторами роста\* относится к инсулиновому суперсемейству. Сами пептиды и соответствующие им рецепторы обладают существенной структурной гомологией и широким спектром сходных регуляторных эффектов. Все они являются многофункциональными регуляторными молекулами, влияющими на фундаментальные клеточные процессы: пролиферацию, дифференцировку и выживание, а также метаболизм во многих тканях. Они могут действовать как по эндокринному, так и по ауто- и паракринному типу.

Как и другие пептиды инсулинового суперсемейства, Р оказывает регуляторное влияние на функциональную активность эффекторных систем клетки, в том числе цАМФ-зависимых. Рецепторы Р обнаружены в сердце, в гладких мышцах сосудов, в соединительной ткани и центральной и вегетативной нервных системах. Сигнальный механизм действия релаксина включает аденилатциклазную систему.

У женщин Р вырабатывается желтым телом, в молочных железах, а во время беременности плацентой, хорионом и децидуальной оболочкой. Уровни Р растут после овуляции за счет продукции желтого тела, в отсутствие беременности они снижаются перед менструацией. У мужчин гормон синтезируется в тестикулах и предстательной железе, откуда он поступает в сперму, влияя на подвижность сперматозоидов. Как и в случае с эстрогенами, во время менопаузы количество Р в организме существенно сокращается. Концентрация его в перитонеальной жидкости очень высока между пятым и десятым днями после овуляции. В первом триместре концентрация растет благодаря синтезу децидуальной оболочкой и достигает пика также в 1-м триместре, но роль его в имплантации не ясна. Продукция Р *in vitro* культурой гранулезных клеток пациенток является прогностическим фактором успешной имплантации в циклах ЭКО-ПЭ (ПЭ – перенос эмбрионов в полость матки после ЭКО), что подтверждает гипотезу о вовлечении Р в процесс имплантации и позволяет считать низкий уровень Р одной из причин невысокой эффективности ЭКО. Он широко представлен в лон-

ных костях, при беременности отвечает за размягчение связок таза и позволяет им эластично растягиваться, способствует цервикальному созреванию, а также оказывает токолитическое воздействие на миометрий, что необходимо для нормальных родов. Р во время беременности влияет на почечные артерии, снижая их сопротивление и увеличивая почечный кровоток, стимулирует синтез оксида азота в эндотелии, приводя к дилатации и снижению давления, усиливает почечную фильтрацию. В течение долгого времени Р рассматривался в качестве гормона беременности, но его значение может возрасти в свете последних исследований. Р влияет на метаболизм коллагена, ингибируя его синтез и усиливая его деградацию за счет роста активности матриксметаллопротеиназ. Он также усиливает ангиогенез и является мощным ренальным вазодилататором. У пациентов со склеродермой Р повышен, что является защитной реакцией на усиление фиброза (введение синтетического Р улучшает при этом заболевании состояние кожи, подвижность и функцию). Благодаря тому, что Р регулирует широкий спектр физиологических процессов в организме человека, он рассматривается как перспективный лекарственный препарат для лечения заболеваний репродуктивной, сердечно-сосудистой и нервной систем. Предполагают его использование в качестве мощного антифибротического фактора при лечении сердечно-сосудистых и почечных заболеваний, благодаря его свойству ингибировать гиперпродукцию коллагена, приводящую к фиброзу, а также в качестве вазодилататора и средства, усиливающего почечную фильтрацию. Показано, что Р оказывает хронотропный и инотропный эффекты на сердечную мышцу. Дефицит Р приводит к повышению частоты сокращений сердца и аритмии, в том числе у пациентов с фибромиалгией. Р оказался полезным в качестве агониста глюкокортикоидных рецепторов в терапии острого панкреатита, сохраняя микроциркуляцию и повышая отношение апоптоз/некроз. При эндометриальном раке повышенная экспрессия Р связана с более высокой инвазивностью опухоли и с плохим прогнозом, при раке предстательной железы Р связан с прогрессией опухоли, что связано с его свойствами активировать ангиогенез.

## HLA-G

NEW

Ген HLA-G отличается от других генов МНС I класса своим низким полиморфизмом и альтернативным сплайсингом, при котором генерируются 7 белков, представленных в нормальных фетальных тканях и тканях взрослых людей. Эти белки опосредуют толерантность

• **см. также:** главу «Соматотропная функция гипофиза», стр. 143

тканей к иммунным клеткам, ответственным как за врожденный, так и приобретенный иммунитет. Растворимая молекула HLA-G имеет иммуносупрессирующие свойства, индуцирует апоптоз активированных CD8(+) Т-клеток и модулирует CD4(+) Т-клеточную пролиферацию. Недавно с использованием специфического иммуноферментного метода определения молекул sHLA-G в культуральных супернатантах эмбрионов ранней стадии развития, полученных при оплодотворении *in vitro*, перед переносом, было показано, что успешная имплантация эмбриона происходила в случаях, когда эмбрион секретировал высокую концентрацию молекулы sHLA-G. 71% эмбрионов из жидкостей, содержащих повышенное количество HLA-G, развились в нормальный зародыш. Из жидкостей с содержанием данной молекулы ниже нормы выжило лишь 22% эмбрионов (данные Шерского института репродуктивной медицины, Лас Вегас, штат Невада). Это открытие указывает на то, что определение sHLA-G может быть полезным методом в дополнение к морфологическому исследованию при выборе эмбриона для переноса. Кроме того, мониторинг sHLA-G в амниотической жидкости и плазме беременных женщин может иметь важное прогностическое значение для выявления патологии. Молекулы HLA-G, возможно, непосредственно вовлечены в процесс приживления трансплантатов, и их анализ необходимо принимать во внимание при мониторинге состояния пациентов после трансплантации. Кроме того, показано, что уровень растворимых HLA-G в плазме повышается при лимфопролиферативных заболеваниях и у пациентов, страдающих злокачественной меланомой, глиомой, при опухолях молочной железы и яичников.

### Диагностика аутоиммунного бесплодия

Принято считать, что причины нарушения фертильности неизвестной этиологии в 30% случаев вызваны аутоиммунной патологией, в том числе антиспермальными антителами, антителами к *Zona pellucida* или антиовариальными антителами. Они же могут быть одной из причин гормональных нарушений и связанных с этим нарушений менструального цикла. Наиболее вероятно, что действие этих аутоантител проявляется во время имплантации, и это объясняет низкую частоту имплантации в процедурах ЭКО у женщин, имеющих аутоантитела, по сравнению с женщинами, у которых они не обнаружены. Для уточнения диагноза необходимо провести также скрининг на наличие антифосфолипидных, антинуCLEARных и антиуреидных антител.

• **см. также:**  
раздел  
«Аутоиммунные  
заболевания»,  
стр. 302

### Антиовариальные антитела (АОА)

АОА – антитела к тканям яичника, которые могут быть одной из причин гормональных нарушений и связанных с этим нарушений менструального цикла. АОА выявляют у женщин с преждевременной яичниковой недостаточностью (ПЯН) и необъяснимым бесплодием. Среди женщин с бесплодием, у которых доказана аутоиммунная патология яичников, исход процедуры ЭКО хуже, чем у женщин без аутоиммунной патологии. У женщин с АОА уменьшен ответ на стимуляцию гонадотропинами и ниже частота наступления беременности. Частота выявления АОА у женщин с ПЯН – 35-69% в зависимости от изучаемой группы пациентов. В основном АОА относятся к Ig класса G, антитела IgA и IgM находят только в половине положительных образцов. Было показано, что нет зависимости частоты выявления АОА от концентрации ФСГ и ингибина при ПЯН, поэтому, в отличие от других эндокринных аутоиммунных заболеваний, по концентрации гормонов нельзя прогнозировать возможный аутоиммунный процесс в яичниках. Таким образом, АОА – независимый маркер возможной яичниковой недостаточности, и их избыточная продукция может приводить к изменениям гормональной регуляции. Рекомендуется определять АОА у всех женщин с ПЯН, женщин с повышенным ФСГ на 3-й день цикла, женщин с необъяснимым бесплодием или женщин с низким ответом на стимуляцию гонадотропинами.

### Антизоновые антитела (анти-*Zona pellucida*, анти-ZP)

Предсказательная ценность положительного анализа на анти-ZP была рассчитана как 80% для концентрации >5 нг/ооцит в перитонеальной жидкости пациенток с необъяснимым бесплодием. Частота присутствия анти-ZP достигает 29% для бесплодных пациенток (18% в контроле). Титры выше у бесплодных женщин по сравнению с контролем. У каждой десятой пациентки с эндометриозом обнаруживают анти-ZP.

### Антиспермальные антитела (АСА)

АСА – направлены против антигенов сперматозоидов и способны нарушать их функции. АСА, хотя и не являются абсолютной причиной бесплодия, тем не менее, могут способствовать снижению вероятности зачатия. Они обнаруживаются как у мужчин, так и у женщин. АСА выявляются в крови, семенной жидкости или непосредственно на поверхности сперматозоидов. Выявление АСА на живых сперматозоидах – это общепринятый метод определения аутоиммунного ответа. У мужчин АСА возникают вследствие нарушения

гематотестикулярного барьера. Это важная находка в случае, когда все остальные параметры спермы в норме. Как правило, не обнаруживается взаимосвязи между АСА и снижением концентрации или подвижности сперматозоидов, но выявлено нарушение функции сперматозоидов вследствие присоединения АСА к их мембране. Антитела, направленные против антигенов мембраны сперматозоидов, оказывают отрицательное воздействие на фертильные качества спермы: связываясь с поверхностью сперматозоидов, они могут нарушать их проникновение через *cumulus* и/или *Zona pellucida*, акросомальную реакцию, взаимодействие сперматозоида и яйцеклетки, а также представлять сперматозоиды для разрушения иммунной системой. Кроме того, связывание АСА может стать причиной агглютинации сперматозоидов. Другой причиной агглютинации сперматозоидов могут стать инфекционные заболевания урогенитального тракта (в случае агглютинации сперматозоидов необходимо исключать урогенитальные инфекции с помощью бактериологического анализа спермы). Наличие АСА необходимо исключить при повторном отрицательном посткоитальном тесте, т.к. они связаны с нарушением проникновения и продвижения сперматозоидов в слизи цервикального канала. АСА определяются у 3-12% бесплодных мужчин (у здоровых 0,1-2%). В высоких титрах их выявляют только у 6-7% бесплодных мужчин (у здоровых не обнаруживаются). Чаще всего (до 70%) АСА выявляются при обструктивных урогенитальных заболеваниях у мужчин, при острых и асимптоматичных урогенитальных инфекциях, хламидиозе, а также у пациентов с раком яичек. АСА находят при крипторхизме и орхиопексии. Показано, что АСА не выявляются у мальчиков в течение двух лет после операции по поводу крипторхизма, тогда как у взрослых мужчин, перенесших подобную операцию, они обнаруживаются достаточно часто – до 40% случаев. Кроме того, АСА присутствуют у гомосексуалистов, ВИЧ-инфицированных мужчин, пациентов с варикоцеле и с заболеваниями спинного мозга. Факторы риска появления АСА включают: мужчин с субфертильностью, наличием в анамнезе указаний на травмы мочеполовых органов, снижение подвижности или агглютинацию сперматозоидов по данным спермограммы, вазэктомию (50% оперированных), врожденное двустороннее отсутствие семявыносящего протока, эпидидимит, крипторхизм. У женщины АСА могут появиться, если: у нее имеется инфекция половых путей, семенная жидкость партнера не способна обеспечить достаточный уровень иммуносуп-

рессии, сперматозоиды партнера имеют патологическую морфологическую форму или покрыты микроорганизмами/антиспермальными антителами, которые могут вызвать провоспалительный ответ. Многие специалисты в области репродукции определяют АСА перед выбором соответствующей репродуктивной технологии. У бесплодных мужчин со средним или низким титром АСА метод лечения кортикостероидами и стимуляцией суперовуляции в сочетании с внутриматочной инсеминацией оказался эффективнее. Этот метод лечения был не столь эффективен у мужчин с высокими титрами АСА, у них вероятность зачатия была выше с использованием метода внутривагинальной инъекции сперматозоида (ICSI). Предполагают, что антиспермальные антитела могут проявлять эмбриотоксический эффект. Концентрация АСА в сперме отражает степень нарушений. Определение АСА включено в перечень стандартных тестов диагностики мужского и женского бесплодия.

**Показания для определения АСА:**

1. Агглютинирующие, неподвижные или аномальные по морфологии сперматозоиды в анализе спермы
2. Сниженное количество сперматозоидов или азооспермия – у мужчин с азооспермией наличие АСА является признаком блокады семявыносящих путей
3. Повторный отрицательный посткоитальный тест
4. Причина бесплодия не найдена
5. Реконструктивная операция вазовазостомии после вазэктомии
6. Перед любой инвазивной процедурой/инвазивным исследованием у партнерши
7. Оплодотворение *in vitro* – для коррекции протокола (исключение из инкубационной среды сыворотки партнерши в случае положительного результата)

Группа компаний «БиоХимМак» предлагает наборы для определения суммарных АСА и наборы для определения АСА классов М, G, А в сыворотке, в семенной плазме, на сперматозоидах и в цервикальной слизи. Для контроля правильности подсчета сперматозоидов и определения антиспермальных антител предлагаются наборы контрольных материалов:

- суспензия латексных частиц для контроля подсчета сперматозоидов ручными и автоматизированными методами
- контрольные положительные и отрицательные сыворотки, содержащие/не содержащие антиспермальные антитела.

Сравнительная характеристика методов определения антиспермальных антител (АСА)

Метод	Латексный	MAR-тест	Латексный метод IMMUNOSPHERES®	Иммуноферментный	Проточная цитометрия
Тип образца, где определяются АСА	Семенная плазма, цервикальная слизь, смыв из полости матки	Необработанная сперма, на подвижных сперматозоидах, сыворотка (непрямой метод)	Отмытые сперматозоиды, на подвижных сперматозоидах, сыворотка крови (непрямой метод)	Сыворотка крови, семенная жидкость	Отмытые сперматозоиды
Тип определяемых антител	Суммарные антитела/антитела классов А, G, М	Антитела классов А, G, М отдельно	Суммарные антитела/антитела классов А, G, М	Суммарные антитела/антитела классов А, G, М	Суммарные антитела/антитела классов А, G, М
Принцип метода	Определяются антитела против комплексного спермального антигена, фиксированного на латексных частицах	Антиглобулиновая сыворотка связывается латексом, покрытым специфическими Ig с АСА (одного класса) на мембране сперматозоидов, образуя агглютинаты	Определяются антитела против антиспермальных антигенов мембраны сперматозоидов с помощью антител против иммуноглобулинов, фиксированных на латексных частицах	Непрямой твердофазный иммуноферментный метод	Определяются антитела против антигенов мембраны сперматозоидов с помощью антител против Ig/спермального антигена, фиксированных на латексных частицах
Считывание результатов	Визуальное по латексной агглютинации в капле, полуколичественное (титрование)	Световой микроскоп. По количеству сперматозоидов, несущих АСА (латексные агглютинаты с подвижными сперматозоидами)	Световой микроскоп. По количеству сперматозоидов, несущих АСА (латексные частицы на мембране сперматозоидов)	Планшетный фотометр, количественное определение суммарных антител/качественное определение класса антител	Проточный цитометр, определение количества связанных АСА антигенов сперматозоидов
Время инкубации	2 мин. – суммарные антитела/ 1 час – определение класса антител	2 мин. – прямое определение антител/ 1 час 30 мин. – определение в сыворотке	2 мин. – прямое определение антител/ 1 час 30 мин. – определение в сыворотке	2 часа 30 мин.	2 мин. – прямое определение антител/ 1 час 30 мин. – определение в сыворотке
Преимущества метода	Высокая чувствительность, простота выполнения (визуальная оценка, скорость), возможность определения при азооспермии, возможность определения у мужчин и женщин	Быстрота, возможность определить антигенную направленность антител (структуру сперматозоида, против которой направлены антитела – головка, шейка, хвост)	Более высокие чувствительность и специфичность по сравнению с MAR-тестом, возможность определить антигенную направленность антител (структуру сперматозоида, против которой направлены антитела – головка, шейка, хвост)	Высокие воспроизводимость, чувствительность и специфичность метода, возможность автоматического анализа, возможность определения у мужчин и женщин, более доступный метод получения образца для анализа	Высокие воспроизводимость и чувствительность, автоматическое выполнение теста, возможность определить концентрацию и антигенную направленность антител на мембране сперматозоидов
Ограничения метода	Невозможно определить антигенную направленность антител (структуру сперматозоида, против которой направлены антитела)	Непригоден для образцов с азооспермией, ограничение по общему количеству подвижных сперматозоидов, для непрямого теста – не менее 10 млн./мл сперматозоидов	Непригоден для образцов с азооспермией, ограничение по количеству подвижных сперматозоидов – не менее 5 млн./мл, для непрямого теста – не менее 50 млн./мл подвижных сперматозоидов. Дополнительный этап: отмывка сперматозоидов	Сниженное клиническое значение по сравнению с определением в сперме и цервикальной слизи. Менее частая находка по сравнению с определением в сперме	Не используется для прямого определения в семенной плазме и сыворотке крови

## Биохимические тесты в диагностике мужского бесплодия (анализ спермы)

Мужское бесплодие может быть обусловлено нарушением сперматогенеза (образования спермы) или нарушением выделения спермы. Самые распространенные причины мужского бесплодия: приблизительно у 1/3 – варикоцеле; менее чем у 15% – крипторхизм, орхит или серьезная травма; менее чем у 5% – закупорка протока; у 10% – результат инфекции; у 5% – иммунологические причины, например, АСА. Любое системное заболевание может временно понизить способность мужчины к оплодотворению.

### Лимонная кислота

В процессе онтогенеза и, особенно с момента полового созревания, в секрете предстательной железы резко возрастает содержание лимонной кислоты. Лимонная кислота, образуемая в предстательной железе, способствует разжижению семени, активации гиалуронидазы, а последняя, в свою очередь, способствует проникновению сперматозоидов в яйцеклетку. Определение лимонной кислоты в семенной жидкости дает, таким образом, информацию о секреторной функции простаты. Низкую концентрацию лимонной кислоты находят у мужчин с воспалением урогенитальной сферы. Оценка простатической функции позволяет определить субклинические варианты простатита, которые снижают мужскую фертильность и предотвратить передачу инфекции женщине-партнеру.

### Фруктоза

Фруктоза – главный источник энергии для эякулированных сперматозоидов. Образование фруктозы почти полностью происходит в семенных пузырьках под влиянием андрогенов, и поэтому по ее концентрации можно судить о секреторной функции семенных пузырьков. Быстрота расщепления фруктозы – фруктолиз, связан с подвижностью и жизнеспособностью сперматозоидов. Обнаружение нормального уровня фруктозы подтверждает наличие семенных пузырьков и исключает врожденное отсутствие семявыносящих протоков или редко встречающуюся обструкцию эякуляторного протока. Низкая концентрация фруктозы встречается у пациентов с низким уровнем андрогенов, указывает на врожденное отсутствие семявыносящего протока или семенных пузырьков, обструкцию эякуляторного протока в результате воспалительных заболеваний (вместе с малым объемом эякулята и нарушением коагуляции спермы), на воспаление семенных пузырьков. Особенно важно это исследование при азооспермии, когда сочетание низкого уровня фруктозы, pH и ненормально высокого содержания лимонной кислоты указывают на врожден-

ное отсутствие семенных пузырьков. Если у больного на фоне бесплодия отсутствуют проявления синдрома Кляйнфельтера, необходимо определить содержание фруктозы в семенной жидкости и ФСГ в сыворотке. Если концентрация ФСГ выше верхней границы нормы в 1,5 раза, дальнейшее обследование не нужно из-за высокой вероятности тяжелого, невосстановимого повреждения семенных канальцев. В этом случае показана вазография для оценки эякуляторных путей и биопсия яичек для установления наличия сперматогенеза. Существует много различных методов для определения фруктозы в семенной жидкости. *Предлагаемый ЗАО «БиоХимМак» набор для определения фруктозы использует метод, рекомендуемый ВОЗ.*

### Активность акрозина

Около 7% случаев мужского бесплодия связаны с нарушением акросомальной реакции. Акрозин – акросомальная протеаза сперматозоидов, которая выполняет важную функцию в процессе оплодотворения. Акрозин освобождается во время акросомальной реакции. Показано, что он участвует в последующем связывании сперматозоидов с *Zona pellucida* яйцеклетки и/или с проникновением сперматозоидов через нее. Низкие уровни акрозина связаны с состоянием субфертильности и бесплодия. Исследования показали, что общая активность акрозина положительно коррелирует с успешностью оплодотворения *in vitro*, а низкая его активность, наоборот, ассоциирована с отклонением в результатах теста пенетрации яйцеклетки. Акрозиновая активность человеческого эякулята изменяется независимо от других стандартно определяемых параметров спермы, таких как концентрация и процент подвижных сперматозоидов, характеристика двигательной активности сперматозоидов и их морфология. Таким образом, тест активности фермента может быть использован в качестве дополнительного маркера качества человеческой спермы.

### Гранулоциты

Повышенное содержание лейкоцитов в семенной жидкости определяется как лейкоцитоспермия и связано с воспалением половых органов и низкой фертильностью. Лейкоциты в сперме могут появляться из любого отдела семявыносящих путей, включая придаток яичка, предстательную железу, семенные пузырьки и мочеиспускательный канал. Чаще всего встречаются полиморфонуклеарные гранулоциты, в норме они составляют 50-80% всех лейкоцитов. Эту субпопуляцию можно отличить от очень на них похожих круглых сперматид с использованием специфической окраски на фермент пероксидазу. Метод определения лейкоцитов в семенной жидкости признан ВОЗ стандартным

методом для оценки качества спермы. В случае положительного результата необходимо провести бактериологический анализ спермы и взять мазки из уретры на выявление возбудителей урогенитальных инфекций (хламидия, микоплазма, уреаплазма и др.).

## Лабораторные тесты в протоколах ЭКО

### 1. Подготовка к лечению в программах ЭКО

Особенностью программ ЭКО является активное использование широкого спектра гормональных препаратов для стимуляции суперовуляции. Поэтому особенно важно выявить и скорректировать различные нарушения для получения успешно развивающейся беременности и предотвращения различных осложнений у пациентов, готовящихся к лечению в протоколах ЭКО. Для оценки состояния эндокринной системы у женщин используют определение E2, ЛГ, ФСГ, пролактина, тироксина, ТТГ, трийодтиронина, соматотропного гормона, кортизола в раннюю фолликулиновую фазу, прогестерона в середине лютеиновой фазы.\* Для оценки функции коры надпочечников определяют 17-ОН-прогестерон, ДГЭА, ДГЭА-С, суточный ритм уровней тестостерона, кортизола, эстрадиола. Проводят иммунологическое обследование на маркеры TORCH-комплекса: ЦМВ, вирус простого герпеса, краснуху, токсоплазмоз, хламидиоз, а также маркеры вирусных гепатитов, ВИЧ, сифилис, гонорею, микоплазмоз, гарднереллез и др.\*\* Частота эндокринных нарушений у женщин, проходящих лечение бесплодия в циклах ЭКО в 2 раза выше по сравнению со здоровыми женщинами (91% против 45%). При этом, если здоровые женщины имеют лишь субклинические формы, то среди пациенток программ ЭКО доля клинически выраженных нарушений колеблется в пределах 13-56%. У таких пациенток проводится специфическая коррекция с мониторингом уровней гормонов и индивидуально подбирается схема стимуляции овуляции с учетом заболевания. Например, из программ ЭКО исключаются женщины с онкологическим риском, подбираются более щадящие схемы для пациенток с исходно высокими E2 и СА-125, исключаются схемы с агонистами ЛГ-РГ у пациенток с низкими уровнями гонадотропинов, микроаденомами и узловыми формами щитовидной железы. У этой группы пациентов обязательно оценивают состояние эндокринных желез в момент переноса эмбрионов в полость матки, у пациенток с адреногенитальным синдромом и гипофункцией щитовидной железы контролируют и корректируют при необходимости состояние плода. В случае выявления инфекций проводится специфическое лечение и необходимая профилактическая подготовка. Только после контроля лечения, свидетельствующего об отсутствии активной фазы заболевания, начинают программы ЭКО. После

окончания стимуляции и при наступлении беременности контролируют активность инфекции/первичной инфекции по параметрам риска для решения вопроса о необходимости профилактических мероприятий.

У мужчин с бесплодием проводят исследование спермы на показатели сперматогенеза, включая анализ на АСА (в первую очередь MAR-тест), лейкоциты, лимонную кислоту и фруктозу. В плазме крови наиболее часто исследуют уровень следующих гормонов: пролактин, ФСГ, ЛГ, тестостерон, E2 и SHBG \*\*\* и те же самые инфекции, что и у партнерш.

### 2. Проведение протоколов ЭКО

По концентрации E2 оценивают эффективность десенсилизации яичников агонистами ЛГ-РГ. О блокаде функции аденогипофиза судят по падению уровня E2 в плазме крови до 20-30% от исходного уровня (определяемое двукратно с перерывом в 2-3 дня), что составляет ниже 30 пг/мл. Эти цифры и толщина эндометрия не более 3 мм служат критериями начала стимуляции суперовуляции в «длинных» схемах контролируемой гиперстимуляции яичников (КГС).

Скорость синтеза E2 отражает число и качество созревающих фолликулов в циклах ЭКО. Лабораторными критериями адекватности цикла КГС является ежедневный прирост уровня E2 на 40-50% (вместе с увеличением размеров фолликулов на 2 мм) по сравнению с предыдущим днем.

Овуляторная доза ХГ назначается после достижения уровня E2 в плазме крови не менее 300 пг/мл из расчета на каждый лидирующий фолликул (ЛФ), и при его размере 18-20 мм и толщине эндометрия не менее 9 мм.

Прирост концентрации в цикле КГС расценивают как слабый ответ, если максимальный уровень E2 ниже 500 пг/мл и число зрелых ооцитов не более 5, тогда как цикл с максимальным уровнем E2 выше 2000 пг/мл и числом ооцитов больше или равным 20, – как сильный ответ. В первом случае часто и качество получаемых ооцитов невысокое из-за сниженного овариального резерва, с другой стороны пациентки с сильным ответом имеют высокий риск развития синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ). В этом случае тактика дальнейшего ведения цикла КГС направлена одновременно на получение ооцитов и снижение вероятности СГЯ под контролем уровня E2: обычно ХГ для индукции овуляции вводят при снижении E2 до безопасных цифр ниже 3000 пг/мл. При высоком риске СГЯ овуляторную дозу ХГ ограничивают или вообще не вводят.

Концентрация E2 является лабораторным признаком СГЯ: легкая степень характеризуется цифрами 1500-2000 пг/мл, средняя 4000-6000 пг/мл и тяжелая – больше 6000 пг/мл E2. Для СГЯ характерна высокая концентрация онкомаркера СА-125, что яв-

• **см. также:** соответствующие главы

•• **см. также:** главу «Диагностика инфекций», стр. 242

••• **см. также:** раздел «Андрогены», стр. 123

ляется следствием массивной пролиферации ткани яичников. Этот высокий уровень может отмечаться в течение полугода после стимуляции, несмотря на проводимое лечение. Дифференциальный диагноз с раком яичников: у пациенток с СГЯ отмечают высокий уровень E2 и прогестерона, а при наступившей беременности – высокий уровень ХГ. При раке уровни E2, прогестерона и ХГ будут в норме. Лабораторные факторы риска СГЯ: высокий уровень E2 и СА-125.

По уровню E2 в плазме крови в день введения овуляторной дозы ХГ выбирается метод поддержки функции желтого тела: при уровне меньше 2500 пг/мл вводится 1500 МЕ ХГ в дни ПЭ, через 2 и 4 дня после

ПЭ, при уровне более 2500 пг/мл назначают препараты прогестерона, обязательно с предварительной гормональной оценкой функции желтого тела.

### Дополнительные тесты

Для выявления и коррекции эндокринных нарушений и прогноза протоколов ЭКО предлагается использовать в качестве рутинных маркеров ингибин В и АМН, для оценки времени переноса эмбрионов в полость матки по готовности эндометрия – гликоделин, для выбора лучших по качеству имплантации эмбрионов для переноса – HLA-G.

### ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА



Кат. №	Производитель	Наименование
413-5003	Monobind	Лютеинизирующий гормон (ЛГ), 96
413-6003	Monobind	Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), 96
413-7003	Monobind	Пролактин, 96
449-8410	DSL	Ингибин В, 96
DFN00	R&D	Фоллистатин, 96
473-9210	Immunodiagnostik	Релаксин, 96
749-8700	DBC	Эстрон, 96
749-8701	DBC	Эстрон в слюне, 96
449-8510	DSL	Активин А, свободный, 96
414-2104	ADALTIS	Эстрадиол, 96
749-4300	DBC	Эстрадиол, 96
749-3900	DBC	Прогестерон, 96
414-2103	ADALTIS	Прогестерон, 96
449-6800	DSL	17-ОН-Прогестерон, 96
449-1440	DSL	Антимюллеров гормон (АМН/МIS), 96
194-0701	BioVendor	Человеческий лейкоцитарный антиген (HLA-G), 96
425-3020	Bioserv	Гликоделин (PP14), 96
425-4020	Bioserv	Антиовариальные антитела, 96
425-4050	Bioserv	Антиовариальные антитела, с определением класса иммуноглобулинов, 96
425-4010	Bioserv	Антиовариальные антитела (латексная агглютинация), 50
425-2020	Bioserv	Антитела к Zona Pellucida, 96
425-2050	Bioserv	Антитела к Zona Pellucida, с определением класса иммуноглобулинов, 96
425-2010	Bioserv	Антитела к Zona Pellucida (латексная агглютинация), 50
425-1020	Bioserv	Антиспермальные антитела в сыворотке, 96
425-1021	Bioserv	Антиспермальные антитела в семенной плазме, 96
425-1050	Bioserv	Антиспермальные антитела с определением класса иммуноглобулинов в сыворотке, 96
425-1010	Bioserv	Антиспермальные антитела в семенной жидкости (латексная агглютинация), 50
BS-ACRO	BioScreen	Активность акросомального белка акрозина в сперме AcroScreen, 50
BS-CITRIC	BioScreen	Лимонная кислота в сперме CitricScreen®, 100
BS-FRUCTO	BioScreen	Фруктоза в сперме FructoScreen®, 100
BS-SPHERES-A	BioScreen	Антиспермальные антитела на сперматозоидах ImmunoSpheres® Anti-IgA, 140

### ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА



Кат.№	Производитель	Наименование
BS-SPHERES-G	BioScreen	Антиспермальные антитела на сперматозоидах ImmunoSpheres® Anti-IgG , 140
BS-SPHERES-M	BioScreen	Антиспермальные антитела на сперматозоидах ImmunoSpheres® Anti-IgM, 140
BS-SPHERES-IG	BioScreen	Суммарные антиспермальные антитела на сперматозоидах ImmunoSpheres® Anti-Ig(H&L), 140
BS-LEUCO	BioScreen	Гранулоциты в сперме LeucoScreen®, 25-300
BS-MAR-A	BioScreen	Антиспермальные антитела на сперматозоидах MarScreen® IgA, 70
BS-MAR-G	BioScreen	Антиспермальные антитела на сперматозоидах MarScreen® IgG, 70
BS-MAR-M	BioScreen	Антиспермальные антитела на сперматозоидах MarScreen® IgM, 70
BS-P	BioScreen	Контрольная положительная сыворотка, содержащая антиспермальные антитела класса G и отрицательный контроль, 2 мл
BS-G	BioScreen	Контрольная положительная сыворотка, содержащая антиспермальные антитела классов A+G и отрицательный контроль, 2 мл
BS-QC-BEADS	BioScreen	Суспензия латексных частиц для контроля подсчёта сперматозоидов ручными и автоматизированными методами: высокий и низкий уровни QC Beads™, 2 x 4 мл