

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
СЕВЕРО-ЗАПАДНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ им. И.И. МЕЧНИКОВА**

**Кафедра акушерства, гинекологии, перинатологии
и репродуктологии**

**Н.А.Татарова, С.В. Рищук, В.Е. Мирский,
А.М. Маржевская, Т.А. Дудниченко,
С.Н. Гусев, Т.А. Душенкова**

**Диагностика функционального состояния
репродуктивной системы семейной пары
при бесплодии**

*Учебно-методическое
пособие
для студентов*

**Санкт-Петербург
2012**

УДК 681.1:613.2/.8 ?

ББК 57.1:51. 204.0 ?

Н.А. Татарова, С.В. Рищук, В.Е. Мирский, А.М. Маржевская, Т.А. Дудниченко, С. Н. Гусев, Т.А. Душенкова. Диагностика функционального состояния репродуктивной системы семейной пары при бесплодии. Учебно-методическое пособие для студентов. – СПб.: Издательство ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2012. – 50 с.

Рецензент: д.м.н. профессор Гайдуков С.Н., заведующий кафедрой акушерства и гинекологии Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета.

В учебном пособии представлена классификация женского и мужского бесплодия, дана последовательность обследования мужчины и женщины из состава бесплодной пары. Более подробно и системно изложены функциональные исследования, применяемые у мужчины и женщины из состава бесплодной пары, включающие инфекционный, гормональный, иммунологический и генетический скрининги. С учётом последних рекомендаций представлены современные требования к исследованию спермограммы у мужчин.

Учебное пособие предназначено для студентов высших медицинских учебных заведений, а также для специалистов, занимающимся улучшением репродуктивного здоровья семейной пары.

Обсуждено на заседании кафедры акушерства,
гинекологии, перинатологии и репродуктологии,
протокол № «__» _____ 2012 г.
Зав.кафедрой, д.м.н. проф. Н.А. Татарова

© Н.А.Татарова, С.В. Рищук, В.Е. Мирский,
А.М. Маржевская, Т.А. Дудниченко,
С.Н. Гусев, Т.А. Душенкова

Утверждено
в качестве учебного пособия
Методическим советом ГБОУ ВПО
СЗГМУ им. И.И.Мечникова
протокол № от «__» _____ 2012 г.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

КЛАССИФИКАЦИИ ЖЕНСКОГО И МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ОБСЛЕДОВАНИЯ МУЖЧИНЫ И ЖЕНЩИНЫ ИЗ СОСТАВА БЕСПЛОДНОЙ ПАРЫ

1. Обследование мужчины

2. Обследование женщины

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ У МУЖЧИНЫ ИЗ СОСТАВА БЕСПЛОДНОЙ ПАРЫ

1. Исследование эякулята

2. Цитологическое исследование секрета предстательной железы и семенных пузырьков

3. Инфекционный скрининг

4. Гормональный скрининг с гормональными пробами

5. Иммунологический скрининг

6. Генетический скрининг

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ У ЖЕНЩИНЫ ИЗ СОСТАВА БЕСПЛОДНОЙ ПАРЫ

1. Инфекционный скрининг

2. Гормональный скрининг

3. Иммунологический скрининг

4. Генетический скрининг

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

ВВЕДЕНИЕ

Бесплодный брак - отсутствие беременности у женщины детородного возраста в течение года при регулярной половой жизни семейной пары без применения контрацептивных средств.

Условия наступления беременности:

- сперматогенез (мужской фактор);
- осеменение (коитальный фактор);
- овуляция (яичниковый фактор);
- взаимодействие цервикальной слизи и спермы (цервикальный фактор);
- нормальный pH среды в полости матки, обеспечивающий активное движение сперматозоидов;
- целостность эндометрия, нормальные размеры и форма полости матки (маточный фактор);
- проходимость маточных труб и анатомические взаимоотношения их с яичниками (трубный фактор);
- необходимые условия для слияния клеток внутри фаллопиевой трубы.

Причины бесплодия - нарушения в репродуктивной системе у одного или у обоих супругов:

- женский фактор – в 40% случаев;
- мужской фактор – в 45% случаев;
- сочетанный – в 15% случаев.

В данном методическом пособии будет рассматриваться диагностика женского и мужского бесплодия.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

КЛАССИФИКАЦИИ ЖЕНСКОГО И МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ

Классификации женского бесплодия

I. По периоду наступления:

- **Первичное бесплодие** - отсутствие беременности в анамнезе и в настоящее время несмотря на половую жизнь в течение года без средств контрацепции (60%)
- **Вторичное бесплодие** - отсутствие беременности несмотря на половую жизнь в течение года без средств контрацепции при наличии беременности в прошлом (40%)

II. По абсолютности нарушений:

- **Абсолютное бесплодие** - возможность возникновения беременности естественным путём полностью исключена (при отсутствии матки, яичников, маточных труб, аномалиях развития половых органов)
- **Относительное бесплодие** - сохранение фертильности до вступления в брак и после его расторжения, но невозможность иметь детей именно в рассматриваемом браке (очевидная причина – мужская инфертильность)

III. По периоду возникновения:

- **Врождённое бесплодие:**
 - ✓ пороки развития;
 - ✓ наследственно обусловленные нарушения гормонального контроля репродуктивной функции.
- **Приобретенное бесплодие** – следствие неблагоприятного воздействия разнообразных внешних и внутренних причинных факторов на репродуктивную систему в постнатальном периоде

IV. С учётом патогенетических факторов:

- **трубно-перитонеальное бесплодие (20-30%)** – органические или функциональные нарушения проходимости маточных труб в сочетании или без спаечного процесса в малом тазу;
- **эндокринное бесплодие** – овуляторные нарушения при отклонениях гормональной регуляции репродуктивной системы;
- **маточное бесплодие** – при патологии эндометрия (гиперплазия, полипы, синехии, аденомиоз), миоме, пороках развития матки, а также при наличии цервикальных факторов;
- **иммунологическое бесплодие (?)**.

V. С учётом причинных факторов:

- **инфекции** (инфекционное бесплодие);
- **эндокринопатии** (эндокринное бесплодие);
- **неинфекционные и неэндокринные причины** бесплодия:
 - ✓ опухолевые и опухолеподобные заболевания матки;
 - ✓ эндометриоз (в том числе аденомиоз);
- **генетические** нарушения (генетическое бесплодие);
- **вторичное (в том числе метаболическое) бесплодие** (на фоне нарушения в других органах и системах)
- **сочетанное** (сочетание выше указанных причин).

Классификации мужского бесплодия

I. По уровню поражения репродуктивной системы:

- ☐ Претестикулярные нарушения- гипогонадотропный гипогонадизм (т.е. патология гипоталамуса и гипофиза)
- ☐ Тестикулярные нарушения – гипергонадотропный гипогонадизм
- ☐ Посттестикулярные нарушения

II. С учётом причинных факторов:

- ☐ **инфекции** (инфекционное бесплодие)
- ☐ **эндокринопатии** (эндокринное бесплодие)
- ☐ **генетическое бесплодие**, связанное с дефектным сперматогенезом и сперматозоидами
- ☐ **иммунное бесплодие**
- ☐ **вторичное (в том числе метаболическое) бесплодие** (на фоне нарушения в других органах и системах)
- ☐ **сочетанное** (сочетание выше указанных причин).

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ОБСЛЕДОВАНИЯ МУЖЧИНЫ И ЖЕНЩИНЫ ИЗ СОСТАВА БЕСПЛОДНОЙ ПАРЫ

1. Обследование мужчины

Субъективный статус (Status subjektivus)

- ☐ **Жалобы**
- ☐ **Анамнестические данные:**
 - Анамнез настоящего заболевания
 - Урологический анамнез (состояние эрекции и эякуляции, урологические заболевания)
 - Анамнез жизни (характеристика особенностей становления пубертата, условий жизни, половой жизни, соматической неврологической патологии)
 - Эпиданамнез (инфекционные заболевания, контакты с инфекционными больными, парентеральные введения препаратов, нахождение в эпидемических зонах)
 - Наследственность
 - Аллергии

Объективный статус (Status objektivus)

- ☐ **Физикальное исследование:**
 - Антропометрия и типобиологическая оценка
 - Оценка выраженности и типа распределения подкожной жировой клетчатки
 - Осмотр кожных покровов и видимых слизистых оболочек
 - Оценка стигм дисэмбриогенеза
 - Оценка степени оволосения
 - Оценка полового развития
- ☐ **Оценка эректильной и эякуляторной функций (анкеты и опросники)**

❑ **Оценка органов и систем:**

- Состояния подкожных лимфатических узлов
- Костно-мышечной системы
- Щитовидной железы
- Оценка области грудных желёз (гинекомастии)
- Центральной и периферической нервной системы
- Зрения и слуха
- Сердечно-сосудистой системы
- Дыхательной системы
- Системы пищеварения
- Мочевыделительной системы
- Репродуктивной системы

❑ **Лабораторные исследования:**

- Исследование эякулята (спермограмма, актосомальной реакции сперматозоидов, определение уровня генерации свободных радикалов кислорода эякуляте - СР-тест)
- Цитологическое исследование секрета предстательной железы и семенных пузырьков
- Инфекционный скрининг
- Гормональный скрининг (с гормональными пробами)
- Иммунологический скрининг
- Генетический скрининг

❑ **Инструментальные исследования:**

- УЗИ органов мошонки и простатовезикулярного комплекса
- Уретроскопия
- Дуплексное сканирование сосудов полового члена
- Измерение ночной тумесценции полового члена
- Морфометрия наружных половых органов
- Рентгенологические методики:
 - ✓ Кавернозометрия и кавернозография
 - ✓ Магнитно-резонансная томография органов мошонки, брюшной полости и черепа
- Диагностические андрологические операции
 - ✓ Биопсия яичка
 - ✓ Ревизия паховых каналов
 - ✓ Дуктография
 - ✓ Ревизия органов мошонки
- Термография органов мошонки (дистанционная или контактная).

2. Обследование женщины

Субъективный статус (Status subjektivus)

❑ Жалобы

❑ Анамнестические данные:

- Анамнез настоящего заболевания
- Гинекологический анамнез (характеристика менструального цикла, беременностей с исходами, гинекологических заболеваний)
- Анамнез жизни (характеристика социально-экономических условий труда и быта, вредных факторов; становление пубертата; особенности половой жизни; наличие соматической негинекологической патологии)
- Эпиданамнез (инфекционные заболевания, контакты с инфекционными больными, парентеральные введения препаратов, нахождение в эпидемических зонах)
- Наследственность
- Аллергии

Объективный статус (Status objektivus)

❑ Общее физикальное обследование:

- Антропометрия и типобиологическая оценка
- Оценка выраженности и типа распределения подкожной жировой клетчатки
- Осмотр кожных покровов и видимых слизистых оболочек
- Оценка стигм дисэмбриогенеза
- Оценка степени оволосения
- Оценка полового развития

❑ Оценка органов и систем:

- Состояния подкожных лимфатических узлов
- Костно-мышечной системы
- Щитовидной железы
- Состояния молочных желёз
- Центральной и периферической нервной системы
- Зрения и слуха
- Сердечно-сосудистой системы
- Дыхательной системы
- Системы пищеварения
- Мочевыделительной системы
- Репродуктивной системы

❑ Лабораторные исследования:

- Инфекционный скрининг
- Гормональный скрининг (с гормональными пробами)

- Иммунологический скрининг
- Генетический скрининг
- ❑ Инструментальные исследования
 - Кольпоскопия и кольпомикроскопия
 - Раздельное диагностическое выскабливание слизистой цервикального канала и эндометрия
 - УЗИ органов малого таза, щитовидной железы и молочных желёз
 - Гистероскопия, эхогистеросальпингоскопия
 - Диагностическая лапароскопия
 - Кимопертубация
 - Рентгенологические методы исследования
 - ✓ Гистеросальпингография
 - ✓ Рентгенографическое исследование черепа и области турецкого седла
 - ✓ Компьютерная томография (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ)
 - ✓ Маммография
 - Радионуклидное сканирование и динамическая сцинтиграфия матки и маточных труб
 - Исследование аспирата из полости матки
- ❑ Тесты функциональной диагностики (оценка овуляции)

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ У МУЖЧИНЫ ИЗ СОСТАВА БЕСПЛОДНОЙ ПАРЫ

Функциональные исследования у мужчины с предполагаемым бесплодием производят с использованием преимущественно лабораторных методов. Они включают:

- 1) исследование эякулята (спермограмма, акросомальная реакция сперматозоидов, определение уровня генерации свободных радикалов кислорода в эякуляте - СР-тест);
- 2) цитологическое исследование секрета предстательной железы и семенных пузырьков;
- 3) инфекционный скрининг;
- 4) гормональный скрининг (с гормональными пробами);
- 5) иммунологический скрининг;
- 6) генетический скрининг.

1. Исследование эякулята.

Спермограмма

Спермограмма (от древнегреческого «σπέρμα» - семя и «γράμμα» - запись) - анализ эякулята(спермы), используемый в медицине для установления фертильности мужчины и выявления возможных заболеваний половой системы. Спермограмму назначают при жалобах супружеской пары на бесплодие, также спермограмма показана донорам спермы и людям, планирующим криоконсервацию спермы.

Сперма (от греч. σπέρμα - семя), семя, эякулят (эякулят) - жидкость (мутная, вязкая, опалесцирующая, светло-серого цвета), выделяемая при эякуляции (семяизвержении) самцами животных. Состоит из сперматозоидов и семенной жидкости. Образование спермы начинается в период полового созревания, достигает максимума в зрелом возрасте и уменьшается к старости. Объем спермы, выделяемой при каждой эякуляции, различен у разных видов. У человека её образуется в среднем 2-4 мл.

Условия сдачи спермограммы:

- ✓ перед сдачей спермы для анализа рекомендовано воздержание от половой жизни и мастурбации в течение 3-5 дней;
- ✓ за 3-5 дней избегать чрезмерного употребления крепких спиртных напитков, других токсичных веществ и осмотр уролога;
- ✓ в течение нескольких дней до анализа следует избегать посещения саун, парных, термальных ванн и прочих помещений с очень высокой температурой, т.к. высокая температура снижает подвижность сперматозоидов;
- ✓ относительно высокая стабильность показателей сперматогенеза для каждого индивидуума позволяет ограничиться одним анализом спермы при условии нормозооспермии.
- ✓ при патозооспермии анализ выполняют дважды с интервалом 7-21 дней с половым воздержанием в течение 3-5 дней.
- ✓ если результаты двух исследований резко отличаются друг от друга, проводят третий анализ;
- ✓ применение прерванного полового сношения или обычного латексного презерватива для получения эякулята недопустимо;
- ✓ все манипуляции с хранением и транспортировкой спермы осуществляют при температуре 20-36 °С;
- ✓ при отсутствии спермы и наличии оргазма проводят исследование осадка посторгазменной мочи, полученного при центрифугировании в течение 10 мин со скоростью 1500 об/мин для выявления в ней сперматозоидов; их наличие свидетельствует о ретроградной эякуляции.

Нормальные показатели спермограммы согласно Методическим указаниям ВОЗ (1999) представлены в таблицах 1 и 2. Критерии оценки подвижности сперматозоидов – в таблице 3.

Таблица 1

Нормальные значения параметров эякулята (характеристика сперматозоидов)

Показатель	Характеристика
Концентрация	≥ 20 млн /мл
Общее количество	≥ 40 млн /эякулят
Подвижность	$\geq 25\%$ категории А или $\geq 50\%$ категории А+В

Морфология	≥ 30% нормальных форм
Жизнеспособность	≥ 50% живых сперматозоидов
Агглютинация	Отсутствует
Реакция смешивания антиглобулинов (MAR-тест - mixed antiglobulin reaction)	< 50% подвижных сперматозоидов, покрытых АТ

Таблица 2

Нормальные значения параметров эякулята (характеристика семенной жидкости)

Показатель	Характеристика
Объём	≥ 2 мл
pH	7,2 – 7,8
Вид и вязкость	гомогенна, серовато-опалесцирующего цвета, длина нити не более 2 см
Разжижение	< 60 мин
Лейкоциты	< 1 млн /мл
Микрофлора	отсутствует или < 10 тыс КОЕ/мл
Цинк (общий)	≥ 2,4 мкмоль/л
Лимонная кислота	≥ 10 ммоль/л
Фруктоза	≥ 13 ммоль/л

Таблица 3

Критерии оценки подвижности сперматозоидов

Категория	Название	Характеристика движения
Категория А	Прогрессивно-активноподвижные	Двигутся прямолинейно со скоростью не менее 25 мкм/сек (в течение двух секунд преодолевают расстояние равное своей длине)
Категория В	Прогрессивно-слабоподвижные	Двигутся прямолинейно со скоростью менее 25 мкм/сек
Категория С	Непрогрессивно-подвижные	Двигутся либо непрямолинейно, либо просто шевелятся на месте
Категория D	Неподвижные	Неподвижны

В последние годы приняты поправки по оценке морфологии сперматозоидов в зависимости от метода её оценки (таблица 4)

Таблица 4

Оценка морфологии сперматозоидов

Показатель	Характеристика
Морфология	а) не по строгим критериям: ≥ 30% нормальных форм; б) по строгим критериям Крюгера– Менкфельда: ≥14% сперматозоидов нормального строения и формы

Применяемая терминология при оценке патоспермии согласно Методическим указаниям ВОЗ (1999).

➤ **Нормозооспермия** – показатели спермы соответствуют нормальным.

- **Олигозооспермия** – концентрация сперматозоидов менее 20 млн/мл.

Тератозооспермия – нормальных форм сперматозоидов менее 30% (не по строгим критериям) или <14% (по строгим критериям Крюгера–Менкфельда) при неизменённых показателях общего количества и доли подвижных форм.

- **Астенозооспермия** – подвижность сперматозоидов менее 25% категории А или менее 50% категории А+В при нормальных показателях количества и морфологии сперматозоидов.
- **Олигоастенотератозооспермия** – сочетания трёх вариантов патозооспермии.
- **Азооспермия** – сперматозоиды в сперме отсутствуют.
- **Аспермия** – отсутствие спермы как таковой (объём спермы 0 мл)
- **Олигоспермия** - объём эякулята ниже нормативного значения.
- **Лейкоцитоспермия**, так же **лейкоспермия**, так же **пиоспермия** - концентрация лейкоцитов выше нормативного значения.
- **Акиноспермия (акинозооспермия)** - полная неподвижность сперматозоидов.
- **Некроспермия (некрозооспермия)** - отсутствие живых сперматозоидов в эякуляте.
- **Криптоспермия (криптозооспермия)** - предельно малое количество сперматозоидов, которые могут быть обнаружены в эякуляте с большим трудом.
- **Гемоспермия** - присутствие крови (эритроцитов) в эякуляте.

В 2010 году ВОЗ приняла поправки к оценке параметров эякулята (табл. 5)

Таблица 5

Нормальные значения параметров эякулята (ВОЗ, 2010 г.)

Показатель	Значение
Объём эякулята (мл)	1,5 мл и более
Общее количество сперматозоидов (млн)	39 млн. и более
Концентрация сперматозоидов (млн в 1 мл)	15 млн. и более
Общая подвижность сперматозоидов (%)	40% и более
Сперматозоидов с прогрессивным движением (%)	32% и более
Жизнеспособность (%)	58% и более
Морфология: нормальных форм (%)*	4% и более

* Оценка по по строгим критериям Крюгера– Менкфельда

Причины некоторых вариантов патоспермии:

1) отсутствие эякулята (аспермия):

- хирургические вмешательства;
- обструкция семявыносящего протока;
- лекарственные препараты;
- ретроградная эякуляция

2) повышенный объём эякулята (полиспермия):

- этиология не достаточно изучена, однако замечено, что часто сопровождается олигозооспермией при нормальном общем количестве сперматозоидов в эякуляте; иногда является фактором бесплодия

3) сниженный объем эякулята (олигоспермия):

- ретроградная эякуляция;
- отсутствие Vas deferens и семенных пузырьков;
- обструкция семявыносящего протока;
- андрогенный дефицит;
- симпатическая денервация;
- кальцификация Vas deferens и семенных пузырьков (например, при сахарном диабете);
- оперативные вмешательства на шейке мочевого пузыря;
- лекарственные препараты;
- неполный оргазм;
- при мастурбации.

4) азооспермия:

- обструкция семявыносящего протока;
- склероз семенных канальцев (например, при синдроме Клайнфелтера);
- аплазия герминативного эпителия (идиопатическая форма, воздействие лекарственных препаратов, воздействие радиации, синдром Клайнфелтера (мозаицизм), ХУУ-синдром, микроделеции Y-хромосомы);
- нарушение созревания сперматозоидов (идиопатическая форма, ХУУ-синдром, варикоцеле, микроделеции Y-хромосомы, эндокринные заболевания: гипогонадотропный гипогонадизм, гипергонадотропный гонадизм, врожденная гиперплазия коры надпочечников).

5) олигозооспермия:

- идиопатическая форма;
- последствие крипторхизма;
- варикоцеле;
- лекарственные воздействия;
- микроделеции Y-хромосомы;
- эндокринные заболевания (гипогонадотропный гипогонадизм, гиперпролактинемия, гипотиреоз, врожденная гиперплазия коры надпочечников, гиперкортизолизм, болезнь Аддисона аутоиммунной этиологии и при адренолейкодистрофии).

6) астенозооспермия:

- антиспермальные антитела;

- идиопатическая форма;
- инфекции;
- длительное половое воздержание;
- структурные дефекты сперматозоидов (синдром Картангера);
- эндокринные заболевания (акромегалия, недостаточность гормона роста, гипопролактинемия, гиперпролактинемия, ожирение, гипотиреоз, тиреотоксикоз).

Оценка акросомальной реакции сперматозоидов (АР)

В 5-10% случаев причиной бесплодия неясного генеза служит нарушение спонтанной и/или индуцированной АР. При нормально протекающем процессе связывание сперматозоидов с яйцеклеткой приводит к высвобождению из головки сперматозоида комплекса ферментов, среди которых основную роль играет акрозин, обеспечивающий разрушение оболочки яйцеклетки и проникновение в неё сперматозоида.

Оценка акросомальной реакции стала возможной после внедрения метода проточной цитофлуориметрии, который позволяет выявлять антиспермальные АТ трех классов — IgG, IgA и IgM, определять процент сперматозоидов, покрытых АТ, с местом локализации последних на мужских половых клетках и осуществлять контроль за эффективностью проводимого лечения.

Приняты следующие нормальные показатели АР: спонтанная (<20 усл. ед.), индуцированная (>30 усл. ед.), индуцируемость (>20 и <30 усл. ед.).

Принято различать два типа нарушений акросомальной реакции:

1) спонтанная акросомальная реакция — высвобождение содержимого акросомы происходит в половой системе мужчины или женщины до взаимодействия сперматозоида с яйцеклеткой. Показатель спонтанной акросомальной реакции, превышающий 20%, свидетельствует о преждевременном ее наступлении, т.е. до связывания сперматозоида с яйцеклеткой.

2) недостаточность индуцированной акросомальной реакции — при контакте сперматозоида с оболочкой яйцеклетки данная реакция не происходит. Показатель индуцированной акросомальной реакции менее 30% позволяет сделать заключение о наличии акросомальной недостаточности и невозможности оплодотворения сперматозоидом.

Тест, определяющий уровень генерации свободных радикалов кислорода в эякуляте

(СР-тест)

Оценка СР-теста — один из важных показателей, позволяющий дать характеристику фертильности спермы. Свободные радикалы кислорода — это химические элементы, несущие непарные электроны, которые взаимодействуют с другими свободными радикалами и молекулами, участвуют при этом в окислительно-восстановительных реакциях. Избыточное образование СР может приводить к активации перекисного окисления липидов плазматической мембраны сперматозоидов и повреждению клеток. Источником СР в генитальном тракте могут

быть сперматозоиды и семенная жидкость. Известно, что у мужчин при патозооспермии и даже нормозооспермии можно обнаружить высокий уровень свободных радикалов.

Показания для проведения СР-теста — бесплодие на фоне нормо- и патозооспермии, нормального полового развития при отсутствии системных и гормональных заболеваний, инфекций половой системы.

Нормальные показатели СР-теста соответствуют $<0,2$ мВ.

2. Цитологическое исследование секрета предстательной железы и семенных пузырьков.

Секрет предстательной железы получается после массажа железы совместно с секретом семенных пузырьков.

Варианты микроскопии:

- ✓ Нативного мазка по методу раздавленной капли (светлопольная микроскопия)
- ✓ Фиксированного окрашенного мазка (светлопольная микроскопия)

Производится оценка следующих параметров:

- объема полученного материала;
- количества лецитиновых (липоидных) зерен;
- количества лейкоцитов;
- количества клеток эпителия;
- количества слепков, их количества, размеров, состава (из лейкоцитов, лецитиновых зерен, эпителия);
- наличия слизи;
- наличия гиалиновых шаров (амилоидных телец)
- наличия микроорганизмов и их разновидности

Производят также оценку «феномена кристаллизации секрета простаты», который является косвенным тестом на андрогенную насыщенность организма. При этом высушенную каплю секрета простаты смачивают физиологическим раствором (капля на каплю) и после высыхания оценивают количество «уровней» кристаллизации - симптом папоротника («стволы», «ветви», «веточки» и т. д.). Запись производится по количеству максимально найденных перекрестий (уровней) кристаллизации (норма — +++ или ++++).

3. Инфекционный скрининг

Включает определение репродуктивно значимых инфекций: сифилиса (возбудитель *Treponema pallidum*), гонореи (возбудитель *Neisseria gonorrhoeae*), урогенитального трихомониаза (возбудитель *Trichomonas vaginalis*), урогенитального хламидиоза (возбудитель *Chlamydia trachomatis* 15 сероваров от А до К), урогенитального микоплазмоза (возбудители - *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*), урогенитальной герпетической инфекции (возбудитель *Herpes simplex virus* 1 и 2 типов). Основными из них являются урогенитальная хламидийная, микоплазменная и трихомонадная инфекции.

Причины бесплодия у мужчин при инфекционной патологии:

- ❑ Количественные и качественные нарушения эякулята (тестикулярные и посттестикулярные нарушения).
- ❑ Невозможность осуществления полового акта (эректильная и/или эякуляторная дисфункция).

Количественные и качественные нарушения эякулята

1. Тестикулярные нарушения за счёт орхита (секреторное и иммунологическое бесплодие)

- а) повреждение клеток герминативного эпителия и интерстиция:
 - вовлечение в воспалительный процесс герминативного эпителия приводит к нарушению сперматогенеза за счёт нарушения аутокринных механизмов и рецепции к ФСГ (снижение количества и качества сперматозоидов)
 - вовлечение в воспалительный процесс интерстициальных клеток Лейдига нарушает рецепцию к ЛГ и снижает выработку тестостерона – нарушение по типу гипергонадотропного гипогонадизма (снижение количества и качества сперматозоидов)
- б) повреждение сперматозоидов:
 - факторами патогенности микроорганизмов (снижение качества сперматозоидов)
 - возникновение аутоиммунных реакций (снижение качества сперматозоидов)

2. Посттестикулярные нарушения за счёт воспалительного процесса в других органах репродуктивной системы (эксекреторное и иммунологическое бесплодие)

- а) повреждение семявыносящих протоков за счёт рубцового процесса - непроходимость семявыносящих путей (снижение количества сперматозоидов)
- б) повреждение сперматозоидов:
 - факторами патогенности микроорганизмов (снижение качества сперматозоидов)
 - возникновение аутоиммунных реакций (снижение качества сперматозоидов)
- в) снижение качества семенной плазмы за счёт снижения качества экскретов семенных пузырьков и предстательной железы (снижение качества сперматозоидов)

Положения, касающиеся инфекционного процесса у половых пар, вызванного репродуктивно значимыми половыми инфекциями и доказанные клинической и лабораторной практикой:

1. Половую пару необходимо рассматривать как единое целое или единую инфекционную систему; при подтверждении инфекции у одного партнёра - имеет место обязательное инфицирование другого (при половой жизни без презерватива).

2. При свежем заражении (примерно до 3 месяцев), по сравнению с хронической инфекцией: у мужчин: хламидии, микоплазмы, трихомонады и др. намного чаще, чем в других эпитопах, могут обнаруживаться в уретре; у женщин: хламидии – намного чаще в уретре, вагине и

эндоцервиксе; при микоплазменной и трихомонадной - примерно с одинаковой частотой возбудитель выделяется из вагины как при остром, так и при хроническом процессе.

3. Обсеменённость первичных половых путей при хронизации инфекции не отражает истинную картину инфекционного процесса в других органах мочеполовой системы.

4. Самой оптимальной провокацией для микоплазменной и трихомонадной инфекций является неадекватная антибиотикотерапия и другие воздействия, снижающие иммунитет; однако при хламидийной инфекции образуются персистентные формы, которые продолжительное время ограничивают определение возбудителя и лечение данной инфекции.

5. Серологические тесты достаточно информативны только в случае хламидийной инфекции и сифилиса; при микоплазменной и трихомонадной инфекциях часто имеют место ложно-положительные и ложно-отрицательные результаты.

Лабораторные методы, реально используемые при диагностике хламидийной инфекции у мужчин:

- идентификация возбудителя методом ПЦР в уретре и эякуляте (ПЦР-тест-система «АмплиСенс» производства ЦНИИ Эпидемиологии МЗ РФ);
- определение специфических антител в сыворотке крови (оптимально в т/с Organics: бивалент – IgG и моновалент – IgA или на других импортных системах);
- определение специфических антител в эякуляте (в т/с Organics: моновалент – IgA).

Лабораторные методы, реально используемые при диагностике микоплазменной инфекции у мужчин:

- идентификация возбудителя методом ПЦР в уретре и эякуляте (ПЦР-тест-система «АмплиСенс» производства ЦНИИ Эпидемиологии МЗ РФ);
- посев на жидкие питательные среды с количественным тестом соскоба из уретры и эякулята (тест-система «Mycoplasma duo» производства Sanofi diagnostics Pasteur).

Лабораторные методы, реально используемые при диагностике трихомонадной инфекции у мужчин:

- микроскопия отделяемого из уретры и эякулята (светлопольная и тёмнопольная - способ раздавленной капли – нативный препарат);
- микроскопия утреннего осадка мочи (светлопольная и тёмнопольная - способ раздавленной капли – нативный препарат);
- культуральный: посев отделяемого из уретры и эякулята (на бульонных средах);
- культуральный: посев утреннего осадка мочи (на бульонных средах).

4. Гормональный скрининг с гормональными пробами.

Основная задача – установление гипогонадизма и его разновидности.

Гипогонадизм (тестикулярная недостаточность) — патологическое состояние, клиническая картина которого обусловлена стойким, часто необратимым снижением в организме

уровня андрогенов (гипоандрогения) или ослаблением их действия (Козлов Г. И., 2000). Гипогонадизм характеризуется недоразвитием половых органов, вторичных половых признаков и, как правило, бесплодием (Дедов И. И. [и др.], 2000).

Варианты гипогонадизма:

Первичный гипогонадизм развивается как результат врожденных или приобретенных нарушений функции яичек; его отличительным признаком является снижение циркуляции продуцируемых яичками гормонов (тестостерона и ингибина) при значительном возрастании уровня гонадотропинов (ЛГ и ФСГ) как результат реализации механизма отрицательной обратной связи. Поэтому первичный гипогонадизм называется **гипергонадотропным**.

Изолированное снижение секреции одного из гонадотропинов (ФСГ или ЛГ) или снижение продукции одновременно ФСГ и ЛГ рассматривается как результат врожденного или приобретенного поражения гипофиза (**вторичный гипогонадизм**) или гипоталамуса (**третичный гипогонадизм**).

Две последние формы характеризуются снижением секреции гонадотропинов и их объединяют под названием **гипогонадотропный гипогонадизм**.

Классификация гипогонадизма

Гипергонадотропный (первичный) гипогонадизм врожденный:

А) Нарушение развития гонад:

- Дисгенез семенных канальцев - синдром Клайнфелтера и его варианты.
- Аплазия герминальных клеток (Сертоли-клеточный синдром I и II дель Кастильо, синдром клеток Сертоли I и II).
- Микроделеции AZF-локусов Y-хромосомы.
- Синдром тестикулярной регрессии (анорхизм, синдром рудиментарных яичек, истинный агонадизм).
- Первичная гипоплазия клеток Лейдига.
- Крипторхизм.
- Синдром Ульриха-Нунан.
- Синдром дисгенезии гонад (в том числе смешанной формы).
- Синдром 46XX у мужчин и подростков, или синдром де ля Шапеля.
- Синдром двух или трех Y (47,XYY, 48,XYYY).
- Синдром неподвижности ресничек (синдром Картагенера).

Б) Нарушение развития протоков:

- Аплазия вольфовых протоков (муковисцидоз).
- Синдром персистенции мюллеровых протоков (hernia uteri inguinale).

В) Нарушение развития половых протоков из-за недостаточности биосинтеза андрогенов:

- Недостаточность 20, 22-десмолазы.
- Недостаточность 3 β -гидроксистероидной дегидрогеназы.
- Недостаточность 17 α -гидроксилазы.
- Недостаточность 17,20-десмолазы.
- Недостаточность 17 β -гидроксистероидной дегидрогеназы.

Гипергонадотропный (первичный) гипогонадизм приобретенный:

- Инфекционные агенты (орхит после паротита, лепры и др в т.ч. половых инфекций).
- Повреждение яичек (травма , перекрут).
- Радиоактивное облучение яичек.
- Аутоиммунная недостаточность яичек.
- Идиопатическая олигозооспермия и азооспермия.
- Сосудистые нарушения (варикоцеле).

Гипогонадотропный гипогонадизм (вторичный и третичный) врожденный:

- Идиопатический гипогонадизм, сформированный в результате вредных воздействий в антенатальном, интранатальном и постнатальном периоде.
- Ольфактогенитальный синдром (синдром Кальмана I, II, III).
- Изолированная недостаточность ЛГ (синдром Маккола или синдром «фертильного евнуха», синдром Паскулиани).
- Преимущественный или иногда изолированный дефицит ФСГ.
- Адипозогенитальная дистрофия (синдром Бабинского-Фрелиха).
- Гипогонадизм со сниженной секрецией ЛГ, ФСГ и кортикотропина (синдром Меддока).
- Синдром неполной маскулинизации со снижением ЛГ, ФСГ и Т.
- Врожденная гипоплазия надпочечников.
- Гипогонадотропная недостаточность при генетических синдромах Прадера-Вилли, Лоренса-Муна-Барде-Бидля, Руда.
- Гемохроматоз.
- Изолированное повышение ФСГ в крови.
- Гипогонадизм, связанный с тотальной недостаточностью гипофиза при гипофизарном нанизме.
- Гипопитуитаризм.
- Другие формы гипогонадизма (гипогонадизм при гермафродитизме и др.)

Гипогонадотропный гипогонадизм (вторичный и третичный) приобретенный:

- Приобретенная недостаточность гонадотропинов - гипопитуитаризм (воспалительные процессы, травмы с переломом основания черепа, сосудистые аневризмы).
- Патологические состояния, связанные с повышением секреции ПРЛ.
- Гипогонадизм, связанный с тотальной недостаточностью гипофиза при гипофизэктомии.

- Ятрогенный и лекарственный гипогонадизм.

Гипогонадизм, обусловленный резистентностью органов-мишеней:

- Недостаточность рецепторов к андрогенам.
- Синдром полной резистентности к андрогенам.
- Синдром тестикулярной феминизации или синдром Морриса.
- Синдром неполной резистентности к андрогенам и синдром Рейфенштейна.
- Микропенис (синдром микрогенитализма).
- Недостаточность 5 α -редуктазы типа 2.

Симптоматический гипогонадизм, формирующийся на фоне системных заболеваний, нарушающих обмен веществ и функцию гонад:

➤ ***Эндокринных заболеваний:***

- ✓ декомпенсированный сахарный диабет;
- ✓ заболевания надпочечников (адреногенитальный синдром, вирилизирующие опухоли надпочечников);
- ✓ заболевания щитовидной железы (гипотиреоз, тиреотоксикоз);
- ✓ ожирение и инсулинорезистентность.

➤ ***Неэндокринной (соматической) патологии:***

- ✓ заболевания сердечно-сосудистой системы;
- ✓ заболевания дыхательной системы;
- ✓ заболевания системы кроветворения;
- ✓ заболевания пищеварительной системы и печени;
- ✓ заболевания мочевыделительной системы (в т.ч. почечная недостаточность)
- ✓ заболевания нервной системы

➤ ***Заболеваний, связанных с системным воздействием экзогенных факторов:***

- ✓ состояние хронического стресса;
- ✓ алиментарные факторы (микроэлементозы, гиповитаминозы)
- ✓ нарко- и токсикомания (в т. ч. алкоголизм);

При проведении гормонального скрининга основным является определение уровней гормонов (табл. 6)

Таблица 6

Гормоны, определение которых значимо при нарушениях в репродуктивной системе у мужчин

Гормоны		
АКТГ	Прогестерон (ПРГ)	Тироксин свободный (FT4)
Андростендион (A4)	Пролактин (ПРЛ)	Тироксин общий (TT4)
17-ОН-ПРГ	СТГ	Трийодтиронин свободный FT3)
ДГЭА	Тестостерон общий (ТТ)	Трийодтиронин общий (ТТ3)

ДГЭА-S	Тестостерон свободный (FT)	Кортизол
ФСГ	ТТГ	Ингибин В
ЛГ	Эстрадиол (E2)	Инсулин

Наиболее важными из них являются тестостерон (Т), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), пролактин (ПРЛ), эстрадиол (Е2).

Тестостерон. Показатель, позволяющий точно оценить андрогенную функцию половых желез, — содержание тестостерона, обладающего наиболее важным как специфическим, так и общим воздействием на мужской организм («супергормон»). Наиболее часто определяют концентрацию общего тестостерона и гораздо реже — свободного; однако именно свободный тестостерон взаимодействует с рецепторами и обладает наибольшей биологической активностью, поэтому определение его содержания в крови позволяет выявлять различные гормонально-поведенческие корреляции и объективно оценивать эффективность гормонотерапии. Показаниями для определения концентрации тестостерона в крови у мужчин служат клинические проявления гипогонадизма, гипоандрогении, патозооспермия, различные нарушения сексуальной функции и климактерический синдром. Оценка уровня тестостерона позволяет определить целесообразность заместительной гормональной терапии и контролировать ее эффективность.

ФСГ. Определение содержания в сыворотке крови у мужчин ФСГ проводят с целью дифференциальной диагностики различных форм гипогонадизма, а также при олиго- или азооспермии при нормальном или измененном объеме яичек. При нарушениях сперматогенеза нормальная концентрация ФСГ в крови при отсутствии других причин выявленных нарушений может свидетельствовать в пользу обструкции семявыносящих путей. Однако в этих случаях нельзя исключить нарушения созревания сперматозоидов на различных стадиях сперматогенеза. Повышение концентрации ФСГ, как правило, свидетельствует о серьезных изменениях в продукции половых гамет, включая так называемый синдром одних клеток Сертоли или блок созревания сперматоцитов на ранней и поздней стадиях (сперматоциты I-II). У мужчин с признаками гипогонадизма высокий уровень ФСГ может быть следствием первичной тестикулярной недостаточности с нарушением функций клеток Лейдига. При нормальных значениях ФСГ гипогонадизм может быть обусловлен функциональным поражением гипоталамо-гипофизарно-тестикулярной системы или опухолью гипофиза. Определение концентрации ФСГ имеет также прогностическую ценность для пациентов с варикоцеле и патозооспермией, поскольку при повышенных значениях этого гормона вероятность восстановления фертильности после оперативного лечения невысока.

ЛГ. По данным ряда авторов, определение ЛГ в крови целесообразно при одновременной оценке концентрации тестостерона с определением соотношения ЛГ/тестостерон, что будет указывать при их высоком значении на резистентность клеток Лейдига и неблагоприятный прогноз терапии бесплодия.

ПРЛ. Показания для измерения содержания ПРЛ в крови - эректильная дисфункция, клинические признаки гиперпролактинемии и гипоандрогении. При высоких значениях ПРЛ исследование желательно повторить для исключения ложноположительных результатов, так как визит к врачу и процедура забора крови могут сами по себе спровоцировать повышение уровня ПРЛ в крови.

Эстрадиол. Определение концентрации Е2 в крови проводят у пациентов с гинекомастией, которая может возникать при опухолях надпочечников или яичек.

Функциональные пробы

Определение базального (фонового) уровня гормонов чаще позволяет сделать вывод лишь о наличии какого-либо заболевания, однако точно оценить характер эндокринных нарушений с помощью этих данных бывает сложно. Применение дополнительных специальных методов диагностики дает возможность более тонко охарактеризовать состояние различных звеньев репродуктивной системы, уточнить уровень поражения и разграничить патологию и варианты физиологической нормы.

1) проба с хорионическим гонадотропином

Цель. Диагностика первичного и вторичного гипогонадизма.

Биологическая активность ХГЧ сходна с таковой у ЛГ: при введении ХГЧ клетки Лейдига стимулируются, а продукция тестостерона повышается.

Показания. Клиническая картина гипогонадизма, низкая концентрация тестостерона в крови (менее 10 нмоль/л).

Методика. Существует два варианта теста с ХГЧ (Прегнилом):

➤ Пациенту внутримышечно вводят 1500 ЕД ХГЧ в течение четырёх дней; концентрацию тестостерона в сыворотке крови определяют перед первым введением и через 24 ч после последней инъекции.

➤ Пациенту однократно вводят 2500-5000 ЕД ХГЧ; концентрацию тестостерона определяют до введения ХГЧ и через 72 ч после; при определении концентрации тестостерона необходимо учитывать, что для получения более точного результата следует брать три пробы крови с интервалом 15-20 мин, а концентрацию гормона определять в смеси из трёх сывороток.

Интерпретация. Введение ХГЧ стимулирует клетки Лейдига и увеличивает продукцию тестостерона. Нарушение секреторного ответа свидетельствует о функциональной несостоятельности этих клеток или об их поражении. Таким образом, при первичном гипогонадизме исходная концентрация тестостерона в сыворотке крови значительно снижена и не повышается при стимуляции. В норме и при вторичном гипогонадизме в ответ на введение ХГЧ концентрация тестостерона значительно повышается (более 50% от исходного).

2) определение эстрогенной насыщенности организма

Ее оценивают по содержанию Е2 в плазме крови и количеству эпителиальных клеток в моче. Считается, что у здоровых мужчин в 1 мм. куб. осадка мочи содержится 50-60 эпителиальных клеток. При увеличении синтеза эстрогенов количество эпителиальных клеток в моче значительно увеличивается. Кроме того, повышение эстрогенной насыщенности на фоне лечения свидетельствует о неадекватности терапии и отрицательно сказывается на клиническом течении заболевания.

3) проба с кломифеном

Цель. Оценка гонадотропных резервов гипофиза.

Показания. Подозрение на гипогонадотропный гипогонадизм.

Противопоказания. Проведение пробы противопоказано больным, в анамнезе которых имеются депрессивные состояния.

Методика. Кломифен назначают в дозе 100 мг/сут в течение 5 дней.

Интерпретация. 1) в норме кломифен способствует стимуляции секреции ЛГ и ФСГ; 2) при вторичном гипогонадизме, вызванном поражением гипофиза, адекватного выброса ЛГ и ФСГ не происходит.

4) тест с гонадотропин-рилизинг гормоном

Цель. Оценка гонадотропных резервов гипофиза.

Показания. Подозрение на гипогонадотропный гипогонадизм.

Методика. Для проведения теста можно использовать препарат естественного гонадотропин-рилизинг гормона путём болюсного внутривенного введения в дозе 50-100 мкг или аналогов люлиберина со сроком действия 24 ч: трипторелин 0,1 п/к или бусерелин по одной капле в каждую ноздрю. Образцы крови при внутривенном введении Гн-РГ берут до и через 30, 60, 90 и 120 мин после введения препарата; максимальный подъём ЛГ фиксируют на 30-й мин, ФСГ — на 60-90-й мин теста. При использовании аналогов Гн-РГ образцы крови берут до и через 1 и 4 ч после введения препарата; у большинства исследуемых подъём ЛГ и ФСГ происходит через 1 ч после начала теста; однако у некоторых исследуемых увеличение концентрации гонадотропинов отмечается только через 4 ч после введения препарата.

Интраназальное введение бусерелина может привести к ложноотрицательным результатам (в тех случаях, когда у больного имеется отек слизистой носа или её атрофия); поэтому более достоверные результаты могут быть получены только при применении трипторелина со сроком действия 24 ч. Кроме того, бусерелин, выпускаемый в форме флаконов, содержащих 20 мл препарата, неудобен для проведения диагностики в клиниках, где пациенты с патологией полового созревания встречаются редко; в этих случаях целесообразнее использовать трипторелин.

Интерпретация результатов. Если гипогонадизм обусловлен патологией аденогипофиза, уровень ЛГ не увеличивается. Если имеется патология гипоталамуса, то уровень ЛГ значительно повышается.

**5) проба на толерантность к глюкозе и скрытую инсулинорезистентность
(оральный глюкозотолерантный тест – ОГТТ с определением инсулина)**

Цель. Диагностика НТГ.

Показания. 1) обнаружение пограничных значений концентрации гликемии натощак (содержание глюкозы в капиллярной крови от 5,5 ммоль/л до 6,1 ммоль/л); 2) любые цифры глюкозы до 6,1 ммоль/л при наличии ожирения, патоспермии у мужчин, сочетающиеся со снижением тестостерона.

Противопоказания. СД

Подготовка. Перед проведением теста необходимо голодать в течение 12 ч. В течение трёх предыдущих дней следует употреблять пищу с достаточным содержанием углеводов. За 3 дня до теста следует отменить тиазидные диуретики, контрацептивы и глюкокортикоиды.

Методика. Пробу проводят утром натощак после голодания в течение 12 ч. Определяют концентрацию гликемии и инсулина натощак. Пациенту дают 75 г глюкозы, разведённой в 250-300 мл воды в течение 5 мин. Через 2 ч повторно определяют концентрацию глюкозы и инсулина в крови. Во время проведения пробы пациент должен придерживаться умеренной физической активности.

Интерпретация. Если концентрация глюкозы в капиллярной или цельной венозной крови до 7,8 ммоль/л, то толерантность к глюкозе сохранена. Показатели гликемии больше 7,8, но меньше 11,1 ммоль/л соответствуют диагнозу нарушенной толерантности к глюкозе (НТГ). Показатели инсулина после введения глюкозы не должны превышать 30 мкМЕ/мл

На рисунке 1 представлен алгоритм дифференциальной диагностики и тактика ведения мужчин с гипогонадизмом. При этом возможны различные варианты патоспермии.

На рисунке 2 представлен алгоритм дифференциальной диагностики и тактика ведения мужчин с азооспермией и олигозооспермией.

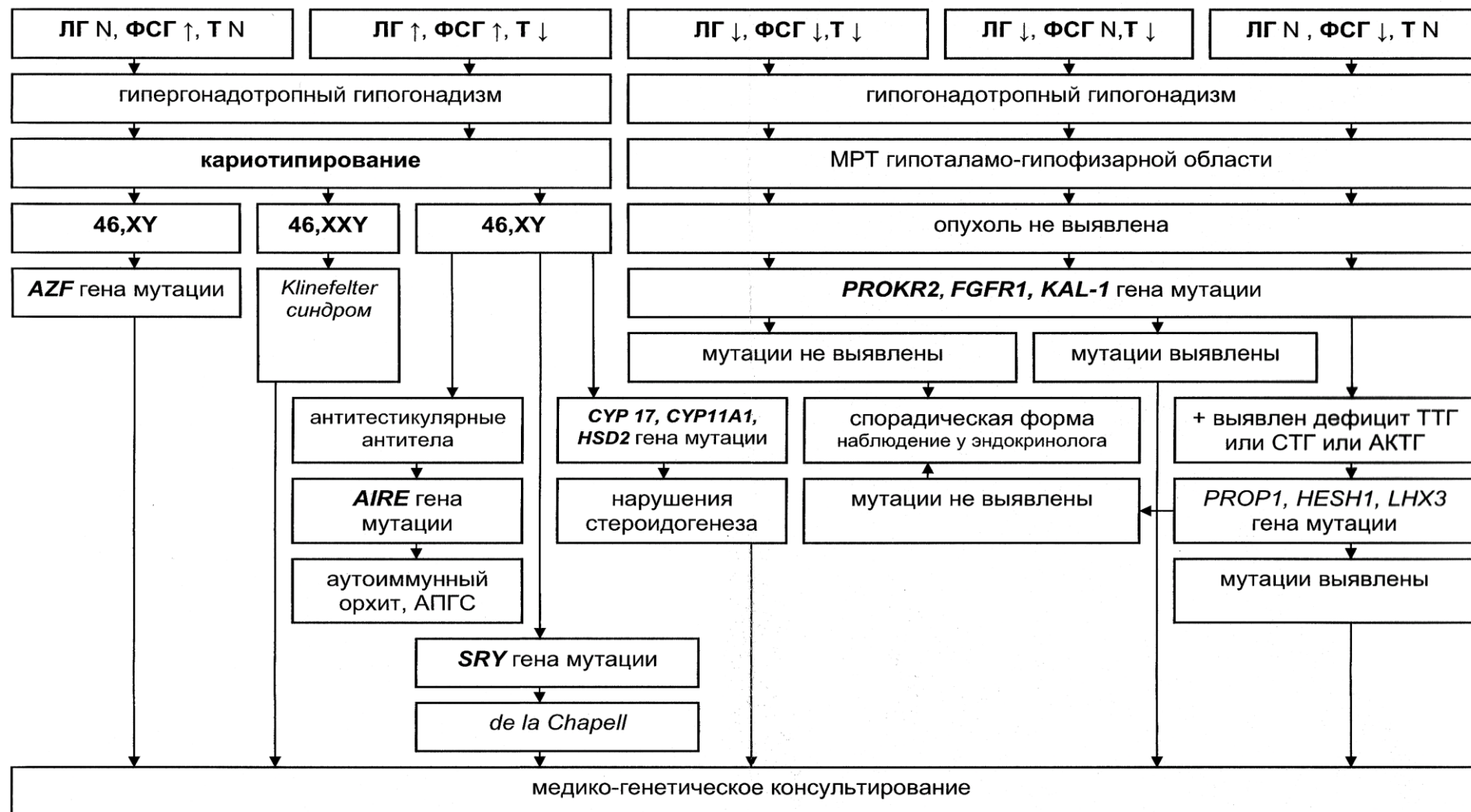


Рисунок 1. Алгоритм дифференциальной диагностики и тактика ведения мужчин с гипогонадизмом
(Иванов Н.В., Петруничев А.Ю., 2010)

(при условии исключения приема лекарств, влияющих на метаболизм андрогенов, хронических соматических заболеваний и хронических интоксикаций)

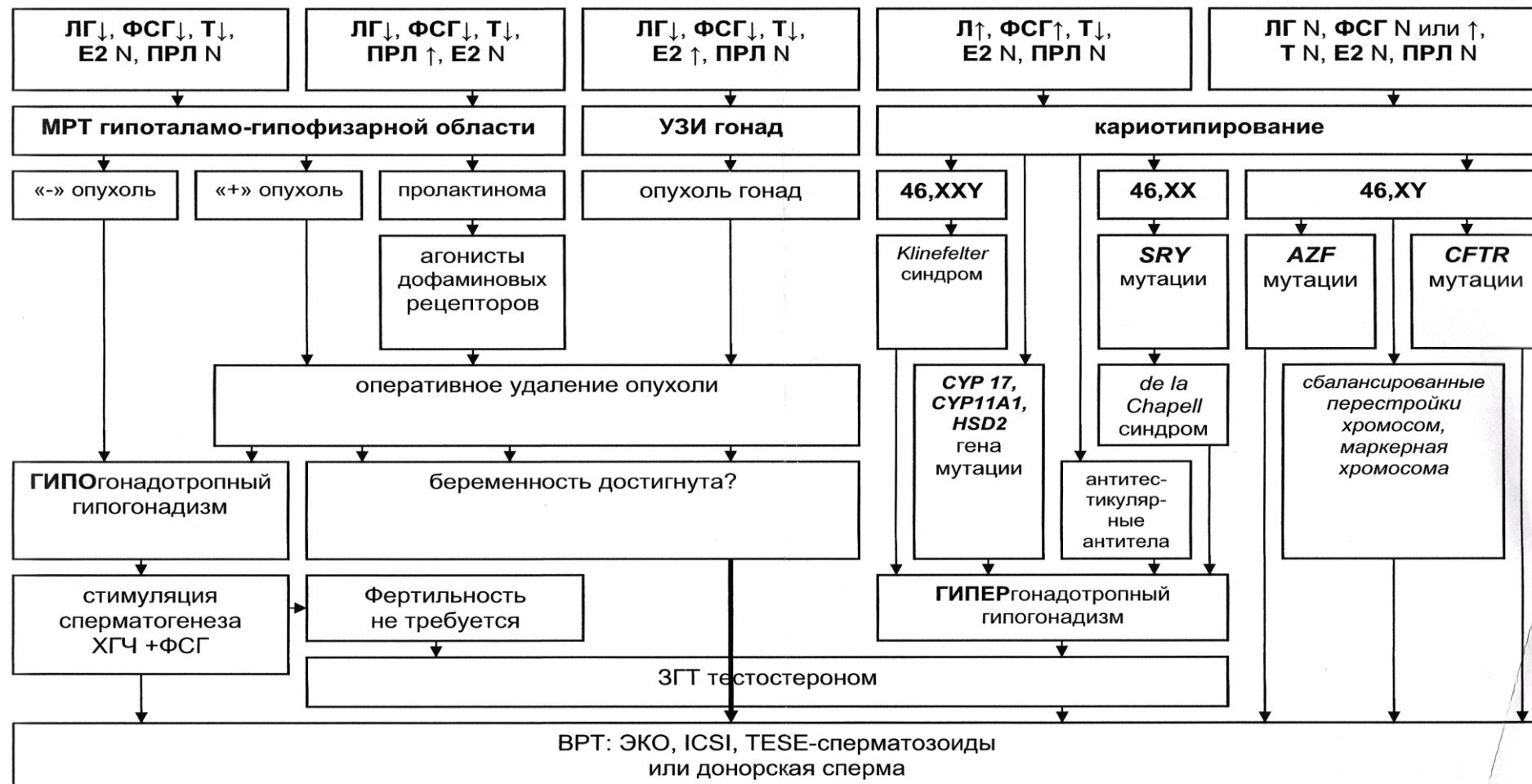


Рисунок 2. Алгоритм дифференциальной диагностики и тактика ведения мужчин с азооспермией, олигозооспермией
(Иванов Н.В., Петруничев А.Ю., 2010)
(при условии исключения тяжелых соматических заболеваний, сахарного диабета, лекарств, влияющих на репродуктивную систему, хронических интоксикаций и вредных производственных воздействий)

5. Иммунологический скрининг

Определяет причину иммунологического бесплодия. В настоящее время известно, что частота иммунологического бесплодия составляет в различных популяциях от 5 до 15%. Иммунологические нарушения фертильности спермы, процессов оплодотворения и раннего эмбриогенеза связывают с наличием специфических АТ к гаметам, в частности к сперматозоидам — антиспермальных АТ. Согласно литературным данным, частота их выявления у пациентов, состоящих в бесплодном браке, значительно колеблется и зависит от многих причин, составляя в среднем для мужчин 15%. Антиспермальные АТ относятся к классам IgG, IgA и IgM; они могут присутствовать у одного или у обоих половых партнеров в сыворотке крови и/или различных секретах половой системы - в эякуляте, цервикальной слизи, перитонеальной и фолликулярной жидкостях, внутриматочном содержимом и т.д. Степень нарушения фертильности определяется классом антиспермальных АТ, их количеством в секретах, плотностью покрытия ими поверхности сперматозоида и точкой приложения действия АТ на сперматозоид. Среди антиспермальных АТ различают спермоиммобилизирующие, спермоагглютинирующие и спермолизующие. Установлено, что АТ класса IgG в основном прикрепляются к головке и хвосту сперматозоида, IgA - к хвосту и реже к головке. Для IgM более характерна локализация в области хвоста. Антиспермальные АТ, прикрепленные к хвосту сперматозоида, препятствуют лишь его миграции через цервикальную слизь и в основном не оказывают существенного влияния на процессы оплодотворения. Напротив, АТ, фиксированные к головке сперматозоида, не нарушают его подвижность, однако подавляют пенетрационную способность. Для мужчин более типично образование АТ классов IgG и IgA.

В зависимости от сочетания этих факторов механизм влияния антиспермальных АТ на репродуктивную функцию проявляется следующим образом:

- 1) нарушение сперматогенеза, приводящее к олиго-, терато- и азооспермии;**
- 2) снижение и/или подавление подвижности сперматозоидов:**
 - агглютинация в семенной плазме;
 - нарушение миграции через канал шейки матки, саму матку и маточные трубы;
 - деструкция сперматозоидов в половых органах женщины посредством воздействия активированного комплемента.
- 3) подавление процесса взаимодействия гамет:**
 - капацитации и акросомальной реакции;
 - связывания и пенетрации;
 - слияния сперматозоида с ооцитом;
 - слияния пронуклеусов.
- 4) трубно-перитонеальный фактор:**

- наличие антиспермальных АТ в маточных трубах;
- присутствие АТ в перитонеальной жидкости;
- нарушение перистальтики маточных труб.

5) блокирование процесса имплантации эмбриона.

Иммунологическая толерантность яичка обусловлена двумя факторами: 1) наличием гематотестикулярного барьера; 2) иммуносупрессивной активностью клеток Сертоли.

Несмотря на то, что точные причины образования антиспермальных АТ неизвестны, существует ряд предрасполагающих факторов, обуславливающих нарушение гематотестикулярного барьера (рис. 3).

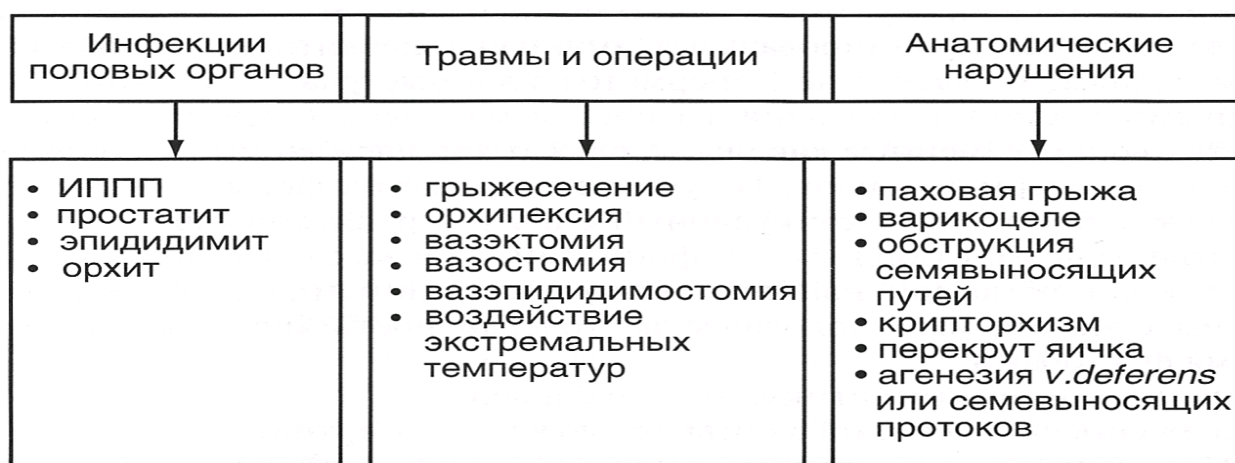


Рисунок 3. Факторы, приводящие к нарушению гематотестикулярного барьера и формированию иммунологического бесплодия

Таким образом, очевидно, что антиспермальный иммунный ответ — результат нарушения баланса в физиологических защитных механизмах:

- гематотестикулярном барьере;
- иммуносупрессивных факторах семенной плазмы у мужчин;
- супрессивных механизмах иммунорегуляции мужчин и женщин.

Существуют следующие методы иммунодиагностики при бесплодии:

1) исследование общего иммунитета (лабораторно-диагностические методы)

- Определение иммунного статуса.
- Определение антиспермальных антител в сыворотке крови

2) исследование локального иммунитета (лабораторно-диагностические методы:

микроспермоагглютинация, макроспермоагглютинация, спермоиммобилизация, непрямая флуоресценция, проточная цитофлуорометрия: оценка антиспермальных антител и АР).

3) биологические методы - пробы на совместимость и пенетрационную способность сперматозоидов:

- Проба Шуварского-Гунера (посткоитальный тест). Определяют подвижность сперматозоидов в исследуемой шейечной слизи.
 - Тест Кремера. Измерение пенетрационной способности сперматозоидов в капиллярных трубочках.
 - Проба Курцрока-Миллера. Оценивают проникающую способность сперматозоидов в шейечную слизь.
 - Проба по Буво и Пальмеру. Перекрёстный пенетрационный тест с использованием донорской спермы и церикальной слизи.
 - MAR-тест.
 - Тест пенетрации прозрачной зоны яйцеклетки золотистого хомячка сперматозоидом.
- Считают, что способность сперматозоида соединяться с мембранами лишённых оболочки ооцитов хомяка характеризует АР и способность к пенетрации.
- *Hemizona* анализ — один из методов оценки АР.
 - Оплодотворение ооцитов *in vitro*. Тесты перекрёстного оплодотворения с использованием донорских сперматозоидов и зрелых яйцеклеток.

Рассмотрим наиболее часто используемые тесты для определения иммунных механизмов бесплодия.

1) выявление антиспермальных антител

Антиспермальными антителами (АСАТ) называют антитела против антигенов сперматозоидов. Такие антитела может вырабатывать как организм мужчины против собственных сперматозоидов, так и организм женщины. Антиспермальные антитела могут вызывать бесплодие иммунной природы. Связываясь с антигенами на головке сперматозоидов антиспермальные антитела могут блокировать рецепторы связывания сперматозоида и яйцеклетки (сперматозоид не может присоединиться к оболочке яйцеклетки, чтобы начать акросомную реакцию). Связываясь с антигенами на хвосте сперматозоида, АСАТ могут затруднить движения сперматозоида.

Распространённым признаком присутствия в сперме АСАТ является так называемая «спермагглютинация» — специфическое склеивание сперматозоидов, прилипание сперматозоидов друг к другу. Спермагглютинацию следует отличать от так называемой «спермагрегации» — неспецифического склеивания вследствие присутствия в сперме слизи. Спермагрегация является вариантом нормы и клинического значения не имеет. При спермагглютинации подвижные сперматозоиды образуют небольшие группы склеивания — несколько сперматозоидов склеиваются одинаковыми частями своей клетки — «головка к головке» или «хвост к хвосту» или «шейка к шейке». Подобные группы склеивания иногда называют «розетки». Как правило, количество розеток невелико — одно на несколько полей зрения микроскопа, но может носить и массовый характер. Округлые клетки в агглютинации не участвуют и в состав «розеток» не

входят. При агрегации сперматозоиды образуют большие скопления (от десятков до сотен). Такие скопления часто образуют форму «тяжа» и включают в себя округлые клетки.

2) MAR-тест - смешенная реакция агглютинации

MAR-тест (MAR - Mixed Antiglobulin Reaction) - метод определения доли сперматозоидов (выраженной в процентах), покрытых антиспермальными АТ, с оценкой области фиксации последних на поверхности сперматозоида при фазовоконтрастной микроскопии. Метод получил широкое распространение из-за высокой информативности, достоверности и простоты выполнения. С помощью данного теста, рекомендованного ВОЗ в качестве основного для клинического применения, возможно определение иммуноглобулинов трех классов — IgG, IgA и IgM.

Значение менее 50% рассматривают как нормальный показатель MAR-теста. При количестве подвижных сперматозоидов, покрытых АТ, превышающем 50%, правомерно заключение о наличии иммунологического бесплодия (прямой тест). При значительном снижении подвижности сперматозоидов (менее 20% подвижных), некрозооспермии или азооспермии антиспермальные АТ определяют с применением спермы донора (непрямой тест).

Методика MAR-теста предполагает применение двух реагентов: 1) суспензии латексных шариков, покрытых человеческими IgG; 2) моноспецифической антисыворотки к Fc-фрагменту IgG человека.

Этапы постановки теста (рис. 4):

- На предметное стекло наносят по 1 капле (5 мкл) суспензии латексных шариков, исследуемого образца и антисыворотки.
- Сначала перемешивают каплю латексных шариков со спермой, а затем — с антисывороткой.
- Подсчет сперматозоидов выполняют с помощью фазово-контрастного микроскопа при увеличении x400.
- Результат считают положительным, если 50% и более подвижных сперматозоидов покрыты латексными шариками.



Рисунок 4. Схема постановки MAR-теста.

На рисунке 5 представлен алгоритм диагностики и лечения иммунологического бесплодия.

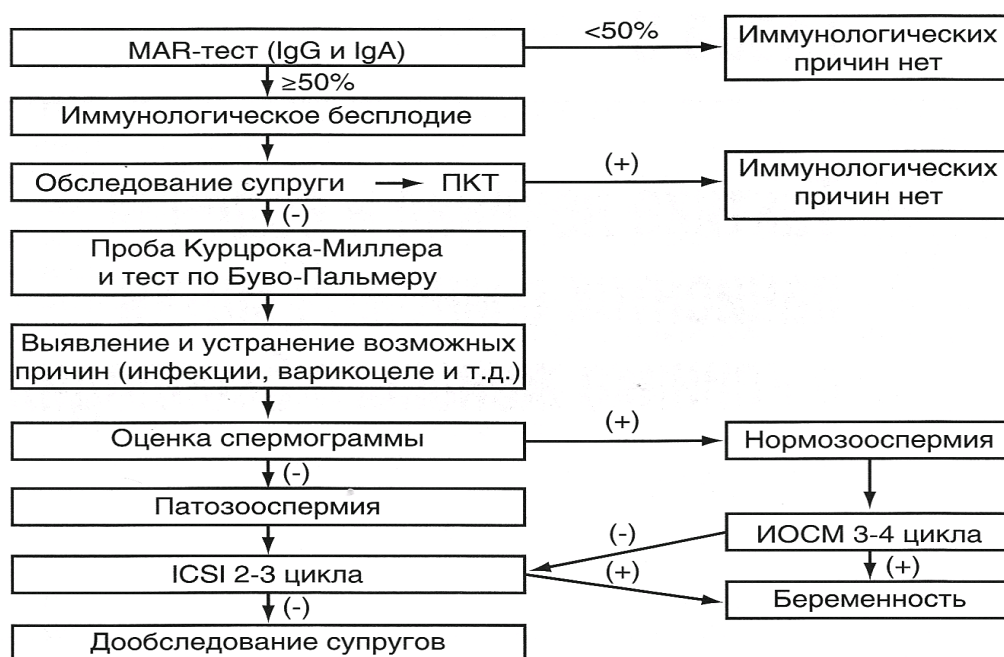


Рисунок 5. Алгоритм диагностики и лечения иммунологического бесплодия

6. Генетический скрининг

Медико-генетическое исследование включает изучение кариотипа соматических клеток, позволяющее определить числовые и структурные аномалии митотических хромосом по лимфоцитам периферической крови и половым клеткам в эякуляте и/или биоптате яичка. Высокая информативность количественного кариологического и цитологического анализа половых клеток, как правило, выявляет нарушения на всех стадиях сперматогенеза, что во многом определяет тактику ведения бесплодной супружеской пары и позволяет уменьшить риск рождения детей с наследственными заболеваниями.

У бесплодных мужчин хромосомные аномалии встречаются на порядок чаще, чем у фертильных. Структурные хромосомные аномалии нарушают течение нормального сперматогенеза, приводят к частичному блоку сперматогенеза на разных стадиях. Отмечено, что числовые хромосомные аномалии преобладают при азооспермии, а олигозооспермию сопровождают структурные нарушения.

Иммунологическое бесплодие у мужчин связано с дефектным сперматогенезом и дефектом сперматозоидов (рис. 6).

Другие генные нарушения. В последние годы описано много одиночных генов, контролирующих сперматогенез, дефекты которых могут приводить к бесплодию: ubiquitin protease 26 gene; polymorphisms in the oestrogen receptor gene; polymorphisms of the gonadotrophin-regulated testicular helicase gene; UT-P14c; SPAG16L; BGR-like gene; SPO11; EIF5A2; ACT; N322 H variant of the BRCA2 gene; heat shock transcription factor in AZFb; Cys-189-Thr и др.

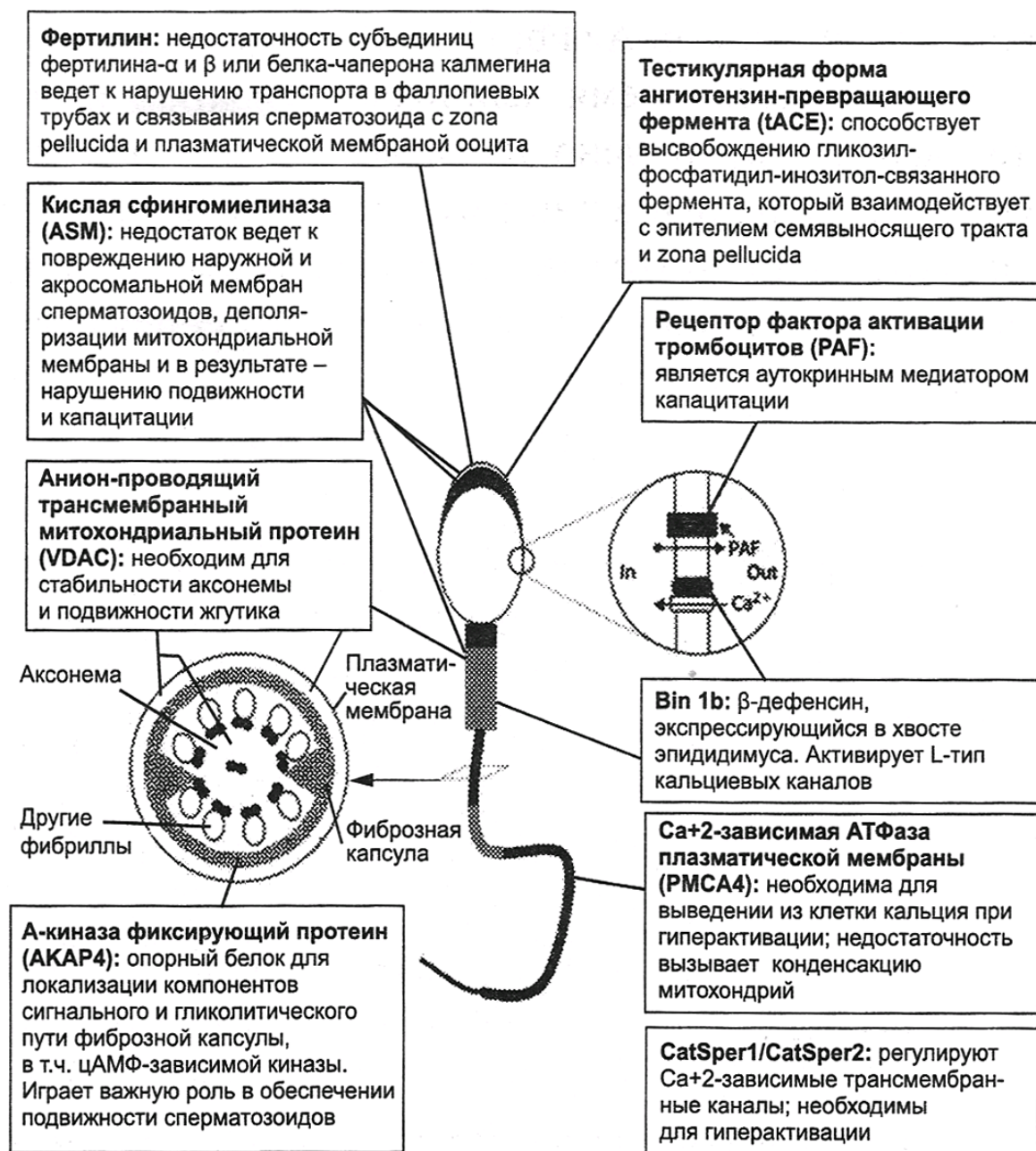


Рисунок 6. Локализация и эффекты генных дефектов, влияющих на подвижность сперматозоидов, капацитацию и взаимодействие с яйцеклеткой (no Conner, Barratt, 2006).

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ У ЖЕНЩИНЫ ИЗ СОСТАВА БЕСПЛОДНОЙ ПАРЫ

1. Инфекционный скрининг

Включает определение репродуктивно значимых сексуально-трансмиссивных заболеваний (СТЗ): сифилиса (возбудитель *Treponema pallidum*), гонореи (возбудитель *Neisseria gonorrhoeae*), урогенитального трихомониаза (возбудитель *Trichomonas vaginalis*), урогенитального хламидиоза (возбудитель *Chlamydia trachomatis* 15 сероваров от А до К), урогенитального ми-

коплазма (возбудители - *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*), урогенитальной герпетической инфекции (возбудитель *Herpes simplex virus* 1 и 2 типов).

Из сексуально-нетрансмиссивных заболеваний репродуктивно значимыми являются: туберкулёз половых органов (*Mycobacterium tuberculosis*), актиномикоз половых органов (*Actinomyces israelii* и др.), токсоплазмоз половых органов (*Toxoplasma gondii*), а также воспалительные процессы и дисбиозы в органах мочеполовой системы, вызванные условно-патогенной аэробной и анаэробной бактериальной микрофлорой (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *pyogenus*, *E.coli*, *Proteus*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Mobiluncus*, *Bacteroides*, *Gardnerella vaginalis*, *Klebsiella* и другие)

Основными из СТЗ являются урогенитальная хламидийная, микоплазменная и трихомонадная инфекции.

Механизмы репродуктивных нарушений у женщин при инфекционном процессе:

Трубно-перитонеальные механизмы:

- органические нарушения проходимости маточных труб за счёт воспалительного процесса после:
 - ✓ оперативных вмешательств на матке, придатках, кишечнике (в т.ч. аппендэктомии);
 - ✓ инвазивных диагностических и лечебных процедур (ГСГ, кимопертубация, гидротубация, диагностические выскабливания);
 - ✓ абортов и родов;в виде:
 - ✓ полной непроходимости труб для сперматозоидов за счёт сальпингита, осложнённого спаечным процессом;
 - ✓ дефимбризации проходимых труб за счёт сальпингита.
- функциональные нарушения проходимости маточных труб за счёт воспалительного процесса и, в результате этого, локального накопления биологически активных веществ (простогландинов, тромбоксана A2, ИЛ и др.).

Эндокринные механизмы – овуляторные нарушения и снижение функции жёлтого тела при воспалительном процессе в яичниках:

- нарушение адекватной рецепции в яичниках к ФСГ и ЛГ, а также паракринных механизмов за счёт оофорита, в результате которых формируется:
 - ✓ ановуляция в виде атрезии или персистенции фолликула (вторичное кистозное изменение яичников);
 - ✓ недостаточность жёлтого тела при наличии овуляции (НЛФ-синдром);
 - ✓ лютеинизация неовулировавшего фолликула (ЛНФ-синдром).

➤ нарушение стероидогенеза в яичниках, как проявление гипергонадотропного гипогонадизма с нарушением роста и созревания эндометрия:

- ✓ отсутствие полноценной nidации оплодотворённой яйцеклетки и полноценной плацентации - из-за снижения ПРГ (в этом случае может проявляться как привычный выкидыш)

Маточные механизмы – нарушение созревания эндометрия при воспалительных процессах:

- нарушение роста и созревания эндометрия за счёт нарушения рецепции к половым стероидам при эндометрите (нарушение nidации и плацентации);
- нарушение nidации и плацентации за счёт спаечного процесса как осложнения хронического эндометрита (как один из вариантов – синдром Ашермана);
- изменение цервикальной слизи при эндоцервицитах

Лабораторные методы, реально используемые при диагностике хламидийной инфекции у женщин:

- 1) идентификация возбудителя методом ПЦР в эндоцервиксе и вагине (ПЦР-тест-система «АмплиСенс» производства ЦНИИ Эпидемиологии МЗ РФ);
- 2) определение специфических антител в сыворотке крови (в т/с ИФА «Orgenics»: бивалент – IgG и моновалент – IgA или на других импортных системах);
- 3) определение специфических антител в эндоцервикальной слизи (в т/с ИФА «Orgenics»: моновалент – IgA).

Лабораторные методы, реально используемые при диагностике микоплазменной инфекции у женщин:

- 1) идентификация возбудителя методом ПЦР в эндоцервиксе и вагине (ПЦР-тест-система «АмплиСенс» производства ЦНИИ Эпидемиологии МЗ РФ);
- 2) посев на жидкие питательные среды с количественным тестом из эндоцервикса и вагины (тест-система «mycoplasma duo» производства Sanofi diagnostics Pasteur).

Лабораторные методы, реально используемые при диагностике трихомонадной инфекции у женщин:

- 1) микроскопия эндоцервикальной слизи и вагинального соскоба (светлопольная и тёмнопольная микроскопия - способ раздавленной капли, нативный препарат);
- 2) культуральный: посев отделяемого из эндоцервикса и вагины (на бульонных средах). Желательно пока применять импортные среды!

2. Гормональный скрининг.

Имеет значение для выявления эндокринного бесплодия у женщин.

В основе эндокринного бесплодия как правило:

- синдром ановуляции;
- недостаточность лютеиновой фазы менструального цикла (НЛФ-синдром);
- синдром лютеинизации неовулировавшего фолликула (ЛНФ-синдром);

Все выше названные синдромы приводят к гормональному дисбалансу (абсолютная или относительная гиперэстрогения, гиперандрогения) с нарушением:

- сократительной активности маточных труб (гипертонусу, гипотонусу, дискоординации) без очевидных анатомо-морфологических изменений;
- пролиферативных процессов в эндометрии и секреторной трансформации эндометрия;
- качества эндоцервикальной слизи;

Причины эндокринного бесплодия:

Нарушения в гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системе (гипогонадизм).

Гипогонадизм (яичниковая недостаточность) — патологическое состояние, клиническая картина которого обусловлена стойким, часто необратимым снижением синтеза яичниками половых стероидов или ослаблением их действия. Гипогонадизм характеризуется недоразвитием половых органов, вторичных половых признаков и, как правило, бесплодием.

Разновидности гипогонадизма:

Гипергонадотропный (первичный) гипогонадизм развивается как результат врожденных или приобретенных нарушений функции яичников. Его отличительным признаком является снижение циркуляции продуцируемых яичниками гормонов (эстрогена и прогестерона) при значительном возрастании уровня гонадотропинов (ЛГ и ФСГ) как результат реализации механизма отрицательной обратной связи.

Примеры основных заболеваний: 1) дисгенезия гонад: типичная форма (синдром Шерешевского-Тернера), чистая форма, смешанная форма; 2) синдром резистентных яичников; 3) синдром истощения яичников; 4) аутоиммунные поражения яичников; 5) воспалительные процессы в яичниках; 6) различные поражения яичников (химиотерапия, облучение, хирургическое воздействие, опухоли).

Гипогонадотропный (вторичный) гипогонадизм - изолированное снижение секреции одного из гонадотропинов (ФСГ или ЛГ) или снижение продукции одновременно ФСГ и ЛГ как результат врожденного или приобретенного поражения гипофиза.

Примеры основных заболеваний: 1) пангипопитуитаризм (гипофизарный нанизм); 2) синдром Шихана (послеродовый гипопитуитаризм); 3) болезнь Симмондса (диэнцефально-гипофизарная кахексия); 4) акромегалия и гигантизм (соматотропинома); 5) синдром Денни-Марфана; 6) болезнь Иценко-Кушинга (кортикотропинома); 7) пролактиномы (микро-, макро-);

8) синдромы, связанные с функциональной гиперпролактинемией (воздействие лекарств); 9) нефункционирующие опухоли гипофиза; 10) нарушение синтеза α - и β -цепей гонадотропинов.

Гипогонадотропный (третичный) гипогонадизм - изолированное снижение секреции одного из гонадотропинов (ФСГ или ЛГ) или снижение продукции одновременно ФСГ и ЛГ как результат врожденного или приобретенного поражения гипоталамуса в виде нарушения секреции гонадолиберина .

Причины врождённой недостаточности ГнРГ: 1) генетические заболевания; 2) опухоли ЦНС; 3) функциональные нарушения в выработке ГнРГ за счёт других гипоталамических гормонов и нейротрансмиттеров.

Примеры основных заболеваний: 1) адипозогенитальная дистрофия (синдром Пехкранца-Бабинского-Фрелиха); 2) синдром Лоренса-Муна-Барде-Бидла (наследственная дизэнцефально-ретиная дегенерация с аутосомно-рецессивным типом наследования); 3) синдром Морганьи-Стюарта-Мореля (фронтальный гиперостоз); 4) синдром Каллмана.

Причины приобретенной недостаточности ГнРГ: 1) опухоли; 2) кисты; 3) нейроинфекции; 4) повышение внутричерепного давления; 5) травмы; 6) кровоизлияния; 7) резкое ожирение; 8) резкое снижение массы тела; 9) острый и хронический стресс; 10) приём половых стероидов; 11) интоксикации; 12) облучение.

Примеры основных заболеваний: 1) психические и неврологические заболевания; 2) болезнь Иценко-Кушинга; 3) синдром поликистозных яичников; 4) синдромы аменореи-лактореи: синдром Чиари-Фроммеля и синдром Дель-Кастильо-Форбса-Олбрайта.

Нормогонадотропный гипогонадизм - снижение циркуляции продуцируемых яичниками гормонов (эстрогена и прогестерона) при нормальных уровнях гонадотропинов (ЛГ и ФСГ). Однако имеет место нарушение циркального ритма секреции ГнРГ и овуляторного пика ЛГ.

Причины нормогонадотропного гипогонадизма: 1) патологические состояния, сопровождающиеся повышением пролактина; 2) патологические состояния, сопровождающиеся нарушениями в системе нейротрансмиттеров, влияющих на ритмику ГнРГ; 3) нарушение рецепторных взаимодействий ГнРГ в аденогипофизе и гипоталамусе.

Симптоматический гипогонадизм, формирующийся на фоне системных заболеваний, нарушающих обмен веществ и функцию яичников:

➤ ***Эндокринных заболеваний:***

- ✓ декомпенсированный сахарный диабет;
- ✓ заболевания надпочечников (в т.ч. адреногенитальный синдром, вирилизирующие опухоли надпочечников);
- ✓ заболевания щитовидной железы (гипотиреоз, тиреотоксикоз);
- ✓ ожирение и инсулинорезистентность.

- **Неэндокринной (соматической) патологии:**
 - ✓ заболевания сердечно-сосудистой системы;
 - ✓ заболевания дыхательной системы;
 - ✓ заболевания системы кроветворения;
 - ✓ заболевания пищеварительной системы и печени;
 - ✓ заболевания мочевыделительной системы (в т.ч. почечная недостаточность)
 - ✓ заболевания нервной системы
- **Заболеваний, связанных с системным воздействием экзогенных факторов:**
 - ✓ состояние хронического стресса;
 - ✓ алиментарные факторы (микроэлементозы, гиповитаминозы)
 - ✓ нарко- и токсикомания (в т. ч. алкоголизм);

При проведении эндокринологического скрининга и диагностике различных форм гипогонадизма наиболее важным является определение следующих гормонов (табл. 7).

Таблица 7

Гормоны, определение которых значимо при нарушениях в репродуктивной системе у женщин

Гормоны		
АКТГ	Прогестерон (ПРГ)	Тироксин свободный (FT4)
Андростендион (А4)	Пролактин (ПРЛ)	Тироксин общий (ТТ4)
17-ОН-ПРГ	СТГ	Трийодтиронин свободный (FT3)
ДГЭА	Тестостерон общий (ТТ)	Трийодтиронин общий (ТТ3)
ДГЭА-S	Тестостерон свободный (FT)	Ингибин В
ФСГ	ТТГ	АМГ
ЛГ	Кортизол	
Эстрадиол (Е2)	Инсулин	

Гормональные пробы

Нередко однократное определение в крови и моче гормонов и их метаболитов малоинформативно, эти исследования сочетают с проведением функциональных проб, что позволяет уточнить функциональное состояние различных отделов репродуктивной системы и выяснить резервные возможности гипоталамуса, гипофиза, надпочечников, яичников и эндометрия.

- Проба с прогестагенами (прогестероновая проба).
- Проба с эстрогенами и прогестагенами.
- Проба с гонадотропином.
- Проба с кломифеном (кломифен-цигратом, кломидом).
- Проба с гонадолиберином (люлиберипом).

- Проба с эстрадиолом.
- Малая дексаметазоновая проба (малый тест Лиддла)
- Дексаметазоновая проба большая (большой тест Лиддла)
- Проба на толерантность к глюкозе - оральный глюкозотолерантный тест с определением инсулина
- Проба с ХГЧ
- Тест с АКТГ (синактеном-депо)
- Пробы для уточнения причины гиперпролактинемии (с метоклопромидом (церукалом), с тиролиберинем)

Проба с прогестагенами (прогестероновая проба)

Проводится у женщин с аменореей или опсоменореей и позволяет уточнить, связаны ли нарушения менструального цикла с недостаточностью прогестерона или обусловлены иными причинами (отсутствием эффекта эстрогенов, маточной формой аменарей). На протяжении 5 дней назначают прогестагенный препарат близкий по своим свойствам к натуральному прогестерону: прогестерон 1 % - 1,0 мл в/м ежедневно или 17-оксипрогестерон капронат 12,5% - 2,0 мл в/м однократно или утрожестан 100 мг 2 раза в день интравагинально Дюфастон 10 мг в день перорально.

В случае положительной реакции на пробу, через 2-7 дней после прекращения приема препарата появляются менструальноподобные выделения, свидетельствующие о достаточной насыщенности эстрогенами и подготовленности эндометрия к действию прогестагена, а также о проходимости половых путей. Отсутствия реакции свидетельствует либо о недостаточном действии эстрогенов и неподготовленности эндометрия, либо о маточной форме аменореи. В последнем случае возможна ложноположительная реакция - вместо кровянистых выделений появляются резкие боли внизу живота.

Проба с эстрогенами и прогестагенами

Проводится в случае отрицательной пробы с прогестагенами и позволяет исключить маточную форму аменореи. Назначают эстрогены на протяжении 21 дня: этинилэстрадиол 0,1 мг ежедневно перорально или эстрадиол валерат (17β-эстрадиол) 2 мг ежедневно перорально. С 17 по 21 день приема эстрогенов подключают прогестагены (как в предыдущей пробе).

Проба считается положительной, если на 2 - 7 день после прекращения приема препаратов появляются менструальноподобные выделения и свидетельствует о проходимости половых путей и дефиците действия эстрогенов как причине аменореи. Отрицательная проба указывает на маточную форму аменореи.

Проба с гонадотропином

Проба проводится у женщин с аменореей и опсоменореей, если исключена маточная форма с целью уточнения уровня поражения репродуктивной системы - яичники или гипоталамо-гипофизарное звено; обычно необходимость в проведении пробы возникает у пациенток с нормальным либо сниженным уровнем гонадотропинов в крови.

Для пробы используют человеческие менопаузальные гонадотропины, которые получают из мочи женщин в постменопаузе; менотропины (меногон, менопур) содержат и ФСГ, и ЛГ в одмнаковых соотношениях (75 МЕ ФСГ и 75 МЕ ЛГ). Менотропин вводят по 150 МЕ в/м ежедневно на протяжении 3 дней, затем дозировку увеличивают до 300 МЕ/сут на протяжении 3 - 5 дней (длительность проведения пробы не более 14 дней).

Пробу оценивают по результатам тестов функциональной диагностики, данным УЗИ органов малого таза, возрастанию уровня Е2 в крови. Проба считается положительной, если концентрация эстрадиола возрастает до преовуляторных значений, тесты функциональной диагностики свидетельствуют об эстрогенной насыщенности, а по данным УЗИ появляется доминантный фолликул. Положительный ответ на пробу свидетельствует о сохраненной гормональной функции яичников и нарушении на уровне гипоталамо-гипофизарного звена репродуктивной системы; отрицательный результат пробы указывает на первичное поражение яичников.

Проба с кломифеном (кломифен-цитратом, кломидом)

Кломифен является синтетическим антиэстрагеном и его эффект проявляется только при достаточном содержании эстрогенов в крови. Кломифен конкурентно связывается с рецепторами эстрогенов в гипоталамусе, гипофизе и стимулирует яичники. Основное действие кломифена - блокада рецепторов эстрогенов в гипоталамусе и, соответственно, блокада отрицательной обратной связи.

Назначается 50 мг кломифена для перорального приема с 5 д.м.ц. на протяжении 5 дней, что по срокам соответствует овуляторному окну менструального цикла. В норме на 5 день приема препарата наблюдается повышение уровней ЛГ и ФСГ в сыворотке крови, свидетельствующее о сохраненной отрицательной обратной связи, и пиковый подъем (в 1,5-2 раза) регистрируется на 3 - 5 день отмены препарата, когда срабатывает положительная обратная связь.

Проба считается положительной, если на фоне приема препарата наступает овуляция, о чем свидетельствуют повышение концентрации Прг, данные УЗИ органов малого таза, изменения базальной температуры, тесты функциональной диагностики. В случае отрицательного результата, дозировку кломифена увеличивают до 100 мг, по необходимости до 150 мг в сутки. Если и в этом случае на протяжении трех менструальных циклов овуляция не наступает, пробу считают отрицательной, дальше увеличивать дозировку кломифена не рекомендуют. Доза кломифена выше 150 мг не приводит к дополнительному влиянию на гипоталамо-гипофизарное звено, однако начинают превалировать антиэстрогенные эффекты на матку, в частности на эн-

дометрий, что приводит к его истончению и препятствует имплантации. Положительная функциональная проба с ГнРГ и отрицательная в ответ на кломифен у одной и той же пациентки свидетельствуют о патологии на уровне гипоталамуса.

Проба с гонадолиберином (люлиберином)

Пробу проводят в случае сохраненной гормональной функции яичников и поражении на уровне гипоталамо-гипофизарного звена для уточнения гормонального резерва гонадотрофов гипофиза.

Для пробы применяют синтетический аналог гонадолиберина - диферелина (100 мкг в/в струйно или подкожно). До начала введения и через 15, 30, 60 и 120 минут проводят определение уровней ЛГ и ФСГ в крови.

При положительном результате пробы на 15 - 60 минуте наблюдается пик секреции ЛГ (возрастание концентрации гормона в 3- 5 раз), пик секреции ФСГ несколько запаздывает и определяется на 60 минуте, что указывает на сохраненный резерв гипоталамуса. Отрицательная проба свидетельствует о снижении ответа гонадотрофов на ГнРГ.

Проба с эстрадиолом

Проба проводится для оценки сохранности механизма положительной обратной связи между яичниками и гипофизом в середине менструального цикла.

Вводится по 2 мг эстрадиола в/м на протяжении 2 дней. Ежедневно в течении 5 дней определяется уровень ЛГ. В случае положительного ответа наблюдается снижение концентрации ЛГ на 2 день (по механизму отрицательной обратной связи) и максимальное возрастание к 4-5 дню, что свидетельствует о сохраненной положительной обратной связи между яичниками и гипофизом. Отрицательный ответ указывает на повреждении этого механизма.

Малая дексаметазоновая проба (малый тест Лиддла)

Тест наиболее информативен при диагностике гиперкортицизма.

Цель. Выявить эндогенную избыточную продукцию кортизола надпочечниками.

Показания. Показаниями для проведения данной пробы служит клиническая симптоматика, «подозрительная» на наличие гиперкортицизма.

Подготовка. При приёме барбитуратов, противосудорожных препаратов или рифампицина за сутки до проведения пробы их по возможности отменяют.

Методика проведения. Специалисты рекомендуют выполнять укороченный вариант пробы: первый день — в 23.00 пациент принимает 1 мг (2 таблетки) дексаметазона внутрь (более высокие дозы могут давать ложноположительные результаты); второй день — в 8:00 у пациента забирают кровь для определения содержания кортизола.

Данный тест можно проводить с определением экскреции свободного кортизола в моче. Для этого в течение 48 ч до и после приёма дексаметазона собирают мочу и определяют содер-

жание в ней свободного кортизола (с 8.00 до 8.00). Дексаметазон при этом назначают по 0,5 мг каждые 6 ч в течение суток.

Интерпретация. У здоровых пациентов и при состояниях, не сопровождающихся эндогенным гиперкортицизмом, после назначения дексаметазона (центрального блокатора секреции АКТГ) содержание кортизола в крови снижается до <50 нмоль/л (положительная проба). При болезни (синдроме) Кушинга достоверного снижения содержания кортизола в крови и/или моче не происходит (отрицательные пробы). При проведении пробы с определением содержания кортизола в моче снижение экскреции свободного кортизола менее 55 нмоль/сут исключает гиперкортицизм.

Дексаметазоновая проба большая (большой тест Лидлла)

Цель. Дифференциальная диагностика между болезнью и синдромом Кушинга.

Показания. Наличие клинической симптоматики гиперкортицизма и убедительных лабораторных данных — повышенной суточной экскреции свободного кортизола с мочой и/или отрицательной малой дексаметазоновой пробе.

Подготовка. При приёме барбитуратов, противосудорожных препаратов или рифампицина за сутки до проведения пробы их по возможности отменяют.

Методика проведения. Пробу проводят по следующему протоколу: первый день — в 8.00 у пациента берут кровь для определения исходного содержания кортизола, а в 23.00 пациент принимает 8 мг (16 таблеток) дексаметазона внутрь; второй день — в 8.00 у пациента повторно забирают кровь для определения содержания кортизола.

Вариант большой дексаметазоновой пробы — 48-часовой тест, в ходе которого пациент принимает по 2 мг (4 таблетки) дексаметазона каждые 6 ч. Кровь для определения концентрации свободного кортизола забирают в 8 ч утра (накануне теста и через 48 ч). Данный тест можно проводить, оценивая динамику суточной экскреции свободного кортизола с мочой. В этом случае мочу собирают в течение 48 ч до и после приёма дексаметазона (дексаметазон принимают каждые 6 ч по 2 мг).

Интерпретация. Интерпретация результатов одинакова при любых вариантах проведения пробы. При болезни Кушинга после приёма больших доз дексаметазона, как правило, снижается концентрация кортизола в плазме крови на 50% и более от исходного (положительная проба). При эктопическом АКТГ-синдроме и эндогенном гиперкортицизме надпочечникового генеза достоверного снижения содержания кортизола не происходит (отрицательная проба).

Проба с ХГЧ

Проводят для выявления овариальной гиперандрогении. На фоне проведения малой дексаметазоновой пробы на 3 день утром в/м вводят 1500 ЕД ХГЧ. В случае яичниковой гиперандрогении на фоне приема дексаметазона уровень андрогенов значительно не изменяется, однако

в ответ на введение ХГЧ наблюдается повышение их содержания. Напротив, при врожденной вирилизирующей гиперплазии коры надпочечников уровни андрогенов снижаются во время приема дексаметазона и не изменяются в ответ на введение ХГЧ. В случае вирилизирующей опухоли коры надпочечников исходно высокий уровень Т не изменяется в ходе проведения пробы.

Тест с АКТГ (синактеном-депо)

Выполняется для диагностики стертой формы врожденной вирилизирующей гиперплазии коры надпочечников, и проводится следующим образом: в 9 часов утра проводят забор крови для определения уровней кортизола, 17ОН-прогестерона, а также при необходимости А4 и ДЭА, ДЭА-С. Затем в/м вводят 1 мг синтетического АКТГ (Синактен-депо) с длительностью действия до 36 часов. Повторный забор крови осуществляют в 18 часов того же дня.

В ответ на введение экзогенного АКТГ несколько снижается уровень кортизола сыворотки крови. Вместе с тем уровни 17ОН-прогестерона, в случае недостаточности 21-гидроксилазы, а также А4, при недостаточности фермента 17, 20-лиазы, снижаются в 2 и более раз.

Известна следующая расчетная формула для диагностики недостаточности 21-гидроксилазы:

$D = 0,052 \times [X1] + 0,005 \times [X2] - 0,018 \times [X3]$, где X1 - уровень 17ОН-прогестерона в 18 часов, X2 - отношение уровня базального кортизола / к уровню базального 17ОН-прогестерона, X3 - отношение уровня кортизола в 18:00 / к уровню 17ОН-прогестерона в 18:00; значение D (расчетный показатель) $> 0,069$ указывает на недостаточность фермента 21-гидроксилазы.

Пробы для уточнения причины гиперпролактинемии

Пробы проводятся для дифференциальной диагностики функциональной и органической гиперпролактинемии.

а) проба с метоклопрамидом (церукалом)

Метоклопрамид является антагонистом дофаминовых рецепторов, поэтому в ответ на его введение в норме уровень пролактина повышается. Определяют уровень пролактина в крови исходно утром натощак и затем через 15, 30, 60 и 120 минут после в/в введения 10 мг метоклопрамида. Проба расценивается как положительная в случае повышения уровня пролактина более чем в 2 раза уже к 15-30 минуте. Отрицательная проба указывает на органический характер гиперпролактинемии.

б) проба с тиролиберином

Тиролиберин непосредственно стимулирует секрецию пролактина лактотрофами. Определяют уровень пролактина в крови исходно утром натощак и через 15-30-45-60 минут после в/в введения 500 мкг тиролиберина. В случае положительной пробы уровень пролактина воз-

растает более чем в 2 раза на 15 - 30 минуте, отрицательная проба характерна для органической гиперпролактинемии.

Этапность гормональных исследований в комбинации с УЗИ

- 1-й этап (5-7 дни м.ц., утро, тощак): исследование крови на содержание гормонов: ФСГ, ЛГ, ПРЛ, ТТ, FT, 17-ОН-ПРГ, Кортизол, А4, ДГЭА-S, E2, ТТГ (при патологии щитовидной железы – дополнительно ТТ4,ТТ3,FT4,FT3, АТ к ТПО, АТ к тиреоглобулину), Ингибин В, АМГ.
- 2-й этап (11-13 день м.ц.): УЗИ органов малого таза: основные задачи: оценка доминантного фолликула и роста эндометрия.
- 3-й этап (19-21 день м.ц.): УЗИ органов малого таза (динамическая этапная оценка тех же показателей)
- 4-й этап (22-24 день м.ц.): при отсутствии овуляции – проведение дополнительного УЗИ; при подтверждении овуляции на 3-м этапе – исследование крови на ПРГ, ПРЛ, ЛГ (оценка жёлтого тела и его регуляции)

На рисунке 7 представлен алгоритм дифференциальной диагностики и тактика ведения женщин с аменореей, как крайнего проявления различных форм гипогонадизма.

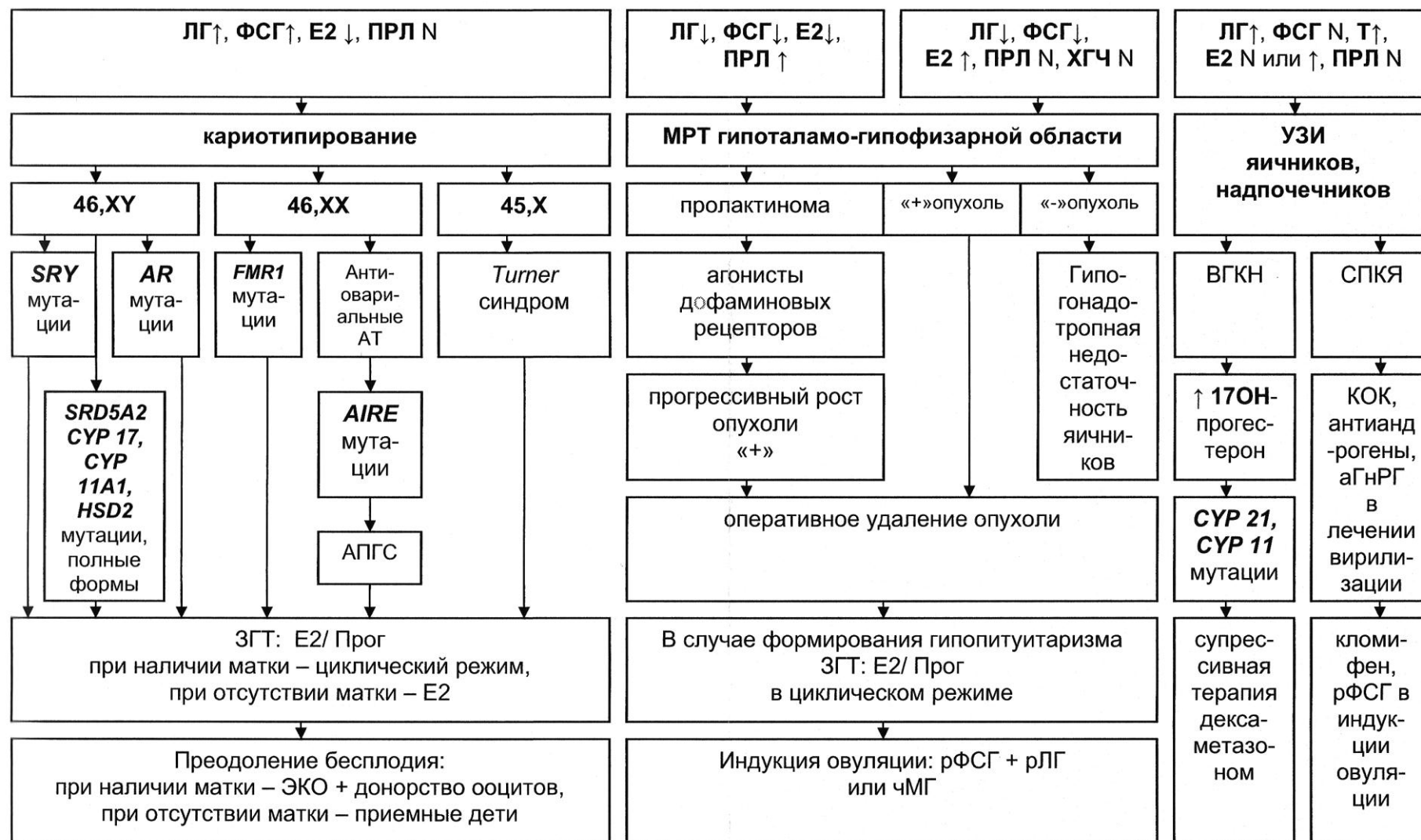


Рисунок 7. Алгоритм дифференциальной диагностики и тактика ведения женщин с аменореей (Иванов Н.В., Петруничев А.Ю., 2010) (при условии исключения препаратов, влияющих на метаболизм эстрогенов, хронических соматических заболеваний, дефицита массы тела и активного занятия спортом. а также овариоэктомии или резекции яичников, химио- и лучевой терапии в анамнезе и исключения маточной формы аменореи)

3. Иммунологический скрининг

- Определение антиспермальных антител в крови у женщин имеет сомнительное значение; большее значение имеет их определение в эндоцервикальной слизи.
- Определение антиовариальных антител в крови (АТ к гранулезным и тека-клеткам яичника)
- Оценка биологической совместимости сперматозоидов с шейечной слизью:
 - ✓ проба Шуварского или посткоитальный тест (ПКТ) или проба Симса-Гунера;
 - ✓ проба Курцрока-Миллера (пенетрационный тест);
 - ✓ проба по Буво-Пальмеру (перекрестный пенетрационный тест).
- Аутоантитела к тиреоглобулину и тиреоидной пероксидазе (к микросомальному ферменту).
- Определение аутоантител к рецептору ТТГ.
- Аутоантитела к аутоантигенам к инсулину, β -клеткам ПЖ, глутамат декарбоксилазе и тирозин фосфатазе.
- Оценка первичных и вторичных иммунодефицитных состояний.

Наиболее значимыми является оценка биологической совместимости сперматозоидов с шейечной слизью.

Проба Шуварского (посткоитальный тест)

Данный тест позволяет оценить биологическую совместимость сперматозоидов и шейечной слизи женщины. Проводить его необходимо строго по стандартизированной методике для исключения получения ложных результатов. Выполнение пробы предполагает качественную оценку шейечной слизи по пяти параметрам: 1) объем; 2) консистенция; 3) кристаллизация; 4) растяжимость; 5) клеточность. Для получения достоверных данных исследование осуществляют в перiovуляторный период при цервикальном числе не менее 10 баллов. С целью определения оптимального времени проведения исследования рекомендуют использовать тест на овуляцию «Клиаплан». Забор материала проводят через 4-6 ч после полового контакта, произошедшего после 4-5-дневного полового воздержания. С помощью отдельных туберкулиновых шприцев аспирируют влагалищное содержимое из заднего свода в количестве не менее 1 мл, затем из наружной (экзоцервикальная проба) и внутренней (эндоцервикальная проба) частей канала шейки матки. Каждую пробу по отдельности наносят на предметное стекло, накрывают покровным стеклом и микроскопируют при 400-кратном увеличении. Содержимое влагалища исследуют для обнаружения сперматозоидов с целью подтверждения интравагинальной эякуляции.

Качество шейечной слизи оценивают в баллах по шкале Insler (табл. 8).

Оценку самой пробы Шуварского проводят следующим образом: положительная — наличие 10 сперматозоидов и более с линейно-прогрессивным движением в поле зрения; сомнительная — менее 10 сперматозоидов с линейно-прогрессивным движением; отрицательная

— сперматозоидов в слизи нет или они неподвижны либо характеризуются маятникообразным движением на месте.

Таблица 8

Оценка качества шеечной слизи в баллах по шкале Insler

Показатель	Характеристика	Баллы
Объем, мл	0	0
	0,1	1
	0,2	2
	0,3 и более	3
Консистенция	Густая, «высоковязкая» предменструальная слизь	0
	Промежуточный тип «вязкости»	1
	Умеренно «вязкая»	2
	Нормальная слизь середины цикла (предовуляторная)	3
Кристаллизация (феномен папоротника)	Кристаллизации нет	0
	Атипичная кристаллизация	1
	Образование первичных и вторичных «стеблей»	2
	Образование третичных и четвертичных «стеблей»	3
Растяжимость, см	Менее 1	0
	1–4	1
	5–8	2
	Более 8	3
Содержание клеток в шеечной слизи	Более 11	0
	6–10	1
	1–5	2
	0	3

Оценка качества шеечной слизи по шкале Insler: 15 баллов — максимальная сумма баллов, соответствующая отличному результату; 14-10 баллов — хороший результат; 9 и меньшее количество баллов — плохое качество слизи.

В оценку качества цервикальной слизи принято включать также данные pH: 1) 7,0-8,5 - оптимальные показатели для миграции сперматозоидов и их жизнеспособности; 2) 6,0-7,0 - нормальные показатели для проникновения сперматозоидов в шеечную слизь.

Проба Курцрока-Миллера (пенетрационный тест)

Изучение взаимодействия сперматозоидов с шеечной слизью можно проводить также с помощью тестов *in vitro* на ее проницаемость. Помимо пробы Курцрока-Миллера (теста на предметном стекле), применяют тест на контакт спермы с шеечной слизью и тест в капиллярных трубочках. Сама проба Курцрока-Миллера позволяет оценить проникающую способность сперматозоидов в шеечную слизь.

Исследование проводят в перiovуляторный период (используют тест «Клиаплан», как в пробе Шуварского). Туберкулиновым шприцем аспирируют шеечную слизь в объеме не менее

1 мл, с помощью микропипетки наносят на предметное стекло и покрывают покровным стеклом (25x40 мм). Затем образцы спермы располагают на предметном стекле таким образом, чтобы они соприкасались с четырех сторон с краями покровного стекла. При этом образуется капиллярная тяга, за счет чего сперматозоиды проникают под покровное стекло, а между спермой и шейечной слизью образуется граница соприкосновения (так называемый интерфейс). Через несколько минут по границе соприкосновения формируются выступы или фаланги, проникающие в шейечную слизь. Большая часть сперматозоидов, прежде чем попасть в слизь, сначала проходит через эти выступы.

Находясь в шейечной слизи, сперматозоиды рассеиваются. Некоторые из них направляются обратно к семенной жидкости, однако большая часть продолжает мигрировать в глубь слизи, пока там не встретит сопротивление клеточных остатков или лейкоцитов. В поле зрения микроскопа подсчитывают сперматозоиды, проникшие в глубь шейечной слизи. Для количественной оценки теста через 5 и 15 мин после его начала следует подсчитать количество сперматозоидов в первом, ближайшем к интерфейсу, поле зрения микроскопа (F₁). Для определения глубины проникновения изучают второе поле зрения, примыкающее к первому (F₂), затем — третье (F₃). Количество сперматозоидов в этих полях также регистрируют (рис.8).

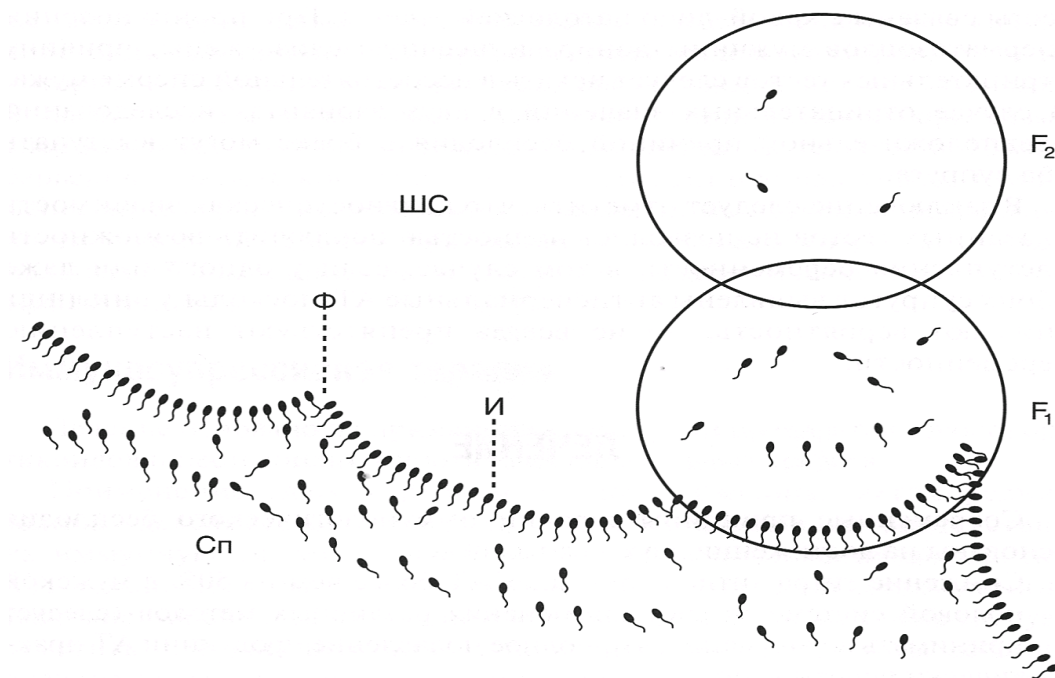


Рисунок 8. Схематическое изображение проникновения сперматозоидов в шейечную слизь.

Пенетрационную способность сперматозоидов при пробе Курцрока-Миллера оценивают следующим образом: отличная: более 25 сперматозоидов в F₁, более 25 сперматозоидов в F₂; хорошая: более 15 сперматозоидов в F₁, более 10 сперматозоидов в F₂; плохая: 5 сперматозоидов в F₁, 0-1 сперматозоид в F₂; отрицательная: ни в F₁, ни в F₂ сперматозоиды не проникли.

Схематическое изображение проникновения сперматозоидов в шеечную слизь *in vitro* при проведении пробы Курцрока-Миллера: ШС - шеечная слизь; Сп - сперматозоиды; И - интерфейс; Ф - фаланги; F1 - первое поле зрения микроскопа; F2 - второе поле зрения микроскопа, смежное с первым.

Тест по Буво-Пальмеру (перекрестный пенетрационный тест)

Для выяснения причин отрицательных результатов проб Шуварского и Курцрока-Миллера рекомендуют проводить перекрестный пенетрационный тест по Буво-Пальмеру.

Техника выполнения данного исследования аналогична пробе Курцрока-Миллера. Биологические пробы, используемые в тесте по Буво-Пальмеру, сопоставляют таким образом, что в первом варианте используют сперму мужа и шеечную слизь женщины-донора, а во втором варианте - шеечную слизь жены и сперму мужчины-донора.

Результаты оценивают следующим образом: если сперматозоиды проникают в шеечную слизь женщины-донора, то тесты связаны с какой-либо патологией у жены; при проникновении сперматозоидов мужчины-донора в шеечную слизь жены, причину отрицательных тестов следует искать в несостоятельной сперме мужа; в случае отрицательных значений в двух вариантах исследований предположительной причиной бесплодия в браке могут выступать оба супруга.

Следует отметить, что диагностическая значимость трёх указанных тестов не позволяет полностью исключить возможность наступления беременности в том случае, если у одного или даже обоих супругов выявлены антиспермальные АТ, поскольку они лишь снижают вероятность, но не всегда препятствуют наступлению беременности.

Оценка первичных и вторичных иммунодефицитных состояний

Для определения первичных и вторичных иммунодефицитных состояний необходимо: 1) состояние фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов периферической крови; 2) исследовать параметры клеточного и гуморального иммунитета (см. табл.9). Фагоцитарную активность клеток крови определяют по степени фагоцитоза *Staphylococcus aureus* в цельной крови в процентах. В норме для нейтрофилов этот показатель составляет 70-95, для моноцитов — 70-90%.

Таблица 9

Нормальные показатели расширенной иммунограммы

Показатель	Норма, %	Норма, клеток/мкл
CD3+ Т-лимфоциты	72±7	1000-1800
CD4+ Т-хелперы, индукторы	39±5	600-1100
CD8+ Т-киллеры, супрессоры	23±5	400-800
Иммунорегуляторный коэффициент (CD4/CD8)	1,0-2,0	
CD16+ NK-клетки	12±6	200-400

CD56+ NK-клетки, часть Т-лимфоциты	14±5	220-380
CD20+ В-лимфоциты	9±6	100-300
CD23+ активированные В-лимфоциты	3±3	200-400
CD38+ В-лимфоциты, активированные лимфоциты	23±6	400-800
LT DR В-лимфоциты, активированные Т-лимфоциты, моноциты	14±7	220-400
CD25-рецептор интерлейкина-2	0±2	
CD5+/CD19+ активированные В1-лимфоциты	0	

4. Генетический скрининг

Определение генетических нарушений (диагностика генетического бесплодия).

Все женщины из состава супружеских пар с бесплодием нуждаются в медико-генетическом консультировании. Исследование кариотипа у женщины и её партнёра проводят в следующих случаях:

- При наличии в анамнезе указаний на рождение детей с хромосомной патологией (болезнью Дауна, олигофренией и т.д.), пороками развития, мертворождения у ближайших родственников, а также при бесплодии и невынашивании беременности.
- При нарушении у пациентки или ее ближайших родственниц менструального цикла по типу олиго- и аменореи, особенно с возраста менархе.
- При выраженной патозооспермии у мужчины.

Роль системы HLA супругов в генезе бесплодия продолжает изучаться. Исследование антигенов системы HLA: I класса - HLA-A, -B, -C; II класса - HLA-DR, -DQ α и β , -DP проводят при:

- нарушении менструального цикла
- наличии двух безуспешных попыток ЭКО
- бесплодии неясного генеза (когда исключены все возможные причины бесплодия)
- при спонтанном прерывании беременности в I триместре
- патозооспермии у мужчины

Целесообразность дальнейшего углубленного обследования супружеской пары определяет медицинский генетик.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, функциональные исследования, применяемые у мужчины и женщины из состава бесплодной пары, включают спектр клинико-лабораторных исследований, составляющих инфекционный, гормональный, иммунологический и генетический скрининги. Последовательность применения той или иной разновидности скрининга зависит от конкретной клиниче-

ской ситуации и в идеале направлена на установление причины бесплодия с целью проведения адекватной терапевтической коррекции.

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Гинекология: национальное руководство/ под ред. В.И. Кулакова, И.Б. Манухина, Г.М. Савельевой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 1072 с.

Урология: национальное руководство / под ред. Н.А. Лопаткина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 1024 с.

Эндокринология: национальное руководство / под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1072 с.

Общая врачебная практика по Джону Нобелю / Под ред. Дж. Нобеля / Пер. с англ. под ред. Е. Р. Тимофеевой, Н. А. Федоровой. – М.: «Практика», 2005. – 1760 с.

Мейл Д. Иммунология / Д. Мейл, Дж. Бростофф, Д.Б. Рот, А. Ройтт / Пер. с англ. – М.: Логосфера, 2007. – 568 с.

Ришук С.В. Половые пары и половые инфекции / С.В. Ришук, Д.Ф. Костючек. – СПб.: Медицинская пресса. – 2005. – 272 с.

Мирский В.Е., Ришук С.В. Заболевания репродуктивной системы у детей и подростков (андрологические аспекты): руководство для врачей / В.Е. Мирский, С.В. Ришук. – СПб.: СпецЛит, 2012. – 479 с.

Пересада О.А. Репродуктивное здоровье женщин: Руководство для врачей. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2009. – 680 с.

Бесплодный брак.Современные подходы к диагностике и лечению / Под ред. Г.Т. Сухих, Т.А. Назаренко. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 784 с.

Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство в 2-х т. – Т.І. / под ред. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 928 с.

Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство в 2-х т. – Т.ІІ. / под ред. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 808 с.

Иванов Н.В. Генетические синдромы в андрологии и гинекологии / Н.В. Иванов, А.Ю. Петруничев. – 3-е изд. доп. и перераб. – СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2010. – 320 с.