

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«УРАЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ»

На правах рукописи

**Плаксина
Анна Николаевна**

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЗДОРОВЬЯ И КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ДЕТЕЙ,
РОЖДЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ
РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ**

14.01.08 – педиатрия

**Диссертация
на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук**

Научный руководитель:

**Доктор медицинских наук,
профессор О.П. Ковтун**

Екатеринбург – 2011

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
ОГЛАВЛЕНИЕ	2
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	5
ВВЕДЕНИЕ	7
Глава 1. ФАКТОРЫ РИСКА И ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	14
1.1. Бесплодие, как фактор риска формирования отклонений здоровья будущего поколения.....	14
1.2. Характеристика показателей здоровья детей, рожденных при использовании репродуктивных технологий.....	20
1.3. Роль генетических полиморфизмов в предрасположенности к мультифакторной патологии семей с синдромом потери плода.....	29
1.4. Значение эпигенетики в комплексной оценке реализации внутриутробного программирования у детей, рожденных при помощи репродуктивных методик.....	39
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ..	46
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	55
3.1 Оценка состояния здоровья матерей, особенности течения анте- и интранатального периодов, а также исходы беременностей, наступивших при помощи вспомогательных репродуктивных технологий.....	55

3.2. Анализ инфертильности и установление взаимосвязей между сроком гестации, массой тела детей и этиологической причиной бесплодия различных возрастных групп.....	61
3.3. Состояние здоровья детей по данным нерандомизированного проспективного обсервационного исследования по типу «случай-контроль»	68
3.4 Данные катамнестического наблюдения детей исследуемых групп в течение первого года жизни.....	72
3.5. Оценка показателей качества жизни у детей исследуемых групп	91
Глава 4. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ТРОМБОФИЛИИ, НАРУШЕНИЯМИ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ ПРИ ПОМОЩИ ВРТ....	98
4.1. Выявление распространенности генетических полиморфизмов в семьях с синдромом потери плода.....	98
4.2. Оценка тромботических и нетромботических (дезадаптационных) эффектов некоторых плазменных и тромбоцитарных генов гемостаза, эндотелиальной дисфункции и фолатного цикла.....	107
4.3. Прогнозирование развития мультифакторной патологии у детей, рожденных в семьях с бесплодием.....	109
4.4. Клинические примеры.....	116

Глава 5. РАЗРАБОТКА ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ И СХЕМЫ ДИНАМИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ ЗА ДЕТЬМИ, РОЖДЕННЫМИ ВСЕМЬЯХ С БЕСПЛОДИЕМ	127
5.1. Создание регистра детей, рожденных при помощи вспомогательных репродуктивных технологий.....	127
5.2. Схема динамического наблюдения за детьми в течение 12 мес. жизни.....	131
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	140
ВЫВОДЫ.....	151
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	153
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	154
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	181

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДФ	аденозиндифосфат
ВОЗ	всемирная организация здравоохранения
ВПР	врожденные пороки развития
ВРТ	вспомогательные репродуктивные технологии
ВЧЛП	врожденная челюстно-лицевая патология
ГГС	гипертензионно-гидроцефальный синдром
ГИЭ	гипоксически-ишемическая энцефалопатия
ДВС	диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови
ДЦП	детский церебральный паралич
ЖКТ	желудочно-кишечный тракт
ЗПМР	задержка психо-моторного развития
ИИ	искусственная инсеминация
ИКСИ	интрацитоплазматическое введение сперматозоида в ооцит
ИВЛ	искусственная вентиляция легких
МРТ	магнитно-резонансная томография
МФЗ	мультифакторное заболевание
НСГ	нейросонография
ОАК	общий анализ крови
ОРВИ	острая респираторная вирусная инфекция
ОЦПП	Областной центр превентивной педиатрии
ПКВ	постконцепционный возраст
РФМК	растворимые фибрин-мономерные комплексы
СВД	синдром вегето-висцеральных дисфункций
СДН	синдром двигательных нарушений
СЗРП	синдром задержки роста плода
СПНРВ	синдром повышенной нервно-рефлекторной возбудимости
СПП	синдром потери плода

УЗИ	ультразвуковое исследование
УЗДГ	ультразвуковая доплерография
ХФПН	хроническая фетоплацентарная недостаточность
ЦНС	центральная нервная система
ЭКО	экстракорпоральное оплодотворение
ЭНМТ	экстремально низкая масса тела
eNOS	эндотелиальная NO-синтетаза
FGBI	фибриноген
FII	протромбин
FV	проакцелерин
ITGA2	тромбоцитарный гликопротеин 1В
ITGB3	тромбоцитарный рецептор фибриногена
MTHFR	метилентетрагидрофолатредуктаза
OR	коэффициент «Отношение шансов»
PAI-1	ингибитор активатора плазминогена - тип I

ВВЕДЕНИЕ

В «Концепции развития системы здравоохранения в Российской Федерации до 2020 года» и «Концепции демографического развития Российской Федерации» определяется комплекс мер, направленных на рост численности населения, сохранение и укрепление репродуктивного здоровья граждан, а также на государственную поддержку лечения бесплодия. В настоящее время частота бесплодных браков в Российской Федерации достигает 20% - это более 6 млн. пар, что, по данным Всемирной организации здравоохранения, является критическим уровнем (Vaуena E., 2002; Адамян Л.В., 2007). В Свердловской области зарегистрировано около 300 тыс. бесплодных и бездетных супружеских пар. На современном этапе развития медицины решением проблемы бесплодия является использование вспомогательных репродуктивных технологий.

Результаты многочисленных клинических исследований, посвященных состоянию здоровья детей, рожденных при помощи данных технологий, вызывают серьезную озабоченность педиатров и неврологов. Так, по мнению Cochrane Collaboration, 2004, среди этого контингента детей отмечено увеличение в два раза риска перинатальной смертности, преждевременных родов, в четыре раза рождения детей с очень низкой массой тела, а также увеличение в 1,35 раза числа госпитализированных в палаты интенсивной терапии и реанимации. В то же время, не всегда мнения экспертов совпадают, причем выводы во многом носят противоречивый характер. Прежде всего, это обусловлено отсутствием единой регистрации детей, рожденных при помощи ВРТ, а также системы преемственности на этапах зачатия, ведения беременности, родоразрешения и наблюдения ребенка на амбулаторном этапе. Кроме того, наличие большого количества факторов, оказывающих влияние на здоровье детей, с учетом этиологии бесплодия, применение различных методик, медикаментозной терапии, направленной на сохранение долгожданной беременности, не позволяют адекватно трактовать имеющиеся

сведения. При оценке катамнеза детей многими авторами (Никитина И.В., 2005; Крюков П.М., 2006) отмечено увеличение частоты напряжения процессов адаптации новорожденного в неонатальном периоде, потребности в проведении интенсивной терапии или реанимации (до 65%), выявлены отклонения гормонального, метаболического и иммунологического статусов, а также отставание в нервно-психическом развитии. В связи с противоречивостью представленных материалов, необходима разработка единых критериев оценки, стандартов наблюдения, создание проспективных регистров с накоплением эмпирического материала, а также их систематизация.

В настоящее время проводится поиск новых маркеров с целью оценки многофакторного влияния бесплодия на формирование здоровья детей, при этом отдельные механизмы требуют уточнения. Ряд исследователей, рассматривая бесплодие и невынашивание беременности с позиций единого патологического процесса нарушения функции деторождения, обусловленного индивидуальной поломкой тонких механизмов репродукции: гаметогенеза, оплодотворения, имплантации, эмбрионального развития, акцентируют внимание на генетических факторах предрасположенности к инфертильности (Журавлева Т.А., 2004; Павлов О.Г., 2006; Coulam С., 2004). Исходя из полиэтиологичности бесплодия при воздействии на фертильность семейной пары средовых факторов, других генов, генов-модификаторов, а также образа жизни, возможно не только наследование данной предрасположенности, но и ее патологическая реализация.

Доказано, что семьи с синдромом потери плода (СПП) имеют высокую распространенность (до 71%) генетических полиморфизмов системы гемостаза (Макацария А.Д., Баймурадова С.М., 2007). Сведения о распространенности генетических полиморфизмов у младенцев этих семей единичны, в то время как, роль точковых мутаций активно изучается в генезе неврологических (Кацадзе Ю.Л. и др., 2002; Swarte R., 2004; Пшеничная К.И.,

2007), соматических (Вавилин В.А., 2000; Wang X., 2002; Beynum I.M., 2008) и наследственных заболеваний (Hong Q., 2006; Meyre D., 2009).

Таким образом, формирование комплексного междисциплинарного подхода, разработка единого регистра, поиск механизмов влияния фактора бесплодия позволят оценить и прогнозировать состояние здоровья младенцев, рожденных с помощью ВРТ, создать систему наблюдения за данным контингентом детей. Все вышеизложенное и определило необходимость выполнения настоящей работы.

Цель исследования

Оценить показатели здоровья, качества жизни и определить прогноз развития мультифакторной патологии у младенцев, рожденных с помощью вспомогательных репродуктивных технологий.

Задачи исследования

1. Проанализировать состояние здоровья матерей с оценкой спектра причин нарушения репродуктивной функции, а также течения гестационного периода с выявлением наиболее значимых факторов риска.
2. Провести динамическое наблюдение за состоянием здоровья детей в течение 12 мес. жизни, определить показатели качества жизни, оценить группы здоровья и нервно-психического развития.
3. Выявить распространенность полиморфизмов генов тромбофилии, эндотелиальной дисфункции и генов фолатного цикла у детей и родителей из семей, имеющих синдром потери плода.
4. Разработать способ прогнозирования мультифакторной патологии у детей из семей с синдромом потери плода.
5. Предложить схему наблюдения за детьми, рожденными с помощью вспомогательных репродуктивных технологий, на основе созданной автоматизированной информационно-аналитической системы.

Научная новизна

По результатам проведенного исследования нам удалось доказать влияние совокупности отягощающих факторов анамнеза матери, патологического течения настоящей беременности на формирование отклонений в состоянии здоровья детей, рожденных при помощи вспомогательных репродуктивных технологий. Установлено, что бесплодие вторичной этиологии и возраст матери от 30 до 35 лет определяют наименьший срок гестации и более низкую массу тела ребенка при рождении.

В отличие от ранее выполненных работ [4, 31, 58] нами показано, что отклонения в состоянии здоровья детей носят стойкий характер на протяжении 12 мес. жизни и проявляются преимущественно в группе недоношенных детей в виде синдрома двигательных нарушений по гипотоническому, реже - гипертоническому варианту, задержки статико-моторного, психопрередечевого развития в сочетании с анемией I степени, смешанного генеза, нейтропенией в виде стойкой абсолютной нейтропенией и атопическим дерматитом.

Впервые на основании международного опросника QUALIN продемонстрирован более высокий уровень качества жизни детей, рожденных при использовании репродуктивных методик (OR 1,2), за счет такого аспекта жизнедеятельности, как «поведение и общение».

Нами впервые выявлено достоверное преобладание генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии, нарушениями фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции у младенцев в семьях, имеющих синдром потери плода, при этом более половины из них (55%) отнесены к группе высокого риска по реализации предрасположенности к мультифакторным заболеваниям.

Впервые выделена совокупность анамнестических и клинических признаков, ставших основой разработки системы прогнозирования развития мультифакторной патологии в неонатальный период, имеющая валидность решающего правила 96,6%.

Практическая ценность

Определены неблагоприятные факторы анамнеза матери, позволяющие снизить процент наступления многоплодных беременностей и профилактировать рождение недоношенных детей при использовании ВРТ.

Обоснован междисциплинарный подход динамического наблюдения за младенцами, рожденными при помощи вспомогательных репродуктивных методик, что позволяет врачу-педиатру, совместно с детским неврологом, врачом-гематологом и врачом-иммунологом проводить диагностические и лечебные мероприятия в рекомендуемые декретируемые сроки с целью профилактики отдаленных последствий, снижения частоты заболеваемости и формирования хронической патологии в данной группе детей.

На основании выделенных анамнестических и клинических признаков анте-, интра- и неонатального периодов, для своевременной диагностики носительства генетических полиморфизмов, сформулировано решающее правило, что дает возможность предупреждать развитие тромботических и нетромботических проявлений ген-генных взаимодействий у данной категории младенцев в последующие периоды жизни.

Создана схема динамического наблюдения, на основе автоматизированной программы для ЭВМ, за детьми, родившимися в результате применения репродуктивных технологий, содержащая информацию с этапа планирования, зачатия и вынашивания беременности, родоразрешения, а также последующего перевода ребенка в амбулаторно-поликлиническую службу, что позволяет отслеживать здоровье и качество жизни, учитывать и профилактировать младенческую заболеваемость, инвалидность и смертность.

Положения, выносимые на защиту

1. Совокупность отягощающих факторов анамнеза матери и течения настоящей беременности являются основой формирования отклонений в здоровье детей, рожденных при помощи вспомогательных репродуктивных

технологий. Низкий срок гестации и низкая масса тела детей при рождении сопряжены с наличием бесплодия вторичной этиологии и возрастом женщин старше 30 лет.

2. Выявленные патологические состояния здоровья детей, рождённых с помощью ВРТ, обусловлены наличием многоплодной беременности и рождением детей в преждевременном сроке гестации. Недоношенные дети имеют более стойкие неврологические нарушения с риском формирования детского церебрального паралича, в отличие от недоношенных, рожденных от спонтанной беременности.

3. Дети, рожденные при помощи репродуктивных методик, в семьях, имеющих синдром потери плода, достоверно чаще наследуют неблагоприятные генетические полиморфизмы, представленные сочетанием тромботических и нетромботических ген-генных взаимодействий, что позволяет их относить к группе риска по развитию мультифакторной патологии.

4. Способ прогнозирования и схема динамического наблюдения за детьми, рожденными с помощью ВРТ, обеспечивают своевременную диагностику, тактику лечения и профилактику заболеваний у данной категории младенцев.

Апробация работы

Материалы работы доложены и обсуждены на Всероссийских конгрессах специалистов перинатальной медицины (Москва, 2009, 2010 г.г.), Пятом конгрессе Всемирной ассоциации репродуктивной медицины – WARM 2010 (Москва, 2010г.), Ежегодной конференции Российской Ассоциации репродуктологов человека (Нижний Новгород, 2010г.), итоговой юбилейной научной сессии кафедры акушерства и гинекологии ФПК ГОУ ВПО «УГМА» Минздравсоцразвития РФ и ФГУ «Уральский НИИ ОММ» Минздравсоцразвития РФ «Современные возможности перинатологии и педиатрии» (Екатеринбург, 2010г.), Всероссийской конференции по клинической гемостазиологии в сердечно-сосудистой хирургии (Москва,

2011г.), XV конгрессе педиатров «Актуальные вопросы в педиатрии» (Москва, 2011г.), Международной научно-практической конференции «От эмбриона к человеку» (Екатеринбург, 2011г.) на областных научно-практических конференциях анестезиологов-реаниматологов, гематологов, неонатологов и педиатров (Екатеринбург 2010, 2011 г.г.)

По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ, из них 3 в журналах, входящих в перечень ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации.

Внедрение результатов исследования

Регистр, способ прогнозирования развития мультифакторной патологии внедрены в практику репродуктивных (ЗАО «Центр семейной медицины») и перинатальных центров, отделений второго этапа выхаживания лечебных учреждений (Городской перинатальный центр ГДБ №10, Областной перинатальный центр ОДКБ №1), детских больниц г.Екатеринбурга (ГУЗ СО ДКБВЛ НПЦ «Бонум»). Результаты исследования включены в цикл лекций для неонатологов, педиатров, акушеров-гинекологов, анестезиологов-реаниматологов, неврологов, генетиков, гематологов на профильных кафедрах ГОУ ВПО УГМА Минздравсоцразвития РФ, тематические циклы обучения врачей «Актуальные вопросы перинатальной медицины», «Генетические и фенотипические аспекты тромбозов и кровотечений в клинической медицине».

Глава 1. ФАКТОРЫ РИСКА И ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Бесплодие, как фактор риска формирования отклонений в состоянии здоровья детей

В начале XX века зарождение человеческой жизни считалось великой тайной, но метод искусственного оплодотворения ученые экспериментировали еще в конце XIX века. В середине 30-х годов XX столетия начали появляться публикации о безуспешных попытках переноса эмбрионов у грызунов. Через три десятилетия ученым удалось произвести экстракорпоральное оплодотворение мыши, затем крысы, кролика, овцы, козы, собаки, коровы. В 1891 году английский врач Хеп удачно пересадил эмбрионы от одной крольчихи другой. При этом он доказал, что присутствие “чужих” эмбрионов в матке не оказывает влияния на развитие собственного потомства. В 1944 г. впервые удалось получить *in vitro* эмбрионы человека, а в 50-е годы XX века родилась идея, согласно которой для лечения бесплодия использовать оплодотворение вне организма.

С 1978 года благодаря фундаментальной работе британских ученых Роберта Эдвардса и Питера Стептоу, после 600 попыток, был рожден первый ребенок путем вспомогательной репродуктивной технологии (ВРТ) методом экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов в полость матки (ЭКО и ПЭ). В России данный метод впервые был апробирован и внедрен в 1986 г. в Научном Центре акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН, руководимом академиком В.И.Кулаковым, в лаборатории профессора Б.В.Леонова.

В настоящее время перед супружеской парой стоят задачи избежать нежелательной беременности, произвести на свет желанных детей, регулировать интервалы между беременностями, контролировать выбор

времени рождения в зависимости от возраста родителей и определять число детей в семье [57]. Взаимосвязь этих параметров характеризует репродуктивное поведение женщины и обеспечивается ее репродуктивным здоровьем. Ежегодно почти у 600 тыс. россиянок выявляются репродуктивные расстройства, восстановление которых в соответствии с Концепцией демографической политики РФ на период до 2025 г. предполагает, среди прочих методов, использование вспомогательных репродуктивных технологий [18, 19, 67]. Применение ВРТ является высоко востребованным и широко используемым методом, что обусловлено большой частотой нарушений в репродуктивной системе. Частота бесплодных браков в России составляет более 20% среди супружеских пар (и более 186 миллионов пар в мире), что, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), является критическим уровнем [1, 22, 228]. В РФ зарегистрировано около 6 миллионов бесплодных супружеских пар. В Свердловской области данный показатель насчитывает около 300 000 бесплодных и бездетных супружеских пар. Фактор женского бесплодия за последние 5 лет увеличился на 14%, что в настоящее время составляет 40-60% случаев бесплодного брака [1]. В этиологии инфертильности превалирует женский фактор, несмотря на то, что мужское бесплодие распространено в равной степени и составляет 30-50% [1, 21, 22, 23]. Около 20% случаев бесплодия не имеют этиологически выявленную причину. На сегодняшний день, одними из основных причин бесплодия, эмбриональных потерь, привычных выкидышей, неудач процедур экстракорпорального оплодотворения (приблизительно от 70 до 90 %), рассматриваются тромбофилии и полиморфизм генов тромбофилии [2, 15, 30].

В каждом конкретном случае вопрос о методе лечения бесплодия решается индивидуально, на основании совокупности параметров, оценивающих состояние репродуктивной функции обоих супругов. Современные высокоэффективные методы лечения бесплодия (гормональные препараты, эндоскопические методы и методы вспомогательной репродукции) являются звеньями одной цепи, конечная цель которой – максимально быстрая

реализация фертильности. Эти методы не являются антагонистичными, а наоборот, взаимно дополняют друг друга. Однако использование ВРТ, по мнению ВОЗ, представляется самым эффективным методом лечения бесплодия [228]. Вспомогательные репродуктивные технологии - это любой метод лечения или процедура, которые производятся в пробирке путем обработки человеческих ооцитов, спермы или эмбрионов для достижения беременности [52].

С 1978 года, четыре миллиона детей были рождены в мире благодаря ВРТ, более тридцати тысяч детей рождены в РФ. Каждый год в РФ около 1000 детей рождаются в результате ВРТ [22]. В некоторых европейских странах, до 5 % от всей рождаемости составляют дети, рожденные с помощью репродуктивных технологий [228].

Опыт многих стран показывает, что ВРТ как мера политики по повышению рождаемости, может создать положительный доминирующий репродуктивный эффект. Швейцарскими экономистами была создана математическая модель себестоимости процедуры ЭКО и возмещения правительственных инвестиций в течение жизни потенциального налогоплательщика [170]. Авторы демонстрируют семикратный возврат затраченных правительством вложений при трудовой занятости в производстве будущего специалиста. При оценке подобной модели экономисты Великобритании пришли к выводу о возврате инвестиций в 8,5 кратном объеме при рождении детей от одноплодной беременности [89]. К сожалению, в данных моделях не были учтены такие факторы, как заболеваемость, инвалидность и смертность для данной группы детей.

По акушерским данным эффективность процедуры ЭКО следует оценивать не по частоте наступления беременности, а по показателю «take home baby», то есть по количеству выписанных домой живых детей [42]. С позиции педиатрии данный показатель должен рассматриваться в контексте оценки состояния их здоровья.

Основываясь на систематическом обзоре современной иностранной и отечественной литературы необходимо отметить, что данные о качестве здоровья детей, рожденных в результате ВРТ, варьируют, причем выводы подчас противоположные. Многие из существующих исследований не соответствуют требованиям доказательной медицины: не являются рандомизированными, контролируемыми, лонгитудинальными, зачастую не имеют группы сравнения или носят описательный характер, что не позволяет трактовать большинство исследований как достоверные.

Оценивая реалии потенциального здоровья такой категории детей, необходимо рассматривать течение беременности, наступившей благодаря ВРТ, как основополагающий фактор, непосредственно оказывающий влияние на благополучие будущего ребенка [96]. Пациентки, у которых беременность возникла в результате использования ВРТ, составляют особую группу, отличающуюся не только от беременных с нормальной репродуктивной функцией, но и от беременных с длительным бесплодием в анамнезе [2, 13, 15, 22, 42, 68, 123].

Для оценки факторов риска, которые действуют на развивающийся эмбрион и плод в процессе внутриутробного развития, выделяют несколько групп [22, 211]. К первой группе относятся женщины, подвергшиеся процедуре ВРТ. Средний «стаж» бесплодия у таких женщин составляет около 10 лет, таким образом, ко времени проведения процедуры ВРТ эти женщины относятся к группе «старых» первородящих. Бесплодие у возрастных женщин, по данным литературы, может произойти из-за большего риска хромосомной патологии, из-за сочетания соматических заболеваний, накопившихся в процессе длительного бесплодного периода (например, артериальная гипертония, эндокринная патология, такая, как метаболический синдром, ожирение и т.д.) [34, 59, 64]. Согласно данным отечественных исследователей [2, 4, 13, 42, 68] у всех беременных группы ВРТ имелся хотя бы один, а у абсолютного большинства этой категории женщин имелось несколько факторов, отягощающих прогноз для плода и исхода беременности. С

возрастом также увеличивается процент невынашивания беременности [15, 38, 68]. В среднем, вероятность наступления беременности на одну попытку ЭКО составляет 30-35%, и это зависит от многих факторов, но в первую очередь – от возраста женщины, вследствие проявления феномена старения гамет, обусловленного десинхронизацией заключительных этапов созревания, овуляции и оплодотворения. Так, в группе женщин 20-25 лет эффективность ЭКО может превышать 50%, а у женщин старше 40 лет не достигать и 15 – 20% [21, 23].

Следующим фактором риска внутриутробного воздействия на эмбрион и плод является акушерско-гинекологический анамнез, отягощенный медицинскими абортами, самопроизвольными выкидышами, синдромом потери плода, внематочной беременностью, а также хроническими гинекологическими заболеваниями (аднексит, сальпингоофорит, эндометриоз и т.п.), свидетельствующими об определенной несостоятельности репродуктивной системы женщин [4, 13, 15, 21, 23, 42, 199]. Для получения достаточного количества яйцеклеток при ВРТ необходимо проведение стимуляции активации яичников (суперовуляции), вследствие чего, женщины получают широкий спектр гормональных препаратов. Это ставит перед клиницистами задачу изучения механизмов влияния гормональной терапии на репродуктивную, эндокринную систему, как женщины, так и плода. Исследование, проведенное немецкими учеными, продемонстрировало отсутствие влияния овариальной стимуляции на снижение массы тела детей, рожденных с использованием ВРТ [192]. Данная работа оценивала только антропометрические данные, другие же показатели возможного гормонального воздействия на организм плода оценены не были, что требует дальнейших исследований. Авторами из Нидерландов [218] оценено влияние гормональной стимуляции на неврологический статус 4 - 18 месячных младенцев. В ходе исследования продемонстрировано отсутствие отрицательного воздействия проводимой терапии, тем не менее, авторы рекомендуют отследить катамнез данных детей в более позднем возрастном периоде. Патологическое течение беременности осложнялось угрозой

прерывания, достигающей 60% и более, развитием преэклампсии [150], что требовало неоднократной госпитализации. При оценке динамики преждевременных родов с 1987 по 2003 г.г. авторами [22] отмечено увеличение из года в год степени риска досрочного рождения с 19,5% до 33%.

Одним их наиболее важных факторов развития патологии течения беременности и перинатальных исходов является многоплодная беременность. Наступление многоплодной беременности при ВРТ возникает в 20-30 раз чаще, чем в общей популяции (1,26 %: 46 %) [22, 48, 198, 228]. Частота многоплодных беременностей, возникших при помощи ВРТ, значительно варьирует в разных странах, например, в США составляет 37 %, в странах Европы - приблизительно 29 % [198, 228, 171]. По данным американского мета-анализа 2008 года, основными осложнениями при многоплодной беременности являются патологическое течение текущей беременности, преждевременные роды, маловесные дети, повышение детской инвалидности и смертности [90]. Израильские ученые отметили, что при многоплодных беременностях после ВРТ, наблюдается увеличение материнской смертности и заболеваемости, проведение долгосрочных затрат на перинатальную помощь, госпитализацию матери, койко-день детей в палатах интенсивной терапии и реанимации [120]. Суммарные затраты на лечение детей, рожденных от одноплодных беременностей, зачатых при помощи ВРТ, по-мнению многих специалистов, превышают таковые в группе детей от спонтанной беременности [141, 203]. Основываясь на популяционных исследованиях, одноплодная беременность является наиболее важной стратегией в снижении неблагоприятных исходов ВРТ [21, 22, 23, 48, 73, 198, 228].

Таким образом, методики ВРТ в настоящее время направлены на ограничение количества трансплантированных зародышей и избирательный перенос одного эмбриона, что приводит к значительному снижению числа многоплодных беременностей без снижения общей частоты наступления беременности.

1.2. Характеристика показателей здоровья детей, рожденных при использовании репродуктивных технологий

Несмотря на рекомендации ведущих эмбриологов и репродуктологов, относительно ограничения количества переносимых эмбрионов, у младенцев, рожденных даже от одноплодной беременности, зачатой при использовании ВРТ, многими авторами отмечены особенности в состоянии здоровья. Так, на втором конгрессе Европейской Академии Педиатрии – 2008, при исследовании детей, рожденных при одноплодной беременности, зачатой с помощью ВРТ, немецкими учеными кафедры детской и подростковой психиатрии и психотерапии были выявлены психические нарушения в 24,6%, субклинический уровень психопатологических симптомов в 15,9%, нарушения ментального статуса в 40,5%, а также гиперкинетические расстройства и фобии [180]. При изучении перинатальных исходов одноплодных беременностей, путем проведения мета-анализов в Канаде и США, продемонстрировано отношение шансов при сравнении детей, зачатых естественным путем и путем применения репродуктивных технологий, что характеризуется повышением перинатальной смертности в 2,2 раза и в 2,4 раза соответственно, преждевременных родов в 2 раза и в 2,46 раз соответственно, низкой массы тела 2 раза, очень низкой массы тела в 2,7 раз, экстремально низкой массы тела (ЭНМТ) в 3,78 раз, синдромом задержки роста плода (СЗРП) в 1,6 раз, врожденных пороков развития (ВПР) в 1,4 раза [199]. Подобные показатели были отмечены и в другом систематическом анализе, как относительно одноплодных, так и многоплодных беременностей [196]. В наибольшей степени принципам доказательности соответствуют мета-анализы группы Archie Cochrane – Cochrane Collaboration. В данной библиотеке представлено только два мета-анализа, оценивающих исходы применения ВРТ. При анализе здоровья детей, рожденных от одноплодной беременности, зачатой при помощи ВРТ, в данной группе младенцев зафиксировано увеличение риска перинатальной смертности (OR 1.97, 95% CI 1.22-3.19), преждевременных

родов в сроке от 32-36 недель гестации (OR 2.05, 95% CI 1.39-3.01), рождение детей с очень низкой массой тела, менее 1500 г, (OR 3.78, 95% CI 2.49-5.75), а также увеличение риска госпитализации в палаты интенсивной терапии и реанимации (OR 1.35, 95% CI 1.19-1.53) [177]. У младенцев, рожденных от многоплодной беременности, по данным подобного исследования Cochrane, риски преждевременного рождения в срок от 32-36 недель гестации (OR 1.48, 95% CI 1.05-2.1) сохранялись, но отмечался более высокий риск госпитализации в палаты интенсивной терапии и реанимации (OR 2.23, 95% CI 1.64-3.02) [178]. Учитывая анализ данных 2010 г, представленных в датском регистре, охватывающем 13 692 детей, рожденных от одноплодной беременности, в течение с 1994 по 2008 г.г., для младенцев были характерны низкая масса тела (OR 1.4, 95%CI 1.1-1.7), а также рождение в преждевременном сроке (OR 1.3, 95% CI 1.1-1.6) [142].

Особенностью ведения беременности, наступившей при использовании репродуктивных технологий, является высокая частота оперативного родоразрешения путем операции кесарева сечения, который применяется в 40-50% случаев [22, 48]. По мнению Cochrane Collaboration риск рождения детей при многоплодной беременности, индуцированной репродуктивными технологиями, оперативным методом родоразрешения повышен в 1,39 раз (OR 1.39, 95% CI 1.21-1.59) [178].

Результаты оценки состояния здоровья детей, рожденных при помощи использования вспомогательных технологий, отличаются в различных странах, частично из-за различий в уровнях навыка, но преимущественно из-за различий в методах ВРТ [23]. Ученые Норвегии опровергают данный факт и утверждают, что неблагоприятные исходы, такие как, преждевременные роды, маловесные дети, перинатальная смертность, СЗРП, являются последствиями факторов, приведших к бесплодию, а не факторов, связанных с проведением репродуктивной технологии [123].

Разногласия, прежде всего, обусловлены отсутствием единой регистрации данной категории младенцев. Европейский и Всемирный мониторинги

репродуктивных технологий ESHRE и ICMART постулировали, что у 3% всех детей в популяции существует риск врожденных пороков развития, однако, дети, рожденные в программах ВРТ, имеют повышение риска формирования врожденных аномалий на 40 – 50 %, так же как и в случае спонтанных беременностей после длительного бесплодия [98]. Развитие патологии, по мнению авторов данного мониторинга, не связано с методом ВРТ, а зависит от причин бесплодия.

Учитывая ряд гипотез об увеличении риска аномалий у детей, рожденных при помощи ВРТ, при мужском бесплодии, многими группами ученых проанализирована частота и структура врожденных пороков развития (ВПР) [22, 23, 99, 109, 197, 221]. Romundstad L.V. et al. отметили небольшое увеличение частоты хромосомных aberrаций *de novo*, дефектов половых хромосом (1%), что авторы трактуют следствием особенностей сперматозоидов бесплодных мужчин, а не техникой ВРТ [21]. Частота больших аномалий развития находилась в границах нормальных значений для общей популяции по результатам многих исследований, но катанез детей при этом не был долгосрочным [99, 197]. Учеными из Нидерландов был найден достоверно повышенный риск (OR 2.54, 95% CI 1.02–5.23) развития ретинобластомы [154]. В работе американских и чешских исследователей отмечается больший процент ВПР (13,3%), таких как синдром Дауна, врожденная челюстно-лицевая патология, и авторами объясняется это высоким средним возрастом женщин [99, 228]. В основе данных состояний, вероятно, находится феномен старения гамет, что проявляется формированием аномальных эмбрионов, в том числе с хромосомопатиями [22, 38]. Достоверные различия найдены испанскими исследователями между возрастом матерей, наступлением многоплодной беременности, наличием ВПР и оперативным родоразрешением [103]. Исследования, проведенные в Ирландии, Германии, Бельгии и США, не выявили существенной разницы показателей врожденных пороков развития, но также отметили многоплодную беременность как этиологический фактор перинатальных нарушений [113, 146, 198, 201].

Внимание многих ученых уделено оценке соматической патологии у детей, рожденных при применении ВРТ. Изучая предрасположенность детей от ВРТ к развитию аллергического ринита, атопического дерматита и бронхиальной астмы турецкие ученые не выявили существенных различий по сравнению с контрольной группой детей, рожденных при спонтанно наступившей беременности [204]. Несколько групп ученых исследовали уровни артериального давления, которые оказались выше в интересующей группе (систолическое давление-109 +/- 11 в, $p < 0.001$; диастолическое-61 +/- 7, < 0.001), также были отмечены гипергликемия (5.0 +/- 0.4, $p = 0,005$), повышение концентрации триглицеридов, инсулиноподобного фактора роста I и II типов, липопротеидов высокой плотности [77, 104, 140]. Авторы работ интерпретируют выявленные данные изменением метиляции генов, ответственных за рост и метаболизм [152, 209], и полагают, что дальнейший кардиометаболический мониторинг позволит выявить факторы, влияющие на ранние этапы онтогенеза.

Изучение здоровья детей после ВРТ в Финляндии зафиксировало серьезные факты, а именно: увеличение в два раза детской смертности, мертворождаемости в 1,8 раз, повышение риска развития детского церебрального паралича (ДЦП) в 2,92 раза, рост эпилепсии на 33%, сахарного диабета на 57%, отклонения в поведении на 68% [205]. Подобную тенденцию отметила группа датских ученых, выявившая повышение частотности эпилепсии и фебрильных судорог у ВРТ детей [127]. По данным другого мета-анализа 2009 года (19462 детей), представлено отношение шансов развития ДЦП при преждевременных родах, как 2,18 [106]. Согласно материалам датского национального когортного исследования авторами отмечено повышение риска развития синдрома детского церебрального паралича на 80% [164].

Достаточное количество исследований посвящено изучению когнитивного, и нервно-психического статуса данной категории детей. Большинство работ отмечает, что ментальное и нервно-психическое развитие

не отличается от такового у детей, зачатых естественным путем [108, 184, 187, 201, 234] В одной из работ нидерландских ученых отмечено увеличение осложнений беременности на 54,5%, задержка статико-моторного развития и снижение показателя IQ («Intelligence quotient»-показатель интеллекта, от англ.), по-сравнению, с детьми, зачатыми естественным путем, что авторы интерпретируют не преждевременным рождением детей, а различиями в состоянии здоровья их матерей [109, 175].

Существуют комплексные исследования, посвященные изучению психофизиологических, поведенческих и психосоциальных особенностей развития детей, зачатых с помощью ВРТ [195, 233]. Так, по данным мета-анализа лонгитудинальных исследований и систематических обзоров, проведенных в течение последних 25 лет, отмечено, что умственное и психомоторное развитие в раннем и в дошкольном возрасте существенно не отличаются у детей, рожденных при помощи ВРТ, по сравнению с естественно зачатыми детьми [85, 99, 110, 111, 159]. Существуют единичные работы, посвященные процессу изучения когнитивных аспектов и обучаемости детей с описанием поведенческих и психоэмоциональных расстройств, возникающих после восьмилетнего возраста, и нарастания их в пубертатном периоде [85, 179]. В некоторых работах авторы описывают поведенческие особенности только в раннем детском возрасте [175, 179]. Младенцы, рожденные с помощью ВРТ, особенно желанны и долгожданны, их здоровью, развитию, воспитанию и образованию родители уделяют большое внимание, что проявляется в некоторых случаях гиперопекой, а также [17, 110, 111, 206] особенностями психоэмоционального статуса матерей [149].

Внимание к состоянию здоровья детей, рожденных при использовании вспомогательных технологий, было уделено и российскими учеными. Согласно данным Центральной научной медицинской библиотеки Московской медицинской академии им. Сеченова за последние два десятилетия в РФ было проведено 4 диссертационных исследования на звание кандидата медицинских наук по данной тематике, дизайн которых представлен в табл.1.

**Диссертационные работы, оценивающие здоровье детей,
рожденных при помощи ВРТ**

Признак	Дизайн			
	Бахтиарова В.О.[4]	Сеникова М.К. [58]	Маслянюк Н.А.[31]	Никитина И.В [39]
Основная группа (n)	142	162	482	200
Группа сравнения	ЭКО/ИИ	ЭКО/ИКСИ	многоплодные от ЭКО (n=181); одноплодные от ЭКО (n=101)	ЭКО/ИКСИ
Контрольная группа	нет	1206 – ретроспективно по историям болезни	одноплодные (n=10); многоплодные (n=190)	нет
Длительность катамнеза (n)	3 года (100)	3 года (126), контр (25)	3 года (26)	Этап ЛПУ (200)
Конечные точки (n)	СНПР, иммунологические, гормональные параметры (25)	СНПР гормональные параметры (24), хромосомная патология	СНПР, центральная организация сна	СНПР
Статистические методы	%, факторы риска -%	%	%, описательные, параметрические методы	%, описательные, параметрические методы
Внедрения в практическое здравоохранение	-	-	-	-

Примечание: СНПР- соматическое и нервно-психическое развитие

Первая диссертация в РФ по качеству здоровья детей, рожденных после ВРТ, была защищена в 1993 году Бахтиаровой В.О., по данным которой, 53,6%

детей имели неврологические отклонения, 29,3% - задержку внутриутробного развития, асфиксию при рождении в 89,4% случаев [4]. Тем не менее, к 3-х летнему возрасту, исследуемая группа детей не отличалась от сверстников, зачатых при спонтанной беременности.

Сеникова М.К. [58] акцентировала внимание на более низкие показатели гестационного возраста (25,4-31,3%) и массы тела при рождении детей от ВРТ, даже в случае одноплодных беременностей. Также у 56,9%-65,6% детей, родившихся в результате использования ВРТ, отмечалось более напряженное протекание процессов адаптации в раннем неонатальном периоде, что требовало проведения интенсивной терапии или реанимационных мероприятий.

Оценивая состояние новорожденных и их дальнейшее развитие при многоплодной беременности после ЭКО, Маслянюк Н.А. [31] установила, что здоровые доношенные дети от многоплодной беременности по физическому, психомоторному развитию, заболеваемости на первом году жизни и в возрасте 2—3 лет не отличались от детей, родившихся после естественной многоплодной беременности. В то же время недоношенные дети на первом году жизни имели отставание физического развития, достоверно из них у $44,4 \pm 11,7\%$ наблюдался рахит, у $77,7 \pm 9,8\%$ — анемия, высокая частота ОРВИ (более 3—4 раза в год), заболевания желудочно-кишечного тракта и инфекции верхних дыхательных путей (отиты, ангины, бронхиты, пневмонии). Каждый третий ребенок состоял на учете у ортопеда (дисплазия тазобедренных суставов, варусная и вальгусная установка стоп, кривошея), каждый четвертый — у аллерголога, каждый пятый — у хирурга (пупочная грыжа, гидроцеле, гемангиомы). Совокупность хронических заболеваний определяла присвоение каждому второму ребенку, рожденному при помощи ВРТ, III—IV группы здоровья ($50,0 \pm 6,1\%$ против $9,1 \pm 11,8\%$ в контрольной; $p < 0,01$).

По данным Никитиной И. Р. [39] 65% новорожденных от многоплодных беременностей нуждались в проведении интенсивной терапии или реанимации в раннем неонатальном периоде. При применении ВРТ регистрировалась

высокая частота многоплодной беременности, что требовало применения высокотехнологичной перинатальной помощи и повторных госпитализаций детей. Однако, несмотря на трудности в лечении и выхаживании новорожденных с патологическими состояниями, постнатальное развитие 85% детей, родившихся с помощью ВРТ, при выписке из стационаров соответствовало возрастным нормативам. Дети от одноплодных беременностей, в отличие от многоплодных младенцев, не имели отклонений в состоянии здоровья в раннем неонатальном периоде и на последующих этапах развития.

Еще в одной диссертационной работе [20], посвященной оценке состояния здоровья детей, рожденных от матерей с привычным невынашиванием беременности, было исследовано, помимо сомато-неврологического здоровья, распределение и характер наследования семнадцати аллелей гена HLA-DRB1 с гомозиготным семейным генотипом 2R/2R aR-III. Клиническим проявлением иммунного статуса, при наследовании гомозиготного варианта данного генотипа у детей, явилась недостаточность гуморального звена иммунитета, реализующаяся в ослаблении поствакцинального ответа при вакцинации против кори, дифтерии. Кроме того, отмечено увеличение частоты напряжения процессов адаптации у детей в неонатальном периоде в виде: церебральной ишемии II степени (41,25%), умеренной асфиксии (33,75%), синдрома дыхательных расстройств (18,75%), аспирационного синдрома (20%), ЗВУР (47,5%) и конъюгационной желтухи (52,5%) с затяжным волнообразным течением. В первые два года жизни наблюдалась задержка нервно-психического, физического развития, наличие широкого спектра фоновой патологии (рахит, анемия, гипотрофия, дисбактериоз кишечника) и высокого уровня инфекционной заболеваемости. Автором замечено, что у младенцев от матерей с привычным невынашиванием беременности, достоверно чаще встречался транзиторный и субклинический гипотиреоз, выраженность гиперплазии лимфоидной ткани, вследствие чего, было рекомендовано исследование уровня гликемии, гормонального профиля и осмотра иммунолога не менее 4 раз в год.

Как следует из работы Молчановой Е.В., более чем у трети детей от репродуктивных технологий имелись серьезные зрительные нарушения, связанные с недоразвитием оболочек глаза, дисплазией головного мозга в проекции проводящих путей зрительного анализатора. Факт применения вспомогательных репродуктивных технологий автор считает фактором риска по возникновению офтальмологических нарушений у новорожденных детей [35].

По мнению академика Баранова А.А. [62] вспомогательные репродуктивные технологии изначально не должны позиционироваться, как панацея для решения демографической проблемы, вследствие того, что 75% детей имеют те или иные отклонения в состоянии здоровья. Данное заключение Баранов А.А. подтверждает выводами, как иностранных издательств, так и отечественных публикаций. Так, по результатам анализа состояния здоровья и развития 38 младенцев, зачатых с помощью ВРТ за 2005-2006 г.г. в отделении недоношенных детей ГУ НЦЗД РАМН лишь в 3% случаев наблюдалась одноплодная беременность. Все дети родились недоношенными, 82% детей родились у матерей с эндокринно-иммунными формами бесплодия, 10,5% детей – с экстремально низкой массой тела. Все младенцы имели тяжелые проявления перинатального поражения ЦНС (церебральная ишемия 2-3 степени), около 30% - внутриутробную пневмонию, 10,5% - врожденные пороки развития, треть нуждалась в продленной ИВЛ (31,6%). Трое детей (7,9%) вследствие тяжелой сочетанной патологии погибли до достижения трехмесячного возраста. Все выжившие дети на первом году отставали в физическом и психо-моторном развитии.

Анализируя приведенные данные, Барановым А.А. рекомендуется строгая регламентация показаний, выдвигаемых консилиумом, включающим врача-педиатра, психолога и юриста, проведение первичной профилактики нарушений репродуктивной системы, уменьшение частоты многоплодных беременностей, проведение мультицентровых исследований с оценкой качества здоровья данной категории младенцев.

Таким образом, по данным обзора литературы, становится очевидной актуальность изучения факторов риска и подходов к оценке состояния здоровья детей, рожденных с помощью ВРТ. Большинство отечественных и зарубежных исследований носит эмпирический характер, данные же работ, соответствующих критериям доказательной медицины варьируют, причем выводы во многом противоположные. Для достижения максимальной объективизации необходимо создание обобщенной базы данных, регистра детей, рожденных при помощи методов ВРТ, что будет, служить предпосылкой создания системы комплексного и динамического наблюдения за этой группой детей с привлечением врачей различных специальностей на всех этапах оказания высококвалифицированной медицинской помощи, учитывая приоритетность выявленной патологии.

1.3. Роль генетических полиморфизмов в предрасположенности к мультифакторной патологии семей с синдромом потери плода

В 2003 году завершился проект по расшифровке генома человека. Было выявлено, что геном человека содержит примерно 22 000 генов, включает 3,2 млрд. пар оснований и, при этом, геномы всего человечества тождественны по своему нуклеотидному составу почти на 99,9% [3, 79, 189]. Вариабельность же, представляющая основу индивидуальной изменчивости, биохимической уникальности каждого человека, а также источника индивидуальных различий в предрасположенности к мультифакторным заболеваниям обуславливают генетические полиморфизмы [80, 81, 101].

Генетические полиморфизмы - это генные точковые мутации в одном или в двух генах, подчиняющиеся менделевскому типу наследования, и встречающиеся в популяции в двух вариантах с частотой не менее 1% [3, 40, 41, 80]. Подверженность к той или иной болезни обусловлена сочетанием в генотипе индивида определенных аллельных вариантов генов, формирующих неблагоприятный наследственный фон, реализующийся при взаимодействии с

факторами среды патологическим фенотипом. Поиск генетических маркеров, отвечающих за наследственную предрасположенность к мультифакторным заболеваниям, является главной целью современной предиктивной медицины [3, 43, 101, 238]. На практике такая цель может быть достигнута путем молекулярного тестирования генов, получивших название "генов предрасположенности" «susceptibility genes» [9, 79, 237]. Анализ ассоциации полиморфизмов с конкретным заболеванием, разработка на этой основе комплекса профилактических мероприятий для каждого конкретного пациента составляют стратегическую основу нового, быстро развивающегося направления предиктивной (предсказательной) медицины [3, 43, 207].

Успехи, достигнутые в расшифровке генома человека, определение молекулярной этиологии наиболее значимых заболеваний, а также современные достижения репродуктивной медицины, казалось бы, позволяют контролировать не только количественный, но и качественный уровень рождения детей, при помощи ВРТ. Однако в реальности существует сложное генное взаимодействие, с формированием генных сетей, клиническое проявление которых провоцируется как внутренними, так и, в большей степени, внешними средовыми факторами [3, 79]. К сожалению, генетическая диагностика не распространяется дальше генотипа - она не позволяет установить промежуточный или конечный результат взаимодействия генотипа, эпигенетических модификаций и средовых факторов. Тем самым выявляется лишь предрасположенность к мультифакторной патологии. Диагностика достоверно доказанных наиболее актуальных мультифакторных заболеваний, своевременная оценка риска в до- и в симптоматическом периоде, с проведением профилактических мероприятий, позволит улучшить течение и исходы беременностей, а значит повысить качество здоровья детей.

В последнее десятилетие исследования, посвященные распространенности генетических полиморфизмов во взрослой практике, выявили наиболее достоверные ассоциации более 150 нуклеотидных полиморфизмов в 105 генах риска развития сердечно-сосудистых заболеваний

[97, 134, 70], метаболических нарушений [46], профилактики развития тромбозов в онкологической и хирургической практике [132, 191, 210, 230], а также при проведении гормональной терапии [135, 214]. Результаты исследований показали, что полиморфизмы генов системы гемостаза, фолатного цикла и гены эндотелия контролируют наиболее важные, взаимосвязанные процессы метаболизма, что существенно меняет их активность, и может быть основной причиной гемостазиологических и сосудистых нарушений, приводящих к серьезным острым и хроническим заболеваниям [86, 129, 186].

Особое внимание уделяется изучению генетической предрасположенности к тромбофилическим состояниям в акушерстве [2, 29, 107, 229], так как сам факт наступления беременности увеличивает коагуляционный потенциал крови в среднем в 5-6 раз [224]. При наличии же протромботических аллельных вариантов генов свертывания крови, риск развития тромбозов может усиливаться на порядок [11, 29]. Пока еще мало изученными, при анализировании групп риска состояния здоровья детей, рожденных при помощи ВРТ, остаются полиморфизмы генов системы гемостаза, нарушений фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции.

У женщин - носителей неблагоприятных аллелей отмечаются такие осложнения, как невынашивание беременности [129], синдром потери плода, тяжелые формы гестоза (эклампсии и HELLP-синдром), СЗРП и антенатальная смерть плода, фето-плацентарная недостаточность и ее крайняя степень - преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, особенно при использовании ВРТ [29, 128, 222, 223, 224]. По данным Степановой А.А. [60, 63] у беременных с наследственными тромбофилиями вероятность возникновения преждевременных родов в 25,31 раза превышала таковую частоту у женщин без данных мутаций. Кроме того, существует мнение о том, что нарушение репродуктивной функции женщины - привычное невынашивание беременности можно рассматривать как мультифакторное заболевание - результат аддитивного действия множества генных локусов и

большого числа внешних и внутренних факторов. Относительная роль генетического и средового фактора различна в каждом конкретном случае [12]. Немногочисленные исследования, посвященные изучению роли тромбофилии в генезе СПП, позволили выявить взаимосвязь между бесплодием неясного генеза и дефектами системы гемостаза [2, 155, 158]. Неудачи в программе экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) стали рассматриваться с позиции микротромбирования на уровне эндометрия и хориона на начальных этапах беременности [2, 29, 83, 156]. Генетическая тромбофилия обнаружена у 71% пациенток с СПП и 59,5% новорожденных [2]. По мнению Баймурадовой С.М., патогенетическую роль при синдроме потери плода играет не только материнская, но и сочетание материнской и плодовой тромбофилии, выявленное у 82,8% пациенток и их новорожденных детей.

Работы, оценивающие полиморфизмы точковых мутаций у детей, приобретают широкую тематическую направленность. Так, активно изучаются точковые мутации в системе гемостаза при цереброваскулярных [7, 66, 71], метаболических заболеваниях [8, 235] и эндотелиальной дисфункции [91, 137]. Наличие полигенно-обусловленного мультифакторного соматического заболевания у родителей, как правило, свидетельствует о высокой вероятности частичного наследования патологического набора генов их дочерью [14]. При наличии заболевания данного типа у обоих родителей, имеет место наследование большего количества, патологических генов с формированием более высокой подверженности к заболеванию для их дочерей. В указанных случаях возникает наследственная предрасположенность к заболеванию, которая обычно клинически проявляется (манифестирует) во второй половине жизни человека под действием различных неблагоприятных средовых факторов: неправильного образа жизни, профессиональных вредностей, экологического неблагополучия [65]. Установлены мультифакторные заболевания родителей (артериальная гипертензия, варикозное расширение вен, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки) [44], имеющие ассоциативные связи с особенностями репродуктивной функции их дочерей,

что может рассматриваться в качестве факторов риска заболеваний, осложняющих беременность, роды и их исход. Особое внимание уделено полиморфизмам генов системы гемостаза, как универсального критерия, отражающего течение синдрома системного воспалительного ответа [27, 28].

В литературе опубликовано мало данных, характеризующих наследственные факторы риска в развитии тромбозов у детей, хотя проблемы ранних тромботических эпизодов не являются казуистикой [163]. Есть основания полагать, что степень риска при носительстве тромбогенных полиморфизмов у детей и взрослых различается с возрастом. На сегодняшний день в России не проведено ни одного крупного популяционного исследования распространенности тромбогенных полиморфизмов. К настоящему времени отсутствует единый национальный регистр пациентов, перенесших тромбоз, имеющих врожденные факторы тромбогенного риска.

В среднем частота тромбозов у новорожденных составляет 2,4 на 1000 [16, 72]. Основными причинами развития тромбозов у новорожденных детей, является декомпенсация системы гемостаза с характерными клиническими симптомами, вследствие реализации наследственных аномалий генов гемокоагуляции при критических состояниях неонатального периода (асфиксия, сепсис, заболевания сердечно-сосудистой системы, некротизирующий энтероколит), медико-техногенных процедур (установка центральных венозных катетеров, лапароцентез, дегидратация) на фоне возрастных особенностей [133, 139, 143]. Основными генетическими факторами предрасположенности служат нарушения антикоагулянтного звена системы гемостаза (дефицит антитромбина III, протеина C, протеина S), коагуляционного звена - мутация фактора V Лейден, протромбина G20210A, фибриногена, ингибитора активатора плазминогена-1 PAI-1, метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR C677T [41, 56, 92, 93, 95, 112, 129, 145, 160, 176, 208, 215, 226].

Наименее изученными полиморфизмами этиологии тромбозов в неонатальном периоде являются тромбоцитарное (тромбоцитарные

гликопротеины к коллагену - ItGa2, к фибриногену и фактору Виллебранда - ItGB3) и фибринолитическое звено гемостаза (ингибитор активатора пламиногена-PAI-1). Тем не менее, каскадность реакций гемостаза, взаимовлияние и взвешенность про- и антикоагулянтного звена обуславливает необходимость комплексной оценки факторов риска нарушений в системе коагуляции с выделением этиопатогенетических значимых аллельных вариантов.

Наиболее значимой мутацией в развитии тромботических осложнений беременности и патологии плода является мутация V фактора Лейден [190, 208]. Тип наследования – аутосомно-доминантный. Распространенность - 4-6% (гетерозиготные носители) [78]. Данный полиморфизм характеризуется заменой нуклеотида гуанина на аденин в позиции 1691, что приводит к замене аминокислоты аргинина на глутамин в позиции 506. Замена аргинина на глутамин приводит к устойчивости фактора V и фактора X к расщеплению активированным протеином C (APC). Таким образом, в организме возникают условия, способствующие гиперактивации протромбиназного комплекса, что может приводить к развитию тромбоза (при гетерозиготном варианте OR 2 – 7; при гомозиготном варианте OR 40 – 80) [102, 212].

В обычном состоянии у носителя лейденской мутации может и не быть тромбозов. Тромбозы развиваются при наличии дополнительных факторов риска: беременности (OR 52) [129, 161, 162], приема гормональных контрацептивов [200], повышения уровня гомоцистеина, мутаций MTHFR [160] и гена протромбина [95], антифосфолипидных антител [87]. Наличие лейденской мутации повышает вероятность развития целого ряда осложнений беременности: невынашивания беременности на ранних сроках (OR 6), внутриутробной задержки роста плода, преэклампсии, фетоплацентарной недостаточности и отслойки нормально расположенной плаценты [102, 212, 225].

Полиморфизм 20210 (G>A) протромбина обусловлен заменой нуклеотида гуанина на аденин в позиции 20210 [227]. Тип наследования – аутосомно-

доминантный, с распространенностью 2-3%. При наличии данной мутации обнаруживаются повышенные количества химически нормального протромбина. Вследствие повышения уровня протромбина в крови в полтора – два раза происходит 3-х кратное увеличение риска венозного тромбоза [131]. Мутация протромбина может быть причиной цереброваскулярных тромбоокклюзионных заболеваний. При возникновении тромбозов мутация G20210A часто встречается в сочетании с лейденской мутацией [95]. Данная мутация повышает в 2-3 раза риск синдрома потери плода, а также всех осложнений, связанных с лейденской мутацией (невынашивание беременности, фето-плацентарная недостаточность, преэклампсии, внутриутробная гибель плода, гестозы, задержка развития плода, отслойка плаценты) [138, 147, 161, 166, 217, 225].

Мутация фибриногена, вследствие полиморфизма 455 G>A, приводит к повышенному уровню фибриногена в крови (на 10-30%) и увеличивает тромбогенность. Распространенность в популяции составляет 5-10%. Риск венозных тромбозов, инфаркта миокарда, ишемического инсульта увеличивается в 2,5 раза при носительстве данной мутации [138]. Особо неблагоприятно данная мутация клинически проявляется в сочетании с носительством гликопротеинов тромбоцитарных рецепторов ItGA2 и ItGB3 [29, 163].

Полиморфизм ингибитора активатора плазминогена (PAI-1) выявлен в промоторной (регуляторной) области и известен как точковая мутация 4G/5G по типу инсерция/делеция. В популяции возможны 3 варианта генотипа: 5G/5G, 5G/4G, 4G/4G. Распространенность гомозиготной мутации около 5-8%. Мутация приводит к повышению уровня PAI-1 в крови, снижению активности тромболитической системы, что сопровождается увеличением риска тромбозов в среднем в 1,7 раз [84]. Носители аллеля 4G имеют более высокую концентрацию PAI-1, чем носители аллеля 5G, что приводит к повышению риска тромбообразования, а во время беременности - к нарушению функции плаценты, невынашиванию беременности, развитию гестоза, вследствие

тромбоза спиральных артерий [2, 29, 225]. Вариант 4G/4G предрасполагает не только к увеличению риска тромбозов, но и к развитию метаболического синдрома, ожирения, повышения уровня холестерина [194]. Сочетание мутации PAI-1 с ожирением увеличивает риск тромбозов в несколько раз [214]. Проведение гормональной терапии при ВРТ, с целью стимуляции суперовуляции и сохранения беременности повышает риск тромбозов в месте имплантации и ранней плацентации, за счет угнетения фибринолиза. Более тяжелым осложнением является развитие дисбаланса маточно-плацентарного фибринолитического контроля, вследствие повышения депозиции фибрина в маточных сосудах и снижения маточно-плацентарного кровотока, обусловленные полиморфизмом PAI-1 [214, 217]. Кроме того, нарушается степень инвазии трофобласта на ранних сроках беременности, что является этиологической причиной ЗВРП, а при недостаточном синтезе бластоцистой протеаз и к СПП [69].

Полиморфизм тромбоцитарных гликопротеиновых рецепторов играет не мало важную роль в патологии беременности и плода, нежели мутационные изменения в коагуляционном звене гемостаза [33]. Встречаемость в популяции – 8-15%. Полиморфизмов гена ITGA2 заключается в точечной замене в позиции 807 цепочки гена цитозина на тимин. Тромбоцитарный рецептор к коллагену альфа-2 интегрин (ITGA2 (GP Ia): 807 C>T) являясь специализированным рецептором, обеспечивающим адгезию тромбоцитов с поврежденной стенкой сосудов, в случае мутации изменяет свои свойства, вследствие чего, отмечается увеличение скорости адгезии тромбоцитов [26, 50]. У носителей данного полиморфизма в 3,76 раз чаще происходит гиперагрегация тромбоцитов, кроме того, данным лицам присуща резистентность к проводимой антиагрегантной терапии ацетисалициловой кислотой, при клинических случаях инфаркта миокарда и тромбозах [129]. Женщинам же, имеющим гомозиготный генотип (ТТ), присущ повышенный риск потери плода на ранних сроках беременности [29].

Тромбоцитарный гликопротеин ITGB3: 1565 T>C (бета3- интегрин) выполняет роль субъединицы рецептора мембраны тромбоцитов для последующего связывания и активации фибриногена и фактора Виллебранда. Мутация гена ITGB3 определяется точечной заменой в позиции 1565 цепочки гена тимина на цитозин. Данный гликопротеин ответственен за тромбоцитарную агрегацию и адгезию к субэндотелиальным структурам, и при точечной замене, изменяет конформацию белка и пространственную ориентацию лиганд-связывающего участка, что приводит к повышению сродства к фибриногену. Наблюдается повышенная адгезия клеток и более интенсивная ретракция фибринового сгустка. Женщины, носители данной мутации, имеют от 2,7 до 4,4 повышенный риск ранних потерь плода [129, 26, 50].

Фермент 5,10-метилентетрагидрофолатредуктаза (МТГФР) относится к группе флавопротеинов и является ключевым ферментом фолатного цикла. Тип наследования – аутосомно – рецессивный. Встречаемость в популяции от 10% (гомозигота) до 56% (гетерозигота). Одной из реакций, требующих наличия 5,10-метилентетрагидрофолата и 5-метилгидрофолата, является синтез метионина из гомоцистеина (путь реметилирования в обмене гомоцистеина) при участии МТГФР [144]. При мутации МТГФР неспособность регенерировать метионин приводит к истощению запаса метионина, и выбросу в кровь избытка гомоцистеина и накопления его в организме. Гипергомоцистеинемия может протекать как в тяжелой, так и в легкой форме. Пациенты, гомозиготные по МТГФР (тяжелая форма), имеют крайне высокий риск сосудистых заболеваний [92, 182]. У 50% пациентов с дефицитом цистатион-синтазы симптомы артериального или венозного поражения развиваются в возрасте до 30 лет [220]. Повышение частоты аллеля 677Т отмечено при акушерских осложнениях, таких как дефекты нервной трубки у плода [117, 174, 183], привычное невынашивание [148], СПП, патология сосудов и отслойка плаценты [49], ЗВРП и антенатальная смерть плода, преждевременное рождение и низкая масса тела детей [185].

Важная этиопатогенетическая роль в осложненном течении беременности, помимо генов тромбофилии, принадлежит эндотелиальной NO-синтетазе (e-NOS) [124]. Развитие плацентарной недостаточности (ПН) часто связывают с нарушением плацентарной гемодинамики и плодово-материнского кровообращения. Образование вазоактивных веществ в развитии этих процессов играет немаловажную роль. Среди них особое место занимает оксид азота (NO), обладающий выраженными вазодилаторными свойствами [126, 157]. При полиморфизме e-NOS поврежденный эндотелий проявляет дисфункцию в виде увеличения секреции эндотелина-1 и уменьшения продукции NO, что способствует локальному тромбообразованию на оголенной базальной мембране [125, 202]. Понятие «дисфункция эндотелия» всегда ассоциируется со снижением биодоступности NO, его продукция достоверно отражает состояние эндотелий-зависимой вазомоторной функции. Дисфункциональный эндотелий, не образуя достаточных количеств NO, активно продуцирует цитокины и молекулы клеточной адгезии, способствует адгезии лейкоцитов к эндотелию, пролиферации ГМК и тромбозу и таким образом оказывает провоспалительное или проатерогенное действие [124]. Хроническая фето-плацентарная недостаточность и ее крайняя степень – отслойка нормально расположенной плаценты до 60% имеют место при беременности, зачатой при помощи ВРТ. Широко освящена роль эндотелиальной NO-синтетазы в развитии гестозов, в том числе при беременности, индуцированной репродуктивными технологиями, более чем в 50% [10]. Наследственная предрасположенность к эндотелиальной дисфункции, возможно, проявляется у детей развитием нетромботических эффектов при полигенном носительстве мутаций [91, 112, 126, 157, 216].

Необходимость использования принципиально новых подходов при изучении основ генетической предрасположенности к тромбозу диктуется существующей на сегодняшний день концепцией о полигенном характере мультифакторных заболеваний и, в частности, тромбофилии, которая постулирует наличие, в подавляющем большинстве случаев, тромбофилических

состояний не одного, а нескольких генетических вариантов, независимо или синергично модифицирующих риск развития заболевания [56, 95, 129, 160, 162, 212]. Клиническая манифестация является результатом взаимодействия нескольких мутантных аллелей. Наименее благоприятное течение заболеваний и раннее прогрессирование отмечается у носителей мультигенной тромбофилии [102, 136, 155, 167, 225]. Генетическое тестирование в досимптоматический период дает возможность выявить существующие в геноме наследственные тенденции к развитию будущих болезней и, исходя из современного врачебного опыта, наметить пути их ранней профилактики [3, 43, 167, 168].

Резюмируя вышеизложенное, учитывая высокую частоту клинических проявлений носительства неблагоприятных аллельных вариантов генов тромбофилии, нарушений фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции у семейных пар, воспользовавшихся для зачатия беременности репродуктивными методиками нам представляется актуальным исследовать распространенность точковых мутаций у детей, рожденных в данных семьях. Распространенность и роль различных видов тромбогенных полиморфизмов и их комбинаций, используя семейный принцип исследования, у младенцев, рожденных при помощи ВРТ, не освящены, что требует дальнейшего поиска в данном направлении.

1.4. Значение эпигенетики в комплексной оценке реализации внутриутробного программирования у детей, рожденных при помощи репродуктивных методик

Для нормального индивидуального развития и реализации генетической программы онтогенеза существенное значение имеет эпигенетическая регуляция активности генов, обеспечивающая установление и поддержание их дифференциальной экспрессии [169]. Согласно современным представлениям [36], под эпигенетическими процессами понимают наследуемые, стабильные, но потенциально обратимые изменения экспрессии генов, не связанные с

нарушениями их нуклеотидной последовательности, но приводящие к сохранению неактивного или активного состояния генов в ряду клеточных поколений. Эпигенетическое репрограммирование осуществляется через метилирование или деметилирование ДНК, заключающееся во временной химической модификации нуклеотидной последовательности без нарушения кодирующей способности ДНК, с формированием так называемой эпимутации и поддерживается естественным отбором. Дискутируется роль эпигенетических нарушений и в этиологии мультифакторных заболеваний [232, 236].

Обсуждаемый в современной литературе вопрос о возможном влиянии ВРТ на увеличение риска рождения детей с болезнями геномного импринтинга [148, 173, 213], делает актуальными исследования механизмов и факторов, вызывающих эпимутации импринтированных генов. Наличие влияния эпигенетического репрограммирования на исход ВРТ не вызывает сомнений [165, 193], так как совокупность факторов, оказывающих воздействие на зародыш при проведении данных методик велика. Доминирующей гипотезой является предположение о том, что используемые для культивирования гамет и эмбрионов среды, а также протоколы гормональной гиперстимуляции яичников, могут не обеспечивать нормального установления и поддержания геномного импринтинга в период тотальных эпигенетических модификаций генома половых и соматических клеток [24, 36]. Согласно мнению Zygmunt M. [239], для аллельных генов, унаследованных от отца и от матери, соответствующий рисунок метилирования устанавливается на ранних стадиях развития эмбриона, когда непосредственно и происходит процедура ВРТ. После оплодотворения преимплантационный период развития характеризуется интенсивной эпигенетической реорганизацией генома эмбриона. Применяемая гормональная стимуляция, для достижения суперовуляции, также вызывает патологические паттерны метиляции. Нефизиологические условия созревания эмбрионов *in vitro* и манипуляции вызывают изменения метиляции (IGF-2, H19) и утрату (KDMR1) импринтированных локусов.

При выяснении роли хромосомного и генного импринтинга в патологии детского возраста, ряд сообщений свидетельствует о рождении младенцев с синдромами Видеманна-Беквита, Ангельмана, Прадера - Вилли после осуществления процедур ВРТ [114, 151, 153, 213]. Вспомогательные репродуктивные технологии производятся во временном аспекте параллельно с эпигенетическим репрограммированием и потенциально могут оказывать негативное влияние на их протекание [74, 119]. Во всех случаях причиной развития заболеваний, по мнению ученых, является нарушение статуса метилирования импринтированных генов на этапах дробления [25, 74].

Кроме того, неблагоприятные условия внутриутробного существования плода оказывают патологическое влияние на метилицию генов, что также может клинически проявляться реализацией внутриутробного программирования. Внутриутробное программирование может реализоваться путем нескольких механизмов, таких как фенотипическая пластичность, компенсаторный рост либо изменение реакции организма на стрессовые воздействия [94]. Клинические последствия внутриутробного программирования являются мультидисциплинарной проблемой, так как наиболее частыми вариантами проявления внутриутробного программирования являются: СЗРП, развитие артериальной гипертензии, инсулинорезистентности и сахарного диабета 2-го типа, ожирения, сердечно-сосудистой патологии, метаболического синдрома, атопических заболеваний и изменение нейро-эндокринного статуса. Влияние процедуры ВРТ на процесс метилиции генов роста и метаболизма продемонстрировано в повышении уровня инсулинозависимого фактора роста 1 и 2, а также увеличении ЛПВП, снижении триглицеридов и общей фракции холестерина ЛПВП [152]. Нидерландскими исследователями, при оценке массы тела у детей и подростков, рожденных от ВРТ, достоверно выше отмечена периферическая поверхность кожного покрова, процент массы тела и периферического отложения жировой ткани, по сравнению с группой контроля [100]. При обследовании эндокринного статуса детей, рожденных от ВРТ, греческими учеными выявлено достоверное

увеличение TSH, сопряженное со слабой резистентностью TSH щитовидной железы. Авторы представленных работ объясняют данные факты нарушением эпигенетического развития, связанного с предимплантационными манипуляциями на эмбрионе [130].

Четких критериев внутриутробного программирования, согласно последователю David Barker - Gunter Dorner, нет [118]. Вероятно, одним из вариантов внутриутробного программирования, по нашему мнению, являются и точковые мутации. В случае неблагоприятного влияния факторов внешней и внутренней среды во внутриутробном периоде патологическим изменениям подвергается весь геном плода (хромосомы и гены). При внутриутробном программировании неактивное состояние гена может быть обусловлено особой компактной структурой хроматина при метилировании ДНК, либо сопровождаться активацией гена при его деметилировании, с изменением кодирующей последовательности нуклеотидов в гене и нарушениями функции белка, кодированного этим геном. В случае же воздействия фактора на генный аппарат может произойти точковая мутация какого-либо участка гена с развитием неблагоприятного аллельного варианта, кодирующего синтез аномального белка. Вероятно, повышенный синтез ингибитора активатора плазминогена (PAI-1) при метаболическом синдроме, ожирении может быть предиктором и проявлением внутриутробного программирования [69]. Также, нам представляется возможность, провести аналогию с развитием и программированием метаболического синдрома у детей, рожденных при использовании ВРТ, так как до 69% [69] женщин с неудачами ЭКО имеют полиморфизм PAI-1, который играет важную роль в патогенезе бесплодия при СПКЯ и метаболическом синдроме, регулируя процесс депозиции фибрина. Достоверно большее количество детей, рожденных при использовании ВРТ, с СЗРП, нарушениями липидного спектра, артериальной гипертензии, возможно, также обусловлено материализацией генетической программы, вследствие внутриутробного программирования.

Постоянно меняющаяся среда обитания человека и новые экологические факторы могут повысить уровень мутационных процессов или изменить проявляемость генов и тем самым дополнить груз наследственной патологии [25]. Преобладающее большинство наследственных заболеваний и дефектов проявляется в детском возрасте, поэтому особая ответственность возлагается на педиатрию. Ключевая роль в специализированной медицинской помощи детям с наследственными заболеваниями должна принадлежать клинко-генетическому направлению. На современном этапе первостепенное значение приобретают вопросы профилактики и лечения наследственных болезней. Кроме того, эпигенетическая диагностика (например, выявление метилированных участков генов, ассоциированных с изменением генной экспрессии) в будущем может в значительной мере дополнить генетическую и фенотипическую диагностику.

Программа профилактики врожденных и наследственных заболеваний должна базироваться на данных о "грузе" наследственной патологии, который в обобщенном виде составляет 5-5,5% среди всех новорожденных [100]. Для успешной разработки эффективных способов профилактики наследственных заболеваний необходимо выделять уровни профилактики: прегаметический, презиготический, пренатальный и постнатальный [25]. Цель прегаметического направления — разработка мер охраны репродуктивного здоровья и охраны окружающей среды; презиготического — поиск эффективных способов индивидуального медико-генетического консультирования, качественная периконцепционная подготовка семейной пары, проведение предимплантационной генетической диагностики; пренатального этапа - внедрение всех видов пренатальной (дородовой) диагностики; постнатального - разработка методов ранней идентификации наследственной патологии у групп риска, своевременное назначение патогенетической терапии.

Подводя итог, необходимо отметить, что реализация факторов внутриутробного программирования у детей, рожденных при применении репродуктивных методик, возможна как при влиянии на хромосомный, так и на

генный аппарат генома. Воздействия во внутриутробном периоде неблагоприятных факторов, сопровождающих беременности, зачатые при помощи ВРТ, определяют, во многом, рождение детей со скрытой генетической программой развития, проявляющейся в раннем детстве или подростковом периоде. Нам кажется целесообразным проведение диагностики полиморфизмов генов тромбофилии - как наиболее универсального интегрального показателя, характеризующего и, в частности, внутриутробное программирование. Выявление генетических маркеров тромбофилии в ходе проведения дискриминантного анализа позволит прогнозировать развитие состояний, обусловленных внутриутробным программированием, и в то же время, само наличие полиморфизма генов тромбофилии является элементом внутриутробного программирования.

Ранняя диагностика, обоснованные индивидуальные методы лечения и профилактики могут быть реализованы только при создании и функционировании регистров генетических полиморфизмов наследственных и мультифакторных заболеваний. Согласно «Концепции развития здравоохранения РФ» [18, 19] паспортизация здоровья актуальна и востребована, что позволит селективно в зависимости от степени риска той или иной патологии, планировать и распределять силы и средства профилактической медицины. С учетом данных аспектов при своевременной диагностике, возможно формирование групп риска по реализации внутриутробного программирования и проведение ранней индивидуальной профилактики потенциальной патологии.

На основании проведенного анализа, нами был отмечен, в целом, мультидисциплинарный подход к оценке состояния здоровья детей, рожденных при помощи ВРТ. Широко освещены в литературе факторы риска в бесплодных семьях, однако, математическая интерпретация и рекомендации, относительно этиологии бесплодия не представлены. Хорошо изученным является соматоневрологическое здоровье детей, но дизайн не во всех исследованиях является качественным. Необходимо формирование дизайна исследования с

парно-сопряженным подбором контрольной группы, причем, сопоставление исследуемых групп будет столь достоверным, насколько будут сопряжены пары на начальном этапе по максимальному количеству параметров. Данная концепция явилась предпосылкой для формирования нашего исследования.

Семейные пары, идущие на применение ВРТ, по данным литературы, являются коллектором патологических полиморфизмов генов тромбофилии, однако, не изученным остается вопрос о частотности данных мутаций у детей, учитывая менделевский характер наследования. Следовательно, данные дети также, возможно, являются носителями точковых мутаций, что обуславливает их предрасположенность к реализации наследственных тромботических заболеваний. Необходимо проведение популяционного исследования распространенности тромбогенных полиморфизмов у детей, рожденных при использовании ВРТ.

Оценка, как состояния здоровья детей, так и реализации генетической и внутриутробной программы должна иметь непрерывный мониторинг. Необходимо наблюдение семейной пары на этапах планирования и ведения беременности, последующего родоразрешения и выхаживания младенца. Только на основании такого подхода возможна достоверная оценка исходов и минимизация потерь, что и послужило предметом настоящего исследования.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на базе Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования Уральской государственной медицинской академии Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (ГОУ ВПО УГМА Минздравсоцразвития РФ) (ректор - заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, профессор Кутепов С.М.), кафедры педиатрии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки (зав. кафедрой – доктор медицинских наук, профессор Ковтун О.П.), центра вспомогательных репродуктивных технологий ЗАО «Центр семейной медицины» (генеральный директор - кандидат медицинских наук Портнов И.Г.), ФГУ «Уральский научно-исследовательский институт материнства и младенчества» Минздравсоцразвития РФ (директор - доктор медицинских наук, профессор Ковалев В.В.), Областной детской клинической больницы №1 г. Екатеринбурга (ОДКБ №1) (главный врач - заслуженный врач РФ, кандидат медицинских наук Боярский С.Н.), поликлиники №1, №2 МУЗ ДБ №5 (главный врач – заслуженный врач РФ Андросова Л.А.) и «Клиники семейной медицины» ГОУ ВПО УГМА Роздрава (директор - врач высшей категории Носкова Л.Б.).

Дизайн настоящего исследования включал ряд последовательных этапов, представленных в табл. 2.

Методы, источники и объем исследования

№	Содержание	Методы	Источники и объем
1	Анализ литературных данных о состоянии здоровья детей, рожденных с помощью ВРТ	Библиографический метод Аналитический метод	Центральная и специализированная печать, диссертации, авторефераты диссертаций, базы данных PubMed, Embase, Medline, Genom (более 300 источников)
2	Оценка факторов риска состояния здоровья детей, на основе анализа исходов беременностей, наступивших при помощи ВРТ Подбор контрольной группы	Анкетно-анамнестический метод Статистический метод	Случайная выборка из 700 семейных пар - 234 пар из базы данных центров ВРТ и 268 детей, рожденных при помощи репродуктивных методик, в данных семьях. 234 женщины, в анамнезе которых регистрировалась беременность, зачатая естественным путем, и рожденные ими 268 детей.
3	Прогнозирование состояния здоровья и качества жизни детей, рожденных при использовании ВРТ. Подбор детей парно-сопряженным методом	Оценка соматического, нервно-психического развития детей в 1, 3, 6, 12 мес. Анкетирование с использованием международного опросника QUALIN	50 семейных пар, не имеющих синдром потери плода, и 65 детей рожденных при помощи репродуктивных методик, в данных семьях. Сопоставимы по десяти параметрам 50 женщин, зачавших беременность естественным путем, и рожденными ими 65 детей.
4	Выявление генетических полиморфизмов у семейных пар с СПП и их детей Подбор контрольной группы	Полимеразно-цепная реакция в реальном времени 8 точковых мутаций	41 семейная пара с синдромом потери плода в анамнезе, и 56 детей, рожденных при помощи репродуктивных методик, в данных семьях. 41 женщина, в анамнезе которых регистрировалась беременность, зачатая естественным путем, и рожденные ими 56 детей.
		Всего:	1552 исследования
5	Создание программы для ЭВМ «Регистр детей, рожденных при помощи ВРТ» и схемы динамического наблюдения	Аналитический метод Программирование	Тип ЭВМ: PC совместимый СУБД: Microsoft Access 2003 ОС: Microsoft Windows XP Professional, версия 5.1.2600 Service Pack 2 сборка 2600. Приложения Microsoft Access, версия 10.0

Графически дизайн исследования выглядит следующим образом (см. рис. 1).



Рис. 1. Дизайн исследования

На первом этапе было проведено нерандомизированное проспективное когортное обсервационное исследование. В центре вспомогательных репродуктивных технологий г.Екатеринбурга сформирована простая выборка генератором случайных чисел. В основную группу были отобраны 234 женщин и мужчин в возрасте от 24 до 35 лет, включительно, обратившихся за проведением вспомогательных репродуктивных технологий (ЭКО либо ЭКО в сочетании с интрацитоплазматическим введением сперматозоида в ооцит (ИКСИ)), за исключением процедуры инсеминации, донорства спермы или ооцитов) в течение 2008-2009 г.г., и предоставившие информацию об исходах настоящей беременности после родоразрешения. Для анализа использовались выписки из родильных домов города Екатеринбурга и Свердловской области 268 новорожденных детей. Ограничениями и смещающими факторами исследования явились: отсутствие желания родителей информировать о способе зачатия ребенка, смена телефонного номера и местожительства. Потери составили 2,5 %, что являлось допустимым для продолжения исследования и адекватной оценки данных. Были выделены следующие

группы сравнения: первичное бесплодие и вторичное бесплодие; возраст женщин от 25 до 29 лет и от 30 лет до 35 лет. В мировой литературе при оценке состояния здоровья детей, зачатых при помощи ВРТ, анализируются такие данные, как процент многоплодных беременностей, преждевременных родов и врожденных пороков развития у младенцев, а также показатель перинатальной смертности. Именно эти признаки адекватно отражают эффективность применения репродуктивных методик и напрямую оказывают влияние на состояние здоровья детей, зачатых *in vitro*, что предопределило оценку данных показателей в нашем исследовании.

После оценки данных параметров было запланировано нерандомизированное проспективное наблюдательное исследование, при котором генератором случайных чисел вновь была сформирована выборка из 50 семейных пар, пришедших с 65 детьми на катамнестический прием после родоразрешения.

Критерием включения в данное исследование явились дети, зачатые при помощи ВРТ, рожденные от одноплодной и двуплодной беременности.

Критерием исключения послужили множественные врожденные пороки развития, наследственные хромосомные и генетические заболевания, подтвержденная внутриутробная инфекция, бесплодие по мужскому фактору изолированное, дети, рожденные в результате беременности тремя и более плодами.

Таким образом, была сформирована основная группа детей, состоящая из 65 младенцев, зачатых при использовании репродуктивных технологий.

Контрольная группа детей была подобрана согласно критериям, рекомендованным мета-анализами, парно-сопряженным методом одновременно с основной группой, в амбулаторной сети детских поликлиник г.Екатеринбурга, в количестве 65 человек, сопоставимая с основной, по следующим параметрам: возраст, соматическая патология и паритет матери, социальное положение и целостность семьи, плодность, тип плацентации, способ родоразрешения, гестационный возраст, антропометрические данные и

пол ребенка. Именно сопоставление по данным параметрам позволит адекватно оценить исследуемые группы и получить достоверные результаты о состоянии здоровья детей.

Следующим этапом исследования явилось выявление распространенности генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии, нарушениями фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции в 41 семье, имеющей синдром потери плода в анамнезе, вследствие чего, было проведено обсервационное исследование. Семейные пары были включены в исследование, согласно критериям синдрома потери плода, по данным заключений центров ВРТ:

- один или более самопроизвольных выкидышей на сроке 10 недель и более (включая неразвивающуюся беременность);
- мертворождение;
- неонатальная смерть, как осложнение преждевременных родов, тяжелого гестоза или плацентарной недостаточности;
- три или более самопроизвольных выкидыша на преембрионической или ранней эмбрионической стадии, когда исключены анатомические, генетические и гормональные причины невынашивания.

Таким образом, в эпидемиологическом исследовании была оценена распространенность точковых мутаций у 41 семейной пары с СПП в анамнезе, настоящая беременность которых была зачата с помощью применения репродуктивных методик, и рожденных ими детей (n=56). Контрольную группу составили 41 семейная пара, зачавшая беременность естественным путем, и рожденные ими дети (n=56). На данном этапе диссертационной работы проводилась оценка взаимосвязи наличия генетических полиморфизмов и состояния здоровья детей изучаемых групп.

В соответствии с законом «О персональных данных» (Выписка из Федерального закона Российской Федерации от 27 июля 2006 г. N 152-ФЗ «О персональных данных») родители, в качестве законных представителей детей, заполняли информированное согласие в трех экземплярах, форма и структура

которого были одобрены локальным этическим комитетом ГОУ ВПО УГМА Росздрава от 18.11.2009 выписка из приказа № 7. Данный документ включал в себя добровольное согласие на осмотр ребенка и ознакомление с документацией медицинскими работниками исключительно в медицинских и научно-исследовательских целях, с учетом сохранения врачебной тайны; разрешение на хранение и обработку персональной информации в автоматизированной базе данных (регистр), где информация могла использоваться в форме, идентифицируемой только кодом, исключительно в медицинских и научных целях, с учетом сохранения врачебной тайны и соблюдения нормативно-правовых документов РФ, а также согласие на проведение молекулярно-генетических методов исследования (взятие буккального эпителия) для идентификации полиморфизмов генов.

Оценка состояния здоровья детей основной и контрольной групп проводилась на катamnестическом приеме, на базе «Клиники семейной медицины» в 1, 3, 6 и 12 месяцев жизни с проведением соответствующих лабораторных и инструментальных исследований.

Для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии, нарушениями фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции применялся метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени в препаратах ДНК человека, полученных из буккального эпителия. Данные исследования проводились в лаборатории медицинского центра «Гармония» (зав.лабораторией - к.м.н., доцент Ворошилина Е.С.). Взятие генетического материала производилось зондами непосредственно на приеме, после чего осуществлялась транспортировка в условиях термокамеры в лабораторию.

Для выделения ДНК из анализируемого материала использовался комплект реагентов «Проба-РАПИД-ГЕНЕТИКА» (ООО «НПО ДНК-Технология»), включающий в себя: ПЦР-буфер, Taq-АТ-полимеразу, минеральное масло. Количество анализируемой ДНК составляло не менее 1,0 нг на амплификационную пробирку. Для оценки количества выделенной ДНК

использовался набор реагентов для контроля взятия материала методом ПЦР (КВМ) (ООО «НПО ДНК-Технология»). Выделение и амплификация ДНК из буккального эпителия проводилось на детектирующем амплификаторе ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»).

Исследовались следующие полиморфизмы: FGB: -455 G>A, F2: 20210 G>A, F5: 1691 G>A (Arg506Gln), ITGA2: 807 C>T (Phe224 Phe), ITGB3: 1565 T>C (Leu33Pro), SERPINE1 (PAI-1): -675 5G>4G, MTHFR: 677 C>T (Ala222Val), eNOS - C298T.

Регистрация и учет результатов ПЦР проводился автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов ДТ-322 и ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»).

К году жизни были оценено нервно-психическое развитие детей с помощью скринирующей количественно-качественной методики Л.Т.Журбы и Е.М. Мастюковой (1981), включающей характеристику возрастного развития ребенка по 10 показателям: коммуникабельность, голосовые реакции, сенсорно-моторное поведение, выраженность безусловных рефлексов, наличие асимметричного шейного тонического рефлекса, цепных симметричных рефлексов, состояние мышечного тонуса, черепно-мозговых нервов, наличие патологических движений, малых аномалий развития. Оценка в 27-29 баллов к году жизни расценивалась как вариант возрастной нормы. При оценке 23-26 баллов дети относились к безусловной группе риска; оценка в 13-22 балла свидетельствовала о задержке развития; группу детей с оценкой ниже 13 баллов составили больные с тяжелой общей задержкой развития в результате органического поражения центральной нервной системы.

На катамнестическом приеме проводилась оценка качества жизни детей, как семьей, так и врачом-педиатром по разработанному опроснику QUALIN (Qualite de vie du Nourisson, S. Manificat, A. Dazord, France, 1997), прошедший процедуру валидации на базе лаборатории проблем медицинского обеспечения и качества жизни детского населения отдела социальной педиатрии НИЦЗД РАМН г. Москва (руководитель – д.м.н., профессор В.Ю.

Альбицкий). Данная анкета является русской версией опросника QUALIN для оценки качества жизни детей в возрасте от 3 месяцев до 3 лет []. Для детей от 3 месяцев до 1 года анкета содержит 33 вопроса и включает в себя родительскую и врачебную формы, различающиеся между собой неодинаковой грамматической конструкцией вопросов с сохранением их смысла. Инструмент описывает 4 аспекта функционирования: поведение и общение – ПиО (13 вопросов); способность оставаться одному – СОО (5 вопросов); семейное окружение – СО (4 вопроса); нервно-психическое развитие и физическое здоровье – НПРиФЗ (11 вопросов в блоке для детей до 1 года и 12 – в блоке для детей от 1 до 3 лет), а также суммарную шкалу (общий балл). Результаты по каждой шкале выражают в баллах от 0 до 5 после процедуры перекодировки. Чем выше итоговая величина, тем лучше качество жизни ребенка. Обработка данных производилась в лаборатории проблем медицинского обеспечения и качества жизни детского населения отдела социальной педиатрии НЦЗД РАМН.

При проведении работы использовалась автоматизированная информационно-аналитическая система мониторинга созданная автором на базе программы для ЭВМ (Свидетельство о государственной регистрации программ для ЭВМ № 2010612465 от 08.04.2010).

Статистический анализ осуществлялся с помощью статистического пакета программы SPSS (Statistical Package for the Social Sciences Inc., USA) версия 14.0. Анализ данных включал стандартные методы описательной и аналитической статистики. При сравнении зависимых выборок для количественных данных, имеющих нормальное распределение и равенство дисперсий, использовался парный критерий Стьюдента, для оценки качественных данных использовался критерий Мак-Нимара, для порядковых данных или значений, имеющих ненормальное распределение - парный критерий Вилкоксона. Степень стохастической связи между двумя переменными устанавливали с помощью корреляции Спирмена. При многофакторном анализе, в зависимости от типа данных, применялся

соответствующий критерий - многофакторный дисперсионный анализ (ANOVA/MANOVA), дискриминантный и кластерный анализы. С помощью методов эпидемиологической статистики были рассчитаны относительный риск (RR), отношения шансов (OR) и их доверительные интервалы (95% ДИ). Различия считались статистически значимыми при достижении уровня $p < 0,05$.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Оценка состояния здоровья матерей, особенности течения анте- и интранатального периодов, а также исходы беременностей, наступивших при помощи вспомогательных репродуктивных технологий

Для оценки исходов беременностей, наступивших при помощи ВРТ, за 2008-2009 гг. в основную группу исследования было отобрано 234 семейных пары в возрасте от 24 до 35 лет, включительно, и рожденные в данных семьях дети ($n = 268$). Контрольную группу составили 234 женщины, в анамнезе которых регистрировалась беременность, зачатая естественным путем, и рожденные ими дети ($n = 268$).

На первом этапе, с целью оценки факторов риска формирования отклонений в здоровье детей, нами были проанализированы состояние здоровья матерей основной и контрольных групп, а также особенности течения беременности и родов.

Особенности акушерского анамнеза матерей исследуемых групп

Акушерский анамнез женщин	Основная группа n = 234, *	Контрольная группа n = 234, *	p
Первая беременность, первые роды	16 6,8% (95%ДИ 4-10)	86 36% (95%ДИ 30-43)	0,001 [#]
Рождение живых детей в анамнезе	40 17% (95%ДИ 13-23)	102 44% (95%ДИ 37-50)	0,027 [#]
Медицинские аборт	36 15,3% (95%ДИ 11-21)	31 13% (95%ДИ 9-18)	0,8
Регрессы на ранних сроках беременности	48 20,3%(95%ДИ 16-26)	1 0,4% (95%ДИ 0,01-0,2)	0,001 [#]
Выкидыши на ранних сроках беременности	43 18,6%(95%ДИ 14-23)	2 0,8% (95%ДИ 0,01-0,3)	0,001 [#]
Выкидыши на поздних сроках беременности	23 10%(95%ДИ 6-14)	2 0,8% (95%ДИ 0,01-0,3)	0,001 [#]
Внематочные беременности	28 12%(95%ДИ 8-17)	9 4% (95%ДИ 2-7)	0,03 [#]
Среднее число беременностей, $M \pm \delta$	1,7 \pm 0,13	2,56 \pm 1,08	0,04 [#]

Примечание: * - данные представлены в виде доли и в скобках границ 95% доверительного интервала для доли; #- различия достоверны при сравнении с контрольной группой

Как следует из табл. 3, женщины, обратившиеся в центры ВРТ, достоверно чаще имели отягощенный анамнез по наличию фактора невынашивания (регрессы и выкидыши на ранних и поздних сроках беременности), внематочных беременностей и паритета, чем женщины контрольной группы. Количество медицинских абортов в обеих исследуемых группах статистически не отличалось (15,3% в основной и 13% в контрольной группах).

При исследовании соматического статуса исследуемых групп определены следующие данные (табл. 4).

Таблица 4

Особенности соматического статуса матери (по классам МКБ -10)

Признак	Основная группа n = 234	Контрольная группа n = 234	p
Класс III – Болезни крови, кроветворных органов	24,4%	26%	0,96
Класс IV – Болезни эндокринной системы	19,6%	9%	0,005 [#]
Класс VI – Болезни нервной системы	6,4%	11%	0,15
Класс VII - Болезни глаза и его придаточного аппарата	8%	13,5%	0,08
Класс IX – Болезни системы кровообращения:			0,02 [#]
- Болезни, характеризующиеся повышенным кровяным давлением	17,5%	11%	0,05 [#]
- Болезни вен, лимфатических сосудов и лимфатических узлов	9,4%	7%	0,959
Класс X – Болезни органов дыхания	3%	9%	0,08
Класс XI - Болезни органов пищеварения	24,4%	22%	0,95
Класс XIV – Болезни мочеполовой системы	9,8%	19%	0,02 [#]

Примечание: #- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Исходя из таблицы 4, у каждой четвертой женщины обеих групп чаще выявлялись болезни крови, кроветворных органов и органов пищеварения. Такие соматические заболевания, как болезни нервной системы, глаза и его придаточного аппарата, а также болезни органов дыхания равнозначно встречались у матерей сравниваемых групп. Однако при анализе эндокринологического статуса женщин, зачавших беременность при использовании ВРТ, в два раза чаще определены те или иные заболевания (патология щитовидной железы, гиперандрогения различной этиологии, метаболический синдром), 19,6% в основной и 9% в контрольной группе ($p = 0,005$). В основной группе женщин отмечено преобладание артериальной

гипертензии по сравнению с женщинами группы контроля (17,5% по сравнению с 11% соответственно, $p = 0,05$). Инфекционные заболевания мочевыводящих путей и половой системы достоверно чаще наблюдались в группе контроля (19% в контрольной и 9,8% в основной), что, вероятно, связано с более тщательной предгравидарной подготовкой женщин основной группы к настоящей беременности.

При анализировании течения настоящей беременности, интранатального периода и способов родоразрешения, получены следующие данные, представленные в табл.5.

Таблица 5

Течение настоящей беременности, интранатального периода и способы родоразрешения

Признак	Основная группа n = 234	Контрольная группа n = 234	p
ХФПН	51%	23%	0,003 [#]
Угроза прерывания беременности	48,3%	9%	0,001 [#]
Гестоз легкой степени тяжести	55,5%	34%	0,002 [#]
Преэклампсия, эклампсия	3%	6%	0,8
Длительность безводного периода более 12 ч	0	8%	0,001 [#]
Преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты	11%	10%	0,9
Родоразрешение через естественные родовые пути	18%	71%	0,001 [#]
Родоразрешение путем операции кесарева сечения	82%	29%	0,001 [#]

Примечание: #- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

В основной группе, в отличие от контрольной, каждая вторая беременность, сопровождалась, достоверно чаще хронической фето-плацентарной недостаточностью, гестозом легкой степени тяжести и угрозой прерывания, что требовало госпитализации женщин. При анализе интранатального периода, необходимо отметить, что женщины основной группы, вследствие более тщательного планирования беременности,

абсолютно не имели длительного безводного периода (по сравнению с 8% группы контроля) и, в большинстве случаев, планово родоразрешались, по показаниям со стороны матери, путем операции кесарева сечения (82% по сравнению с 29% группы контроля). Достоверных различий по наличию тяжелых форм гестоза (3% в основной, 6% в контрольной группах, $p = 0,8$) и преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты (11% в основной, 10% в группе контроля, $p = 0,9$) не достигнуто.

Учитывая тот факт, что основными показателями, влияющими на перинатальную смертность, являются срок гестации и масса тела ребенка, при сопоставлении основной и контрольной групп выявлено, что дети, рожденные при помощи ВРТ, имеют достоверно меньший срок гестации, а также антропометрические данные, что представлено в таблице 6.

Таблица 6

Гестационный возраст и антропометрические данные детей в сравниваемых группах

Признак	Срок гестации, нед*	Масса тела детей, г *	Длина тела детей, см *
Основная группа (n=268)	37,5 (37-38) [#]	2745 (2500-2980) [#]	47,71 (46,8-48,6) [#]
Контрольная группа (n=268)	38,7 (38,2-39,2)	3326 (3078-3486)	50,21 (49,2 – 51,3)

Примечание: * - данные представлены в виде медианы возраста и в скобках границ межквартильного интервала Me (LQ-UQ); # - различия достоверны при сравнении с контрольной группой

При анализе исходов беременностей, зачатых спонтанно и при использовании ВРТ, наблюдаются статистически значимые различия среди исследуемых групп, в частности, в преобладании многоплодных беременностей, преждевременных родов, рождения детей с задержкой внутриутробного роста плода, а также количества переводов младенцев на второй этап выхаживания лечебно-профилактических учреждений (табл. 7).

Исходы беременностей матерей в исследуемых группах

Признак	Основная группа (n = 234)	Контрольная группа (n= 234)	p
Возраст женщин, годы*	31 (29-34)	26 (24-28)	0,003
Наличие многоплодных беременностей, %	26 (11,1%)	5 (2,1%)	0,006#
Преждевременные роды, %	112 (48%)	19 (8%)	< 0,001#
Врожденные аномалии у детей, %	13 (5,6)	8 (3,4)	0,28
Задержка внутриутробного роста плода, %	53 (20%)	29 (11%)	0,04 [#]
Перевод детей в ЛПУ, %	75 (32,1)	47 (20,1)	0,05#

Примечание: #- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Итак, при анализе состояния здоровья матерей исследуемых групп выявлено, что матери основной группы, имеют крайне отягощенный акушерский анамнез по наличию факторов невынашивания, внематочной беременности и паритета женщин. В большем проценте случаев в данной группе в соматическом статусе женщин выявлялась артериальная гипертензия и эндокринная патология. Поскольку женщины, зачавшие беременность с помощью ВРТ, имеют длительный бесплодный стаж, настоящая беременность характеризуется более адекватной предгравидарной подготовкой, однако, несмотря на этот факт, с достоверной разницей чаще выявляются ХФПН, угроза прерывания беременности и легкие формы гестоза (51%, 48,3%, 55,5% соответственно), что потребовало госпитализации женщин и впоследствии планового оперативного родоразрешения. Среди исходов беременностей в группе инфертильных женщин преобладают многоплодие, преждевременные роды, а также рождение детей с задержкой внутриутробного роста плода,

относительно срока гестации, и количество переводов младенцев на второй этап выхаживания лечебно-профилактических учреждений. Достоверных различий в показателях перинатальной смертности и частоты врожденных пороков развития у детей достигнуто не было.

3.2. Анализ инфертильности и установление взаимосвязей между сроком гестации, массой тела детей и этиологической причиной бесплодия различных возрастных групп

По данным мета-анализов возрастной ценз бесплодных пар, этиология и структура бесплодия оказывают существенное влияние на состояние здоровья детей, что предопределило оценку данных факторов в нашем исследовании. В гендерном соотношении пациенты распределились следующим образом: доля женского фактора бесплодия имело место в 53% (95% ДИ 54-67), доля мужского фактора в 29 % случаях, доля смешанной этиологии бесплодия диагностировалась у 18% (95% ДИ 13-23) семейных пар. Так, при оценке этиологической структуры и гендерного соотношения бесплодия, выявлено, что достоверно чаще встречался женский фактор в группе женщин старше 30 лет - 66% (95% ДИ 59-72). По этиологической причине характера бесплодия статистической разницы достигнуто не было: первичное бесплодие наблюдалось в 54% (95% ДИ 49-60) по сравнению с 46% (95% ДИ 39-52) вторичного бесплодия. Однако, найдена слабая положительная ($r = 0,25$), но статистически значимая связь ($p < 0,01$) между этиологией бесплодия и возрастом женщин: больший процент женщин старшей возрастной группы имели вторичное бесплодие.

Этиологическая структура бесплодия (по классам МКБ-10), *

Признак	Всего бесплодие	Первичное бесплодие	Вторичное бесплодие
Женское бесплодие:			
- трубного происхождения	41% (95% ДИ 34-48)	3% (95% ДИ 2-5)	38% (95% ДИ 34-48)
- связанное с отсутствием овуляции	23% (95% ДИ 17-29)	21%* (95% ДИ 34-48)	2% (95% ДИ 34-48)
- неуточненное	16% (95% ДИ 10-21)	8% (95% ДИ 34-48)	8% (95% ДИ 34-48)
- другие формы бесплодия	20% (95% ДИ 14-27)	7,6% (95% ДИ 34-48)	12,4% (95% ДИ 34-48)
Мужское бесплодие (по данным спермограммы):			
- олигоастенотератоспермия	78% (95% ДИ 65-88)	78% (95% ДИ 65-88)	0
- изолированная тератоспермия	18% (95% ДИ 8-30)	18% (95% ДИ 8-30)	0
- обструктивная азоаспермия	4% (95% ДИ 0,4-13)	4% (95% ДИ 0,4-13)	0

Примечание: * - данные представлены в виде медианы и в скобках границ межквартильного интервала Me (LQ-UQ)

В структуре женского бесплодия, как представлено в табл. 8, преобладала доля трубно-перитонеального фактора, в основном, в группе вторичного бесплодия. Второе место по значимости занимало бесплодие, связанное с отсутствием овуляции. У каждой шестой женщины, в равной доле в группе первичного и вторичного бесплодия, встречалась инфертильность неясного генеза. Прочие причины бесплодия составили: АФС - 6%, яичниковое бесплодие – 5%, эндометриоз - 4,2%, анатомическая причина – 3,0%, иммунная этиология инфертильности -1,8%. Мужское бесплодие, в основном, было представлено сочетанными нарушениями сперматогенеза – олигоастенотератоспермия (78 %).

Для сопоставления результатов и установления достоверных взаимосвязей между сроком гестации, массой тела детей и этиологической причиной бесплодия различных возрастных категорий семейных пар, были сформированы и оценены следующие группы сравнения: женщины с первичным бесплодием (n=126) и вторичным бесплодием (n=108), в двух возрастных группах – от 24 до 29 лет включительно (n= 107) и возраст от 30 до 35 лет включительно (n=127).

Таблица 9

Срок гестации и масса тела детей в зависимости от возраста матери и этиологической структуры бесплодия, $M \pm \sigma$

Признак	Первичное бесплодие n= 126		Вторичное бесплодие n = 108	
	Возраст от 24 до 29 лет (n=69)	Возраст от 30 до 35 лет (n=57)	Возраст от 24 до 29 лет (n=38)	Возраст от 30 до 35 лет (n=70)
Срок гестации детей, нед	37 \pm 0,39 *,†	36 \pm 0,38 †,‡	38 \pm 0,38*,§	35 \pm 0,48 †,§
Масса тела детей, г	2667 \pm 714 *†	2491 \pm 127 †,§	3030 \pm 81 *,§	2295 \pm 78 †,§

Примечание: при вычислении критерия Крускала-Уоллиса $H = 4,59$, $p < 0.01$, имеется значительное расхождение средних рангов; * - различия достоверны в зависимости от этиологии бесплодия, $r = - 0,5$; †- различия достоверны в зависимости от возрастной группы, $r = - 0,4$; ‡ - различия достоверны в зависимости от этиологии бесплодия, $r = -0, 6$; § - различия достоверны в зависимости от возрастной группы, $r = -0,5$

По данным табл. 9, выявлена взаимосвязь ($p=0,01$) этиологии бесплодия (первичное/вторичное) и массы тела ребенка, а также статистически значимое взаимодействие ($p=0,03$) между переменными этиологии бесплодия и возрастом женщин (менее либо более 30 лет). При подразделении женщин на подгруппы, в зависимости от гестационного возраста и массы тела детей, и проведении дисперсионного анализа Крускала-Уоллиса и корреляционного анализа Спирмена найдены высоко достоверные, средней силы отрицательные корреляционные связи между этиологией бесплодия и гестационным возрастом детей ($r = - 0,5$), а также средние по силе

корреляционные связи между возрастом женщин и сроком гестации ($r = - 0,4$). Наряду с этим статистически значимая ($p < 0,01$) отрицательная корреляционная связь ($r = - 0,6$) выявлена между этиологией бесплодия и массой тела детей при рождении. Кроме того, при вторичном бесплодии дети рождаются с меньшей массой тела у женщин старшей возрастной группы ($r = - 0,5$).

Таким образом, учитывая выявленные корреляционные взаимосвязи и разнонаправленное движение графика, как следует из рис.2, дети от матерей моложе 30 лет, при первичном бесплодии имеют большую массу тела при рождении, чем дети от женщин с первичным бесплодием старше 30 лет. Тем временем, женщины с вторичным бесплодием в возрасте менее 30 лет имеют детей с большей массой тела при рождении, чем женщины, имеющие вторичное бесплодие, но относящиеся к старшей возрастной группе. Тем не менее, среди младшей возрастной группы, у женщин со вторичным бесплодием рождаются дети с большим гестационным сроком и массой тела, чем у женщин этой возрастной группы, имеющих бесплодие первичной этиологии. при наличии вторичного бесплодия с увеличением возраста женщин рождаются дети с меньшим гестационным возрастом и массой тела.

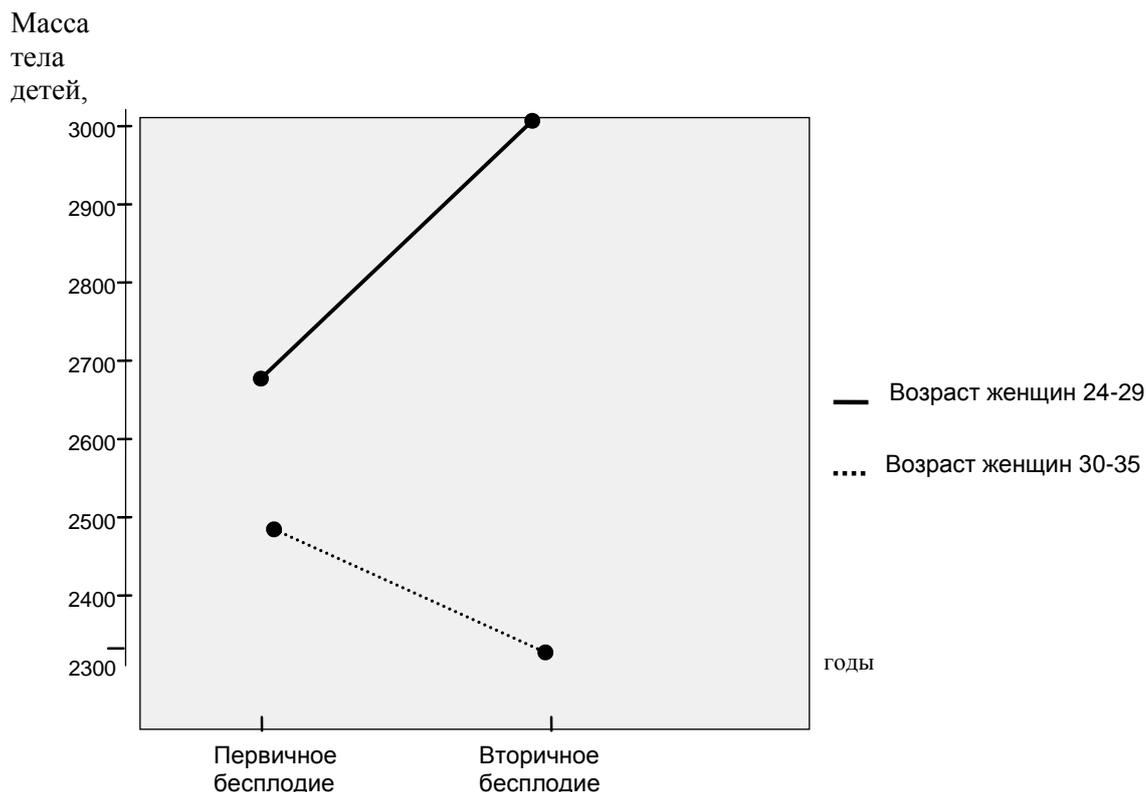


Рис. 2. Зависимость массы тела детей от возраста и этиологии бесплодия матерей

При оценке многоплодия, согласно табл. 10, доля одноплодной беременности составила 88% (95% ДИ 83-91), в сравнении с многоплодной беременностью в доле 12% (95% ДИ 8-16), причем беременность двойней составила 71% , тройней 29% от числа многоплодной беременности. В группе первичного бесплодия многоплодие встречалось только в доле 5%, тогда как в группе вторичного бесплодия многоплодие наблюдалось в 4 раза чаще. Среди группы старше 30 лет также отмечено преобладание многоплодной беременности в 3,55 раз чаще, чем в группе женщин младше 30 лет.

Плодность и доношенность беременности в зависимости от характера бесплодия и возраста женщин

Признак	Плодность		Относительный риск, RR	Доношенность		Относительный риск, RR
	Одноплодная беременность	Многоплодная беременность		Доношенные дети	Недоношенные дети	
Первичное бесплодие n = 126	120 (95%)	6 (5%)*	1	74 (57%)	57 (41%)	1
Вторичное бесплодие n = 108	86 (80%)	22 (20%)*	4,2*	57 (43%)	82 (59%)	1
Возраст от 24 до 29 лет n = 107	95 (89%)	12 (11%)**	1	51 (40%)	61 (43%)†	1
Возраст от 30 до 35 лет n = 127	109 (86%)	18 (14%)**	2,1**	78 (60%)	80 (57%)†	1,2†

Примечание: * - различия достоверны между группой первичного и вторичного бесплодия; ** - различия достоверны между возрастными группами; † - различия достоверны между возрастными группами

Анализируя исходы беременностей, представленные в табл. 10, выявлено, что относительный риск рождения женщинами в возрасте старше 30 лет детей от многоплодной беременности в 2,1 раз выше, чем женщинами в возрастной группе младше 30 лет. Одновременно относительный риск рождения женщинами при вторичном бесплодии детей от многоплодной беременности в 4,2 раза выше, чем женщинами имеющих бесплодие первичной этиологии. Преобладание многоплодной беременности в группе старше 30 лет, вероятно, связано с подсадкой большего количества эмбрионов для увеличения частоты наступления беременности. Также было оценено достижение доношенности детей в зависимости от характера бесплодия и возраста женщин. Так относительный риск рождения женщинами старше 30 лет недоношенных детей в 1,2 раза выше, чем женщинами моложе 30 лет.

Таким образом, при первичном бесплодии женщин младшей возрастной группы наблюдаются лучшие исходы в рождении детей: с большим сроком гестации и массой тела, чем у женщин в возрасте после 30 лет, имеющих бесплодие подобной этиологии. При всем том, женщины младшей возрастной группы с вторичным бесплодием имеют лучшие показатели срока гестации и массы тела детей, чем женщины с первичным бесплодием этой же возрастной группы. Возможно, фертильный потенциал женщин уже имеющих беременности в анамнезе, к которым относятся женщины со вторичным бесплодием, приводит к рождению детей с большим сроком гестации и массой тела, чем у женщин с первичным бесплодием, имеющие изначально проблемы в репродуктивной системе. Одновременно у женщин старшей возрастной группы, имеющих бесплодие первичной этиологии, рождаются дети с меньшим сроком гестации и массой тела, чем у женщин до 30 лет, со вторичным бесплодием, однако, с большим сроком гестации и массой тела, чем у женщин старшей возрастной группы с бесплодием вторичной этиологии. С одной стороны, это можно трактовать таким образом, что женщинам старше 30 лет со вторичным бесплодием имплантируют большее количество эмбрионов для увеличения вероятности наступления беременности, тем самым эта группа женщин имеет большую частоту многоплодных беременностей, следовательно, и меньший срок гестации и массу тела детей. С другой же стороны, необходимо акцентировать внимание на данные аспекты врачей амбулаторного звена акушерско-гинекологической службы о необходимости направления женщин в центры репродуктивных технологий, в ранние сроки постановки диагноза бесплодия для достижения снижения возраста женщин при осуществлении ВРТ, что прямым образом отражается на гестационном возрасте и массе тела детей.

На основании проведенного анализа мы выделили следующие факторы риска, оказывающие достоверно неблагоприятное воздействие на перинатальные исходы: возраст женщин старше 30 лет (в 1,2 раза чаще рождение детей с малым гестационным сроком и массой тела; в 2,1 раза чаще

наступление многоплодных беременностей), вторичное бесплодие (частота многоплодных беременностей в 4,2 раза больше; минимальный срок гестации и масса тела, относительно других сравниваемых групп, у женщин старшего репродуктивного возраста).

3.3. Состояние здоровья детей по данным нерандомизированного проспективного observationalного исследования по типу «случай-контроль»

Для достоверной оценки состояния здоровья детей, рожденных при помощи ВРТ, было проведено нерандомизированное проспективное observationalное исследование парно-сопряженным методом. Были проанализированы течение беременности, интранатального периода, способы родоразрешения, а также исходы в неонатальном периоде у 130 детей сравниваемых групп.

Во избежание влияния конфаундеров, таких, как возрастной ценз, соматическая патология и паритет матери, социальное положение и целостность семьи, течение беременности, плодность, тип плацентации, способ родоразрешения, гестационный возраст и пол ребенка, на оцениваемое состояние здоровья детей, согласно критериям, рекомендованными мета-анализами [211], сравниваемые группы достоверно не отличались между собой, что отражено в таблице 11.

Характеристика исследуемых групп по типу «копи-пара»

Признак	Основная группа n = 65	Контрольная группа n = 65	p
Возраст матерей в годах, $M \pm \sigma$	30,75 \pm 2,8	30,6 \pm 1,9	0,670
Социальный статус средний и выше среднего, количество семей	63 (97%)	61 (94%)	0,959
Полная семья, количество семей	100%	100%	1,0
Соматический статус матерей:			
Класс III – Болезни крови, кроветворных органов	13 (20%)	14 (21,5%)	0,833
Класс IV – Болезни эндокринной системы	7 (10,8%)	5 (7,7%)	0,959
Класс VI – Болезни нервной системы	4 (6,2%)	5 (7,7%)	0,833
Класс VII – Болезни глаза и его придаточного аппарата	3 (4,6%)	2 (3,1%)	0,833
Класс IX – Болезни системы кровообращения	11 (16,9%)	9 (13,8%)	0,959
Класс XI – Болезни органов пищеварения	12 (18,5%)	14 (21,5%)	0,959
Класс XIV – Болезни мочеполовой системы	3 (4,6%)	4 (6,2%)	0,833
Паритет женщин:			
Первая беременность	42 (64,6%)	42 (64,6%)	1,0
Рождение живых детей в анамнезе	10 (15,3%)	11 (16,9%)	0,833
Медицинский аборт в анамнезе	7 (10,8%)	8 (12,4%)	0,833
Выкидыш в анамнезе	2 (3,1%)	1 (1,5%)	0,833
Внематочная беременность в анамнезе	4(6,2%)	3 (4,6%)	0,833
Течение беременности:			
ХФПН	31 (47,7%)	28 (43%)	0,5
Гестоз легкой степени тяжести	26 (40,0%)	22(33,8%)	0,267
Преэклампсия	2 (3,1%)	1 (1,5%)	0,833
Зиготность:			
Монозиготная беременность	35 (53,8%)	35 (53,8%)	1,0
Бизиготная (бихориальная биамниотическая)	30 (46,2%)	30 (46,2%)	1,0
Родоразрешение через естественные родовые пути	33(50,7%)	35 (53,8%)	0,959
Родоразрешение путем операции кесарева сечения	32 (49,3%)	30 (46,2%)	0,959

Характеристика исследуемых групп по типу «копи-пара»

Признак	Основная группа n = 65	Контрольная группа n = 65	p
Родоразрешение через естественные родовые пути	33 (50,7%)	35 (53,8%)	0,959
Родоразрешение путем операции кесарева сечения	32 (49,3%)	30 (46,2%)	0,959
Гестационный возраст	37,3 \pm 0,38	37,1 \pm 0,39	0,94
Синдром задержки развития плода, %	2 (3,1%)	2 (3,1%)	1,0
Пол ребенка:			
- мужской	32 (49%)	32 (49%)	1,0
- женский	33 (51%)	33 (51%)	1,0

Отсутствие достоверных различий исследуемых групп, позволяет адекватно трактовать потенциальные данные о состоянии здоровья младенцев. Дети были сопоставлены по сроку гестации, исходя изначально из данных гестации основной группы. Так, в 49,2% случаев дети имели доношенный срок гестации, тогда как недоношенность составила 50,8%, что имеет статистически недостоверные различия ($p = 0,9$) между исследуемыми группами. Каждый второй недоношенный ребенок (51,5%) родился в 37-35 недель, срок гестации 34-31 недели был характерен для 45,5% новорожденных. Дети, рожденные в гестационном сроке 30 недель, составили 3%. В исследовании младенцев с экстремально низкой массой тела при рождении не было.

Нами были оценены течение и исходы раннего неонатального периода за время пребывания ребенка в родильном доме. При анализе клинической картины в первые сутки раннего неонатального периода значимого различия между сравниваемыми группами выявлено не было. Более четверти детей основной и контрольной групп (27,7%) имели респираторный дистресс-синдром новорожденного, у 18,5% диагностировалась функциональная недостаточность ЖКТ, для 5% новорожденных была характерна

недостаточность кровообращения II степени. В единичных случаях наблюдалась клиника высокой кишечной непроходимости и дыхательная недостаточность, обусловленная наличием трахеопищеводного свища. Однако, к третьим суткам жизни каждый второй ребенок, рожденный при помощи ВРТ, находился в ПИТ/ ОРИТН, в то время как дети, зачатые при спонтанной беременности только в 18,5% требовали проведения интенсивной терапии.

По данным зарубежной литературы, тяжесть состояния пациента может быть оценена по таким критериям как: перевод ребенка в ОРИТН, потребность в антибактериальной, инфузионной терапии, парентеральном питании, трансфузии препаратов крови (табл. 12).

Таблица 12

Нахождение ребенка на этапе родильного дома и отделений ЛПУ

Признак	Основная группа n = 65	Контрольная группа n = 65	p
Оценка по Апгар на первой минуте жизни, $M \pm \sigma$	5,9 \pm 0,18	6,6 \pm 0,1	0,002 [#]
Нахождение ребенка в палате на 3-е сутки жизни:			
- Мать и дитя	32 (49,2%)	53 (81,5%)	<0,001 [#]
- ПИТ/ ОРИТН	33 (50,8%)	12 (18,5%)	<0,001 [#]
Перевод ребенка в ЛПУ	29 (44,6%)	18 (28%)	0,025 [#]
Отсроченная вакцинация ребенка	33 (50,8%)	18 (27,7%)	0,001 [#]
Назначение антибактериальной терапии в ЛПУ	28 (43,1%)	18 (27,7%)	0,037 [#]
Назначение инфузионной терапии в ЛПУ	27 (43,1%)	12 (18,5%)	<0,001 [#]
Назначение парентерального питания в ЛПУ	20 (31,3%)	8 (12,3%)	0,012 [#]
Назначение препаратов крови в ЛПУ	11 (17,2%)	1 (1,5%)	0,01 [#]

Примечание: #- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Итак, характеристики детей основной и контрольной групп, на этапе родильного дома и второго этапа выхаживания, достоверно отличались по всем сравниваемым параметрам, представленным в таблице 12, кроме

балльной оценки по шкале Апгар на пятой минуте жизни и частоте врожденных аномалий. Половина детей (51%) находилась в палате интенсивной терапии или в реанимационном отделении. Практически каждый второй ребенок (44,6%) был переведен на второй этап выхаживания, либо в реанимационные и хирургические отделения специализированных ЛПУ, в которых половине детей была назначена антибактериальная и инфузионная терапия, а каждый третий ребенок нуждался в дотации парентерального питания. Практически одна пятая часть детей основной группы (17,2%) получала препараты крови (эритроцитарная масса) с заместительной целью. Решение вопроса об отсроченной вакцинации имело положительный результат у 50,8% детей, рожденных при помощи ВРТ. Выявляемые патологические состояния были характерны исключительно для группы преждевременно родившихся детей (98,5 %), кроме доношенного ребенка (1.5%), имеющего недостаточность кровообращения II степени, обусловленную наличием врожденного порока сердца. При анализе неонатального периода у доношенных детей исследуемых групп значимых различий в нахождении ребенка на этапах родильного дома и отделений ЛПУ выявлено не было ($p = 0.9$).

3.4. Данные катамнестического наблюдения детей исследуемых групп в течение первого года жизни

Для оценки состояния здоровья детей в течение первого года жизни проанализированы данные 130 пациентов из основной и контрольной групп. Дети наблюдались в сроки 1, 3, 6, 12 месяцев жизни, при этом проводилась оценка соматического, неврологического статусов, а также качества жизни детей.

Полученные данные представлены в табл. 13,14.

**Структура соматической патологии у детей исследуемых групп,
выявляемая в течение первого года жизни**

Признак	Основная группа				Контрольная группа			
	n =	n =	n =	n =	n =	n =	n =	n =
	64	64	62	62	65	65	65	65
	1	3	6	12	1	3	6	12
	мес	мес	мес	мес	мес	мес	мес	мес
Дети, имеющие отклонения в соматическом здоровье	53 (83%), *	56 (88%), *	44 (71%)	38 (61%), *	44 (68%)	44 (78%)	42 (65%)	24 (37%)
Анемия смешанного генеза:	18 (28%), *	23 (36%)	12 (19%)	3 (5%)	11 (17%)	26 (40%)	7 (11%)	1 (2%)
- доношенные дети	2 (3%)	10 (16%)	3 (5%)	1 (2%)	1 (2%)	9 (14%)	2 (3%)	0
- недоношенные дети	16 (25%)	13 (20%)	9 (13%)	2 (3%)	10 (15%)	17 (26%)	5 (8%)	1 (2%)
Синдром нарушения микрофлоры кишечника	21 (33%)	24 (38%), *	12 (19%)	6 (10%)	24 (37%)	14 (22%)	12 (19%)	6 (10%)
Нейтропения	2 (3%)	8 (13%), *	4 (7%)	2 (3%)	0	0	0	0
Атопический дерматит	2 (3%)	8 (13%)	12 (19%)	15 (24%), *	7 (11%)	12 (19%)	17 (26%)	9 (14%)

Примечание: *- $p < 0,05$, различия достоверны в данный месяц жизни, при сравнении с контрольной группой

При осмотре пациентов в 1 месяц, как следует из таблицы 13, дети, не имеющие клинических проявлений какой-либо соматической патологии, достоверно различались в сравниваемых группах, в сторону преобладания клинически здоровых детей в контрольной группе ($p = 0,009$). Так, практически, у трети детей основной группы по данным клинического анализа крови выявлялась анемия I степени тяжести, смешанного генеза, прежде

всего, за счет преобладания ранней формы анемии у каждого четвертого недоношенного ребенка. Три четверти детей получали естественное вскармливание (75,5% в основной и 78,5% в группе контроля), тогда как каждый пятый ребенок обеих исследуемых групп (12,5%) находился на искусственном вскармливании. Не было найдено достоверных различий между сравниваемыми группами ни в проценте гипербилирубинемии, по данным показателей биохимического анализа крови ($p = 0,267$), ни в частоте клинических проявлений атопического дерматита ($p = 0,266$) и синдрома нарушения микрофлоры кишечника ($p = 0,267$), основываясь на параметрах бактериологического анализа при выявлении условно-патогенной микрофлоры кишечника, жалоб родителей на нарушение стула. Задержка физического развития отмечалась практически у каждого десятого ребенка исследуемых групп (7,8% в основной и 9,2% у детей группы контроля), преимущественно за счет задержки развития недоношенных детей. Однако у детей основной группы в единичных случаях выявлялись такие нозологии как: мезентериальный тромбоз ($n = 1$), мекониальный илеус ($n = 1$), абсолютная стойкая нейтропения (менее 1000 нейтрофилов в мкл) ($n = 2$), инфекция мочевыводящих путей ($n = 3$), не характерные для детей контрольной группы. В обеих группах определялись заболевания дыхательных путей, но разница по группам не существенна ($p = 0,959$). Дети, рожденные при помощи ВРТ, достоверно чаще контрольной группы ($p = 0,027$) имели такие малые аномалии развития, как: синехии малых половых губ ($n = 1$), микроретрогнатия ($n = 1$), асимметрия глазных щелей ($n = 2$), эпикантус ($n = 2$), дополнительная хорда в полости сердца ($n = 3$). Среди больших врожденных аномалий в основной группе детей преобладали пороки развития системы кровообращения ($n = 3$), пороки кишечной трубки ($n = 1$), а также пороки органов мочевой системы ($n = 1$). В группе контроля у одного младенца выявлен порок развития системы кровообращения ($n = 1$). При консультации смежных специалистов (офтальмолога, хирурга) у детей был диагностирован, без значимых различий, дакриоцистит (6,25% в основной,

4,6% контрольной), капиллярные гемангиомы отмечены у 14,1% в основной, и у 10,8% контрольной групп. Неонатальная смертность в исследуемых группах не была зафиксирована.

При обследовании детей в возрасте 3-ех месяцев, в соответствии с табл. 13, сохраняется статистически достоверная разница в преобладании здоровых детей контрольной группы (32,3%). Увеличилась доля детей, находящихся на искусственном вскармливании, как в основной, так и в контрольной группах, 28,1 % и 26,2 % соответственно. Поздняя форма анемии недоношенных (20% в основной и 26% в группе контроля), а также анемия смешанного генеза у доношенных детей (16% в основной и 14% в контрольной группе) выявлена в обеих сравниваемых группах младенцев, преимущественно I степени тяжести. Дети основной группы достоверно чаще имели синдром нарушения микрофлоры кишечника, чем дети группы контроля (37,5% и 21,5% соответственно). Количество детей, зачатых при помощи ВРТ, имеющих нейтропению, достоверно увеличилось к 3 месяцам жизни ($p = 0,026$). Необходимо отметить тот факт, что все младенцы основной группы, имеющие стойкую абсолютную нейтропению, были доношенными, являлись лицами мужского пола, и матери этих детей принимали для сохранения беременности синтетический прогестерон (Дюфастон[®]) в сроке беременности от 20 до 24 недели. Данный срок внутриутробного периода развития плода является критическим при формировании гранулоцитарного ростка кроветворения [45], что, возможно, и явилось этиологической причиной нейтропении, так как все дети состоят на учете у гематолога и иммунолога в Областной детской клинической больнице №1, где проведено полное иммунологическое обследование для типирования этиологии данного состояния. Задержка физического развития достоверно не отличалась между сравниваемыми группами и составляла 10,9% у недоношенных детей, зачатых при помощи репродуктивных технологий и 13,8% недоношенных детей контрольной группы. При консультации хирурга по данным клинического и ультразвукового исследования равнозначно в исследуемых группах (12,5%)

диагностировалась дисплазия тазобедренных суставов. Постнеонатальная смертность составила 15,5%₀ (n = 2) исключительно в основной группе среди недоношенных детей. Так, один ребенок в возрасте 32 дней умер от полиорганной недостаточности на фоне несостоятельности эзофагоанастомоза при нижнем трахеопищеводном свище и развитии медиастинита. Вторым ребенком умер в возрасте 1 месяца 22 дней, патологоанатомический диагноз: «Ишемическая гастроэнтеропатия, субтотальный некроз с очагами геморрагического пропитывания стенки тонкой кишки на фоне мезентериального тромбоза, с множественными перфорациями тонкой кишки и развитием разлитого фибринозно-гнойного перитонита».

При анализе соматического статуса в 6 месяцев жизни достоверных различий в состоянии здоровья детей выявлено не было, что отражено в таблице 13. Больше половины детей вскармливались грудным молоком матери (61,3% в основной и 56,9% в контрольной группе). Каждый третий ребенок исследуемых групп находился на искусственном вскармливании. Практически с одинаковой частотой диагностировалась анемия I степени, смешанного характера, преимущественно за счет преобладания в группе недоношенных младенцев (13% по сравнению с 8% группы контроля).

В основной группе, в динамике с 3 по 6 месяцев жизни, отмечалось снижение в два раза количества младенцев основной группы имеющих нейтропению (n=4). Данные дети имели медицинский отвод от вакцинации на срок от 6 до 12 месяцев. В контрольной группе детей нейтропения выявлена не была. Атопический дерматит, практически, в равной степени (19,3% в основной и 26,2% в контрольной) наблюдался в сравниваемых группах. Процент ОРВИ, бронхита, отита в исследуемых группах был незначительным и составлял 7% в основной и 8% в контрольной группах.

К 12-ти месяцам жизни группа детей, зачатых при помощи ВРТ, имели сходную структуру соматической патологии с группой контроля, однако, диагноз «Здоров» достоверно чаще ($p < 0,001$) был в группе детей, зачатых спонтанно, за счет преобладания недоношенных детей, не имеющих

отклонений со стороны функциональных органов и систем (см. табл. 13). Также следует отметить достоверные различия по наличию атопического дерматита в сторону преобладания данной нозологии у каждого четвертого ребенка основной группы (24%), в отличие от 14% группы контроля.

Как следует из табл. 14, на протяжении первого года жизни практически все дети основной группы (98,44%) имели клинические проявления поражения ЦНС, прежде всего когорта недоношенных детей, в то время как каждый десятый ребенок (9,2%) из группы контроля был здоров.

**Структура неврологической патологии у детей исследуемых групп,
выявляемая в течение первого года жизни**

Признак	Основная группа				Контрольная группа			
	n =	n =	n =	n =	n =	n =	n =	n =
	64	64	62	62	65	65	65	65
	1	3	6	12	1	3	6	12
	мес	мес	мес	мес	мес	мес	мес	мес
Дети, имеющие отклонения в неврологическом здоровье	63 (98%)	63 (98%)	61 (98%), *	41 (66%), *	59 (91%)	61 (94%)	58 (89%)	37 (57%)
Синдром двигательных нарушений	18 (28%), *	23 (36%), *	15 (23%)	15 (24%)	11 (17%)	26 (40%)	13 (20%)	13 (20%)
- пирамидная недостаточность	28 (44%), *	37 (58%)	32 (52%)	22 (36%)	37 (57%)	39 (60%)	38 (59%)	22 (34%)
- миотонический синдром	17 (27%), *	21 (33%), *	19 (31%), *	3 (5%)	12 (19%)	6 (9%)	9 (14%)	4 (6%)
- парезы конечностей по центральному типу	6 (9%)	6 (9%)	11 (18%), *	6 (10%)	6 (9%)	6 (9%)	4 (6%)	3 (5%)
Синдром вегетовисцеральных дисфункций	28 (44%), *	13 (22%)	6 (10%)	9 (15%)	23 (35%)	12 (19%)	9 (14%)	6 (9%)
Темповая задержка моторного развития относительно гестационного возраста	5 (8%)	6 (9%)	11 (18%), *	15 (23%), *	6 (9%)	8 (12%)	6 (9%)	7 (12%)

Примечание: *- $p < 0,05$, различия достоверны в данный месяц жизни, при сравнении с контрольной группой

При оценке состояния ЦНС в ранний восстановительный период в основной группе достоверно чаще отмечается у каждого четвертого ребенка (26,6%) синдром двигательных нарушений по гипотоническому типу и большая частота проявлений синдрома вегето-висцеральных дисфункций (в 43,7% случаев), клинически проявляющийся мраморностью кожных покровов, повышенным потоотделением, акроцианозом, дисфункцией ЖКТ со срыгиваниями после кормления, задержкой стула. Тем временем у детей, зачатых естественным путем, достоверно чаще преобладает синдром двигательных нарушений в виде пирамидной недостаточности (56,9%). Родители основной (26,4%) и контрольной (20%) группы предъявляли жалобы на приступы беспокойства и плача, преимущественно в вечерний период времени, трудности в засыпании ребенка и поверхностный сон, метеолабильность. Таким образом, проявления гипертензионно-гидроцефального синдрома, по данным нейросонографии и клинического обследования, в стадии суб- и декомпенсации, практически, с одинаковой частотой встречались в исследуемых группах (26,4% в основной, 20% в группе контроля). При треморе конечностей и подбородка, при физической и эмоциональной нагрузке, сохраняющемся спонтанном рефлексе Моро, а также при отсутствии признаков гипертензионного синдрома, часть детей сравниваемых групп (10,9% основной, 15,4% контрольной) без статистически значимых различий имели синдром повышенной нервно-рефлекторной возбудимости. Различий в степени задержки статико-моторного и психопредречевого развития в сравниваемых группа достигнуто не было.

Исходя из табл. 14, при неврологическом обследовании детей исследуемых групп в 3 месяца отмечается увеличение частоты гипертензионно-гидроцефального синдрома (40,6% в основной и 35,4% в контрольной), не достигающее достоверных различий. Так же, как и в предыдущие месяцы, практически, каждый десятый ребенок имел задержку статико-моторного и психопредречевого развития относительно гестационного возраста, главным образом, в группе недоношенных детей.

В основной, как и в контрольной группе на 3 мес. жизни преобладает процент детей, имеющих отклонения в неврологическом здоровье, прежде всего за счет частоты синдрома двигательных нарушений по типу пирамидной недостаточности. Так же, дети сравниваемых групп, в одинаковой степени имеют клинические проявления синдрома повышенной нервно-рефлекторной возбудимости, вегето-висцеральных дисфункций и гипертензионно-гидроцефального синдрома. Особенностью здоровья детей, рожденных от ВРТ, является превалирование миотонического синдрома у каждого третьего недоношенного ребенка (32,8%, $p < 0,001$). Ультразвуковая доплерография (УЗДГ) сосудов головного мозга и шеи для верификации этиологии клинически выявленного миотонического синдрома диагностировала отсутствие экстравазальных компрессий, нарушений кровообращений в бассейне позвоночных и сонных артерий, что, вероятно, свидетельствует о задержке миелинизации пирамидных путей в основной группе младенцев, преимущественно рожденных в преждевременном сроке.

В 6 месяцев жизни каждый десятый ребенок контрольной группы не имеет клинических проявлений поражения ЦНС, в то время как, практически, все дети, зачатые с помощью ВРТ, имеют данную симптоматику, что продемонстрировано в табл. 14. Так, с достоверным отличием, у основной группы доминирует синдром двигательных нарушений по гипотоническому типу ($p < 0,001$), преобладая в группе недоношенных детей. Одновременно почти каждый пятый ребенок (17,7%), исключительно рожденный в преждевременном сроке, входит в группу риска по развитию детского церебрального паралича, в отличие от контрольной группы, имеющей спастический синдром только в 6,2% случаев. Задержка статико-моторного и психопредречевого развития относительно гестационного возраста достоверно в два раза чаще встречалась практически у каждого пятого ребенка основной группы (17,2%), в отличие от каждого десятого ребенка (9,2%) в группе контроля, имеющего подобную клиническую симптоматику.

По другим позициям неврологического статуса сравниваемые группы не отличаются между собой.

При оценке неврологической картины к концу первого года жизни процент детей, клинически не имеющих проявления поражений ЦНС, в группе контроля был достоверно выше, чем в группе детей, зачатых естественным путем (43,1% и 33,9% соответственно, $p = 0,015$), что следует из табл. 14. Тогда как у каждого пятого ребенка (22,6%), зачатого при помощи репродуктивных методик, к 12-ти месяцам жизни в структуре неврологической патологии доминировала задержка статико-моторного и психопредречевого развития относительно срока гестации, главным образом, обусловленная недоношенностью детей.

На рис. 3-12 представлена динамика статистически достоверных изменений отдельных клинических синдромов и заболеваний у детей исследуемых групп в течение 12-ти мес. жизни.

В течение первого года жизни в контрольной группе выявляется достоверно больше детей, не имеющих каких-либо симптомов соматической патологии.

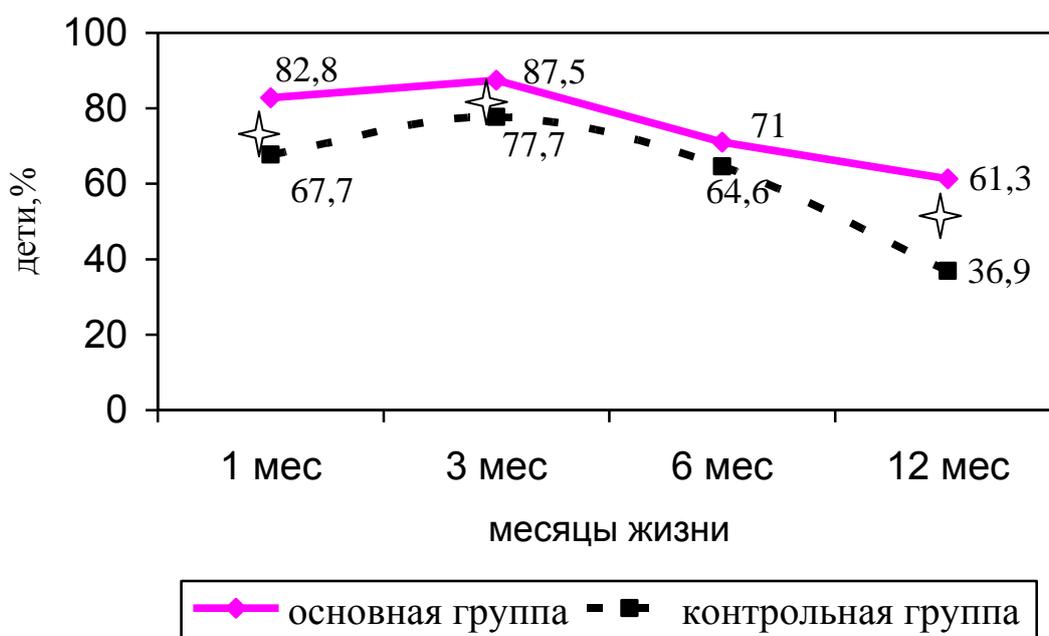


Рис. 3. Частота выявления соматической патологии

На протяжении 12 месяцев в исследуемых группах достоверные отличия по наличию анемии достигнуты в возрасте 1 мес. жизни, за счет превалирования в группе недоношенных новорожденных.

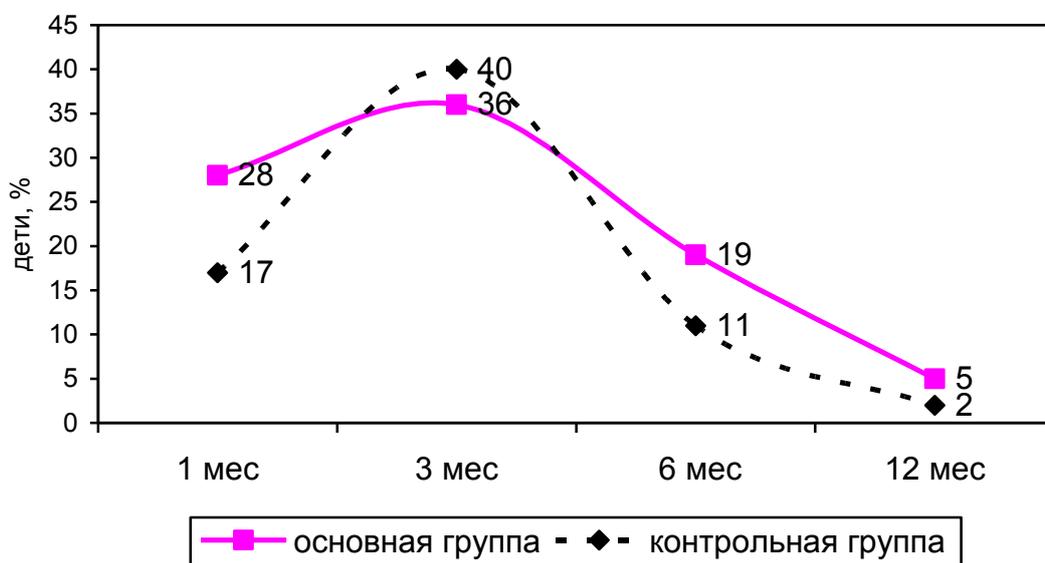


Рис. 4. Динамика анемии в течение первого года жизни

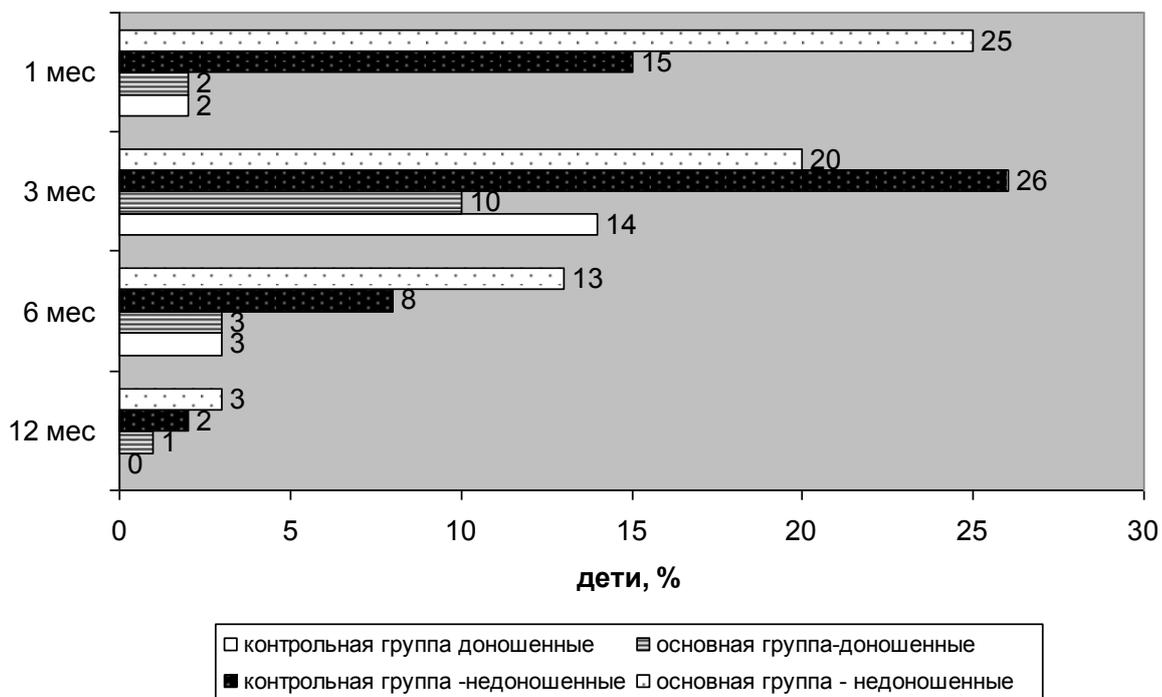


Рис. 5. Динамика анемии в зависимости от степени доношенности детей в течение первого года жизни

При анализе наличия анемии и степени доношенности у детей сравниваемых групп характерно развитие и преобладание ранней формы анемии недоношенных к 1-му мес. жизни.

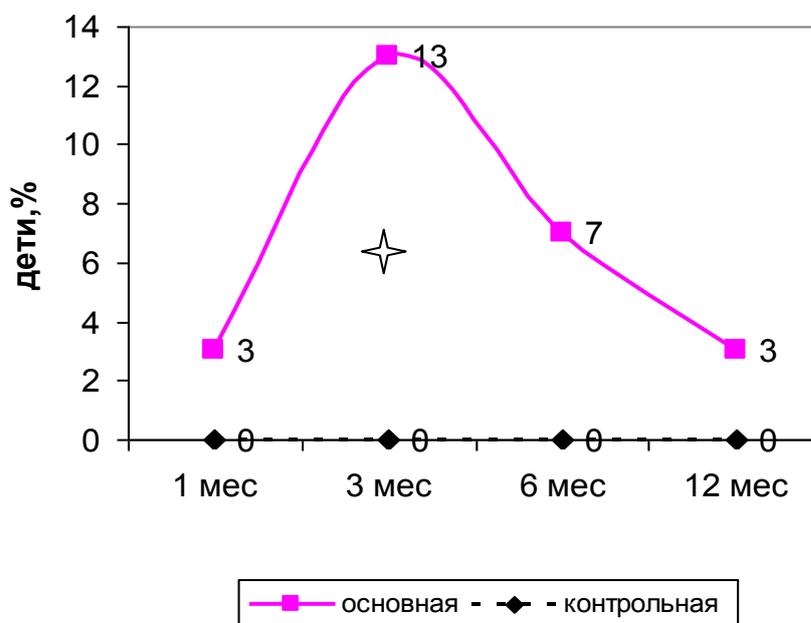


Рис.6. Динамика нейтропении на первом году жизни

Как следует из рис. 6, на протяжении всего первого года жизни, в группе детей, зачатых при помощи ВРТ, диагностируется нейтропения, которая достоверна выше отмечается в возрасте 3 месяцев, по сравнению с контрольной группой, вследствие чего дети имеют медицинский отвод от вакцинации (уровень нейтрофилов менее 1000 в мкл), вплоть до конца первого года жизни в 3% случаев ($n = 2$).

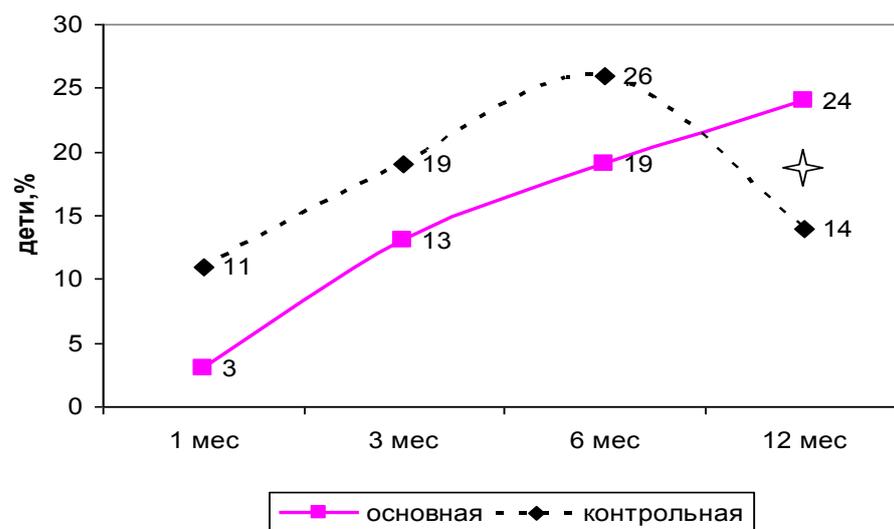


Рис. 7. Динамика атопического дерматита в течение первого года жизни

Наличие младенческой стадии атопического дерматита в исследуемых группах параллельно нарастало к девяти месяцам жизни, что представлено на рис. 7. Однако, к возрасту одного года процент детей, имеющих кожные проявления атопии, в основной группе был достоверно выше, чем в группе контроля.

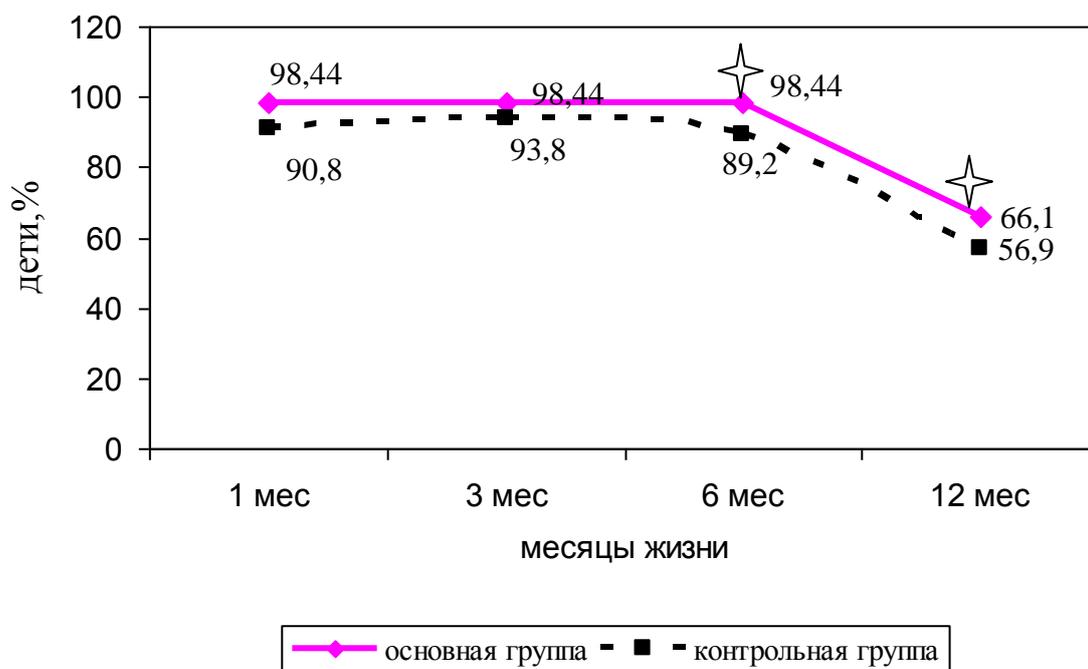


Рис. 8. Частота выявления неврологической патологии

Как отражено на рис.8, до первого полугодия жизни процент детей основной и контрольной групп, имеющих клинические проявления поражения ЦНС, остается стабильным. Только к 6-ти мес., и до конца первого года жизни у младенцев, рожденных при помощи ВРТ, неврологическая симптоматика доминирует над таковой у детей группы контроля.

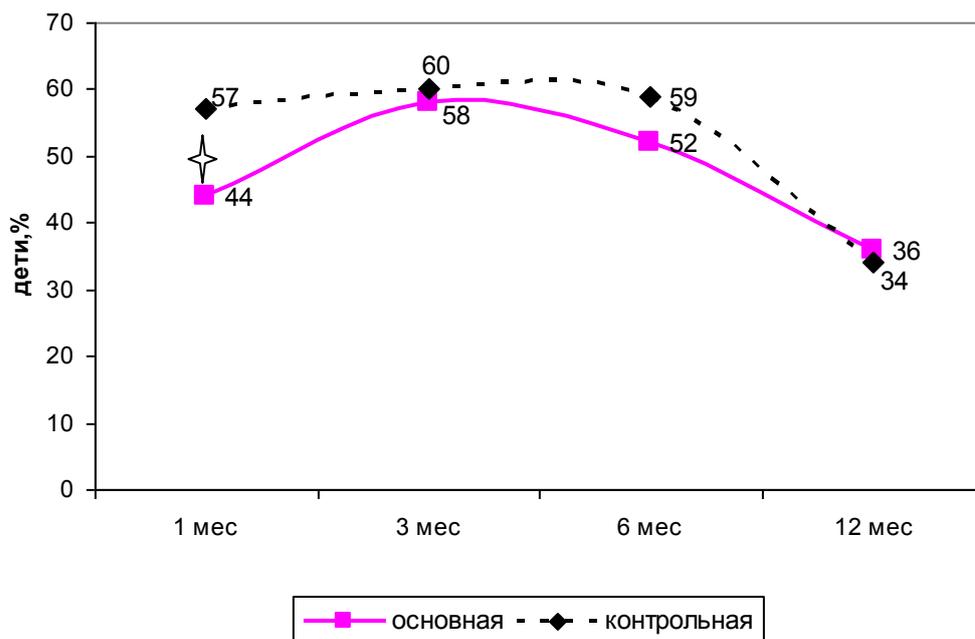


Рис. 9. Динамика синдрома пирамидной недостаточности в течение первого года жизни

При оценке динамики синдрома двигательных нарушений по типу пирамидной недостаточности в течение первого года жизни наблюдается плавное купирование данного синдрома в обеих группах, с достоверным преобладанием только на первом месяце жизни в контрольной группе, что представлено на рис. 9. Однако у трети младенцев исследуемых групп к году жизни сохраняются симптомы пирамидной недостаточности, прежде всего клинически выраженные у недоношенных детей.

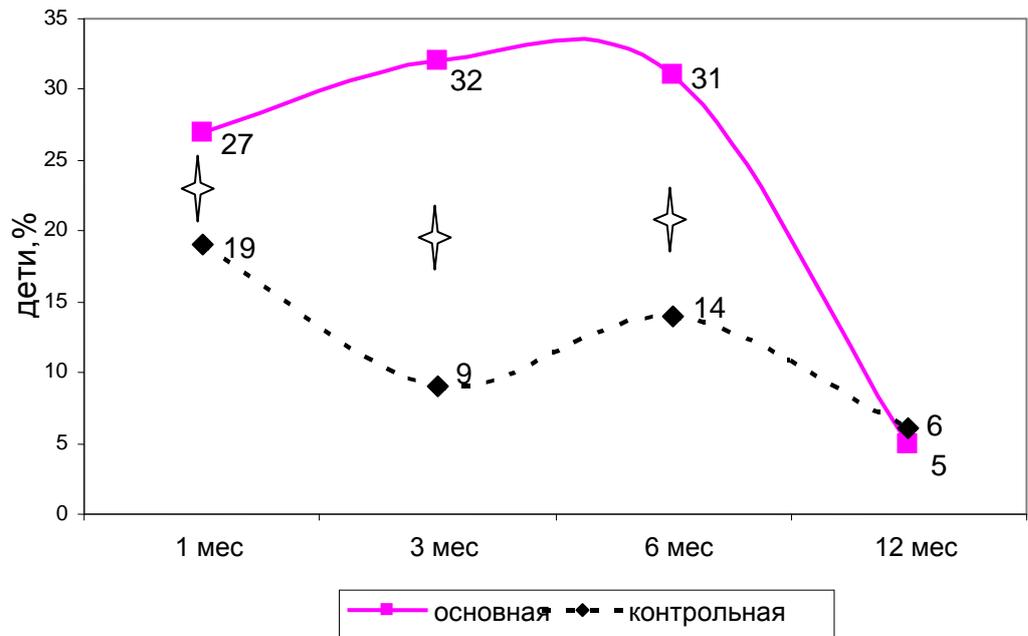


Рис. 10. Динамика миотонического синдрома в течение первого года жизни

Исходя из рис.10, у детей, зачатых при использовании репродуктивных технологий, с рождения наблюдается миотонический синдром, достоверно преобладающий у детей, зачатых при помощи ВРТ, в первом полугодии жизни, но нивелирующийся у обеих исследуемых групп к возрасту одного года.

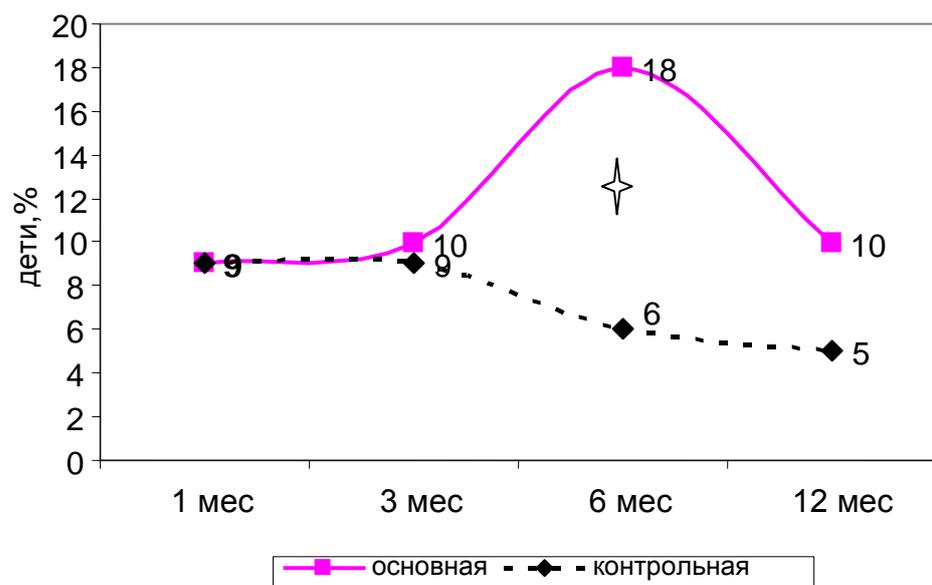


Рис. 11. Динамика синдрома двигательных нарушений (парезы конечностей по центральному типу)

К шести месяцам жизни, что отражено на рис. 11, каждый пятый недоношенный ребенок основной группы, угрожаем по развитию синдрома детского церебрального паралича. Данная угроза к году жизни сохраняется в основной группе у каждого десятого ребенка, и реализуется в синдром ДЦП в 5% случаев, за счет недоношенных детей.

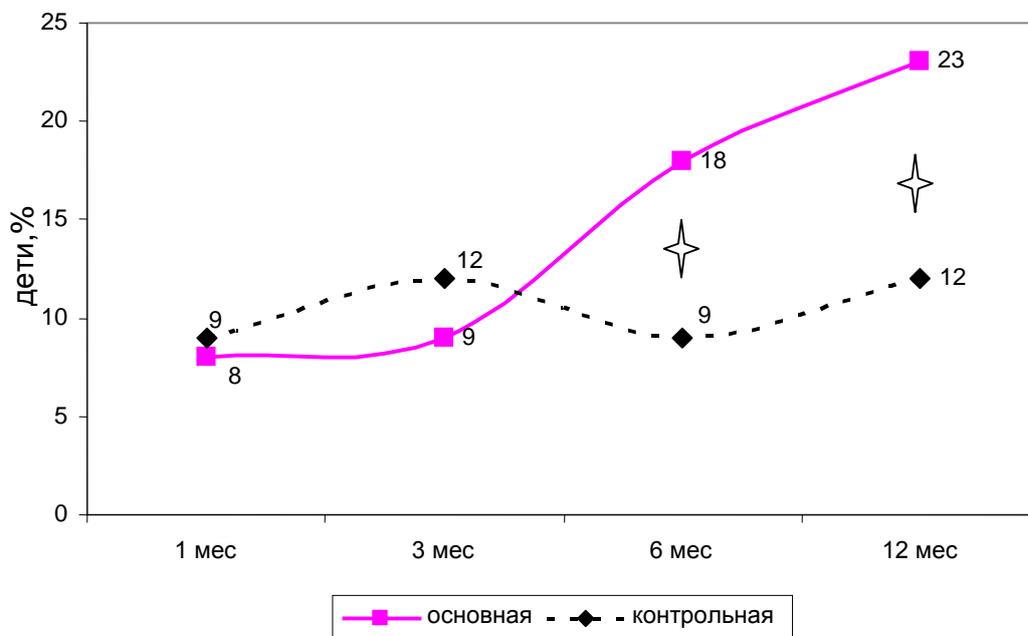


Рис. 12. Динамика задержки статико-моторного и психопреречевого развития в течение первого года жизни

Анализируя динамику задержки статико-моторного и психо-речевого развития (рис. 12), с 6-ти мес. отмечается резкое увеличение процента детей основной группы с преобладанием отставания к одному году жизни у каждого четвертого недоношенного ребенка, при отсутствии в группе доношенных младенцев.

**Оценка соматического и неврологического здоровья детей
исследуемых групп к 12-ти месяцам жизни**

Признак	Основная группа n = 62	Контрольная группа n = 65	p
Группа нервно-психического развития			
- I (29-27 баллов)	21 (34%)	37 (57%)	<0,001*
- II (23-26 баллов)	30 (48%)	19 (29%)	<0,001*
- III (13-22 балла)	8 (13%)	9 (14%)	0,959
- IV (менее 13 баллов)	3 (5%)	0	0,147
Группа здоровья: Доношенные дети			
- I	4 (13%)	6 (19%)	0,08
- II	26 (82%)	25 (78%)	0,27
- III	2 (6%)	1 (3%)	0,5
- IV	0	0	-
- V	0	0	-
Недоношенные дети			
- I	0	3 (9%)	0,015*
- II	20 (67%)	27 (82%)	<0,001*
- III	6 (20%)	2 (6%)	0,001*
- IV	0	0	-
- V	4 (13%)	1 (3%)	0,009*
Инвалидность	4 (7%)	1 (1,5%)	0,147
ДЦП	3 (5%)	0	0,959

Примечание: *- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Оценивая уровень статико-моторного и психопредречевого развития ребенка исследуемых групп, представленный в табл. 15, отмечается достоверное преобладание более чем у половины детей (57%), зачатых спонтанно, возрастной нормы НПР, в тоже время треть детей в основной группе не имели отставания в НПР (34%). В группе же детей, зачатых при помощи ВРТ, практически половина детей (48%) была расценена как безусловная группа риска, прежде всего за счет детей с низким сроком гестации при рождении. Каждый десятый ребенок сравниваемых групп имел

задержку развития (13% в основной и 14% в контрольной группе). В основной группе три недоношенных ребенка с органическим поражением центральной нервной системы имели тяжелую задержку ННР (более чем на три эпикризных срока).

При оценке групп здоровья к первому году жизни среди доношенных младенцев статистически значимых различий выявлено не было. Так, более трех четвертей детей составляли вторую группу здоровья (82% в основной и 78% в контрольной группах), преимущественно, за счет клиники атопии и синдрома нарушения микрофлоры кишечника на первом году жизни. Практически каждый пятый ребенок группы контроля (19%) и в 13% случаев дети основной групп были причислены к группе здоровья I. Однако, анализируя детей, рожденных в преждевременном сроке гестации (при стандартизации пациентов), наблюдались достоверные отличия практически по всем группам здоровья (кроме IV). Основная часть недоношенных детей как основной, так и контрольной когорт была отнесена ко второй группе здоровья, при этом наблюдалось статистически значимое преобладание детей, зачатых спонтанно (67% в основной, по сравнению с 78% контрольной группы). Каждый пятый младенец (20%), основной группы, имеющий хроническую патологию в стадии компенсации и/или функциональные отклонения патологически измененной системы или органа без клинических проявлений функциональных отклонений других органов и систем (хронический пиелонефрит, отит, гипертензионно-гидроцефальный синдром, задержка статико-моторного и психопредречевого развития) характеризовал III группу здоровья. Дети, имеющие инвалидность составляли пятую группу здоровья. Так, в основной группе, к одному году жизни, у трех недоношенных детей была установлена инвалидность по поводу органического поражения центральной нервной системы: детского церебрального паралича; один ребенок, с внутриутробно диагностированным тотальным гидронефрозом, имел тяжелые морфологические изменения паренхимы почки и чашечно-лоханочной системы. Инвалидность же в группе контроля была оформлена

только у одного ребенка, прооперированного по поводу врожденного порока сердца и имеющего декомпенсацию функционирования сердечно-сосудистой системы. Статистической разницы в проценте инвалидности не достигнуто.

Подводя итог в оценке состояния здоровья детей на протяжении первого года жизни необходимо отметить, что к 12-ти мес. на фоне проводимого лечения отмечается тенденция к восстановлению соматического статуса, но неврологическая симптоматика остается доминирующей. Для младенцев, рожденных при помощи ВРТ, при сравнении со спонтанно зачатыми детьми, какая-либо специфическая патология не характерна. Дети, рожденные в доношенном сроке, не отличаются по сравниваемым параметрам. Основные статистически значимые различия наблюдаются в группе недоношенных детей, что проявляется большей частотой синдрома двигательных нарушений как по гипотоническому (миотонический синдром), так и гипертоническому (парезы конечностей по центральному типу) варианту, с угрозой формирования синдрома детского церебрального паралича к 6 мес. жизни, а также задержкой статико-моторного и психопредречевого развития, у каждого пятого ребенка. Наличие гематологических изменений, таких, как анемия, обусловлено преобладанием ранней формы анемии недоношенных детей. Преобладание нейтропении, на первых месяцах жизни предопределяет тактику ведения данной категории детей относительно как вакцинопрофилактики, так и оценки лабораторных показателей. Обозначенные акценты обуславливают необходимость создания стандарта динамического наблюдения за детьми, рожденными при применении репродуктивных методик. В то же время, основной мерой профилактики данных патологических состояний является снижение частоты преждевременных родов, прежде всего, за счет уменьшения многоплодной беременности, вследствие переноса двух и более эмбрионов.

3.5. Оценка показателей качества жизни у детей исследуемых групп

Дети, рожденные при помощи применения вспомогательных репродуктивных технологий, являются особым контингентом, требующим пристального внимания не только при оценке состояния здоровья, но и к такому важному социальному показателю как качество жизни. Изучение качества жизни является чувствительным и информативным методом, основанным на субъективном восприятии самого ребенка и его родителей, что не позволяют сделать чисто клинические методы [Swensen A.R., Flood E.M. et al., 2004; Новик А.А. и соавт., 2004; Баранов А.А. и соавт., 2005].

Исследования по изучению качества жизни детей, рожденных от ВРТ, в мировой литературе немногочисленные, а в России, к сожалению, вовсе отсутствуют. Необходимо учитывать, что младенцы, рожденные с помощью ВРТ, несомненно особенно желанны и долгожданны. Их здоровью, развитию, воспитанию и образованию родители уделяют большое внимание, что проявляется в некоторых случаях гиперопекой, а, по мнению некоторых авторов [7, 31, 32] и особенностями психоэмоционального статуса матерей.

Согласно методологии исследования, представленной в главе 2, у детей основной и контрольной группы были оценены показатели качества жизни по международному опроснику QUALIN.

В ходе исследования выявлено, что качество жизни детей как основной, так и контрольной группы соответствует высокой оценке, практически по всем параметрам, что представлено в табл.16.

Показатели качества жизни детей исследуемых групп, $M \pm m$

Признаки	ОБ	ПиО	СОО	СО	НПРиФЗ	p
Основная группа детей: - родители - врачи						
	4,2±0,3** ¹	4,7±0,3	3,3±0,5** ²	4,6±0,4** ³	4,5±0,5** ⁴	** ¹ =0,001 ** ² =0,01 ** ³ =0,04 ** ⁴ <0,001
	4,5±0,4	4,7±0,3	3,5±0,6	4,7±0,4	4,0±0,6	
Контрольная группа детей: - родители - врачи						
	3,8±0,3**	3,8±0,4**	3,5±0,2	4,4±0,3	3,7±0,5**	**<0.001
	4,1±0,3	4,3±0,4	3,5±0,5	4,5±0,3	4,5±0,4	
Родительский опросник: -основная группа детей -контрольная группа детей						
	4,2±0,3* ¹	4,7±0,3* ²	3,3±0,5* ³	4,6±0,4	4,5±0,5* ⁴	** ¹ <0.001 ** ² <0.001 ** ³ =0,01 ** ⁴ =0,002
	3,8±0,3	3,8±0,4	3,5±0,6	4,4±0,3	3,7±0,5	
Врачебный опросник: -основная группа детей -контрольная группа детей						
	4,5±0,4*	4,7±0,3*	3,5±0,6	4,7±0,4*	4,0±0,6*	*<0.001
	4,1±0,3	4,28±0,4	3,5±0,5	4,5±0,3	4,5±0,4	

Примечание: ОБ - общий балл; ПиО – поведение и общение; СОО- способность оставаться одному; СО - семейное окружение; НПРиФЗ – нервно-психическое развитие и физическое здоровье;*- различия достоверны между сравниваемыми группами детей; **-различия достоверны между вариантами родительского и врачебного опросников

В ответах всех респондентов родительской формы опросника, исходя из рис. 13, прослеживалась тенденция более высоко оценивать такие шкалы, как «поведение и общение» и «семейное окружение» в обеих исследуемых группах. При этом уровень параметров «нервно-психическое развитие и физическое здоровье» и, особенно, «способность оставаться одному» оказались ниже в основной и контрольной группе детей. Тем не менее, дети, рожденные при использовании ВРТ, согласно родительскому варианту опросника, имели достоверно выше показатели качества жизни по всем исследуемым показателям, за исключением «способность оставаться одному»,

которому соответствовало достоверно низкое значение в этой группе младенцев.

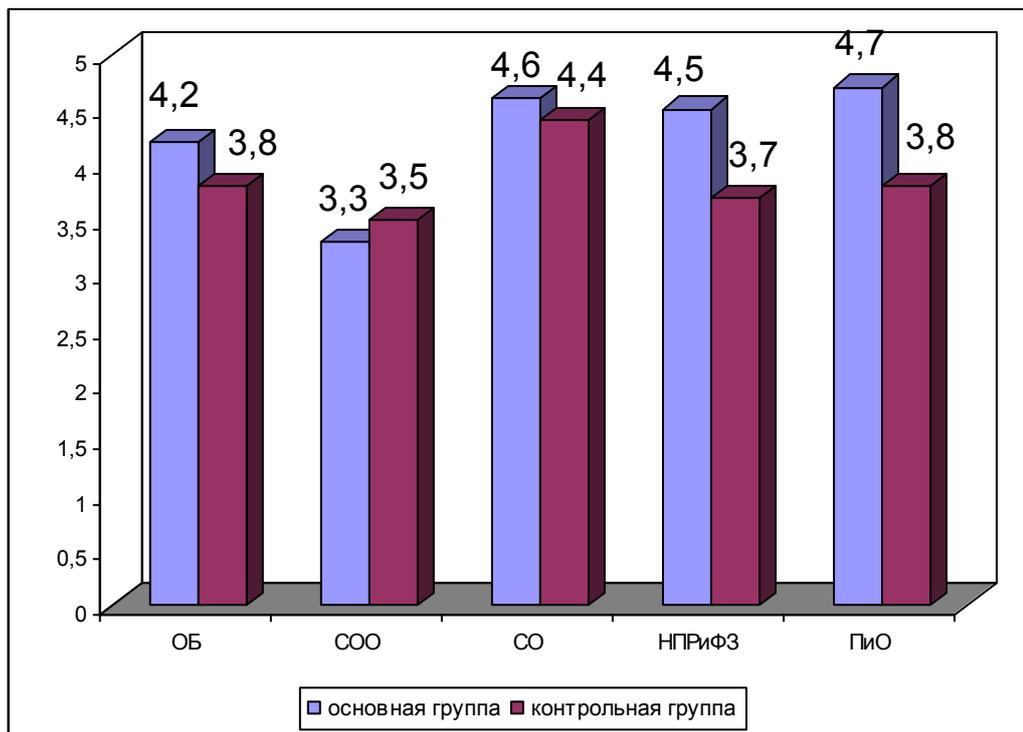


Рис.13. Качество жизни детей исследуемых групп, по мнению родителей

Как следует из рис.14, по мнению врачей, дети основной группы имели достоверно лучшие показатели качества жизни, чем дети группы контроля. Однако, согласно врачебному анкетированию, показатель «способность оставаться одному», в отличие от родительского мнения, не отличался в сравниваемых группах. Врачи формировали свое мнение относительно показателя «способность оставаться одному», на очередном приеме в присутствии родителей, что затрудняет его оценку. Кроме того, родители, ежедневно находясь с ребенком, могут судить о данном аспекте качества жизни более адекватно, нежели врач-педиатр.

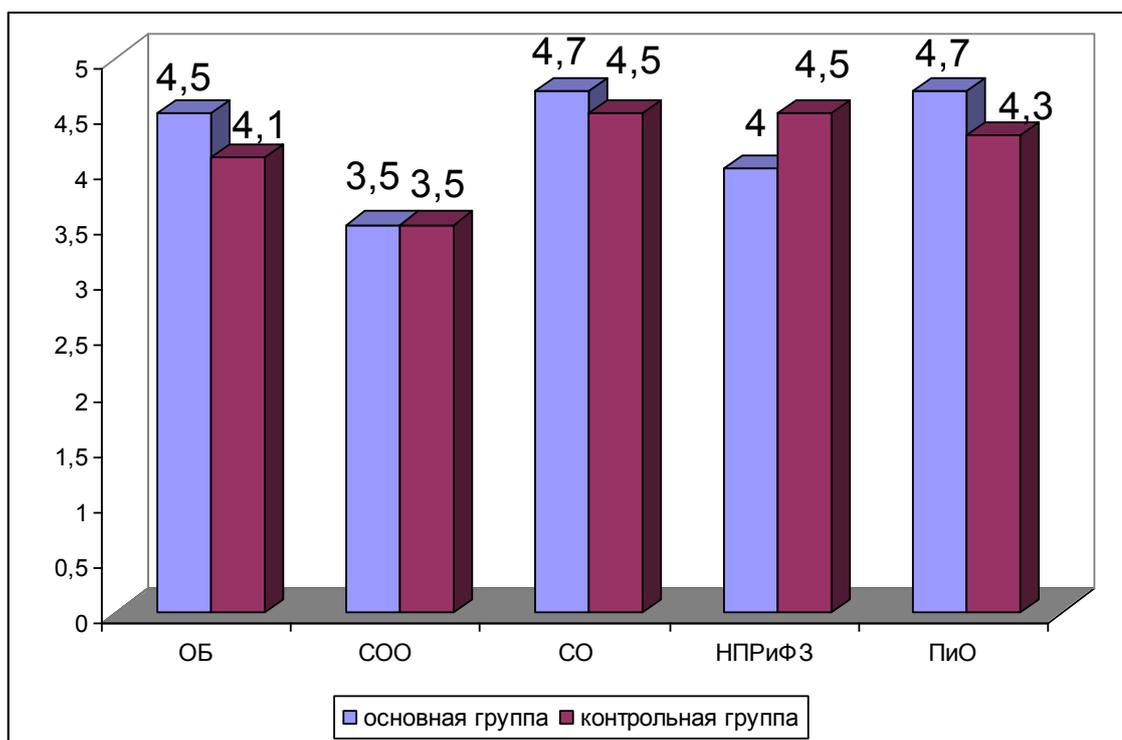


Рис.14. Качество жизни детей исследуемых групп, по мнению врачей

При анализе качества жизни детей, рожденных при помощи репродуктивных методик, как родители, так и врачи не отмечали достоверных различий в показателях «поведение и общение», а также «семейное окружение», что представлено на рис.15. Несмотря на различия в 0,2 балла, такого показателя как «способность оставаться одному», наблюдались достоверные отличия ($p=0,012$) по данному аспекту качества жизни в сравниваемых группах младенцев. По результатам исследования, описанном в главе 3, у детей, рожденных при использовании вспомогательных технологий, диагностировалась задержка статико-моторного и психопредречевого развития, что достоверно отражает такой показатель качества жизни как «нервно-психическое развитие и физическое здоровье», по мнению врачебного опросника. В то же время, родительский вариант демонстрирует отсутствие отрицательного влияния задержки развития на качество жизни младенцев данной группы ($p<0,05$).

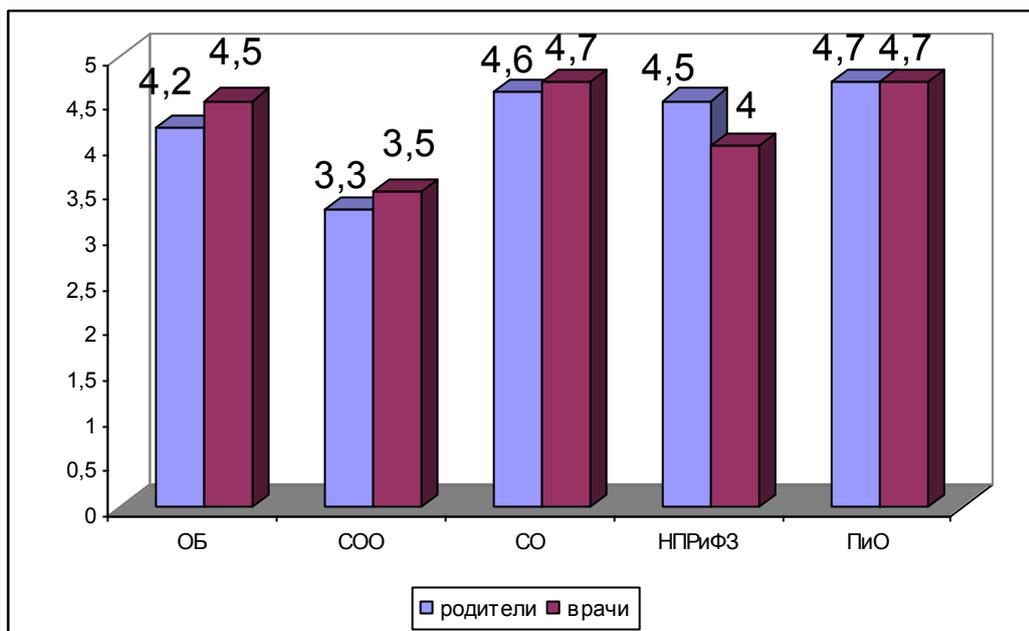


Рис. 15. Показатели качества жизни детей, рожденных при использовании ВРТ

По мнению же родителей, зачавших детей естественным путем, согласно рис.16, общий балл качества жизни имеет достоверно низкие позиции, по сравнению, с основной группой детей, прежде всего за счет низкой оценки «нервно-психического развития и физического здоровья» и поведенческих особенностей младенцев. Дети, зачатые естественным путем, по мнению врачей и родителей, имели сходную способность оставаться одним, а также семейное окружение. Однако остальные показатели врачебной формы опросника имеют более высокие баллы, чем родительские, что, вероятно, связано с недооценкой качества жизни родителями своих детей, как и в случае с родителями основной группы младенцев. Настороженное отношение родителей к детям реализуется у семейных пар с бесплодием в гиперопеку, в то время как родители контрольной группы не проявляют столь чрезмерно повышенного внимания к своим младенцам.

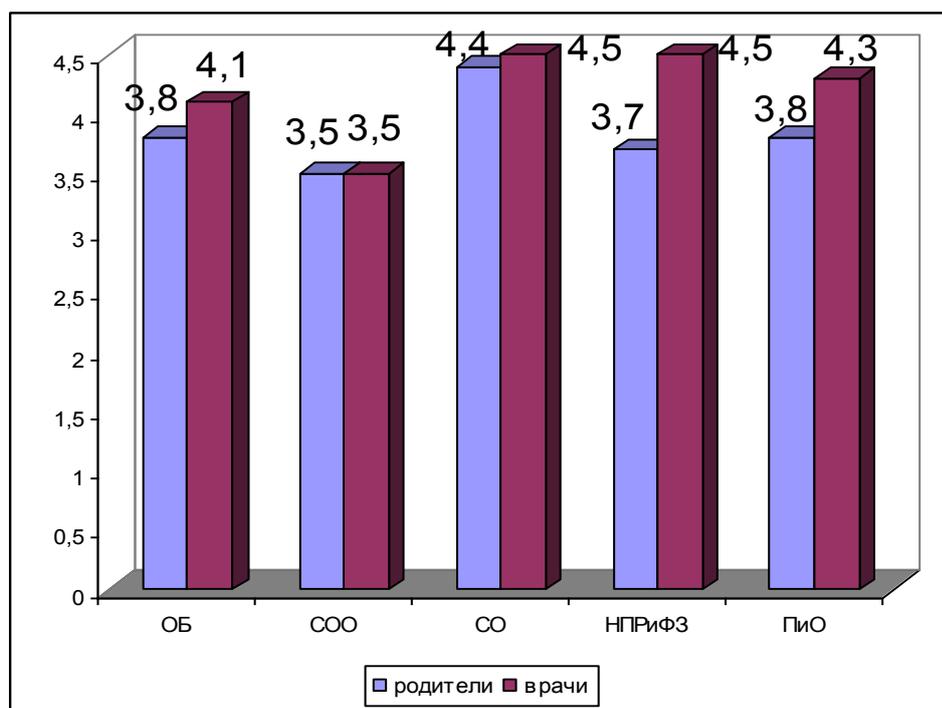


Рис. 16. Показатели качества жизни детей, рожденных при естественном зачатии

Таким образом, дети, рожденные в семьях с бесплодием, по мнению родителей и врачей-педиатров, имеют более высокий общий балл качества жизни. Прежде всего, это достигается за счет такого аспекта жизнедеятельности, как «поведение и общение». Показатель «нервно-психическое развитие и физическое здоровье» отражает значимую задержку статико-моторного и психопреречевого развития согласно врачебному варианту, но менее значим для родителей, как маркера снижения качества жизни. Показатели, характеризующие «семейное окружение», практически не отличались в сравниваемых группах (только при оценке врачами, отмечено более благоприятное «семейное окружение», $p < 0,001$). Однако, дети, рожденные при помощи ВРТ, имеют низкую «способность оставаться одному». Данный факт объясним с той позиции, что столь долгожданные дети находятся под родительской гиперопекой, и, привыкая к повышенному вниманию, в последующем не способны оставаться в одиночестве. Зависимость от внимания и помощи родителей, впоследствии, вероятно, может обуславливать описанные в литературе, пограничные уровни

психопатологических состояний у детей, рожденных при использовании репродуктивных методик.

Учитывая выявленные особенности, необходимо проведение медико-психолого-педагогической помощи детям данной категории, направленной, прежде всего, на развитие и поддержание индивидуальных способностей ребенка в социуме, в том числе «способности оставаться одному». Данный подход может быть реализован в комплексной системе динамического наблюдения за детьми, осуществляемый не только с помощью индивидуальной работы психологов, как с родителями, так и с ребенком, но и с формированием программ развития, учитывая особенности психологического статуса младенцев.

Глава 4. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ТРОМБОФИЛИИ, НАРУШЕНИЯМИ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ ПРИ ПОМОЩИ ВРТ

4.1. Выявление распространенности генетических полиморфизмов в семьях с синдромом потери плода

Проведено обсервационное исследование для установления распространенности генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии, нарушениями фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции в семьях, имеющих синдром потери плода в анамнезе.

Были обследованы женщины (n=41), имеющие СПП в анамнезе, и рожденные ими при помощи ВРТ дети (n=56), а также контрольная группа женщин (n=41), с отсутствием СПП, имеющих детей, которые были зачаты естественным путем (n=56).

Оцениваемыми показателями в данном исследовании явились: частотность генов у фертильных и инфертильных пар с СПП; частотность генов в семьях с бесплодием, в зависимости от его этиологии; частотность генов у детей основной и контрольной групп; количество и сочетание генов на одного ребенка, а также взаимодействие между генами; балльная оценка риска развития мультифакторной патологии, вследствие установленных полиморфизмов; анализ взаимосвязи состояния здоровья и имеющихся генетических полиморфизмов у детей.

Ограничениями исследования послужили отказ родителей от проведения генетического анализа, а также временные рамки, так как для полноценной оценки исходов мультифакторной патологии у носителей генетических полиморфизмов необходимо проведение долгосрочного когортного исследования, имеющего временной интервал порядка 25-30 лет.

Таким образом, был оценен генетический статус 82-х матерей и 112 детей, проживающих на территории Свердловской области.

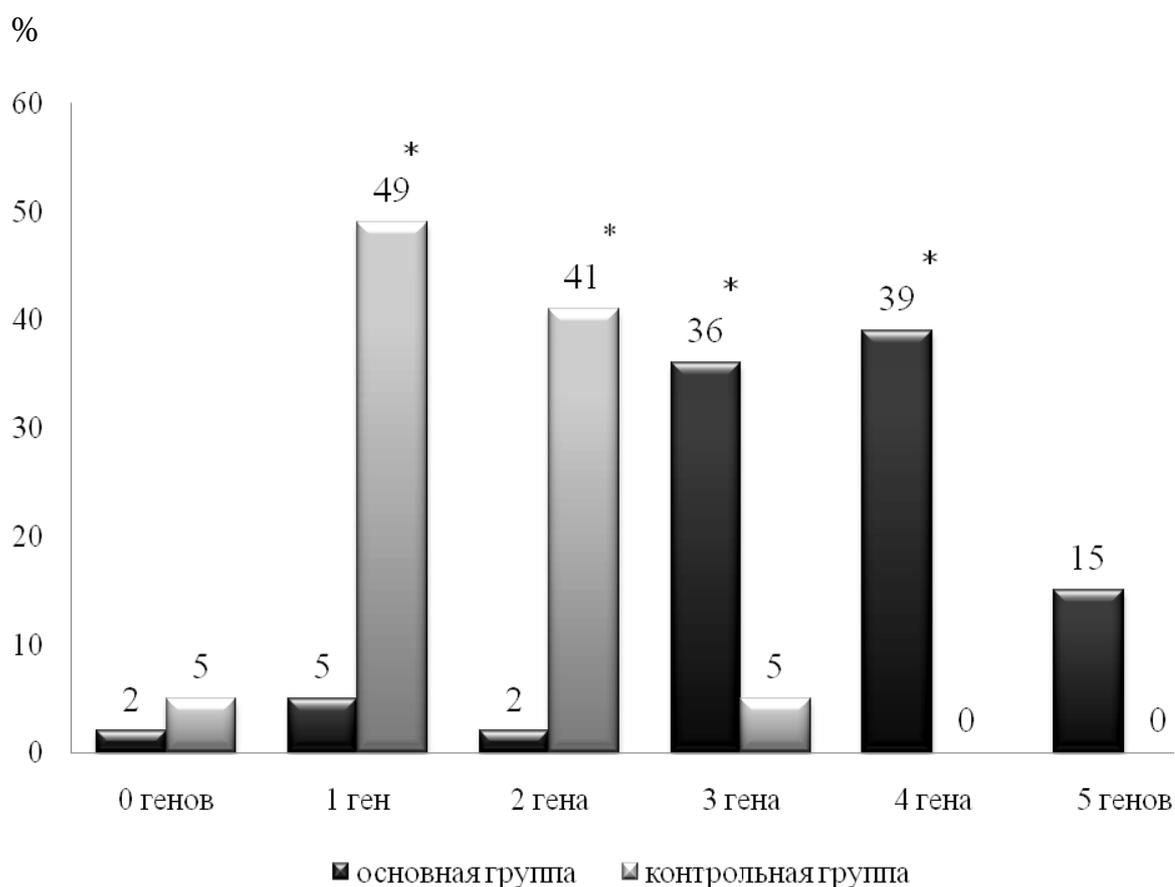


Рис. 17. Распределение носительства генетических полиморфизмов у семейных пар

Исходя из данных рис. 17, для большинства семейных пар, зачавших детей естественным путем, характерно от одного до двух (49% и 41% соответственно) генетических полиморфизмов, в то время как бесплодные пары с СПП имеют от трех до четырех точковых мутаций (36% и 39% соответственно), что статистически достоверно. Родители детей контрольной группы не имели одновременного носительства четырех и пяти генов, в отличие от бесплодных пар, имеющих в 15% случаев наличие пяти точечных мутаций.

Частотность точковых мутаций в зависимости от этиологического фактора бесплодия представлена в табл. 17.

Взаимосвязь этиологии бесплодия и распределение носительства генетических полиморфизмов у семейных пар

Признак	Количество генов (%)					
	0 генов	1 ген	2 гена	3 гена	4 гена	5 генов
Женское бесплодие, количество женщин (n = 32):						
- трубного происхождения	-	2 (5%)	-	5 (12%)	-	-
- связанное с отсутствием овуляции	-	-	1 (2%)	5 (12%)	-	-
- неуточненное	-	-	-	-	9 (22%)	6 (15%)
- другие формы бесплодия	1 (2%)	-	-	1 (2%)	2 (5%)	-
Мужское бесплодие (в сочетании с женским фактором), количество мужчин (n =9)	-	-	-	4 (10%)	5 (12%)	-
Контрольная группа (n = 41)	2 (5%)	20 (49%)	17 (41%)	2 (5%)	0	0

Женщины при бесплодии неясной этиологии достоверно чаще имеют комбинацию из четырех и пяти мутантных генов (22% и 15% соответственно). При мужском факторе бесплодия также высок процент сочетания четырех точковых мутаций (12%). Другие формы бесплодия, такие как анатомические и иммунные лишь в 5% случаев имеют комбинацию из 4 полиморфизмов. Тем временем у большинства женщин, имеющих бесплодие трубной и эндокринной этиологии, а также при сочетанном факторе infertility практически равнозначно выявляется одновременно три варианта генетических полиморфизмов (12%, 11% и 10% соответственно). Отсутствие точковых мутаций (2% при других формах бесплодия), либо наличие одной (6% при бесплодии трубного происхождения) или двух одновременно (2% при бесплодии связанном с отсутствием овуляции), обнаруживается только у

небольшого количества женщин, обратившихся за проведением ВРТ в центры репродукции.

При анализе носительства генетических полиморфизмов у исследуемых групп детей, как следует из табл. 18, выявлены достоверные различия в распределении количества генов практически во всех вариантах (кроме отсутствия генов, 0). Так, 5% детей контрольной группы не имели точковых мутаций, дети же основной группы 100% являлись носителями полиморфизмов. Каждый пятый ребенок, зачатый спонтанно, имел только один полиморфичный ген ($p < 0,001$), тогда как в основной группе данный процент детей имел комбинацию из двух генов ($p < 0,001$). Большинство детей контрольной группы (44%) имели сочетание двух полиморфизмов генов, тем временем, в основной группе преобладал процент детей (46%), имеющих комбинацию из трех точковых мутаций ($p < 0,001$). Одновременное наличие четырех генов имели 16% детей, тогда как дети контрольной группы не имели их вовсе ($p = 0,02$). У каждого десятого ребенка (11%), зачатого при помощи ВРТ, обнаруживалось сочетание пяти генетических полиморфизмов, при отсутствии оных в группе контроля ($p = 0,005$). Наличие шести, семи и восьми генов не было диагностировано ни у одного ребенка исследуемых групп.

**Распределение носительства генетических полиморфизмов
у исследуемых групп детей**

Признак	Количество генов (%)						Среднее количество генов
	0 генов	1 ген	2 гена	3 гена	4 гена	5 генов	
Основная группа (n=56)	-	4* (7%)	11* (20%)	26* (46%)	9* (16%)	6* (11%)	3,0*
Контрольная группа (n=56)	3 (5%)	12 (21%)	24 (44%)	17 (30%)	-	-	2,1

Примечание: * - различия достоверны между исследуемыми группами

Справедливости ради, следует отметить тот факт, что дети основной группы, имеющие четыре и пять ген-генных сочетаний (27%), были рождены от матерей с бесплодием неясного генеза, тогда как дети, у которых выявлялось от одного до трех генов включительно, родились от матерей с бесплодием трубно-перитонеальной, эндокринной и анатомической этиологии.

Проанализирована встречаемость отдельных генетических полиморфизмов у исследуемых групп детей, что отражено на рис. 18.

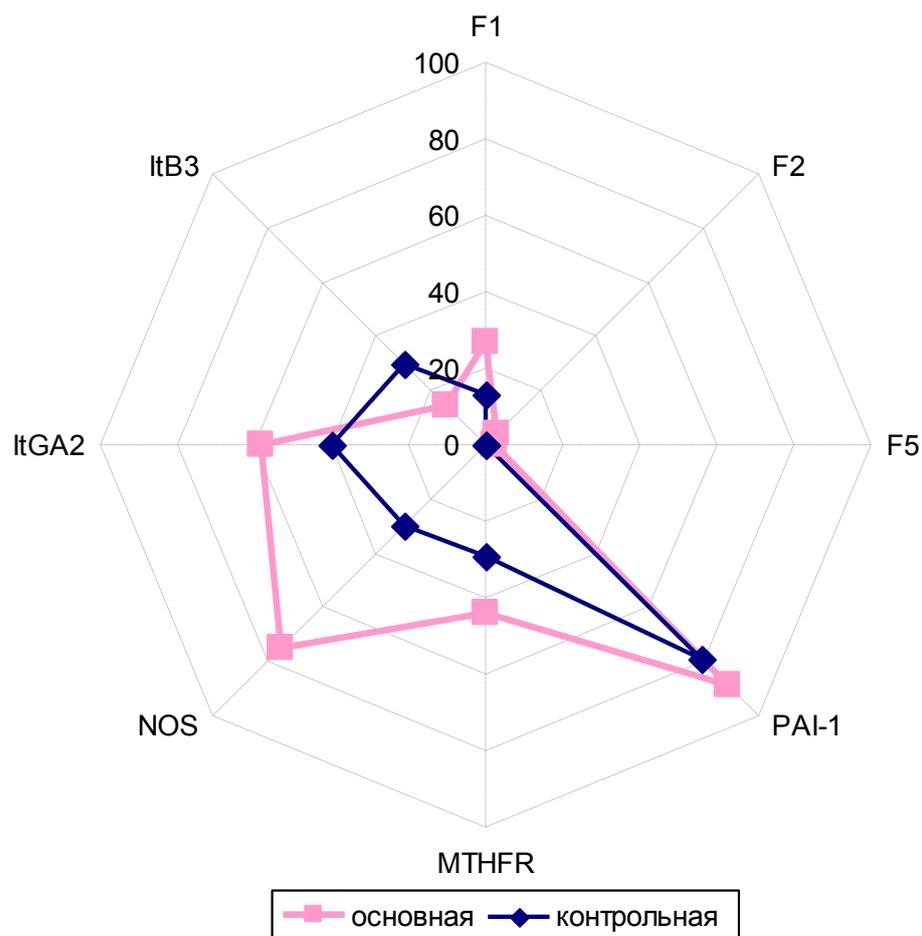


Рис. 18. Распределение частотности генетических полиморфизмов у сравниваемых групп детей

Как следует из табл. 19, в гомозиготном носительстве встречалось три генетических полиморфизма, причем в контрольной группе был диагностирован только один гомозиготный вариант - ингибитор активатора плазминогена (PAI-1), равнозначно встречающийся в основной и в контрольной группах (13%). Эндотелиальная NO-синтаза (eNOS) и гликопротеиновые рецепторы тромбоцитов к коллагену (ITGA2) в гомозиготном варианте достоверно чаще встречались (9% и 36% соответственно) у детей, зачатых с помощью репродуктивных технологий. У детей, зачатых спонтанно, данные мутации в гомозиготном варианте носительства выявлены не были.

**Встречаемость отдельных генетических полиморфизмов
у исследуемых групп детей**

Признак	Основная группа (n=56)	Контрольная группа (n=56)	p
Точковая мутация в гене фибриногена FGB (AG)	15 (27%)	7 (13%)	0,001*
Точковая мутация в гене протромбина F2 (AG)	2 (4%)	0	0,27
Точковая мутация в гене фактора Лейдена F5 (AG)	1 (2%)	0	0,8
Точковая мутация в гене ингибитора активатора плазминогена PAI-1 (4G5G)	42 (75%)	37 (66%)	0,027*
Точковая мутация в гене ингибитора активатора плазминогена PAI-1 (4G4G)	7 (13%)	7 (13%)	1
Точковая мутация в гене метилен-тетрагидрофолатредуктазы MTHFR (CT)	24 (43%)	16 (29%)	<0,001*
Точковая мутация в гене эндотелиальной NO-синтетазы eNOS (CT)	36 (64%)	17 (30%)	<0,001*
Точковая мутация в гене эндотелиальной NO-синтетазы eNOS (TT)	5 (9%)	0	0,02*
Точковая мутация в гене тромбоцитарных рецепторов ITGA2 (CT)	12 (21%)	22 (39%)	0,02*
Точковая мутация в гене тромбоцитарных рецепторов ITGA2 (TT)	20 (36%)	0	<0,001*
Точковая мутация в гене тромбоцитарных рецепторов ITGB3 (CT)	8 (14%)	17 (30%)	<0,001*

Примечание: * - различия достоверны между исследуемыми группами

Частота генетических полиморфизмов была достоверно выше у детей основной группы по следующим генам: фибриноген FGB ($p = 0,001$), ингибитор активатора плазминогена PAI-1, ($p = 0,027$), метилентетрагидрофолатредуктаза MTHFR 677($p < 0,001$), эндотелиальная NO-синтетаза e-NOS ($p = 0,0001$) и тромбоцитарный рецептор к коллагену ITGA2 ($p = 0,02$). Однако гликопротеиновый тромбоцитарный рецептор к фибриногену и фактору Виллебранда ITGB3 достоверно реже встречался у детей данной группы ($p = 0,0003$).

Несмотря на отсутствие, статистически значимого различия в сравниваемых группах в генах протромбина F2 и фактора Лейдена F5, у детей контрольной группы данные точковые мутации не были выявлены, в отличие от трех детей основной группы.

Трое из 56 детей основной группы имели клинические случаи тромбоза в возрасте от 1- их суток до 6 месяцев жизни, один из которых завершился фатально. Так, у одного ребенка этиологической причиной смерти явился мезентериальный тромбоз с субтотальным некрозом и очагами геморрагического пропитывания стенки тонкой кишки. У второго же ребенка в возрасте 1 суток жизни, с клинической симптоматикой ишемии левой нижней конечности, был диагностирован илеофemorальный тромбоз. Третий ребенок в возрасте шести месяцев жизни перенес ишемический инсульт с геморрагическим пропитыванием в бассейне левой среднемозговой артерии, клинически проявляющийся правосторонним гемипарезом. Данные дети имели комбинацию из пяти точковых мутаций. Разбор клинических случаев данных семей будет представлен ниже.

В соответствии с методическими рекомендациями лаборатории пренатальной диагностики НИИ АГ им. Д.О.Отта СЗО РАМН (зав. лабораторией, акад. Баранов В.А.), утвержденные главным педиатром Министерства обороны РФ, заведующим кафедрой детских болезней ВМА, профессором Н.П. Шабаловым был рассчитан риск развития мультифакторной патологии у исследуемых групп детей.

Авторами предложено, что, согласно балльным оценкам, гомозиготам по мутации F5 Leiden и полиморфизму протромбина следует давать максимально высокий балл риска -4 балла, гетерозиготам же по данным мутациям, а также гомозиготам по мутации MTHFR при использовании «балльного метода» следует присваивать 3 балла. При наличии гетерозиготных аллелей в гене MTHFR, гомозиготных аллелей тромбоцитарных рецепторов ITGA2, ITGB3 и ингибитора активатора плазминогена данные мутации оцениваются в 2 балла. Мутациям гетерозиготного носительства тромбоцитарных рецепторов и ингибитора активатора плазминогена присваивается 1 балл, тогда как гетерозиготам в гене фибриногена – 0 баллов. Ген, кодирующий эндотелиальную NO-синтазу (eNOS) в гомозиготном «неблагоприятном» аллеле оценивается в 2 балла, при гетерозиготной мутации присваивается 1 балл.

Необходимо отметить, что риск рассчитывается суммой баллов для каждой генной сети и полученное число баллов делится на количество проанализированных генов или генетических вариантов.

Исходя из полученного количества баллов, присваивается определенная группа: низкого (от 0 до 2 баллов), среднего (от 2 до 4 баллов) и высокого риска (4 и выше баллов).

Таблица 20

Балльная оценка генетических полиморфизмов у исследуемых групп детей

Признак	Группа низкого риска	Группа среднего риска	Группа высокого риска
Основная группа (n=56)	5 (9%)*	20 (36%)	31 (55%)*
Контрольная группа (n=56)	31 (55%)	25 (45%)	0

Примечание: * - различия достоверны между исследуемыми группами

Выявлены достоверные различия между исследуемыми детьми по принадлежности к той или иной группе риска (табл. 20). Больше половины

детей (55%), зачатых естественным путем, относятся к группе низкого риска по развитию исследуемых мультифакторных заболеваний. В то время как равное количество детей (55%), зачатых при помощи ВРТ в семьях с СПП, имеют высокую предрасположенность к формированию мультифакторных заболеваний ($p < 0,001$). Всего лишь 9% детей основной группы являются носителями генетических полиморфизмов низкого риска развития тромбофилии, нарушений фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции ($p < 0,001$). Достоверных различий в группах среднего риска среди всех исследуемых детей выявлено не было ($p = 0,3$).

Таким образом, несмотря на 25% вариант менделевского наследования единичных нуклеотидных замен, дети, рожденные в семьях с бесплодием, достоверно чаще получают неблагоприятные варианты генов от своих родителей, ассоциированные с риском развития мультифакторной патологии.

4.2. Оценка тромботических и нетромботических (дезадаптационных) эффектов некоторых плазменных и тромбоцитарных генов гемостаза, эндотелиальной дисфункции и фолатного цикла

На основании балльной оценки развития мультифакторной патологии, у исследуемых групп детей, с помощью использования теории отношения шансов, были выявлены клинико-anamнестические факторы течения и исходы неонатального периода у младенцев, имеющих 4 балла и более ($n = 31$), по отношению к группе детей с баллами от 0 до 3,99 ($n = 81$).

Клинико-анамнестические факторы течения и исходы неонатального периода у детей группы высокого риска по развитию мультифакторных заболеваний

Факторы	Отношение шансов	Границы 95% доверительного интервала	
		Нижняя	Верхняя
Наличие факта ВРТ в анамнезе	1,771	1,424	2,204
Наличие у матери во время беременности:			
- гестоза	16,623	2,167	127,499
- угрозы преждевременных родов	3,556	1,448	8,731
- хронической фетоплацентарной недостаточности	2,093	1,581	4,971
- анемии	2,400	0,992	5,808
Факт родоразрешения путем операции кесарева сечения	1,422	1,244	1,625
Оценка по шкале Апгар на 1 мин ≤ 6	7,940	2,556	24,670
Нахождение ребенка в палате интенсивной терапии или реанимации на этапе родильного дома	7,951	3,080	20,524
Назначение ребенку:			
- парентерального питания	4,914	1,908	12,659
- инфузионной терапии	6,800	2,704	17,098
- препаратов крови	11,317	2,693	47,554
- антибактериальной терапии	4,838	1,967	11,899
Перевод на 2-ой этап выхаживания	5,692	2,277	14,233
Отсроченность сроков вакцинации	9,565	3,595	25,452
Задержка статико-моторного и психопредречевого развития	5,867	2,225	15,469
Наличие инвалидности к возрасту 12 мес	17,217	1,837	161,370

Согласно приведенным и проанализированным данным табл. 21, у детей, относящихся к группе высокого риска, по отношению к детям низкой и средней группы риска, шансы развития дизадаптационных состояний, были диагностированы и реализованы как в антенатальном периоде (осложненное течение беременности, развитие гестоза и ХФПН, неоднократной угрозы

прерывания и оперативного родоразрешения), так и в оценке состояния здоровья новорожденных. На этапе раннего неонатального периода дети, относящиеся к группе высокого риска по развитию МФЗ, достоверно чаще на первой минуте жизни имели шанс наличия в анамнезе низкой оценки по шкале Апгар (менее 6 баллов), однако, к 5-ой минуте признаки постнатальной дезадаптации редуцировались. Младенцы группы высокого риска чаще были переведены на 2-ой этап выхаживания (в 5,6 раз) и находились в палате интенсивной терапии или реанимации (в 7,9 раз), с последующим назначением антибактериальной (в 4,8 раз) и инфузионной терапии (в 6,8 раз), парентерального питания (4,9 раз), препаратов крови (в 11,3 раз), а также имели отложенность вакциноцинопрофилактики на более поздний период (в 9,5 раз).

При анализе соматоневрологического статуса в возрасте 12 мес отмечено достоверно значимое преобладание задержки психомоторного развития (5,87 раз чаще) и инвалидности (в 17,2 раз чаще) у младенцев, относящихся к группе высокого риска по развитию МФЗ, относительно группы детей низкого и среднего риска.

Итак, нами были выявлены шансы наличия в анамнезе клинико-анамнестических факторов течения беременности и исходов неонатального периода у детей группы высокого риска по развитию МФЗ. Для полноценного анализа риска необходима оценка совокупности факторов, сравнения дисперсии от влияния изучаемых факторов с дисперсией от влияния случайных величин.

4.3. Прогнозирование развития мультифакторной патологии у детей, рожденных в семьях с бесплодием

С целью определения риска развития мультифакторной патологии нами был проведен дискриминантный и кластерный анализ переменных подгрупп клинических признаков в 1, 3, 6, 12 месяцев. Полученные при однофакторном

изучении признаки, количество которых составило 102, были обработаны в пакете прикладных статистических программ Statistica 6.1. Таким образом, мы обобщили и систематизировали достоверные анамнестические и клинические признаки, характерные для определенного класса детей с предрасположенностью к МФЗ, рассчитанной согласно методическим рекомендациям лаборатории пренатальной диагностики НИИ АГ им. Д.О.Отта СЗО РАМН.

Графически разделение объектов в пространстве признаков представлено на рис.19.

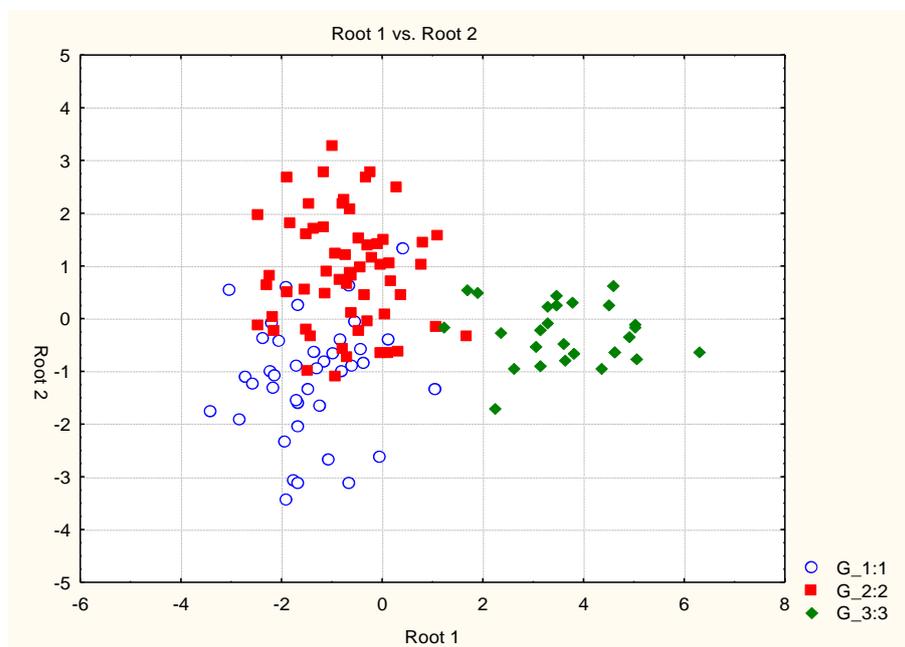


Рис.19. Кластерное разделение объектов

Согласно кластерному разделению объектов было выделено два класса: 1-ый класс объединяет детей с низким и средним риском развития мультифакторной патологии (от 0 до 3,99 баллов) и 2-ой класс характеризует детей, относящихся к группе высокого риска (4 балла и более) по реализации МФЗ. Иными словами, в группе младенцев, с высокой генетической предрасположенностью к развитию МФЗ, зарегистрирована отличительная от детей группы низкого и среднего риска, совокупность анамнестических и клинических признаков.

Для формализации решающего правила была описана функция классификации, представляющая собой линейную комбинацию эффектов с коэффициентами. Заметим, что число функций классификации равно количеству уровней зависимой переменной, то есть в данном случае двум.

Каждая функция классификации имеет следующий вид:

$$f_i = \sum_j a_{ij} x_j + a_0$$

где f_i - i -ая функция классификации, x_j - j -ый эффект плана, a_{ij} - коэффициент i -ой функции классификации при j -ом эффекте плана, a_0 - свободный член.

Нами было выявлено, что для каждого класса предрасположенности к МФЗ характерен определенный комплекс признаков, характеризующих состояние ребенка в ante-, интра- и неонатальные периоды жизни. Выбранные признаки являются независимыми переменными. Признакам присваивали числовой код в баллах по шкале оценки признаков либо вносили его значение, если признак непрерывный. Соответственно, в табл. 22 продемонстрированы коэффициенты классифицирующих функций.

**Анамнестические и клинические признаки,
применяемые в модели прогнозирования МФЗ**

Обозначение	Признак	Градация	Диагностический балл	1 класс	2 класс
Анамнестические признаки (анте-, интранатальные)					
X ₁	анемия у матери во время беременности	Есть	2	11,123	13,898
		Нет	1		
X ₂	угроза прерывания настоящей беременности	Есть	2	15,622	22,385
		Нет	1		
X ₃	ХФПН	Есть	2	16,737	23,460
		Нет	1		
X ₄	гестоз	Есть	2	10,728	15,047
		Нет	1		
X ₅	родозрешение путем операции кесарева сечения	Есть	2	8,285	8,820
		Нет	1		
Клинические признаки неонатального периода					
X ₆	палата ПИТ/РАО	Есть	2	44,296	35,859
		Нет	1		
X ₇	перевод в ЛПУ	Есть	2	-15,549	-3,348
		Нет	1		
X ₈	АБ терапия	Есть	2	27,818	19,418
		Нет	1		
X ₉	отсроченность вакцинации	Есть	2	-16,443	-13,431
X ₁₀	инфузионная терапия	Есть	2	5,231	18,444
		Нет	1		
X ₁₁	парентеральное питание	Есть	2	-28,815	-39,685
		Нет	1		
X ₁₂	препараты крови	Есть	2	24,319	28,512
		Нет	1		
X ₁₃	оценка по шкале Апгар на 1 мин жизни	Измеряется в баллах	-	23,134	22,949
Константа				-136,805	-172,870

Входные параметры обучающей выборки были обработаны в пакете прикладных статистических программ Statistica 6.1 (Серийный номер № AXXR802D900711FA) - блок дискриминантного анализа. Были получены следующие результаты: число переменных - 13, классифицирующий признак – класс предрасположенности к мультифакторной патологии число классов (групп) - 2, Wilks' Lambda - 0,096.

Полученное значение параметра Wilks' Lambda, характеризующее силу дискриминации объектов, было равно 0,096, что свидетельствовало о сильном разделении совокупности объектов на 2 класса (группы):

1-низкий и средний риск развития МФЗ;

2-высокая предрасположенность к реализации МФЗ.

Аналитически решающее правило представлено следующим образом:

$$Y_1 = -136,805 + 11,123 * X_1 + 15,622 * X_2 + 16,737 * X_3 + 10,728 * X_4 + 8,285 * X_5 + 44,296 * X_6 - 15,549 * X_7 + 27,818 * X_8 - 16,443 * X_9 + 5,231 * X_{10} - 28,815 * X_{11} + 24,319 * X_{12} + 23,134 * X_{13}$$

$$Y_2 = -172,87 + 13,898 * X_1 + 22,385 * X_2 + 23,460 * X_3 + 15,047 * X_4 + 8,820 * X_5 + 35,859 * X_6 - 3,348 * X_7 + 19,418 * X_8 - 13,431 * X_9 + 18,444 * X_{10} - 39,685 * X_{11} + 28,512 * X_{12} + 22,949 * X_{13},$$

где X_1, X_2, \dots, X_{13} - значения клинико-анамнестических признаков у детей, рожденных в семьях с бесплодием, Y_1, Y_2 – значения координат объекта исследования в пространстве.

Клинико-анамнестические признаки оценивают в баллах по таблице, либо присваивают его значение, если признак непрерывный, полученные данные математически обрабатывают с помощью компьютерной программы, при этом на экран выводится ответ в табличном виде, по группам возможного развития патологии: 1 класс – дети, имеющие низкую предрасположенность развития мультифакторной патологии и не нуждающиеся в проведении молекулярно-генетического исследования; 2 класс - дети, имеющие высокую предрасположенность к реализации МФЗ и требующие молекулярно-

генетического исследования неблагоприятных полиморфных генов и гемостазиограммы для детекции фенотипических проявлений.

Для каждого конкретного наблюдения, которое должно быть классифицировано, вычисляются все функции классификации. Наблюдение будет отнесено к тому классу, для которого функция классификации примет наибольшее значение.

Полученные решающие правила имеют высокую степень валидности, прежде всего за счет высокой чувствительности, что представлено в табл. 23.

Таблица 23

Значения специфичности и чувствительности решающего правила

Признак	Общее значение, %	1 класс, %	2 класс, %
Чувствительность	100,0000	100	100
Специфичность	94,1176	93,75	100
Валидность	96,6102		

На основании полученных данных нами был разработан способ прогнозирования развития мультифакторной патологии у детей, рожденных с помощью ВРТ в семьях с СПП, функционирующий следующим образом: при осмотре пациента врач проводит оценку его состояния по клинико-анамнестическим признакам, проставляет значение признака, если признак непрерывный или присваивает признаку определенный балл (таблица 22). Выявленные данные являются входной информацией о пациенте, которые подставляются в формулу и вычисляются значения Y_1 и Y_2 пациента. После этого, в зависимости от преобладания той или иной функции классификации, пациенту присваивается наибольшая. При установлении факта наличия или отсутствия предрасположенности к МФЗ и отнесении ребенка к той или иной группе риска, формулируются показания для проведения молекулярно-генетического исследования на наличие генетических полиморфизмов генов тромбофилии, нарушений фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции.

При отнесении ребенка к 1-му классу имеется низкая предрасположенность развития мультифакторной патологии, дети не нуждаются в проведении молекулярно-генетического исследования. Если определен 2-ой класс – ребенок имеет высокую предрасположенность к реализации МФЗ и требует проведения молекулярно-генетического исследования для детекции неблагоприятных полиморфных генов. Кроме того, нами рекомендуется диагностика гемостазиологического статуса, а именно его коагуляционного, тромбоцитарно-сосудистого звеньев, исследования концентрации гомоцистеина с целью типирования фенотипических проявлений данных полиморфизмов. Назначение терапии показано только при клинической картине тромботических осложнений.

Используя информацию об анамнестических и клинических признаках ребенка, рожденного при помощи ВРТ в семьях имеющих СПП, врач, внося данные в регистр в течение неонатального периода, способен с 96,6% вероятностью определить риск развития тромботических осложнений, обусловленных генетической предрасположенностью к МФЗ. Данные генетического исследования демонстрируют наличие предрасположенности к той или иной мультифакторной патологии, и должны подкрепляться как лабораторными так и/или клиническими проявлениями. Однако высокая валидность решающего правила (96,6 %) позволяет отнести ребенка к определенной группе риска и проводить динамическое наблюдение за данной категорией детей, в рамках разработанного регистра. Чем более пролонгированным будет срок катамнестического наблюдения, тем более показательно и достоверно можно судить о проявлении генетической предрасположенности к мультифакторной патологии на самых ранних этапах онтогенеза, когда, нередко, фенотипические признаки слабо выражены.

Результаты математической обработки данных позволяют врачу на основании анамнестических и клинических данных прогнозировать предрасположенность ребенка к мультифакторной патологии, обусловленной полиморфизмами генов тромбофилии, нарушений фолатного цикла и

эндотелиальной дисфункции. Внося информацию в решающую формулу, возможен не только автоматический подсчет степени риска развития МФЗ на этапе неонатального периода, а также прогнозирование развития клинических симптомов при уже диагностированном носительстве генетических полиморфизмов.

В качестве иллюстрации приводим фрагменты клинических случаев данных семей.

4.4. Клинические примеры

В течение второй половины 2009 года в лечебно-профилактических учреждениях г. Екатеринбурга наблюдалось трое детей из исследуемой группы, рожденных при помощи ВРТ, и находящихся в критических состояниях с различной клинической симптоматикой гемостазиологических нарушений, которые для постановки клинического диагноза, потребовали проведения типирования полиморфизма генов гемостаза, нарушений фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции.

Семья К., в течение десяти лет наблюдалась в женской консультации по причине бесплодия. В анамнезе имела место регрессирующая беременность и одна неудачная попытка экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). В результате второй попытки ЭКО, с положительным результатом, на фоне угрозы прерывания с ранних сроков беременности, фетоплацентарной недостаточности, анемии и гестоза средней степени тяжести, развивалась бихориальная биамниотическая двойня. Оперативное родоразрешение путем операции кесарево сечения было проведено в сроке 33 недель по причине преждевременного излития околоплодных вод и отсутствия эффекта от терапии, сохраняющей беременность. Масса тела при рождении первого ребенка 1670 г, длина тела 41 см, второго ребенка - 1721 г, длина тела 42 см. Оценка по Апгар на первой минуте жизни первого ребенка – 6 баллов, второго ребенка – 5 баллов, проведена санация верхних дыхательных путей,

тактильная стимуляция. Оценка по шкале Апгар на 5 мин жизни первого младенца - 8 баллов, второго- 7 баллов. Дети до 9-х суток жизни находились в палате интенсивной терапии, затем были переведены на второй этап выхаживания в отделение патологии новорожденных МУ ГКБ №5 . Вторым мальчик с диагнозом: «Гипоксически-ишемическая энцефалопатия (ГИЭ), средней степени тяжести, перивентрикулярная ишемия 1-2 степени. Функциональная недостаточность ЖКТ. Анемия недоношенных, тяжелой степени. Двухсторонняя пирамидная недостаточность. Гипербилирубинемия. Кардиопатия» в течение 32 дней находился в отделении патологии недоношенных, где получал антибактериальную, инфузионную терапию, частичное парентеральное питание, однократную трансфузию препаратов крови (отмытая эритроцитарная взвесь), а также имел отложение сроков вакцинопрофилактики после выписки из ЛПУ. Первый же ребенок из двойни характеризовался более благоприятным клиническим течением позднего неонатального периода, без применения парентерального питания и препаратов крови.

В дальнейшем второй ребенок наблюдался на амбулаторно-поликлиническом участке врачом-педиатром, и неврологом как реконвалесцент по ГИЭ. В возрасте восьми месяцев на относительно благополучном фоне развилась клиника правостороннего гемипареза. Ребенок был госпитализирован в отделение грудного возраста Областной детской клинической больницы №1. При проведении компьютерной томографии, магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга с сосудистой программой диагностирован ишемический инсульт с геморрагическим пропитыванием в бассейне левой среднемозговой артерии. При обследовании коагуляционного звена, в гемостазиограмме были отмечены признаки диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС) с высокой концентрацией D-димеров, фактора Виллебранда, повышением агрегационной активности тромбоцитов, индуцированной аденозиндифосфатом (АДФ), ристомицином, коллагеном. На фоне проводимой терапии, корректирующей

гемостазиологические нарушения, отмечена положительная клинко-лабораторная динамика, нормализация неврологического статуса. Учитывая анамнестические данные (длительный стаж бесплодия, безрезультативная попытка ЭКО, регресс беременности), было заподозрено врожденное тромбофилическое состояние. С целью подтверждения данной нозологии семье было проведено молекулярно-генетическое исследование основных маркеров тромбофилии методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР) в реальном времени на тест-системах и оборудовании научно-производственного объединения «ДНК-технология» (Москва).

При обследовании были получены следующие данные. У ребенка с тромбозом средней мозговой артерии выявлены мутации по гетерозиготному типу в генах фибриногена (0 баллов), тромбоцитарного гликопротеина Ша (0,5 балла), ингибитора активатора плазминогена (1 балл) и гомозиготное носительство точковых мутаций метилентетрагидрофолатредуктазы (3 балла), эндотелиальной NO-синтетазы (2 балла). При обследовании второго ребенка с ВПС отмечено иное сочетание маркеров тромбофилии: гетерозиготный вариант мутации генов кодирующих V фактор (Лейденская мутация) 506A/G (3 балла), ингибитор активатора плазминогена PAI-1 4G/5G (1 балл) и тромбоцитарный гликопротеин III ITGB3 1565 T>C (0,5 балла). У матери диагностировано гетерозиготное носительство мутантного гена фибриногена 455G/A, и ингибитора активатора плазминогена PAI-1 4G/5G. У отца выявлено гомозиготное носительство ингибитора активатора плазминогена PAI-1 4G/4G. Ребенок получал курс лечения в условиях неврологического отделения, и с положительной динамикой через 21 день был выписан на амбулаторный этап под наблюдение участкового педиатра и невролога.

Согласно разработанной формуле у ребенка, перенесшего тромбоз средней мозговой артерии и имеющего 6,5 баллов степени риска развития МФЗ (2 класс), в анамнезе отмечалось патологическое течение беременности матери (анемия, угроза прерывания настоящей беременности, ХФПН, гестоз, родозразрешение путем операции кесарева сечения), нахождение ребенка, на

этапе родильного дома, в палате интенсивной терапии с последующим переводом на второй этап выхаживания и назначением антибактериальной, инфузионной терапии, парентерального питания, препаратов крови, а также отложения сроков вакцинопрофилактики.

Значения непрерывных признаков и баллы признаков, оцененных по шкале балльной оценки таблицы, подставляются в формулу и вычисляются функции классификации. Наблюдение относится к тому классу, для которого функция классификации примет наибольшее значение.

В результате расчетов получены следующие данные.

$$Y_1 = -136,805 + 11,123 * 2 + 15,622 * 2 + 16,737 * 2 + 10,728 * 2 + 8,285 * 2 + 44,296 * 2 - 15,549 * 2 + 27,818 * 2 - 16,443 * 2 + 5,231 * 2 - 28,815 * 2 + 24,319 * 2 + 23,134 * 5 = 185,569$$

$$Y_2 = -172,87 + 13,898 * 2 + 22,385 * 2 + 23,460 * 2 + 15,047 * 2 + 8,820 * 2 + 35,859 * 2 - 3,348 * 2 + 19,418 * 2 - 13,431 * 2 + 18,444 * 2 - 39,685 * 2 + 28,512 * 2 + 22,949 * 5 = 200,627$$

Соответственно $Y_2 > Y_1$ следовательно, ребенок может быть отнесен к группе высокого риска по развитию тромбофилического состояния и, по результатам молекулярно-генетического исследования, с вероятностью 96%, может иметь неблагоприятные аллельные варианты полиморфных генов в сумме более 4-х баллов, что и подтвердилось результатами типирования (6,5 баллов).

Первый ребенок из двойни в соответствие с подобными расчетами был классифицирован как группа высокого риска ($Y_1=102,704$; $Y_2=245,922$), несмотря на отсутствие применения парентерального питания и назначения трансфузионных сред. Тем не менее, отнесение ребенка к группе высокого риска подтвердилось данными молекулярно-генетического анализа (4,5 балла). Клинической особенностью первого ребенка явилось наличие врожденного порока сердца (дефект межжелудочковой перегородки), по поводу чего мальчик был прооперирован в пятимесячном возрасте с целью его коррекции.

Девочка Б., рождена от третьей беременности, первых преждевременных родов. Первая беременность матери закончилась самопроизвольным выкидышем в 10 недель, вторая - регрессом. Настоящая беременность сопровождалась перманентной угрозой прерывания, прогрессирующим фето-плацентарной недостаточности (с 20 недель гестации), с развитием преэклампсии, острого нарушения маточно-плацентарного кровообращения в сроке 30 недель (по ультразвуковым данным визуализировался тромбоз артерий пуповины) и последующего экстренного оперативного родоразрешения. Масса тела при рождении 1400 гр., длина тела 41 см. Оценка по Апгар на первой минуте – 3 балла, проведена санация верхних дыхательных путей, интубация трахеи, начата ИВЛ, оценка по Апгар на 5 минуте жизни 5 балла. В родовом зале эндотрахеально введен курсурф. Состояние девочки с рождения отмечалось тяжелое, обусловленное течением респираторного дистресс-синдрома новорожденного и нарастанием отека головного мозга, а также развитием ишемией левой нижней конечности, клинически проявляющейся бледностью, похолоданием (градиент температуры по-сравнению со здоровой конечностью составлял -8°C) и отсутствием пульсации на протяжении до левой подвздошной артерии. Через тридцать минут появился выраженный цианоз конечности, и отмечалась разница в диаметре до 4 см по отношению к здоровой ноге. Учитывая тяжесть состояния, ребенок был перегоспитализирован в отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных Областной детской клинической больницы №1, переведен на аппаратное дыхание и поставлен предварительный диагноз «Тромбоз левой подвздошной артерии», начата инфузионная терапия гепарином 50 ЕД/кг веса болюсно, в последующем 30 ЕД/кг/массы в час в сочетании со свежзамороженной плазмой. В гемостазиограмме зафиксировано значительное снижение уровня антитромбина АТ-III до 7% (норма 75-122%). При доплеровском обследовании выявлены гемодинамически значимые нарушения кровотока в сосудах левой нижней конечности. На фоне проводимого лечения отмечалась

положительная динамика по клинической и ультразвуковой картине - уменьшение отечности конечности и восстановление кровотока. При проведении молекулярно-генетического исследования у ребенка диагностировано гомозиготное носительство мутантных генов в ингибитора активатора плазминогена PAI-1 4G/4G (2 балла), тромбоцитарного гликопротеина ITGA2 и ITGB3 (2 балла), генов эндотелиальной дисфункции MTHFR C677T(2 балла), NOS3 C298T (2 балла). При обследовании семьи данного ребенка выявлено гетерозиготное носительство ингибитора активатора плазминогена PAI-1 4G/5G, тромбоцитарные гликопротеины ITGA2 807 C>T, ITGB3 1565 T>C, MTHFR C677T, NOS3 C298T, повышающих риск развития патологии гемостаза по сравнению с популяцией. У матери было выявлено гомозиготное носительство мутантного гена ингибитора активатора плазминогена PAI-1 4G/4G, что, возможно, явилось причиной развития хронического, а в последующем и острого нарушения маточно-плацентарного кровообращения и преждевременного родоразрешения. Идентичные гетерозиготные полиморфизмы были выявлены в генах тромбоцитарного гликопротеина ITGA2, MTHFR C677T, NOS3 C298T. В анамнезе данной семьи имела место гибель деда ребенка со стороны матери от инфаркта миокарда в возрасте 33 лет.

Оценивая клиничко-анамнестические данные ребенка необходимо отметить наличие у матери угрозы прерывания беременности, ХФПН, гестоза тяжелой степени, а также неблагоприятное течение неонатального периода (нахождение ребенка в реанимационном отделении, перевод на второй этап выхаживания, назначение антибактериальной, инфузионной терапии, парентерального питания, отложение вакцинопрофилактики).

Используя разработанную формулу, подсчитан риск развития МФЗ:

$$Y_1 = -136,805 + 15,622 * 2 + 16,737 * 2 + 10,728 * 2 + 8,285 * 2 + 44,296 * 2 - 15,549 * 2 + 27,818 * 2 - 16,443 * 2 + 5,231 * 2 - 28,815 * 2 + 23,134 * 3 = -46,571$$

$$Y_2 = -172,87 + 22,385 * 2 + 23,460 * 2 + 15,047 * 2 + 8,820 * 2 + 35,859 * 2 - 3,348 * 2 + 19,418 * 2 - 13,431 * 2 + 18,444 * 2 - 39,685 * 2 + 22,949 * 3 = 69,915$$

Пациентка Б., отнесена в группу высокого риска, так как вторая функция классификации приняла большее значение. Подтверждение данному факту являются данные молекулярно-генетического исследования генетических полиморфизмов предрасположенности к тромбофилии, нарушениям фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции общей суммой в 8 баллов.

Ребенок С., родился от III беременности, наступившей при помощи вспомогательных репродуктивных технологий, проведенных по причине синдрома потери плода в семье. Предыдущие две беременности матери закончились регрессом в 12 и в 14 нед гестации. Настоящая беременность характеризовалась угрозой прерывания, ХФПН, анемии матери, развитием преэклампсии и преждевременным оперативным родоразрешением в сроке 29 нед, по показаниям со стороны матери. Масса тела при рождении 1300 гр., длина тела 40 см. Оценка по Апгар на первой минуте – 2 балла, проведена санация верхних дыхательных путей, интубация трахеи, эндотрахеально введен курсурф, инициирована ИВЛ. С рождения состояние ребенка оценивалось как тяжелое. Тяжесть состояния была обусловлена дыхательной и церебральной недостаточностью, вследствие чего ребенок получал продленную искусственную вентиляцию легких в течение 10 дней. Из родильного дома ребенок на третьи сутки жизни был переведен в отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных Областной детской клинической больницы с диагнозом: «Гипоксически-ишемическая энцефалопатия (ГИЭ), тяжелой степени, перивентрикулярная ишемия 1-2 степени. Острая церебральная недостаточность. Энтеральная недостаточность. Анемия II степени тяжести. Недоношенность 29 недель». В течение 14 дней ребенок получал парентеральное питание, инфузионную и антибактериальную терапию, неоднократно (три раза) трансфузию препаратов крови. Для последующего выхаживания и реабилитации на 14 сутки жизни ребенок был переведен в отделение патологии недоношенных. Однако сохранялась клиника церебральной и энтеральной недостаточности, синдрома

системного воспалительного ответа. По данным гемостазиограммы выявлялись фенотипические признаки как гипокоагуляции снижение протромбинового времени, так и дефицита фибринолитического звена гемостаза (снижение фибринолиза), нарастание продуктов деградации фибрина (D-димеры, РФМК), положительные ортофенантролиновый и этаноловый тесты, значительное снижение уровня антитромбина АТ-III до 7% (норма 75-122%). Учитывая отягощенный акушерский анамнез матери, а также клинически признаки неонатального периода, при введении в решающее правило данных был рассчитан риск реализации МФЗ:

$$Y_1 = -136,805 + 11,123 * 2 + 15,622 * 2 + 16,737 * 2 + 10,728 * 2 + 8,285 * 2 + 44,296 * 2 - 15,549 * 2 + 27,818 * 2 - 16,443 * 2 + 5,231 * 2 - 28,815 * 2 + 24,319 * 2 + 23,134 * 2 = 116,167$$

$$Y_2 = -172,87 + 13,898 * 2 + 22,385 * 2 + 23,460 * 2 + 15,047 * 2 + 8,820 * 2 + 35,859 * 2 - 3,348 * 2 + 19,418 * 2 - 13,431 * 2 + 18,444 * 2 - 39,685 * 2 + 28,512 * 2 + 22,949 * 2 = 131,78$$

По превалированию второй функции классификации пациент был отнесен к высокой группе риска.

Проведен анализ полиморфных аллельных вариантов ДНК, выделенных из буккального эпителия и диагностировано гомозиготное носительство мутантных генов ингибитора активатора плазминогена PAI-1 4G/4G (2 балла), генов эндотелиальной дисфункции e-NOS3 C298T (2 балла), фолатного цикла MTHFR C677T (3 балла), тромбоцитарного гликопротеина к коллагену ITGA2 (1 балл). При диагностике генетических полиморфизмов у матери и отца ребенка выявлено гетерозиготное носительство ингибитора активатора плазминогена PAI-1 4G/5G, тромбоцитарных гликопротеинов, как к коллагену, так и к фибриногену ITGA2 807 C>T, ITGB3 1565 T>C, и гомозиготное носительство гена NOS3 C298T, MTHFR C677T.

Ребенок неоднократно был проконсультирован хирургами для исключения хирургической патологии. В возрасте 1 мес 22 дней состояние резко ухудшилось за счет прогрессирования клиники пареза кишечника. По рекомендации хирургов ребенок был прооперирован с установкой микроирригатора в корень брыжейки кишки. Послеоперационный период

протекал с осложнениями в виде тяжелой динамической кишечной непроходимости. Ребенку вновь была сделана релапаротомия с субтотальной резекцией тонкой кишки. Тем не менее, через пять дней после повторной операции, вследствие гемодинамических нарушений и развитием некупирующегося кровотечения ребенок умер. На патологоанатомическом вскрытии визуализировались множественные перфорации тонкой кишки, облитерирующая артериопатия брыжейки тонкой кишки. Патологоанатомический диагноз: Ишемическая гастроэнтеропатия, субтотальный некроз с очагами геморрагического пропитывания стенки тонкой кишки.

Мальчик Г., был зачат с помощью применения вспомогательных репродуктивных технологий, вследствие вторичного бесплодия трубно-перитонеального генеза (спаечный процесс как осложнение гнойного аппендицита). Беременность характеризовалась физиологическим протеканием: отсутствием анемии, патологических прибавок массы тела, угрозы прерывания, стабильным артериальным давлением. Родоразрешение было проведено через естественные родовые пути в доношенном сроке гестации 39 недель. Массо-ростовые показатели составили 3400 гр, 51см. Оценка по шкале Апгар на первой минуте жизни- 7 баллов. Ребенок с первых по 5-ые сутки на этапе родильного дома находился на совместном пребывании в палате «Мать и дитя». На 1-есутки был вакцинирован против вируса гепатита В, на 5-е сутки - против туберкулеза и выписан на амбулаторно-поликлинический этап под наблюдение участкового педиатра. Дальнейшая вакцинопрофилактика проводилась согласно Региональному календарю прививок.

При оценке риска предрасположенности к мультифакторной патологии, предложенной авторами формуле, были получены следующие значения функций:

$$Y_1 = -136,805 + 11,123 * 1 + 15,622 * 1 + 16,737 * 1 + 10,728 * 1 + 8,285 * 1 + 44,296 * 1 - 15,549 * 1 + 27,818 * 1 - 16,443 * 1 + 5,231 * 1 - 28,815 * 1 + 24,319 * 1 + 23,134 * 7 = 128,485$$

$$Y_2 = -172,87 + 13,898 * 1 + 22,385 * 1 + 23,460 * 1 + 15,047 * 1 + 8,820 * 1 + 35,859 * 1 - 3,348 * 1 + 19,418 * 1 - 13,431 * 1 + 18,444 * 1 - 39,685 * 1 + 28,512 * 1 + 22,949 * 7 = 117,152$$

По превалированию функции первого решающего правила классификации пациент относится к группе низкого риска по реализации мультифакторной патологии, что было подтверждено молекулярно-генетическим анализом. При детекции неблагоприятных полиморфных аллелей было выявлено только наличие тромбоцитарных гликопротеинов к коллагену в гетерозиготном носительстве (0,5 балла).

Анализ полиморфизмов 8-ми генов, вовлеченных в регуляцию гемостаза, у детей, рожденных при помощи ВРТ, от бесплодных пар с СПП, продемонстрировал достоверную значимость исследуемых точковых мутаций в развитии как тромботических (клинические случаи тромбоза), так и нетромботических эффектов тромбофилии (критические состояния, синдромы дизадаптации) на ante - и постнатальных периодах жизни. При балльной оценке степени риска развития мультифакторных заболеваний необходимо акцентировать профилактические звенья именно на выявляемые этиопатогенетические аспекты. При выявлении высокой степени риска необходимо проведение дополнительных лабораторно-диагностических исследований для идентификации фенотипических проявлений существующих полиморфизмов. При госпитализации пациента необходимо информировать лечащего врача о существующей генетической предрасположенности для проведения профилактических мероприятий и предупреждения осложнений, связанных с проведением терапии и наличие основного заболевания.

Полученные выводы необходимо учитывать для своевременной диагностики, выборе тактики лечения и методов профилактики, в создании базы данных носительства генетических полиморфизмов на основе программы для ЭВМ – «Регистр детей, рожденных при помощи вспомогательных репродуктивных технологий» (Свидетельство о

государственной регистрации программ для ЭВМ № 2010612465 от 08.04.2010).

Безусловно, проявление полиэтиологических мультифакторных заболеваний зависит не только от факторов окружающей среды, образа жизни, и характера питания, которые мы можем корректировать, но и от ген-генных взаимоотношений, изменений которых нам не подвластно. Однако при проведении первичной профилактики, нацеленной на коррекцию характера питания и образа жизни, учитывая партисипированность пациента, представляется возможность отслеживания исходов в течение 20 лет.

Выявление групп риска крайне важно, так как наиболее эффективна именно ранняя профилактика мультифакторной патологии - на этапе формирования факторов риска, когда они имеют нестойкий характер, и еще не сложился стереотип нездорового образа жизни. В основе профилактических программ должна лежать позитивная концепция здоровья, которая подразумевает отсутствие вредных привычек, активный образ жизни, адекватное питание, развитие способности к общению, самовыражению, творчеству. Следует учесть, что неустойчивость факторов риска в детском возрасте затрудняет профилактику, а демонстрация эффективности профилактических программ, начатых в детстве, возможна лишь в ходе длительных проспективных исследований.

Глава 5. РАЗРАБОТКА ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ И СХЕМЫ ДИНАМИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ ЗА ДЕТЬМИ, РОЖДЕННЫМИ В СЕМЬЯХ С БЕСПЛОДИЕМ

5.1. Создание регистра детей, рожденных при помощи вспомогательных репродуктивных технологий

По данным Европейского общества репродукции человека и эмбриологии проблемы в состоянии здоровья детей, рожденных при помощи репродуктивных технологий, не связаны с проведением методики ВРТ, а являются следствием причин бесплодия и состоянием здоровья родителей. Существующие отечественные и зарубежные исследования сопоставляют сравнимые группы (основную и контрольную) только по наличию нескольких факторов: возраст женщин, срок гестации детей, массо-ростовые показатели. Однако наличие таких конфаундеров, как соматическая патология и паритет матери, социальное положение и целостность семьи, течение беременности, плодность, тип плацентации, пол ребенка, являясь смещающими факторами, «искажают» результаты исследований. Согласно мнению экспертов Всемирной ассоциации репродуктивной медицины, необходимо создание баз данных (регистров) единого установленного стандарта. Актуально не только формирование гармоничной модели мониторинга за детьми, родившимися в результате применения репродуктивных технологий, кумулирующей информацию с этапа планирования, зачатия и вынашивания беременности, родоразрешения, последующего перевода ребенка на амбулаторный этап либо на этапы лечебных учреждений, но и моделирование структуры и организации процессов диагностики и реабилитации по индивидуальному стандарту, реализуемых элементом централизованного управления – врачом-координатором, путем осуществления алгоритмов функционирования.

Для достижения максимальной объективизации состояния проблемы необходима регистрация, комплексная оценка и динамическое наблюдение,

путем практической реализации модуля сбора и передачи данных с проверкой достоверности информации в рамках компьютерного регистра, обеспечивающего преемственность, начиная с осуществления процедуры оплодотворения, с учетом этиологии бесплодия, ведения беременности, рождения ребенка и катamnестического наблюдения, что позволит отслеживать здоровье и качество жизни, учитывать и применять профилактику младенческой заболеваемости, инвалидности и смертности, а также реализацию и эффективность выделяемых квот из федерального и областного бюджета на проведение методик ВРТ.

При создании программы для ЭВМ техническими требованиями, предъявляемыми к автоматизированной системе, послужили: тип ЭВМ - PC совместимый (IBM PC), процессор Intel Pentium III и выше; язык программирования Microsoft Visual Basic 6.3; вид и версия операционной системы Microsoft семейство Windows; приложение Microsoft Access; объем произведения: 16 Mb (шестнадцать мегабайт), 42 листинга исходного кода. Создана технология сбора, передачи и хранения данных с проверкой их целостности и непротиворечивости, осуществлена практическая реализация модуля сбора и передачи данных с проверкой достоверности информации, внедрён программный контроль оперативности ввода и корректур данных, разработан программный комплекс анализа полученной информации.

Программа для ЭВМ включает в себя четыре основных блока. Первый блок «Анамнестический этап», содержащий информацию о паспортных данных, социальном статусе семьи, как правило, отягощенном соматическом и акушерско-гинекологическом анамнезе матери, с учетом предыдущих беременностей и их исходов, течения и особенностей настоящей беременности и родов, лабораторно-инструментальных методов исследования на данном этапе. Подробно выделен подраздел – ВРТ, включающий в себя порядковый номер и метод ВРТ, исходы предыдущих методик, количество подсаженных и оставленных эмбрионов, причины бесплодия и лабораторно-инструментальные методы регистрации (эндокринологические,

гемостазиологические, иммунологические, малоинвазивные), получаемую терапию и причины ее назначения.

Во втором блоке содержатся этапы наблюдения детей в лечебно-профилактических учреждениях, в которых ребенок получал специализированную медицинскую помощь. Раздел «Родильного дома» отражает период нахождения ребенка с момента родового зала, течение неонатального периода и особенности оказания реанимационной помощи, если таковая была, с описанием манипуляций, медикаментозной терапии; включая лабораторно-инструментальные методы исследования; сроки госпитализации ребенка в родильном доме, исходы и результаты лечения, а также место и причина перевода ребенка из родильного дома. Разделы «Отделение патологии новорожденных», «Отделение хирургии новорожденных», «Отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных» содержат информацию об этапности ведения ребенка и получения высокоспециализированной медицинской помощи, с указанием особенностей течения заболевания, лабораторно-инструментальных методов исследования и консультаций специалистов, проводимых манипуляций и медикаментозной терапии.

Третьим блоком является «Диагностический», который заполняется на всех этапах госпитализации ребенка и включает в себя, помимо общеклинических анализов, такие исследования, как гемостазиограмма и определение полиморфизмов генов тромбофилии, гормональный и иммунологический статус, полимеразно-цепная реакция в реальном времени и иммуноферментный анализ, а также рентгенографические и ультразвуковые методы визуализации.

На основе детекции генетических полиморфизмов, в данной программе для ЭВМ возможно не только ведение регистра распространенности аллельных вариантов точковых мутаций, но также и определение группы риска развития мультифакторной патологии.

Четвертый блок «Амбулаторный этап» оценивает динамическое наблюдение детей на педиатрическом участке: массо-ростовые показатели, нервно-психическое развитие, вакцинопрофилактика, вскармливание, этапы госпитализации ребенка и проводимая терапия, лабораторно-инструментальная диагностика и консультации специалистов, оценка качества жизни, в соответствие с опросником QUALIN.

При функционировании данного мониторинга с учетом приоритетности выявленной патологии у детей, рожденных при помощи ВРТ, возможна корректировка существующих стандартов наблюдения для оптимизации перечня консультативных приемов, лабораторных и функциональных методов исследования, а также разработка системы динамического наблюдения детей в рекомендуемые декретируемые сроки с учетом этиологии бесплодия, основных соматических и неврологических проблем.

Данный регистр, в соответствии с Федеральным законом «О персональных данных», отвечает требованиям, предъявляемым в статьях закона, к принципам обработки персональных данных (ст.5), что подразумевает законность целей и способов обработки персональных данных и добросовестности; условия обработки персональных данных (ст.6), согласно которой обработка персональных данных может осуществляться оператором с согласия субъектов персональных данных и подписанием информированного согласия на обработку своих персональных данных (ст.9); их конфиденциальность (ст.7) и выделение специальных категорий персональных данных, при которых обработка осуществляется в медико-профилактических целях, в целях установления медицинского диагноза, оказания медицинских и медико-социальных услуг при условии, что обработка персональных данных осуществляется лицом, профессионально занимающимся медицинской деятельностью и обязанным в соответствии с законодательством Российской Федерации сохранять врачебную тайну (ст.10).

Программа для ЭВМ позволит кодировать данные об именах и адресах пациентов, гарантировать контроль своевременности ввода данных лечебного

цикла, производить проверку наличия ошибок ввода и реализовывать возможность оперативной корректировки данных.

Разработанный регистр позволяет решать такие задачи, как: регистрация, обработка (построение аналитических таблиц) и хранение медицинской информации; активный вызов и мониторинг больных; информационное обеспечение врачей и органов управления здравоохранением (для планирования видов и объемов медицинской помощи); создание отчетов по больным с динамикой клинических, лабораторных и инструментальных данных; анализ структуры больных в соответствии с МКБ-10; учет групп здоровья детей; своевременная профи-лактика перинатальной и младенческой смертности, инвалидности. Регистр позволит организовать катamnестическое наблюдение за детьми, рожденными при помощи ВРТ, оценить состояние здоровья с высокой степенью достоверности, что повысит качество профилактических и лечебно-диагностических мероприятий при оказании медицинской помощи детям во все возрастные периоды.

Данная программа для ЭВМ является победителем программы «Участник Молодежного Научно-Инновационного Конкурса» («УМНИК») - 2009. Получено свидетельство о государственной регистрации программ для ЭВМ № 2010612465 от 08.04.2010.

5.2. Схема динамического наблюдения за детьми в течение

12 мес. жизни

Согласно сведениям мета-анализов, а также собственным исследованиям, приведенным в данной работе, дети от ВРТ достоверно чаще рождаются недоношенными, при этом отмечается в 2,78 раз повышение риска развития ДЦП. С учетом возрастного ценза матерей у детей, рожденных при помощи репродуктивных методик, повышен риск развития ВПР (врожденная челюстно-лицевая патология, нейробластома). Младенцы в 1,5 раза чаще госпитализируются в палаты реанимации, где получают инфузионную

терапию, парентеральное питание и препараты крови. В течение первого года жизни отмечаются незрелость и патология слухового анализатора, дисплазия тазобедренных суставов, атопия, нарушения сна, субпороговый уровень психопатологических состояний и особенности качества жизни (гиперопека матерей). Все вышеперечисленное обуславливает целесообразность наблюдения данной группы детей в условиях ГУЗ ДКБВЛ НПЦ «Бонум», имеющего в своей структуре Областные центры, специализированные на приоритетную патологию детей.

С учетом выявленных нами особенностей соматоневрологического статуса необходимо формирование целевого стандарта динамического наблюдения за детьми, рожденными при помощи ВРТ, представленного в Приложении, отличного от стандарта диспансерного (профилактического) наблюдения ребенка в течение первого года жизни № 307 [37] и временного медико-организационного стандарта динамического наблюдения недоношенных детей в условиях амбулаторно-поликлинических учреждений, утвержденного приказом министра здравоохранения Свердловской области от 31.05.07 № 352 [37].

В первый месяц жизни дети подлежат регистрации в разработанной программе для ЭВМ, с занесением данных анамнеза семейной пары и особенностей течения настоящей беременности. Младенцы, рожденные в семьях с синдромом потери плода, оцениваются согласно разработанной нами формуле с целью определения риска развития МФЗ. При оценке 4 и более баллов необходимо проведение молекулярно-генетического и гемостазиологического исследования, включающих диагностику генов предрасположенности к тромбофилии (FGB: -455 G>A, F2: 20210 G>A, F5: 1691 G>A, ITGA2: 807 C>T, ITGB3: 1565 T>C, SERPINE1 (PAI-1): -675 5G>4G), нарушений фолатного цикла (MTHFR: 677 C>T) и эндотелиальной дисфункции (eNOS - C298T).

В возрасте 1 мес. младенцы консультируются врачом-неонатологом, выполняющим функцию врача-координатора. Дети получают

консультативную помощь врача-хирурга, ортопеда, проводятся лабораторные (ОАК) и ультразвуковые методы исследования (НСГ, УЗИ органов брюшной полости и забрюшинного пространства, тазобедренных суставов). Однако, так как факт применения ВРТ считается фактором риска по возникновению офтальмологических нарушений у новорожденных детей [34], осмотр врача-офтальмолога необходим детям, рожденным в семьях с бесплодием, в 1 мес. жизни.

Особенности неврологического статуса детей, рожденных при помощи ВРТ, определяют тактику наблюдения врача-невролога. Основной акцент необходимо сделать на лечении синдрома двигательных нарушений, а также профилактику формирования ДЦП и задержка статико-моторного и психопредречевого развития, преимущественно в группе младенцев, рожденных преждевременно. Таким образом, наблюдение врачом-неврологом недоношенных детей должно проводиться ежемесячно до 6 мес, затем по показаниям. При выявлении темповой задержки статико-моторного и психопредречевого развития врач-невролог осуществляет ежемесячное наблюдение за развитием ребенка без назначения медикаментозной терапии [45]. При нарастании клинических симптомов отставания ПМР от ПКВ и риске развития выраженной задержке статико-моторного и психопредречевого развития, назначается нейрометаболическая терапия. Доношенные дети, преимущественно имеющие синдром двигательных нарушений по гипотоническому типу, подлежат консультации невролога в возрасте 1, 3, 6, 9 и 12 мес. жизни. Необходимы регулярные курсы общего массажа, кинезиотерапия, лечебной физкультуры, плавания, физиотерапия. Особое внимание неврологическому статусу должно быть уделено с 3-х до 6-ти мес. жизни, так как именно в этот возрастной период отмечается подъем задержки статико-моторного и психопредречевого развития и формирование угрозы ДЦП.

Учитывая наличие достоверно значимого преобладания нейтропении, мы считаем целесообразным проведение детям, рожденным при использовании

ВРТ, развернутого общего анализа крови в возрасте 2-х мес., с целью диагностики данного состояния. В случае повторного выявления нейтропении в двух последовательных ОАК (2 мес., 3 мес.), необходима консультация врача-иммунолога. Своевременная регистрация нейтропении и консультация иммунолога позволит до 3-х мес жизни скорректировать отклонения, а при отрицательном результате лечения, разработать индивидуальную тактику вакцинопрофилактики.

Значимое преобладание анемии смешанного характера, у исследуемой группы детей, позволяет нам трактовать использование репродуктивных технологий, как фактор риска развития данного состояния. Назначение ОАК в возрасте 2-х мес. детям, рожденным при помощи ВРТ, позволит своевременно диагностировать нейтропению и анемию, либо провести лабораторный контроль последней. Согласно данным фактам в 2 мес. необходима консультация педиатра. Одновременно недоношенные дети, находящиеся на этапе выхаживания в возрасте 1 мес., после выписки из лечебного учреждения в 2 мес., ставятся на учет в регистр и консультируются врачом-координатором. В дальнейшем врач-координатор в течение первого года жизни проводит катamnестический прием доношенных детей в 3, 6, 9, 12 мес. жизни, недоношенных детей ежемесячно до 6 мес, затем - по показаниям.

В 3 мес достоверно больший процент детей, рожденных в семьях с бесплодием, имеет симптомокомплекс нарушения микрофлоры кишечника, который нивелируется к возрасту 6 мес, а к 6-ти мес преобладающим синдромом является атопический дерматит. Значимой задачей врача-педиатра на данных этапах являются беседы с матерью о сохранении и поддержке грудного вскармливания, гипоаллергенном питании кормящей женщины. При искусственном вскармливании приоритет отдается продуктам (смесям), обладающим бифидогенным (пребиотическим) эффектом [37]. Детям, рожденных в семьях с СПП, при выявлении предрасположенности к МФЗ (тромбофилии, нарушений фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции) предпочтительнее при искусственном вскармливании, что чаще встречается

при многоплодной беременности, назначать смеси, содержащие омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты (омега-3 ПНЖК). У недоношенных детей депо омега 3-ПНЖК снижено (накопление происходит в последнем триместре беременности), замедлен их синтез из линолевой и альфа-линоленовой жирных кислот, а также снижен синтез простагландинов, лейкотриена, тромбоксана из омега 3-ПНЖК [29, 37]. При наличии генетических полиморфизмов тромбофилии, нарушений фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции в организме имеется склонность к повышению коагуляционного потенциала и вязкости крови (FGB, F2, F5, MTHFR) [138, 147, 163, 190], гиперагрегации тромбоцитов (ITGA2, ITGB3) [29, 129], снижение фибринолитических свойств, повышение уровня холестерина и вероятность развития метаболического синдрома (PAI-1) [194, 214], а также повреждение эндотелия, как при непосредственном контакте, за счет гипергомоцистеинемии (MTHFR) [144, 160, 182], так и при нарушении механизмов вазодилатации (e-NOS) [10, 124, 157, 216]. Кроме того, в условиях генетической предрасположенности существует напряженность механизмов острофазового ответа, изменение метаболизма арахидоновой кислоты, баланса простагландин-тромбоксанового соотношения, регуляции вазодилатации. Омега 3-ПНЖК, замещая в фосфолипидах клеточных мембран арахидоновую кислоту, меняют качественный состав эйкозаноидов, увеличивают образование вазодилатирующего простагландина и снижают синтез тромбоксана A2, повышая продукцию тромбоксана A3 [28]. Помимо этого, омега 3-ПНЖК обладают антиатерогенным эффектом (увеличения фибринолитической активности вследствие повышения уровня тканевого активатора плазминогена и снижения PAI-1 и пр.), антигипертензивным, эндотелиопротективным (снижении экспрессии молекул эндотелиальной адгезии и хемотаксиса лейкоцитов и пр.) действиями [10] Иммуномодулирующее, противовоспалительное, метаболическое и гиполипидемическое действие омега3-ПНЖК прежде всего основано на модуляции метаболизма арахидоновой кислоты, снижении продукции

метаболитов простагландина E₂, увеличение концентрации ЛТВ5,обладающего слабым противовоспалительным действием и фактора хемотаксиса. Кроме того, одним из свойств омега 3-ПНЖЕ является гиполипидемическое, гипохолестеринемическое действие [10]. Реализация внутриутробного программирования у детей, рожденных при использовании ВРТ, по-мнению многих авторов [77, 104, 140, 152, 209], происходит путем нарушения обмена веществ и развитием метаболических и кардиоваскулярных изменений. В нашей работе должного внимания на данные аспекты соматического здоровья уделено не было, оцениваемые данные биохимического анализа крови не выявили каких-либо отклонений, за исключение преобладания достоверно значимого процента детей с конъюгационной гипербилирубинемией на первом месяце жизни. Однако критерии включения не подразумевали углубленного целенаправленного поиска, строгий подбор основной и контрольной групп мог нивелировать включение детей с данной симптоматикой, а также механизмы внутриутробного программирования могли не реализоваться в течение первого года жизни. Для полноценной оценки необходимо проведение долгосрочного когортного исследования с определенными критериями включения, более углубленным исследованием липидемического спектра и кардиометаболического мониторинга. Тем не менее, назначение смесей, препаратов содержащих омега 3-ПНЖК детям, рожденным при использовании ВРТ, как при выявлении генетических полиморфизмов предрасположенности к МФЗ, так и без них, с учетом возможной реализации внутриутробного программирования необходимо в профилактических целях. Достоверно значимое преобладание конъюгационной гипербилирубинемии у детей исследуемой группы на 1-ом мес. предопределяет назначение жидкой формы омега 3-ПНЖК для снижения этерификации свободных жирных кислот, конкурирующих за связывание с активными центрами альбумина. При выявлении генетических полиморфизмов тромбофилии, нарушений фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции, соблюдая основные

принципы медицины XXI века [3] (предиктивная - предсказательная, превентивная - упреждающая, персонифицированная - индивидуальная, партисипированная - активная роль пациента) необходимо проведение беседы с матерью о профилактической направленности образа жизни и питания.

Осмотр врачами-специалистами (хирургом, ортопедом, ЛОР-врачом, стоматологом) осуществляется по общепринятому федеральному стандарту № 307. На первом году жизни, учитывая выявленные нами особенности качества жизни бесплодных в анамнезе семей и их детей, необходимо проведение психолого-педагогической помощи, направленной на развитие и поддержание индивидуальных способностей ребенка в социуме, особенно «способности оставаться одному». Более высокие показатели «поведение и общение» и «нервно-психическое развитие и физическое здоровье» детей, рожденных при помощи ВРТ, могут быть основой для формирования педагогических программ развития этой категории младенцев.

В возрасте 12 мес. ребенок подлежит осмотру всех специалистов, ориентированных на особенности качества здоровья младенцев, рожденных при помощи ВРТ. Детям, относящимся к группе высокого риска по развитию МФЗ необходимо, с периодичностью 1 раз в год, проведение гемостазиологического исследования для фенотипической визуализации генетической предрасположенности. Наличие динамической базы данных позволит отслеживать реализацию мультифакторной патологии, оценивать влияние каких-либо факторов на дебют и исход заболевания, предупреждать рецидивы, что повлияет на заболеваемость, инвалидность и смертность не только в детском, но и в более старшем возрасте.

Для полноценной реализации данной концепции необходим системный подход. Созданная нами схема динамического наблюдения (рис. 20) построена на основе алгоритмов функционирования единых регистров, моделирования структуры, организации процессов диагностики и реабилитации по индивидуальному стандарту, реализуемому врачом-координатором.

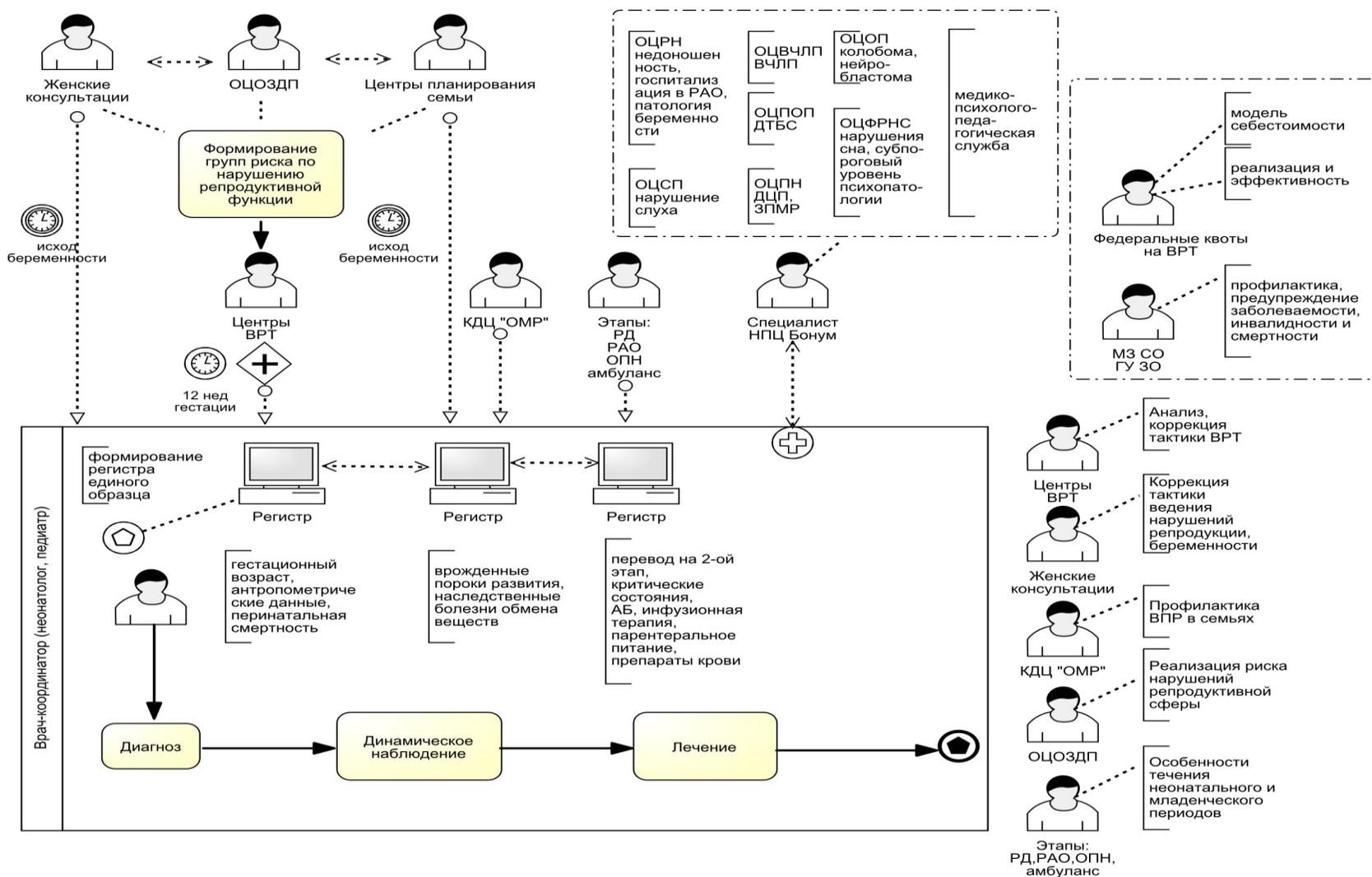


Рис. 20. Схема динамического наблюдения за детьми, рожденными при использовании вспомогательных репродуктивных технологий

ОЦОЗДП – областной центр охраны здоровья детей и подростков; КДЦ «ОМР» - консультативно-диагностический центр «Охраны матери и ребенка»; РД-родильный дом; РАО-реанимационно-анестезиологическое отделение; ОПН-отделение патологии новорожденных; ОЦРН - областной центр ретинопатии недоношенных; ОЦСП – областной центр сурдологической патологии; ОЦВЧЛП – областной центр врожденной челюстно-лицевой патологии; ОЦПШП – областной центр профилактики ортопедической патологии; ОЦФНП - областной центр перинатальной неврологии; ОЦОП-областной центр офтальмологической патологии; ОЦФРНС-областной центр функциональных расстройств нервной системы; МЗ СО, ГУ ЗО - Министерство здравоохранения Свердловской области и городское управление здравоохранения; АБ-антибактериальная терапия; ДТБС – дисплазия тазобедренных суставов

В модель структуры схемы внесены центры планирования семьи, которые при выявлении и безуспешном лечении бесплодия, осуществляют передачу данных на следующее звено - в центры ВРТ. При успешной попытке зачатия и наступлении беременности в центрах ВРТ информация транслируется врачу-координатору Областного центра превентивной педиатрии (ОЦПП) (анализ гестационного возраста, антропометрических данных, перинатальной смертности, ВПР) и на этап женской консультации. В медико-генетическом центре, при антенатальной диагностике врожденных пороков развития, данная информация также передается в ОЦПП. После рождения дети подлежат регистрации и динамическому наблюдению в ОЦПП по стандарту, разработанному с учетом результатов анализа течения перинатального периода и выявленных особенностей состояния здоровья и качества жизни младенцев в течение первого года. Только благодаря координированной междисциплинарной системе функционирования, основанной на принципах системности, преемственности и поддержки информационными технологиями, возможна адекватная оценка и анализ исходов беременностей, наступивших при помощи ВРТ, что позволит отслеживать здоровье и качество жизни детей, учитывать и предотвращать младенческую заболеваемость, инвалидность и смертность, а также анализировать эффективность реализации квот, выделяемых из федерального и областного бюджетов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сохранение и восстановление репродуктивного здоровья является одной из важнейших медицинских и государственных задач, благополучное решение которых определяет возможность воспроизводства населения и поддержание здорового генофонда нации. Бесплодие имеет большое значение как для отдельно взятой семьи, так и для общества в целом, снижая социальную и профессиональную активность наиболее трудоспособной части населения. В связи с этим, принципиально важным в решении проблем бесплодия является внедрение в клиническую практику вспомогательных репродуктивных технологий.

Несмотря на 30-летний опыт использования данных технологий, сведения о состоянии здоровья младенцев, рожденных при их применении, противоречивы. В настоящее время совершенствуются и разрабатываются новые методы репродуктивной медицины, в литературе описываются результаты исследований, соответствующие критериям доказательности, идет период научного накопления фактического материала, поиск унифицированных подходов к оценке многофакторного влияния бесплодия на здоровье детей, рожденных при помощи ВРТ. Очевидно, что только на основании математического анализа (мета-анализ) большого количества качественно выполненных исследований (систематические обзоры), возможно получить достоверные сведения о состоянии проблемы. При этом данные должны быть основаны на созданных регистрах единого образца.

Отсутствие учета влияния анамнеза и фактора бесплодия матери, особенностей течения беременности на формирование здоровья ребенка, преемственности на этапах оказания репродуктивной помощи семейной паре, а также единого регистра, охватывающего информацию со всех этапов, не позволяет комплексно проанализировать исходы беременностей и состояние младенцев, рожденных при данных технологиях.

Учитывая актуальность проблемы, вышеизложенные факты, целью нашего исследования явилась оценка показателей здоровья и качества жизни детей, рожденных при использовании ВРТ, определение прогноза развития мультифакторной патологии у младенцев, в семьях, имеющих синдром потери плода. На основе создания регистра, начиная с этапа репродуктивных центров, мы минимизировали потерю данных для достоверной интерпретации результатов.

При выполнении когортного исследования по оценке исходов применения вспомогательных репродуктивных технологий под нашим наблюдением находилось 238 семейных пар и 268 детей, рожденных от этих родителей. Беременность, зачатая при использовании репродуктивных технологий, характеризовалась хронической фето-плацентарной недостаточностью (51%), гестозом легкой степени тяжести (55,5%) и неоднократной угрозой прерывания (48,3%). При анализе исходов нами, как и другими исследователями, было отмечено достоверное преобладание многоплодия (11,1%), рождения детей в преждевременном сроке гестации (37,5 нед), с малой массой (2745 г) и длиной тела (47,71 см), а также перевод трети младенцев (32,1%) на второй этап выхаживания лечебных учреждений. Полученные результаты свидетельствуют о повышении неблагоприятных исходов, таких как срок гестации и масса тела, оказывающих наиболее значимое влияние на течение неонатального периода.

Общеизвестно, что более старший возраст женщин чаще приводит к «худшим» перинатальным исходам. В нашем исследовании мы продемонстрировали, что возраст женщин старше 30 лет при бесплодии вторичной этиологии является наиболее неблагоприятным для проведения методик ВРТ, так как именно среди этой группы женщин наблюдаются такие исходы, как многоплодие (RR=2,1), меньший гестационный срок ($35 \pm 0,48$ нед) и низкая масса тела (2295 ± 78 г.) детей при рождении.

Современный лозунг эмбриологов и репродуктологов звучит как «Сдвиг от успеха к осложнениям», что подразумевает пересмотр существующей

тактики, которая заключается в увеличении частоты наступления беременности путем переноса большего количества эмбрионов. Это приводит к наступлению многоплодной беременности, что, в свою очередь, предопределяет развитие осложнений как относительно здоровья женщины, так и ребенка. Именно в нашей работе мы подтвердили необходимость и эффективность современной стратегии в достижении наиболее благоприятных перинатальных исходов при одноплодных беременностях, особенно у женщин в возрасте более 30 лет. Используя полученные результаты, мы разработали рекомендации, ориентированные не только на врачей-педиатров, но и на врачей акушеров-гинекологов, занимающихся проблемами репродукции.

После выполнения когортного исследования нами было проведено наблюдательное исследование по типу «случай-контроль». В отличие от существующих отечественных и зарубежных исследований, нами впервые с целью достоверной оценки данных были изучены группы сравнения, сопоставленные по десяти параметрам. Данное сопоставление было проведено для исключения влияния на исходы беременности и оцениваемое состояние здоровья детей возраста, соматической патологии, паритета матери, социального положения, течения беременности, плодности, типа плацентации, способа родоразрешения, гестационного возраста и пола ребенка. На данном этапе работы мы оценили сомато-неврологический статус и качество жизни 130 детей основной и контрольной групп в течение первого года, подобранных по выше описанным параметрам. Несмотря на выявленные изменения как в соматическом, так и в неврологическом здоровье детей, мы получили более благоприятные данные, относительно результатов предыдущих диссертационных исследований (Крюков П.М., 2006).

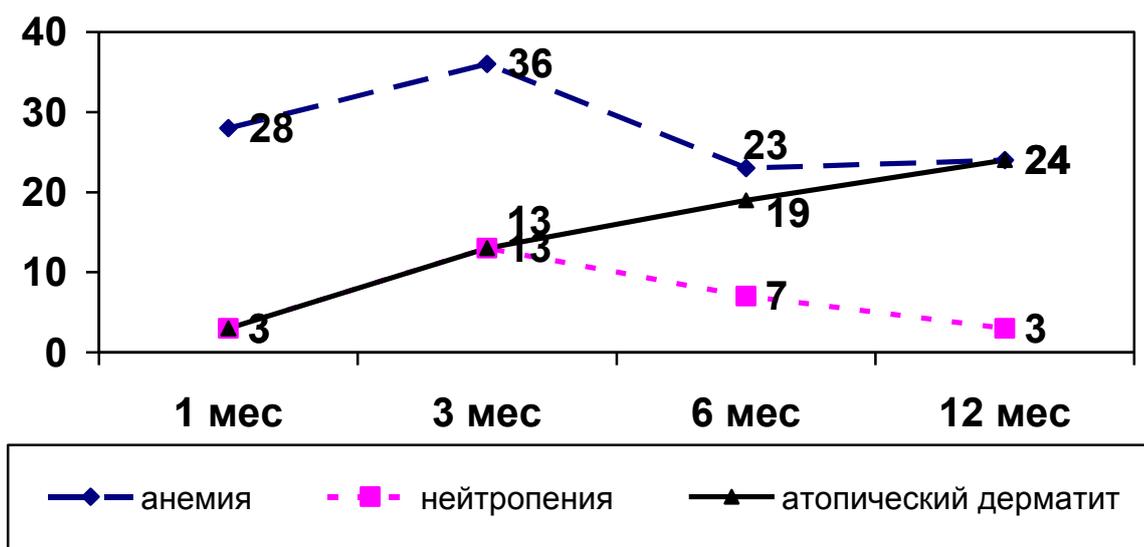


Рис.21. Частота соматической патологии в динамике наблюдения у детей, рожденных при помощи ВРТ (в течение первого года жизни)

В первом полугодии жизни основными заболеваниями, представленными на рис. 21, являются анемия I степени, смешанного генеза, и нейтропения, с положительной динамикой к 6 мес. жизни, при этом клинические проявления атопического дерматита имеют прогрессивный характер, с медленным, но стабильным подъемом к 12 мес. жизни.

Диагностированные анемия смешанного генеза и стойкая абсолютная нейтропения, в течение первых трех месяцев жизни, определяют междисциплинарную тактику ведения врача-педиатра, врача-гематолога и врача – иммунолога данной категории детей по отношению к проведению вакцинопрофилактики и оценке лабораторных показателей. Необходимо отметить замеченную нами взаимосвязь между приемом матерями синтетического прогестерона после 20-ой недели беременности и развитием транзиторной нейтропении у достоверно большего количества детей, рожденных при помощи репродуктивных методик. Относительно приема препаратов натурального прогестерона подобной корреляции прослежено нами не было (13% при приеме синтетического и 0% при применении натурального прогестерона, $p < 0,05$). Согласно данным доступной нам литературы выявленную взаимосвязь, возможно, объяснить

иммуносупрессивным действием прогестерон-индуцированного блокирующего фактора (ПИБФ), вследствие приема Дюфастона[®]. При высоком уровне ПИБФ, доминируют Т-хелперы 2 типа, которые продуцируют цитокины, обладающие иммуносупрессивной активностью. Поскольку срок от 20 до 24 недель внутриутробного периода плода является критическим для развития гранулоцитарного ростка кроветворения, возможно, на данном этапе происходит реализация иммуносупрессивного действия ПИБФ. Вследствие этого, дети, рожденные от матерей, принимавших синтетический прогестерон после 20 недели беременности, должны наблюдаться у врача-гематолога и врача-иммунолога и иметь индивидуальный график вакцинопрофилактики.

Дети, рожденные при использовании репродуктивных методик, к году жизни достоверно чаще имели проявления атопического дерматита (24,2%). Возможно, степень реактивности организма данной группы детей относительно реакции гиперчувствительности замедленного типа имеет отсроченный по возрасту характер. Необходимо оценить состояние здоровья детей в более старшие возрастные периоды для проведения анализа реализации данной предрасположенности.

Важно отметить, что к 12-ти мес. на фоне проводимого лечения отмечается тенденция к восстановлению соматического статуса, при этом неврологическая симптоматика остается доминирующей.

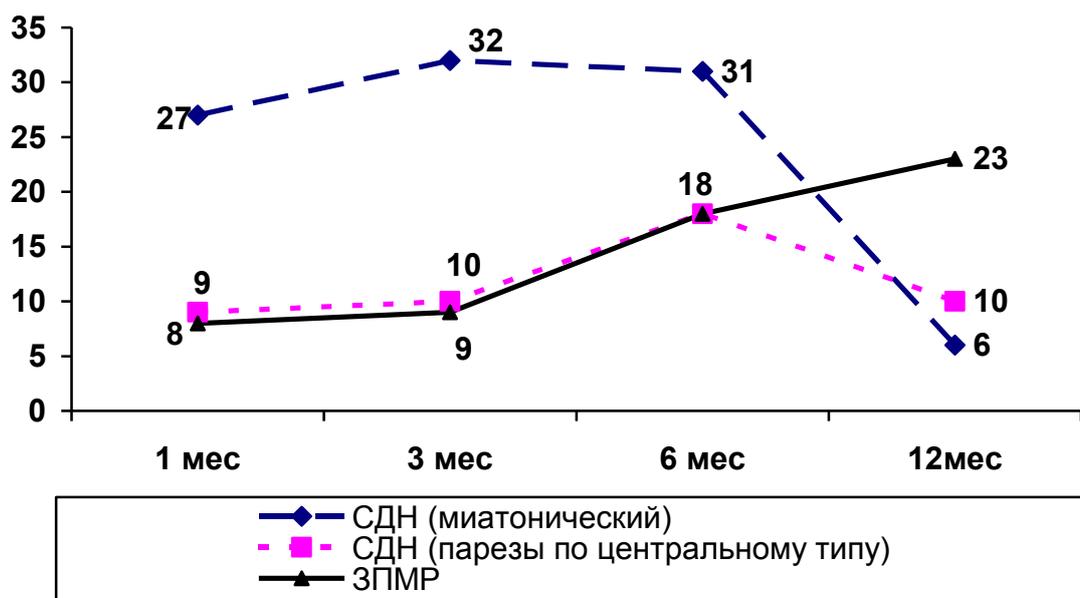


Рис. 22. Динамика клинических синдромов поражения ЦНС у детей, рожденных при помощи ВРТ, в течение первого года жизни

Особенностью патологических проявлений со стороны ЦНС у детей, рожденных при применении методик ВРТ, как следует из рис.22, явилась большая частота синдрома двигательных нарушений по гипотоническому (миотонический синдром – 32%) и гипертоническому (парезы конечностей по центральному типу – 18%) варианту, с угрозой формирования у 18% детей синдрома детского церебрального паралича к 6 мес. жизни. Кроме того, к возрасту одного года жизни у каждого пятого ребенка диагностировалась задержка статико-моторного и психопредречевого развития. Так, у половины детей, рожденных при помощи ВРТ (48%), была расценена безусловная группа риска, в то время как у почти равнозначного количества детей, зачатых спонтанно (56,9%), не отмечено отставание в ННР. В то же время 3 ребенка, рожденные при использовании вспомогательных методик, имели тяжелую задержку ННР, вследствие органического поражения центральной нервной системы.

Впервые мы оценили показатели качества жизни исследуемой категории детей согласно международному опроснику QUALIN. Результаты опроса продемонстрировали более высокий уровень качества жизни детей,

рожденных в семьях с бесплодием, как по мнению родителей, так и по мнению врача-педиатра. Дети, рожденные при помощи ВРТ, имеют более высокий общий балл качества жизни за счет таких аспектов жизнедеятельности, как «поведение и общение». Тем временем, показатель «способность оставаться одному» характеризуется достоверно худшими результатами, вследствие родительской опеки и зависимости ребенка от внимания и помощи семьи.

Сопоставление основной и контрольной групп по десяти параметрам позволило нам максимально точно объективизировать оценку состояния здоровья детей. Тем не менее, особенности как соматического, так и неврологического здоровья выявлены и достоверны. В виду того, что парно-сопряженный метод исключил влияние соматической патологии и паритета матери, а также возрастного фактора, полученными результатами мы подтверждаем мнения существующих РКИ о возможном воздействии факторов инфертильности и недоношенности на потенциальное здоровье детей. Исключить влияние самой технологии вспомогательной репродукции возможно только на основании длительного когортного исследования.

Таким образом, дети, рожденные в семьях с бесплодием, преимущественно в группе недоношенных младенцев, имеют отклонения в сомато-неврологическом здоровье и качестве жизни, что требует создания системы динамического наблюдения с акцентированием внимания на выявленную патологию. Основным способом профилактики является снижение частоты наступления многоплодных беременностей.

Разработка системы динамического наблюдения должна, прежде всего, базироваться на основе регистра детей, рожденных при использовании репродуктивных технологий. Только основываясь на принципе преемственности, учитывающего соматический анамнез матери, течение беременности, родов, прием лекарственных препаратов, необходимо формировать группы риска по реализации внутриутробного программирования. Своевременная диагностика и тактика врача-педиатра,

невролога, врача-гематолога и врача-иммунолога, позволяет индивидуально разрабатывать программы реабилитации для каждого младенца.

Учитывая этиологическую значимость в большом проценте случаев (70%) полиморфизмов генов тромбофилии, нарушений фолатного обмена и эндотелиальной дисфункции в развитии синдрома потери плода, мы выявили распространенность точковых мутаций согласно семейному принципу. Для достижения поставленной задачи была обследована 41 семейная пара, имеющая СПП в анамнезе, и 56 детей, рожденных при помощи ВРТ. По результатам исследования мы впервые выявили достоверное преобладание данных полиморфизмов не только у бесплодных пар с СПП, но и у младенцев, рожденных при помощи ВРТ. Так, женщины, имеющие СПП в анамнезе, характеризовались достоверно чаще одновременным носительством от 3-х до 5-ти точковых мутаций. При данном носительстве преобладали такие точковые мутации, как фибриноген FGB ($p=0,001$), ингибитор активатора плазминогена PAI-1, ($p=0,027$), метилентетрагидрофолатредуктаза MTHFR 677($p<0,001$), эндотелиальная NO-синтетаза e-NOS ($p=0,0001$) и тромбоцитарный рецептор к коллагену ITGA2 ($p=0,02$). При анализе частотности данных полиморфизмов у детей, было выявлено схожее доминирование от 3-х до 5-ти ген-генных сочетаний. Оценивая риск развития мультифакторной патологии, согласно рекомендациям лаборатории пренатальной диагностики НИИ АГ им. Д.О.Отта СЗО РАМН, нами было отмечено, что половина детей (48%), зачатых при помощи ВРТ в семьях с СПП, имеют высокую предрасположенность к формированию мультифакторных заболеваний ($p<0,001$). Течение и исход неонатального периода у младенцев группы высокого риска характеризовались клинической реализацией носительства генных мутаций. По результатам проведенных исследований оказалось, что в антенатальном периоде беременность матерей, имеющих детей группы высокого риска, сопровождалась гестозом, ХФПН и неоднократной угрозой прерывания. Особенностью неонатального периода младенцев группы высокого риска явились низкая оценка по шкале Апгар

(менее 6 баллов), отмечалось достоверно частое нахождение в палате интенсивной терапии или реанимации (в 8 раз), переводы на 2-ой этап выхаживания (в 6 раз), с последующим назначением антибактериальной (в 4,8 раз) и инфузионной терапии (в 6,8 раз), парентерального питания (4,9 раз), препаратов крови (в 11,3 раз), а также проведение вакциноцинопрофилактики в более позднем периоде (в 9,6 раз), по сравнению с детьми, относящимися к группе низкого и среднего риска. Специфические клинические проявления группы высокого риска свидетельствуют о достоверной значимости исследуемых точковых мутаций в развитии как тромботических, так и нетромботических эффектов тромбофилии на анте- и постнатальных периодах жизни.

Для обобщения и систематизации имеющихся анамнестических, клинических признаков у детей, рожденных при использовании ВРТ, с балльной оценкой предрасположенности к развитию мультифакторной патологии нами был применен дискриминантный анализ. Полученные при однофакторном изучении признаки, количество которых составило 102, были обработаны в пакете прикладных статистических программ Statistica 6.1 (блок дискриминантного анализа).

На основе достоверных признаков построены канонические линейные дискриминантные функции (КЛДФ) прогнозирования развития мультифакторной патологии, разработана формула, которая с высокой степенью валидности (96,6%) по совокупности анамнестических и клинических данных позволяет определить риск развития мультифакторной патологии. При установлении факта наличия высокой предрасположенности к МФЗ, необходимо проводить исследование на полиморфные аллельные варианты генов тромбофилии, нарушений фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции.

Анамнестические, клинические, а также лабораторные данные вводятся в созданную нами программу для ЭВМ «Регистр детей, рожденных при помощи вспомогательных репродуктивных технологий», имеющую

свидетельство о государственной регистрации программ для ЭВМ № 2010612465 от 08.04.2010.

При внесении информации в регистр совокупность анамнестических, клинических и лабораторных данных, согласно КЛДФ, автоматически вводится в надстройку программы и в сформулированное решающее правило, разработанные нами совместно с ГУЗ СО ДКБВЛ НПЦ «Бонум». Все вышеперечисленное позволит предупреждать развитие тромбофилических состояний у данной категории младенцев.

Созданная и внедренная в практику центров ВРТ, перинатальных центров г.Екатеринбурга программа для ЭВМ выполняет функцию регистра. Только на основании регистров единого образца, по мнению немецких создателей аналитических баз [112], возможна достоверная интерпретация результатов как практической, так и научной деятельности. Используя информацию из регистра, мы разработали системную модель мониторинга поэтапно кумулирующую информацию о семейной паре, прибегнувшей к использованию ВРТ для достижения беременности и о детях, родившихся в результате применения данных методик. Итогом функционирования разработанной модели является возможность оценки себестоимости, анализ реализации и эффективности выделяемых федеральных квот на проведение репродуктивных методик. Для органа управления здравоохранением возможно проведение статистического и аналитического этапа по профилактике младенческой заболеваемости, инвалидности и смертности у данной категории пациентов. Центры репродуктивных технологий на основании полученных результатов могут оценить и корректировать тактику проведения репродуктивных методик, лекарственного воздействия, количества подсаживаемых эмбрионов, протоколов криоконсервации, а также возраста семейной пары и этиологической причины бесплодия. По итогам выявляемости ВПР в медико-генетических центрах возможна разработка мер, направленных на профилактику врожденных аномалий в семьях. На этапах женских консультаций и центров планирования семьи, а также в кабинетах

охраны репродуктивного здоровья подростков разработанный регистр позволяет оценивать реализацию риска нарушений репродуктивной системы, корректировать тактику ведения беременности, проводить профилактические мероприятия по улучшению фертильного потенциала семейной пары.

Таким образом, выполненное нами исследование выявило основные факторы, оказывающие неблагоприятное воздействие на формирование здоровья детей, рожденных при помощи ВРТ, определило доминирующие перманентные патологические состояния со стороны органов и систем у младенцев на протяжении 12 мес., с оценкой качества жизни данного контингента. Поиск механизмов влияния фактора бесплодия на основании молекулярно-генетического анализа и клинико-anamнестических факторов позволил выявить группы высокого риска среди детей, в семьях, имеющих синдром потери плода, по развитию мультифакторных заболеваний, а также разработать способ прогнозирования данных состояний. Благодаря комплексному подходу разработана междисциплинарная схема динамического наблюдения, базирующаяся на созданном информационно-аналитическом регистре, что даст возможность своевременно диагностировать, лечить и профилактировать заболеваемость у данной категории детей, а также проводить проспективное накопление материала и его систематизацию.

ВЫВОДЫ

1. Отклонения в состоянии здоровья детей, рожденных при помощи вспомогательных репродуктивных методик, обусловлены отягощающими факторами анамнеза матерей (выкидыши на ранних и поздних сроках беременности – 28,6%, неразвивающаяся беременность - 20,3%), и патологическим течением настоящей беременности (гестоз легкой степени тяжести - 55,5%, угроза прерывания беременности – 48,3%, многоплодие - 11,1%). При вторичном бесплодии и возрасте женщин старше 30 лет повышается риск рождения детей с наименьшим сроком гестации ($35\pm 0,48$ нед.) и более низкой массой тела при рождении (2295 ± 78 г).

2. Патологические проявления со стороны функциональных органов и систем диагностируются достоверно чаще у детей, рожденных при помощи ВРТ, в преждевременном сроке гестации, что требует проведения интенсивной терапии и реанимации в неонатальном периоде (50,8% против 18,5%, $p < 0,001$). У недоношенных младенцев на первом году жизни, доминируют неврологические расстройства, проявляющиеся у 50% синдромом двигательных нарушений и у каждого четвертого ребенка задержкой статико-моторного и психопредречевого развития. Основным методом профилактики данных состояний является снижение частоты наступления многоплодной беременности.

3. В семьях, имеющих синдром потери плода, каждый второй ребенок, рожденный при использовании вспомогательных репродуктивных технологий, относится к группе высокого риска по реализации мультифакторных заболеваний, обусловленных носительством генетических полиморфизмов генов тромбофилии (100%), эндотелиальной дисфункции (73%) и фолатного цикла (43%).

4. Разработанный регистр и способ прогнозирования риска развития мультифакторной патологии позволяют с валидностью 96,6 % проводить

своевременную диагностику, определять тактику лечения и профилактику заболеваний у данной категории младенцев.

5. Дети, рожденные при помощи репродуктивных методик, нуждаются в динамическом наблюдении в течение первого года жизни, основанном на принципах раннего вмешательства, с вовлечением междисциплинарной команды специалистов: врача-педиатра, детского невролога, врача-гематолога и врача-иммунолога.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При выявлении клинических особенностей здоровья детей, рожденных при использовании репродуктивных методик, врач-педиатр, детский невролог, врач-гематолог и врач-иммунолог в течение первого года жизни, используя междисциплинарный подход, своевременно должны проводить диагностику и лечение, осуществлять динамическое наблюдение за этой группой младенцев в рекомендуемые декретируемые сроки.

2. С целью диагностики неблагоприятных аллельных вариантов генетических полиморфизмов, на основании клинико-анамнестических факторов течения беременности, раннего неонатального периода, состояния здоровья детей в течение 12 мес. жизни рекомендуется использовать решающее правило, позволяющее предупреждать развитие тромботических и нетромботических эффектов ген-генных взаимодействий точковых мутаций у младенцев, рожденных при помощи ВРТ, в семьях с синдромом потери плода.

3. Схема динамического наблюдения за детьми, рожденным при использовании репродуктивных технологий, а также программа для ЭВМ, кумулирующая информацию с этапа перинатального консилиума, необходимы для практического применения в репродуктивных и перинатальных центрах, женских консультациях, отделениях второго этапа выхаживания лечебных учреждений, детских больницах и амбулаторно-поликлинической службе г. Екатеринбурга.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Адамян Л.В.* Состояние и перспективы репродуктивного здоровья населения России / Л.В. Адамян, Г.Т. Сухих // Современные технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний. – М., 2007. – С. 5–19.
2. *Баймурадова С.М.* Патогенез, принципы диагностики, профилактики и терапии синдрома потери плода, обусловленного приобретенными и генетическими дефектами гемостаза: автореф. дис. ... д-ра.мед.наук: 14.00.01 / Баймурадова Седа Майрабековна. - Москва, 2007. – 48с.
3. *Баранов В.С.* Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. / В.С. Баранов- СПб.: «Изд-во Н-Л», 2009. – 528 с.: ил.
4. *Бахтиарова В.О.* Состояние здоровья детей, родившихся в результате экстракорпорального оплодотворения и искусственного осеменения: автореф. дис. ... канд.мед.наук: 14.00.02 / Бахтиарова Вера Олеговна - Москва, 1993. – 58с.
5. *Владимирская Е.Б.* Механизмы кроветворения и лейкогенеза / Е.Б. Владимирская. – М.: Изд-во «Династия», 2007 – С.26-33.
6. *Внутриутробное* развитие человека / Руководство для врачей / Под руководством А.П. Милованова, С.В. Савельева. – М.: МДВ, 2006. – С. 290-296.
7. *Генетические* полиморфизмы и волчаночный антикоагулянт как факторы риска дисциркуляторной энцефалопатии в молодом возрасте/ А.П. Ельчанинов, С.И. Капустин, О.В. Сироткина [и др.] // Инсульт.- 2002.- № 5. С. 37—42.
8. *Генетический* полиморфизм глутатион-S-трансфераз М1 и Т1 у детей, больных бронхиальной астмой / Вавилин В.А., Часовникова О., Ляхович В.В. [и др] // Вопр. мед. химии. - 2000. - Т. 46. - С. 388–397.

9. *Геном человека и гены «предрасположенности». Введение в предиктивную медицину* / В.С.Баранов, Т.Э.Баранова, Т.Э. Иващенко, М.В. Асеев. - СПб.: Изд-во «Интермедика», 2000.- 272с.
10. *Гестоз: теория и практика* / Э.К. Айламазян, Е.В. Мозговая. – М.: МЕДпресс-информ, 2008. 272 с.
11. *Доброхотова Ю.Э.* Вопросы патогенеза и терапии тромбофилических состояний у беременных с тромботическими осложнениями и невынашиванием беременности / Ю.Э.Доброхотова, А.Д.Ли, Э.М.Джобава // Гинекология: журнал для практических врачей. — 2006. — Том 8. - №3 . — С. 16-23.
12. *Дубачева Н.Ю.* Анализ течения раннего неонатального периода у новорожденных, родившихся от матерей, прибегнувших к операциям ЭКО и ИКСИ/ Н.Ю. Дубачева, Е.М.Моисеева, Н.В. Матыскина // Материалы III Ежегодного конгресса специалистов перинатальной медицины и VI Съезда РАСПМ «Современная перинатология: организация, технологии и качество». – Москва.-2008.- С.21-22.
13. *Енгибарян Д.А.* Течение и исход беременности после ЭКО / Д.А.Енгибарян, Ю.С. Котова, О.Д. Константинова// Материалы первого регионального научного форума «Мать и дитя». – Казань. -2007. – 436с.
14. *Журавлева Т.А.* Заболевания внутренних органов у молодых женщин с репродуктивными проблемами / Т.А. Журавлева, В.А. Струневская // Здравоохранение Рос. Федерации. — 2004. - №5. — 40-42.
15. *Идрисова М.Я.* Клиническое значение диагностики и коррекции нарушений в системе гемостаза при ведении беременности, родов и послеродового/послеоперационного периода у женщин старше 35 лет: автореф. дис. ... канд.мед.наук: 14.00.01 / Идрисова Мадина Япоевна - Москва, 2007. – 48с.
16. *Ишемический инсульт в детском возрасте* / Б.Г. Алесян, М.Г. Пурсанов, Е.Г. Роговина [и др.] // Неврологический журналю - 2010.-N 5.-С.41-46.

17. *Карибаева Ш.К.* Определение качества жизни больных с бесплодием в программе экстракорпорального оплодотворения/ Ш.К.Карибаева, В.Н.Локшин// Материалы XV международной конференции «Репродуктивные технологии сегодня и завтра». – Чебоксары. – 2005.- С.17.
18. *Концепция* демографической политики Российской Федерации на период до 2025 года // URL: <http://demoscope.ru/weekly/knigi/konceptsiya/konceptsiya25.html> (дата обращения: 10.03.2010).
19. *Концепция* долгосрочного социально-экономического развития Российской Федерации на период до 2020 года. С. 6, 20, 31 // URL: <http://www.ifar.ru/ofdocs/rus/rus006.pdf> (дата обращения: 10.03.2010).
20. *Крюков П.М.* Состояние здоровья детей раннего возраста, рожденных от матерей с привычным невынашиванием беременности: автореф. дис. ... канд.мед.наук: 14.00.09 / Крюков Павел Михайлович - Новосибирск, 2006.- 31с.
21. *Кулаков В.И.* Интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида в ооцит: современное состояние /В.И. Кулаков, Л.Н.Кузьмичев, Ю.Е. Мосесова // М.:ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. - 344с.
22. *Кулаков В.И.* Состояние здоровья новорожденных, родившихся в результате использования вспомогательных репродуктивных технологий / В.И.Кулаков, Ю.И. Барашнев // Новорожденные высокого риска. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – С.331 - 402.
23. *Кулаков В.И.* Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского и мужского бесплодия (теоретические и практические подходы): Руководство для врачей / В.И. Кулаков, Б.В. Леонов// М.: «Медицинское информационное агентство», 2004. – 782с.

24. *Лебедев И.Н.* Эпигенетические аспекты безопасности вспомогательных репродуктивных технологий / И.Н.Лебедев, В.П. Пузырев // Генетика. 2007. - Т. 43 - № 9. - С. 1157-1171.
25. *Лебедев И.Н.* Эпигенетические модификации генома в эмбриональном периоде онтогенеза человека: автореф. дис. ... д-ра.мед.наук: 03.00.15 /Лебедев Игорь Николаевич. - Новосибирск, 2008. – 34с.
26. *Лишневская В.Ю.*Сегодняшний день антитромбоцитарной терапии / В.Ю. Лишневская // Тромбоз, гемостаз и реология. - 2009 г. - №2. - С.23-36.
27. *Макацария А.Д.* Синдром системного воспалительного ответа в акушерстве / А.Д.Макацария, В.О.Бицадзе, С.В.Акиньшина – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. – 448 с.
28. *Макацария А.Д.* Системные синдромы в акушерско-гинекологической клинике: Руководство для врачей / А.Д. Макацария – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2010. – 888 с.:ил.
29. *Макацария А.Д.* Тромбозы и тромбоемболии в акушерско-гинекологической клинике: Рук. для врачей – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. – 1064 с.
30. *Макацария Н.А.* Тромбофилии у женщин с бесплодием и неудачами ЭКО/ Н.А. Макацария, О.Ю.Панфилова, З.Х. Бабаниязова // Материалы конференции «Современные технологии в акушерстве и гинекологии – 2006».- Москва. – 2006. – С.455.
31. *Маслянюк Н.А.*Состояние новорожденных детей и их дальнейшее развитие при много-плодной беременности после ЭКО: автореф. дис. ... канд.мед.наук: 14.00.09 / Маслянюк Наталья Анатольевна – С-Пб., 2005. – 24 с.
32. *Мельникова Т.А.* Геморрагический синдром у детей и подростков с маркерами наследственной тромбофилии / Т.А.Мельникова, К.И. Пшеничная, Е.В. Люгаев // Педиатрия, 2009.-N 4.-С.64-68.

33. *Мембранные* рецепторы тромбоцитов: функции и полиморфизм / Е.Н. Воронина, М.Л. Филипенко, Д.С. Сергеевичев [и др.] // Вестник ВОГиС, 2006. - Т. 10. - № 3. - С. 553-564.
34. *Молекулярно-цитогенетическая* диагностика хромосомных аномалий у супружеских пар с нарушением репродуктивной функции / С.Г. Ворсанова, А.К. Берешева, Л.З. Казанцева [и др.] // Проблемы репродукции. - № 4. -1998. С.41-46.
35. *Молчанова Е.В.* Селективный скрининг по выявлению офтальмопатии у доношенных новорожденных: автореф. дис. ... канд.мед.наук: 14.00.08 / Молчанова Елена Вячеславовна. - Москва, 2008.- 53с.
36. *Назаренко М.С.* Полиморфизм систем эпигенетической регуляции активности генов при патологии эмбрионального развития / М.С. Назаренко, В.П. Пузырёв, И.Н. Лебедев // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. Новосибирск: «Альфа-Виста Н», 2008. - Вып. 12. - С. 141-150.
37. *Неонатология: национальное руководство* / под ред. Н.Н. Володина ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 848 с.
38. *Никитин А.И.* Старение гамет и врожденная патология / А.И.Никитин // Материалы XV международной конференции «Репродуктивные технологии сегодня и завтра». – Чебоксары. – 2005.- С.19.
39. *Никитина И.В.* Патологические состояния у новорожденных, родившихся в результате использования ВРТ (ЭКО и ПЭ, ЭКО и ИКСИ): автореф. дис. ... канд.мед.наук: 14.00.09 / Никитина Ирина Владимировна - Москва, 2005. – 27 с.
40. *Новиков П.В* Состояние и проблемы клинической генетики / П.В. Новиков // Материалы 5-го Российского научного форума «Охрана здоровья матери и ребенка» 2003 М., «Авиаиздат», 2003 - 484 с.
41. *Новиков П.В.* Руководство по педиатрии. Врожденные и наследственные заболевания - М.: Издательский дом «Династия», 2007 – с. 544

42. *Новицкая Н.А.* Течение беременности и перинатальные исходы после экстракорпорального оплодотворения: автореф. дис. ... канд.мед.наук: 14.00.01/ Новицкая Наталья Александровна - Москва, 2008.- 24с.
43. *Определение* наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности. Генетическая карта репродуктивного здоровья: методические рекомендации/В.С. Баранов, Т.Э. Иващенко, А.С.Глотов [и др.] – СПб.: ООО «Изд-во Н-Л», 2009. – 68 с.: ил.
44. *Павлов О.Г.* Системное влияние наследственной предрасположенности к соматопатологии и медико-социальных факторов на течение беременности и исход родов: автореф. дис. ... докт.мед.наук: 05.13.01/ Павлов Олег Георгиевич – Тула, 2006. – 41с.
45. *Пальчик А.Б.* Введение в неврологию развития. – СПб.: ООО «Издательско-полиграфическая компания «КОСТА», 2007.- С.301-324
46. *Первичный* антифосфолипидный синдром в сочетании с гетерозиготной мутацией в гене рецепторов тромбоцитов Пб/Ша / Шигина Ю.В., Иванова А.В., Осипова Т.Н., Решетняк Т.М. // Научно-практическая ревматология. - 2004. - №4. - С. 96-99.
47. *Пересада О.А.* Репродуктивное здоровье женщин: Руководство для врачей. – М.:ООО «Медицинское информационное агентство», 2009. – 680 с.
48. *Перинатальные* исходы при многоплодии / В.С.Прохорова, Н.Г. Павлова, К.Е. Алексеева [и др.] // Материалы первого регионального научного форума «Мать и дитя». – Казань. -2007. – 436 с.
49. *Полиморфизм* гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) и риск возникновения невынашивания беременности / О.Н. Беспалова, В.С. Баранов, И.Ю. Васильева, Т.Э. Иващенко // Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины: сборник тезисов к научно-практической конференции молодых ученых. - СПб.: Издательский дом СПб МАПО, 2005. - С.243-244.

50. *Полиморфизмы* генов системы гемостаза у лиц с отягощенным анамнезом по тромбофилии / М.М. Мироненко, Т.И. Долгих, И.Г. Утянская [и др.] // Тромбоз гемостаз и реология, 2009.-N 2.-С.60-63.
51. *Преимплантационная* генетическая диагностика: современные аспекты /Е.В. Маркова, В.Г. Артюхова, А.В. Светлаков [и др.]// Материалы XV международной конференции «Репродуктивные технологии сегодня и завтра». – Чебоксары. – 2005.- С.34.
52. *Приказ* Минздрава РФ от 26 февраля 2003 г. N 67 «О применении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в терапии женского и мужского бесплодия».
53. *Протромботические* нарушения у детей, перенесших ишемический инсульт / В.П. Зыков, С.А. Васильев, И.Б. Комарова [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им.С.С.Корсакова, 2009.-N 12.-С.18-24.
54. *Пшеничная К.И.* Клинические проявления геморрагического синдрома у детей, перенесших внутричерепные кровоизлияния в периоде новорожденности / К.И. Пшеничная, В.Ю. Чистякова // Педиатрия, 2007. – Т. 86. - №1. - С.52-56.
55. *Результативность* программ ЭКО/ИКСИ в зависимости от количества переносимых эмбрионов / Т.А. Кодылева, О.В. Краснова, Д.Н. Власов [и др.] // Материалы XV международной конференции «Репродуктивные технологии сегодня и завтра». – Чебоксары. – 2005.- С.11-12.
56. *Российские* клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений / В.С. Савельев, Е.И. Чазов, Е.И. Гусев [и др.] // Флебология. - М., Медиа-Сфера, 2010. - Т. 4. - №2. - Москва, 2010.-
57. *Русанова Н.Е.* Репродуктивные возможности демографического развития: автореф. дис. ... докт.экон.наук: 08.00.05 / Русанова Нина Евгеньевна – Москва, 2010. – 48 с.
58. *Сеникова М.К.* Состояние здоровья и постнатальное развитие новорожденных, родившихся при применении ВРТ (ЭКО, ИКСИ) [Текст]:

- автореф. дис. ... канд.мед.наук: 14.00.09 / Сеникова Мария Константиновна – Москва, 2001. – 26 с.
59. *Сидельникова В.М.* Привычная потеря беременности / В.М.Сидельникова. - М.: Триада-Х, 2002.- 304 с.
60. *Современная* тактика ведения беременных с тромбофилиями / А.А. Степанова, А.Н. Дробинская, Н.М. Пасман [и др.] // Проблемы здоровья женщин репродуктивного возраста. Материалы межрегиональной научно-практической конференции – Омск, 2009. – С.109-111.
61. *Современные* алгоритмы пренатальной диагностики наследственных болезней: методические рекомендации / В.С. Баранов, Т.В.Кузнецова,Т.Э.Иващенко [и др.] - СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. -80 с.
62. *Состояние* здоровья молодого поколения России и проект реформы по его улучшению / А.В. Шабров, С.В.Рищук, В.Е.Мирский, Е.В.Илларионова // Здоровоохранение: журнал для руководителя и главного бухгалтера – 2010. - №9. – С. 40-44.
63. *Степанова А.А.* Современные подходы к ведению беременных с тромбофилиями: автореф. дис. ... канд.мед.наук: 14.00.01 / Степанова Анастасия Анатольевна – Омск, 2009. – 33с.
64. *Стрижаков А.Н.* Потеря беременности / А.Н.Стрижаков, И.В.Игнатко // - М.:ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. - 224с.
65. *Сыркин А.* Особенности ишемической болезни сердца у молодых / А. Сыркин, Н. Новикова, Н. Горустович // Врач. - 2001. - №4. —С. 5-8
66. *Тадтаева З.Г.* Роль нарушений гемостаза в патогенезе мигрени / З.Г. Тадтаева,, Ю.Л. Кацадзе // Тромбоз, гемостаз и реология, 2002.- № 2.- С. 18—25.
67. *Тезисы* выступления министра Т.А. Голиковой "О выполнении в 2007-2009 годах мероприятий плана реализации Концепции демографической политики Российской Федерации на период до 2025 года, направленных на улучшение состояния здоровья женщин, детей и подростков" // Официальный сайт Министерства здравоохранения и социального

- развития РФ. - [URL]: <http://www.minzdravsoc.ru/health/prior/52> (дата обращения 10.03.2009).
68. *Течение* и исход беременности у женщин с бесплодием в анамнезе / О.Н. Аржанова, В.С. Корсак, О.О. Орлова [и др.] // Проблемы репродукции. - № 3. -1999 - С.54-58
69. *Тромбофилии* в акушерской и гинекологической практике / Русский медицинский журнал. - М.: ООО «Волга-Медиа», 2006 - 60 с.
70. *Тромбофилия* как причина тромбоза лёгочных артерий / С.И. Овчаренко, Е.А. Сон, Е.А. Окишева [и др.] // Трудный пациент, 2008. -№2-3. Т.6. С.10-14.
71. *Фетисова И.Н.* Наследственные факторы при различных формах нарушения репродуктивной функции супружеской пары: автореф. дис. ... д-ра.мед.наук: 03.00.15 / Фетисова Ирина Николаевна. - Москва, 2007. – 38с.
72. *Чучин М.Ю.* Церебральный синус - тромбоз в детском возрасте / М.Ю.Чучин - Педиатрия №2, 2005. - С. 63 – 70.
73. *Шелаева Е.В.* Исходы беременностей у женщин с многоплодием после выполнения операции редукции числа плодов / Е.В.Шелаева, Н.Г. Павлова, О.Л. Тышкевич // Материалы первого регионального научного форума «Мать и дитя». – Казань. -2007. – 436с.
74. *Эпигенетические* факторы риска вспомогательных репродуктивных технологий/ И.Н. Лебедев, Е.Н. Толмачева, Е.А. Саженова [и др.] // Материалы XV международной конференции «Репродуктивные технологии сегодня и завтра». – Чебоксары. – 2005.- С.38-39.
75. *A guide to effective care in pregnancy and childbirth* / M. Enkin, M. Keirse, J.Neilson [et al.] // Oxford university press.- 2000.-482 p.
76. *Abnormal* methylation at the KvDMR1 imprinting control region in clinically normal children conceived by assisted reproductive technologies / M.V. Gomes, J. Huber, R.A. Ferriani [et al.] // Mol Hum Reprod.- 2009. –Vol.15, N8. –P. 471-477.

77. *Absence* of insulin resistance and low-grade inflammation despite early metabolic syndrome manifestations in children born after in vitro fertilization / S. Sakka, D. Loutradis, C. Kanaka-Gantenbein [et al.] // *Chrousos Fertility and Sterility* – 2010. Vol. 94. – P. 1693-1699.
78. *Absence* of obscurity. - [URL]: <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/factor-v-leiden-thrombophilia> (дата обращения: 10.03.2011).
79. *Absence* of obscurity. - [URL]: <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov> / Human genome (дата обращения: 12.03.2011).
80. *Absence* of obscurity. - [URL]: http://www.snpedia.com/index.php/SNPedia/Single_nucleotide_polymorphisms (дата обращения: 12.03.2011).
81. *Absence* of obscurity. - [URL]: <http://www.nattinfo.org/> National blood clot alliance (дата обращения: 12.03.2011).
82. *Acquired* and inherited thrombophilia: implication in recurrent IVF and embryo transfer failure / H.Qublan, S.Eid, H. Ababneh [et al.] // *Human Reproduction* – 2006. - Vol.21, N10. – P. 2694–2698.
83. *Acquired* thrombophilia, recurrent miscarriage and infertility [URL]: <http://www.repro-med.net/repro-med-site2/index.php?> (дата обращения: 12.03.2011).
84. *Allele* 4G of gene PAI-1 associated with prothrombin mutation G20210A increases the risk for venous thrombosis / D. Barcellona, L. Fenu, C. Cauli [et al.] // *Thromb Haemost* – 2003 –Vol. 90. – P.1061-1064
85. *An overview* of studies on early development, cognition, and psychosocial well-being in children born after in vitro fertilization / K. Wagenaar, J. Huisman, P.T. Cohen-Kettenis, [et al.] // *J Dev Behav Pediatr.*- 2008. – Vol. 29. – P.-219-230.
86. *Analyzes* of three common thrombophilic gene mutations in German women with recurrent abortions/ H.U. Pauer, T. Voigt-Tschirshwitz, B. Hinney [et al.] // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2003. Vol. 82, N 10. – P.942-947

87. *Antiphospholipid* antibodies in serum and follicular fluid—is there a correlation with IVF implantation failure? / K.L.Buckingham P.R.Stone, J.F.Smith [et al.] // Human Reproduction – 2006. - Vol.21, N3. – P. 728–734
88. *Are* children born after assisted reproductive technology at increased risk for adverse health outcomes? L.A. Schieve, S.A. Rasmussen, G.M. Buck [et al.] // Obstet Gynecol. – 2004. -Vol.103, N6. – P.1154-1163.
89. *Assessing* long-run economic benefits attributed to an IVF-conceived singleton based on projected lifetime net tax contributions in the UK / M. Connolly, F. Gallo, S. Hoorens [et al.] // Human Reproduction – 2009. - Vol.24, N.3. –P. 626–632.
90. *Assisted* reproductive technology surveillance-United States, 2005/ V.C. Wright, J. Chang , G. Jeng [et al.] // MMWR Surveill Summ.- 2008. – Vol. 57, N5. - P. 1-23
91. *Association* between endothelial nitric oxide synthase gene 4a/b polymorphism and IgA nephropathy / Q. Hong, R. Ding, X.M. Chen [et al.] // Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao – 2006. –Vol. 26, N10. – P.1421 -1430.
92. *Association* of methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms with atlantoaxial dislocation / M. Pradhan, S. Behari, S.K. Kalra [et al.] // J Neurosurg Spine – 2007/ - Vol.7, N6. –P.623-630.
93. *Associations* between 2 polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and placental abruption / C.V. Ananth, M.R. Peltier, C. De Marco C [et al.] // Am J Obstet Gynecol.- 2007. – Vol. 197, N4. – P. 385.
94. *Barker D.J.* Fetal programming of coronary heart disease / D.J. Barker // Trends Endocrinol. Metabol.- 2002. –Vol. 13. – P. 364-368.
95. *Bauduer F.* Factor V Leiden, prothrombin 20210A, methylenetetrahydrofolate reductase 677T and population genetics / F. Bauduer, D. Lacombe // Mol Genet Metab. – 2005. – Vol.86, N1. –P. 91-99.
96. *Bindt C.* Elternschaft und kindesentwicklung nach in-vitro-fertilisation unter besonderer berücksichtigung der mehrlingsproblematik ergebnisse:

- untersuchung dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin am Fachbereich Medizin / Carola Bindt - Hamburg, 2001. - C.321.
97. *Bioinformatics* in the post-genomic era: physiology and medicine / I.Yu. Torshin, A.W. Dielis, M. Smid [et al.] // Nova Biomedical Books, NY, USA, 2007. – P. 35–67.
98. *Birth* defects in IVF children ESHRE position statement, by SQART, 07 April 2009. [URL]: http://www.eshre.eu/binarydata.aspx?type=doc&sessionId=2y2bw3550sgmssabkx5qot55/Birth_defects_position_papers.pdf (дата обращения 07.03.2011)
99. *Birth* defects, medical outcome and somatic development in children conceived after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) / M. Snajderová, D. Zemková, T. Mardesić [et al.] // Ceska Gynekol. – 2008.-Vol.73. - P.22-31
100. *Body* Composition in Children and Adolescents Born after in Vitro Fertilization or Spontaneous Conception / M. Ceelen, M. van Weissenbruch, J. C. Roos [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism - 2007. – Vol. 92. – P. 3417-3423
101. *Brand* A. The impact of genetics and genomics on public health /A. Brand, H.Brand, T.S.Baumen // Europ. J. Hum. Genet. – 2008 - Vol. 16. – P. 5-13
102. *Brenner* B. Thrombophilia and adverse pregnancy outcome / B. Brenner, A. Aharon // Clin Perinatol. 2007. – Vol. 34, N4. – P.527-541.
103. *Características* de los recién nacidos tras fecundación in vitro/ Por A. Sanchis Calvo a, B. Marcos Puig b, L. Juan García [et all.] // An Pediatr (Barc). – 2009. – Vol. 70 – P. 333-339.
104. *Cardiometabolic* differences in children born after in vitro fertilization: follow-up study / M. Ceelen, M.M. van Weissenbruch, J.P. Vermeiden [et al.] // J Clin Endocrinol Metab. – 2008. – Vol.5. – P.1682-1670
105. *Cavaillon* J.M. Sepsis and non-infectious systemic inflammation / J.M. Cavaillon, C.Adrie. – Wiley-Vch.-2009.- P. 315- 347.
106. *Cerebral* palsy, autism spectrum disorders, and developmental delay in children born after assisted conception. A systematic review and meta-analysis/

- D. Hvidtjørn, L. Schieve, D. Schendel [et al.] // Arch Pediatr Adolesc Med. – 2009. Vol. 1. – P. 72-83.
107. *Coagulation* factors and tumor cell biology: the role of tissue factor / Donati M.B., Johnson P.A., Harzies L. [et al.] // Pathophysiology of haemostasis and thrombosis J. -2003.- Vol. 33, N1. – P. 22-25.
108. *Cognitive* development following ART: effect of choice of comparison group, confounding and mediating factors / C. Carson, J.J. Kurinczuk, A. Sacker [et al.] // Hum Reprod. – 2010. – Vol.25, N1. – P. 244-252.
109. *Cognitive* development of singletons born after intracytoplasmic sperm injection compared with in vitro fertilization and natural conception / M. Knoester, F.M. Helmerhorst, J.P. Vandenbroucke [et al.] // Fertil Steril. – 2008. Vol.2.- P.-289-296
110. *Colpin H.* Adolescents conceived by IVF: parenting and psychosocial adjustment/ H. Colpin, G. Bossaert// Hum Reprod. – 2008. Vol.27, N4. – P. 186-225.
111. *Colpin H.* Parenting and psychosocial development of IVF children: a follow-up study/ H. Colpin, S. Soenen// Hum Reprod. – 2002. - Vol. 4.- P.- 1116-1123.
112. *Common* 894G>T single nucleotide polymorphism in the gene coding for endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and risk of congenital heart defects / I.M. van Beynum, C. Mooij, L. Kapusta [et al.] // Clin Chem Lab Med. - 2008. – Vol.46,N10. – P. 1369-1375.
113. *Comparison* between children born after natural conception and those born after assisted reproduction technology: a review of the literature and results from our survey / M. Hammadeh, K. Ertan, P. Rosenbaum [et al.]// J Turkish-German Gynecol Assoc. – 2007. - Vol. 8, N1. – P.94-110
114. *DeBaun M.R.* Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19/ M.R. De Baun, E.L. Niemitz, A.P. Feinberg // Am. J. Hum. Genet. – 2003. Vol. 72. – P. 156–160.

115. *Disentangling* prenatal and inherited influences in humans with an experimental design / F. Ricea, Gordon T. Haroldb // PNAS – 2009. - Vol. 106.- P.2464-2467.
116. *Do* intrauterine or genetic influences explain the foetal origins of chronic disease? A novel experimental method for disentangling effects / A. Thapar, G.Harold, F. Rice [et al.] // BMC Medical Research Methodology – 2007. - Vol 7. –P.25
117. *Does* oral folic acid lower total homocysteine levels and improve endothelial function in children with chronic renal failure / K. Behnett-Richards, M. Kattenhorn, A. Donal [et. all.] // Circulation. —2002. —Vol.105.—P.1810–1815.
118. *Dorner G.* ART and prenatal programming/ G. Dorner // Materials of the Berlin international symposium «Perinatal programming The state or the art». – Berlin, March 04-06, 2010 – P.23
119. *Eamonn R.* Epigenetic risks related to assisted reproductive technologies: Epigenetics, imprinting, ART and icebergs?/ R. Eamonn Maher, A. Masoud, C. Barratt// Human Reproduction – 2003. - Vol. 18. - No. 12. - P 2508-2511.
120. *Early* reduction in multiple pregnancies / F. Sanchez, P.Sanchez, M.Estevez, J.A.Lara [et al.]//Reproductive BioMedicine Online Abstracts of the 5th Congress of the World Association of Reproductive Medicine – 2010. - Moscow, Russia. - P. - 74
121. *Effects* of antioxidant vitamins C, E on endothelial function and thrombosis/fibrosis system in smokers / C. Antoniadis, D. Tousonlis, C. Tentolouris [et. all.] // Thromb. Haemost. —2003. —Vol.89.—P.990–993
122. *Effects* of antioxidant vitamins C, E on endothelial function and thrombosis/fibrosis system in smokers / C. Antoniadis, D. Tousonlis, C. Tentolouris [et. all.] // Thromb. Haemost. —2003. —Vol.89.—P.990–993
123. *Effects* of technology or maternal factors on perinatal outcome after assisted fertilisation: a population-based cohort study / L.B. Romundstad, P.R. Romundstad, A. Sunde [et al.] // Lancet – 2008. – Vol. 372. P. -737-743.

124. *Endothelial* nitric oxide synthase gene polymorphism and maternal vascular adaptation to pregnancy / M.D. Savvidou, P.J. Vallance, K.H. Nicolaides, A.D. Hingorani // *Hypertension* – 2001. – Vol.38, N6. – P. 1289-1293.
125. *Endothelial* nitric oxide synthase gene polymorphism interacts with environmental and dietary factors to influence endothelial function / C.P.M. Leeson, A.D. Hingorani, M.J. Mullen [et al.] // *Res.* – 2002. – Vol. 90. – P.1153-1158
126. *Endothelial* nitric oxide synthase gene polymorphisms and the risk of silent brain infarction / J. Song, O.J. Kim, H.S. Kim [et al.] // *Int J Mol Med.* - 2010. – Vol.25, N5. – P. 819-823.
127. *Epilepsy* and febrile seizures in children of treated and untreated subfertile couples / Y. Sun, M. Vestergaard, J. Christensen [et al.] // *Human Reproduction* – 2007. - Vol.22, N.1. – P. 215–220.
128. *Etiology* of hypercoagulable state [URL]: <http://www.clevelandclinicmeded.com/medicalpubs/diseasemanagement/hematology-oncology/hypercoagulable-states/#s0015> (дата обращения: 12.04.2011).
129. *Etiology* of hypercoagulable state in women with recurrent fetal loss without other causes of miscarriage from Southern. Italy: new clinical target for antithrombotic therapy/ M. D’Uva, P. Di Micco, I.Strina [et al.] // *Biologics: Targets & Therapy* - 2008. Vol.2, N4. – P. 897–902
130. *Euthyroid* hyperthyrotropinemia in children born after in vitro fertilization / S. Sakka, A. Malamitsi-Puchner, D.Loutradis [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.*-2009.- Vol. 94, N4.- P.1338–1341.
131. *Factor II* gene (protrombin G20210A) mutation and neonatal cerebrovenous thrombosis / R. Swarte, I. Appel, M. Lequin [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2004. – Vol. 92, N4. – P.719-721
132. *Falanga A.* Deep vein thrombosis in cancer: the scale of the problem and approaches to management / A. Falanga, L. Zacharski // *Annals of Oncology* – 2005. – Vol.16. – P. 696–701.

133. *Fetal* thrombotic vasculopathy in the placenta: a thrombophilic connection between pregnancy complications and neonatal thrombosis? /M.J. Leistra – Leistra, A. Timmer, F.J. van Spronsen [et al.] // *Placenta*. – 2004. – Vol.25. – P. 102-105.
134. *Fogari R.* Antihypertensive drugs and fibrinolytic function / R. Fogari, A. Zoppi // *Am J Hypertens*.- 2006. – Vol. 19. – P. 1293–1299
135. *Genetic* tests for common diseases: new insights, old concerns / D. Melzer, S. Hogarth, K. Liddell [et al.] // *British Medical Journall*. – 2008. – Vol.336. – P.590-593
136. *Genetic* thrombophilic defects (Factor V Leiden, prothrombin G20210A, MTHFR C677T) in women with recurrent fetal loss / K. Kovacheva, P. Ivanov, E. Konova [et al.] // *Akush Ginekol (Sofiiia)*.- 2007.- Vol. 46,N7. – P.10-16.
137. *Genome*-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations / D. Meyre, J. Delplanque, J.-C. Chevre [et al.] // *Nat Genet*. – 2009. – Vol. 41, N2.- P.157-159.
138. *Gerhardt A.* Effect of hemostatic risk factors on the individual probability of thrombosis during pregnancy and the puerperium / A. Gerhardt, R.E. Scharf, R.B. Zotz // *Thromb Haemost* – 2003. – Vol. 90. –P. 77-85
139. *Greenway A.* Neonatal thrombosis and its treatment / A. Greenway, M.P. Massicotte, P. Monagle // *Blood. Rev.* – 2004. – Vol.18, N2. - P. 75-84.
140. *Growth* during infancy and early childhood in relation to blood pressure and body fat measures at age 8–18 years of IVF children and spontaneously conceived controls born to subfertile parents / C. Manon, M. van Weissenbruch, J.Prein [et al.] // *Human Reproduction* – 2009. – Vol. 24, N11. – P. 2788-2795
141. *Health* care costs resulting from IVF: prenatal and neonatal periods / S.Koivurova, A.-L.Hartikainen, M.Gissler [et a1l.] // *Human Reproduction* – 2004. - Vol.19, N12. – P. 2798–2805.
142. *Henningsen A.K.* Perinatal outcome of singleton siblings born after assisted reproductive technology and spontaneous conception: Danish national sibling-

- cohort study/ A.K.Henningsen, A. Pinborg, O. Lidegaard // *Fertil Steril.*- 2011. – Vol.95, N3. – P. 959-963.
143. *Hoffman R.* Thrombophilia related issues in women and children / R. Hoffman, B. Brenner // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2005. - Vol.31, N1. – P.97 – 103.
144. *Homocysteine* and MTHFR mutations: relation to thrombosis and coronary artery disease / E.A. Varga, A.C. Sturm, C.P. Misita // *Circulation* - 2005. – Vol. 111. – P.289-293.
145. *Homocysteine*, methylenetetrahydrofolate reductase and risk of schizophrenia: a meta-analysis. J.W. Muntjewerff , R.S. Kahn, H.J. Blom [et al.] // *Mol Psychiatry* - 2006 . – Vol. 11, N2. – P.143-149.
146. *Hourvitz A.* Neonatal and obstetric outcome of pregnancies conceived by ICSI or IVF/ A. Hourvitz, S. Pri-Paz, J. Dor // *Reprod Biomed Online* – 2005.Vol. 11. – P. - 469-475.
147. *Howley H.E.* A systematic review of the association between factor V Leiden or prothrombin gene variant and intrauterine growth restriction / H.E. Howley, M. Walker, M.A. Rodger // *Am J Obstet Gynecol* – 2005. –Vol. 192. – P.694-708.
148. *Hyperhomocysteinemia* in women with unexplained sterility or recurrent early pregnancy loss from Southern Italy: a preliminary report / M. D'Uva , P. Di Micco, I. Strina [et al.] // *Thromb J.* – 2007. – Vol.11. – P.5-10.
149. *Impact* of a multiple, IVF birth on post-partum mental health: a composite analysis / C. Sheard, S. Cox, M. Oates [et al.] // *Human Reproduction* – 2007. - Vol.22, N.7. – P.2058–2065.
150. *Impact* of Assisted Reproduction on Obstetrics and Neonatology / M. K. Bohlmann, B. Fritzsching, D. W. Luedders [et al.] // *Geburtshilfe Neonatol* - 2009. Vol.213, N6. – P. 221-227.
151. *Intracytoplasmic* sperm injection may increase, the risk of imprinting defects / G. F. Cox, J. Bürger, V. Lip [et al.] // *The American Journal of Human Genetics.* – 2002. - Vol. 71, N1. – P. 162–164.

152. *In vitro* fertilization improves childhood growth and metabolism/ H.L. Miles, P.L. Hofman, J. Peek [et al.] // J Clin Endocrinol Metab. - 2007. – Vol. 92. – P. 3441-3445.
153. *In vitro* fertilization may increase the risk of Beckwith-Wiedemann syndrome related to the abnormal imprinting of the KCNQ1OT Gene / Am. J. Hum. Genet. – 2003. –Vol. 72. - P.1338–1341.
154. *Incidence* of retinoblastoma in Dutch children conceived by IVF: an expanded study / T. Marees, C.J. Dommering, S.M. Imhof, [et al.] // Human Reproduction – 2009. – Vol. 24, N12. – P. 3220-3224.
155. *Increased* rates of thrombophilia in women with repeated IVF failures / F.Azem1, A. Many, I.Yovel [et al] // Human Reproduction – 2004. - Vol.19, N2. – P. 368 -370
156. *Increase* the rate of recurrent VTE in patients treated with warfarin, as compared to patients without thrombophilic defects? [URL]: <http://www.orlive.com/iqanda/videos/> (дата обращения: 13.04.2011).
157. *In-vivo* effects of Glu298Asp endothelial nitric oxide synthase polymorphism / G. Sofowora, V. Dishy, H.G. Xie [et al.] // Pharmacogenetics.- 2001.- Vol.11, N9. – P.809-814
158. *Isaksson R.* Studies on aetiology, treatment options and obstetric outcome: academic dissertation of the Department of Obstetrics and Gynaecology / Rita Isaksson - Helsinki, 2002 – 80 p.
159. *Izat Y.* The development of children from assisted reproduction—a review of the literature / Y. Izat , L. Goldbeck // Prax Kinderpsychol Kinderpsychiatr. – 2008. – Vol. 57. – P. 264-281.
160. *Kim R.J.* Association between factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations and events of the arterial circulatory system: a meta-analysis of published studies / R.J. Kim, R.C. Becker // Am Heart J. – 2003. –Vol.146, N6. – P. 948-957.
161. *Kujovich J.L.* Thrombophilia and pregnancy complications / J. L. Kujovich // Am J Obstet Gynecol – 2004. – Vol.191. –P.412-424.

162. *Kupferminc M.J.* Thrombophilia and pregnancy/ M.J. Kupferminc - *Reprod Biol Endocrinol.* – 2003. –Vol.14. – P.111.
163. *Laboratory testing for thrombophilia in pediatric patients.* On behalf of the subcommittee for perinatal and pediatric thrombosis of the scientific and standardization committee of the international society of thrombosis and haemostasis (ISTH) / M.J. Manco-Johnson, E.F. Grabowski, M. Hellgreen [et al.] // *Thromb Haemost* - 2002. – Vol.88\ . –P. 155-156
164. *Lidegaard Ø.* Imprinting diseases and IVF: Danish National IVF cohort study / Ø. Lidegaard, A.Pinborg, A. Andersen // *Human Reproduction* – 2005. - Vol.20, N4. - P.950–954.
165. *Lidegaard Ø* Imprinting disorders after assisted reproductive technologies/ Ø. Lidegaard, A.Pinborg, A. Andersen // *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology.* – 2006. - Vol. 18, N 3.- P. 293–296.
166. *Lin J.* Genetic thrombophilias and preeclampsia: a meta-analysis / J. Lin, P. August // *Obstet Gynecol.* - 2005. – Vol. 105. – P.182-192
167. *Lindhoff-Last E.* Evidence-based indications for thrombophilia screening / E. Lindhoff-Last, B. Luxembourg // *Vasa.* – 2008. – Vol.37, N1. – P.19-30.
168. *Lindhoff-Last E.* Update thrombophilie / E. Lindhoff-Last, B. Luxembourg, I. Pabinger // *Hämostaseologie* – 2008. – Vol. 28. – P. 365–375.
169. *Linkage between cytogenetic and epigenetic instability in the embryogenesis* / E.N. Tolmacheva., A.A. Kashevarova, I.N. Lebedev [et al.] // *Hum. Reprod.* - 2007. - Vol. 22. – P.337-339
170. *Long-term economic benefits attributed to IVF-conceived children: a lifetime tax calculation* / M.P. Connolly, M.S. Pollard, S. Hoorens [et al.] // *Am J Manag Care.* – 2008.- Vol.14, N9. –P. 598-604.
171. *Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology* / A. Laura, E. Schiev, F. Susan [et al.] // *N Engl J Med* – 2002. - Vol. 346, N10. – P. 731-737.
172. *Maher E.R.* Imprinting and assisted reproductive technology / E.R. Maher // *Hum Mol Genet.* - 2005. –Vol.1. – P.133-138.

173. *Manipalviratn S.* Imprinting disorders and assisted reproductive technology / S. Manipalviratn, A. De Cherney, J. Segars // *Fertil Steril.*- 2009. – Vol.91, N2. – P.305-315.
174. *Martínez-Frías M.L.* The biochemical structure and function of methylenetetrahydrofolate reductase provide the rationale to interpret the epidemiological results on the risk for infants with Down syndrome / M.L. Martínez-Frías // *Am J Med Genet A.* -2008. –Vol.146A, N11. – P.1477-1482.
175. *Matched* follow-up study of 5-8 year old ICSI-singletons: comparison of their neuromotor development to IVF and naturally conceived singletons / M. Knoester, J.P. Vandembroucke, F.M. Helmerhorst [et al.] // *Hum Reprod.* – 2007. – Vol.22, N6. – P. -1638-1646.
176. *Maternal MTHFR 677C>T* is a risk factor for congenital heart defects: effect modification by periconceptional folate supplementation / I.M. van Beynum, L. Kapusta, M. den Heijer [et al.] // *Eur Heart J.* - 2007 . –Vol.28, N16. – P.2043.
177. *McDonald S.* Systematic review and meta-analysis of perinatal outcomes of in vitro fertilization singletons / S.McDonald, K. Murphy, A. Ohlsson // *J Obstet Gynaecol Can.*– 2005.- Vol.25, N5. – P. 449-459.
178. *McDonald S.* Systematic review and meta-analysis of perinatal outcomes of in vitro fertilization twins / S.McDonald, K. Murphy, A. Ohlsson // *Am J Obstet Gynecol.* – 2005.- Vol.193, N1. – P. 141-152.
179. *Medical, cognitive, emotional, and behavioral outcomes in school-age children conceived by in-vitro fertilization* / R. Levy-Shiff , E.Vakil , L. Dimitrovsky [et al.] // *J Clin Child Psychol.* – 1998. Vol.27, N 3. – P. 320-329.
180. *Mental health of 5-and 10-year old IVF-and ICSI-children* / Y. Izat, F. Gagsteiger, I. Mindermann [et al.] // 2nd Congress of the European Academy of Pediatrics, Nice, France – 2008.
181. *Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C variants do not affect ongoing pregnancy rates following IVF* / A.T.Dobson, R.M.Davis, M.P.Rosen [et al.] // *Human Reproduction* – 2007. - Vol.22, N2. – P. 450–456

182. *Methylenetetrahydrofolate* reductase gene polymorphism in Indian stroke patients / J. Kalita, R. Srivastava, V. Bansal [et al.] // *Neurol India*.- 2006. – Vol. 54, N3. – P. 260-263.
183. *Methylenetetrahydrofolate* reductase (MTHFR) gene polymorphisms resulting in suboptimal oocyte maturation: a discussion of folate status, neural tube defects, schizophrenia, and vasculopathy / P.H. Jongbloet, A.L. Verbeek, M. den Heijer [et al.] // *J Exp Clin Assist Reprod*.- 2008. –Vol.10. –P. 5 - 10.
184. *Monitoring* neurodevelopment in children born as a result of using assisted reproduction techniques / R. Porta-Ribera, V.Trèmols, C. Munar-Mut [et al.] // *Rev Neurol*. – 2009. – Vol.49. N9. – P. 463 - 466.
185. *Mother's* and child's methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism is associated with preterm delivery and low birth weight / D.F. Chen, Y.H. Hu, F. Yang [et al.] // *Beijing Da Xue Xue Bao*. – 2004. – Vol.36, N3. – P. 248-253.
186. *Multiple* thrombophilic gene mutations rather than specific gene mutations are risk factors for recurrent miscarriage / C.B. Coulam, R.S. Jeyendran, L.A. Fishel [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol*. – 2006. – Vol. 55, N 5. – P. 360-368.
187. *Neuromotor*, cognitive, language and behavioural outcome in children born following IVF or ICSI—a systematic review / K.J. Middelburg, M.J. Heineman, A.F. Bos [et al.] // *Human Reproduction Update* -2008. - Vol.14, N.3. – P. 219–231.
188. *Niemitz E.* Epigenetics and assisted reproductive technology: a call for investigation / E. Niemitz, A. Feinberg // *Am. J. Hum. Genet*. -2004. – Vol.74. – P.599–609
189. *Oleary P.* Genomics and public health: translating research into public benefit / P.Oleary, R. Zimmern // *Public Health Genomics* – 2010. –Vol.13, N4. – P.193-196
190. *Ornstein D.L.* Factor V Leiden / D.L. Ornstein, M. Cushman // *Circulation* - 2003. –Vol. 107. – P. 94-97

191. *Outcomes* and cost of deep venous thrombosis among patients with cancer/ L.S. Elting, C.P. Escalante, C. Cooksley [et al.] // Arch Intern Med - 2004. – Vol.164. – P.1653–1613.
192. *Ovarian* stimulation for IVF has no quantitative association with birthweight: a registry stud/ G. Griesinger, E.M. Kolibianakis, K. Diedrich [et al.] // Hum Reprod.- 2008 . Vol.23, N11. – P. 2549-2554.
193. *Owen C.* Imprinting disorders and assisted reproductive technology / C.Owen, J. Segars // Semin Reprod Med. – 2009. –Vol. 27, N5. – P. 417–428.
194. *PAI-1* 4G/5G polymorphism is associated with brain vessel reocclusion after successful fibrinolytic therapy in ischemic stroke patients / I. Fernandez-Cadenas, A. Del Rio-Espinola, M. Rubiera [et al.] // Int J Neurosci. – 2010. – Vol.120, N4. – P. 245-251.
195. *Parental* attitudes toward disclosure of the mode of conception to their child conceived by in vitro fertilization / C. Peters, X. Kantaris, J. Barnes [et al.] // Fertility and Sterility- 2005. – Vol. 83, N4. –P. 914-919.
196. *Perinatal* outcome of singletons and twins after assisted conception: a systematic review of controlled studies / F. Helmerhorst S. Perquin, D. Donker [et al.] // BMJ – 2004. – Vol. 328. – P. 261-265.
197. *Perinatal* outcome, health, growth, and medical care utilization of 5- to 8-year-old intracytoplasmic sperm injection singletons / M. Knoester, F.M. Helmerhorst, J.P. Vandenbroucke [et al.] // Fertil Steril. – 2008. – Vol. 89, N5. – P.1133-1146
198. *Perinatal* outcomes of twin births conceived using assisted reproduction technology: a population-based study/ S.L. Boulet, L.A. Schieve, A. Nannini [et al.] // Hum Reprod. – 2008. – Vol. 23, N8. – P. - 1941-1948.
199. *Perinatal* outcomes of singleton pregnancies achieved by in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis/ S.D. McDonald, K. Murphy, J. Beyene [et al.]// J Obstet Gynaecol Can. - 2005.- Vol.27, N5.- P.449-459.

200. *Pharmacogenetics* of oral anticoagulants: a basis for dose individualization / Clin Pharmacokinet. 2008. – Vol. 47, N9. – P.565-594
201. *Place I.* A prospective longitudinal study of the physical, psychomotor, and intellectual development of singleton children up to 5 years who were conceived by ICSI compared with children NC and by IFV/ I. Place, Y. Englert // Fertil Steril. – 2003. – Vol. 80, N6. – P. -1388-1397.
202. *Polymorphisms* of the endothelial nitric oxide synthase gene in placentas with intrauterine growth restriction (IUGR) / Bepalova O., Baranov V., Ivashchenko T., Tarasenko O. // Abstracts European human genetics conference. - Prague, Czech Republic, - 2005. - P.329-330
203. *Post-neonatal* hospitalization and health care costs among IVF children: a 7-year follow-up study / S.Koivurova, A.-L.Hartikainen, M.Gissler [et al.] // Human Reproduction – 2007. - Vol.22, N8. – P. 2136–2141.
204. *Prevalence* of asthma and other allergic diseases in children born after in vitro fertilization / F. Cetinkaya, S.A. Gelen, E Kervancioglu [et al.] // Allergol Immunopathol (Madr). – 2009. – Vol. 37. – P. 11-13.
205. *Reija K.* Health of children born as a result of in vitro fertilization/ K. Reija // Pediatrics – 2006. Vol. 118, N11. – P.1819-1827 .
206. *Relationships* in couples after failed IVF treatment: a prospective follow-up study / G. Sydsjo, K. Ekholm, M. Wadsby [et al.] // Human Reproduction – 2005. - Vol.20, N.7. – P. 1952–1957
207. *Sagoo G.* Systematic reviews of genetic association studies / G. Sagoo, J. Little, J. Higgins // PLoS Medicine. - 2009 . – Vol.6, N3. – P.28
208. *Screening* for inherited thrombophilia: indications and therapeutic implications / V. Stefano. Valerot, E. Rossi, K. Paciaroni K. G. Leone // Haematologica – 2002. - Vol. 87, N10. – P. 1095-1108.
209. *Serum* insulin-like growth factor-I (IGF-I) and growth in children born after assisted reproduction/ C.M. Kai, K.M. Main, A.N. Andersen [et al.] // J Clin Endocrinol Metab. – 2006. – Vol.91, N11. –P. 4352-4360.

210. *Simonneau G.* Nadroparin 0.3 mL Versus Enoxaparin 40 mg in the Prevention of Venous Thromboembolism in Abdominal Surgery for Colorectal Cancer: A Randomized Double-Blind Comparative Study/ G. Simonneau // Blood (ASH Annual Meeting Abstracts) - 2005.- Vol 106. P. 552
211. *Steel A.J.* Long-term health implications for children conceived by IVF/ICSI / A. J. Steel, A. Sutcliffe // Hum Reprod.- 2010. – Vol. 25,N1. –P. 244–252.
212. *Stella C.L.* Thrombophilia and adverse maternal-perinatal outcome: controversies in screening and management / C.L. Stella, H.Y. How, B.M. Sibai // Am J Perinatol. – 2006. –Vol.23, N8. – P. 499-506.
213. *Strawn E.Y.* Is it the patient or the IVF? Beckwith-Wiedemann syndrome in both spontaneous and assisted reproductive conceptions / E.Y. Strawn, D. Bick, A. Swanson // Fertil Steril.- 2010. – Vol. 23. – P.62
214. *Subclavian* vein thrombosis following IVF and ovarian hyperstimulation: a case report / A.Rao, U.Chitkara, A.Milki [et al.] // Human Reproduction – 2005. -Vol.20, N12. – P. 3307–3312
215. *The 894G>T* polymorphism association in the endothelial nitric oxide synthase gene with risk of acute myocardial infarction / G. Andrikopoulos, D.Grammatopoulos, S. Tzeis [et al.] // BMC Medical Genetics. -2008. - Vol.9. N43. – P.16-22.
216. *The 894G>T* variant in the endothelial nitric oxide synthase gene and spina bifida risk / I.J. van der Linden, S.G. Heil, M. den Heijer [et al.] // J Hum Genet. – 2007. –Vol. 52, N6. – P.516-520.
217. *The G20210A* prothrombin-gene mutation and the plasminogen activator inhibitor (PAI-1) 5G/5G genotype are associated with early onset of severe preeclampsia / A. Gerhardt, T.W. Goecke, M.W. Beckmann [et al.] // J Thromb Haemost - 2005. – Vol. 3. –P. 686-691.
218. *The groningen* ART cohort study: ovarian hyperstimulation and the in vitro procedure do not affect neurological outcome in infancy / K.J. Middelburg, M.J. Heineman, A.F. Bos [et al.] // Hum. Reprod. September – 2009. –Vol.10 - P.1093 – 1110.

219. *The links* between prenatal stress and offspring development and psychopathology: disentangling environmental and inherited influences / F. Rice, G. T. Harold, J. Boivin [et al.] // *Thapar Psychological Medicine* - 2010. – Vol. 40. – P. 335–345.
220. *The polymeal*: amore natural, safer, and probably tastier strategy to reduce cardiovascular disease by more than 75% / O.H. Franeo, L. Bounenx, C. de Lact [et. al.] // *Brit. Med. Journall.* —2004. —Vol.329. —P. 1447–1450.
221. *The risk* of malformation following assisted reproduction / H.Bertelsmann, H.Carvalho Gomes, M.Mund [et a1.] // *Dtsch Arztebl Int.* - 2008. – Vol.105, N1. – P. - 11–77.
222. *The role* of d-dimer as first marker of thrombophilia in women affected by sterility: implications in pathophysiology and diagnosis of thrombophilia induced sterility / P. Di Micco, M. D'Uva, I. Strina [et al.] // *Placido Journal of Translational Medicine* - 2004. – Vol.2 - P. 38 - 46.
223. *Thrombophilia* and unexplained pregnancy loss in Indian patients / S. Vora, S. Shetty, V. Salvi [et al.] // *Med J India.* – 2008. – Vol.21, N3. – P.116-119.
224. *Thrombophilia* in pregnancy: venous thromboembolism, fetal loss, preeclampsia, intrauterine growth restriction - *Hamostaseologie* – 2008. Vol. 28, N5. – P. 455-464.
225. *Thrombophilic* disorders and fetal loss: a meta-analysis / E. Rey, S.R. Kahn, M. David [et al.] // *Lancet* – 2003. – Vol. 361. –P. 901-908.
226. *Thrombotic* genetic risk factors and warfarin pharmacogenetic variants in São Miguel's healthy population (Azores) / C.C. Branco, T. Pereirinha, R. Cabral [et al.] // *Thromb J.* – 2009.- Vol.18. –P. 7 -9.
227. *Varga E.A.* Prothrombin 20210 Mutation (Factor II Mutation) / E.A. Varga, S. Moll // *Circulation* 2004. – Vol. 110. – P. 15-18
228. *Vayena E.* Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a WHO meeting / E. Vayena, P. Rowe, P.D. Griffin // Geneva, World Health Organization, 2002. [URL]: <http://www.who.com>. (дата обращения: 10.03.2011).

229. *Venous thromboembolism, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy* American college of chest physici, evidence-based clinical practice guidelines (8th Edition) / J.H. Bates, I.A. Greer, I. Pabinger [et al.] // Chest - 2008. –Vol.133 . –P. 844-886.
230. *Verso M.* Venous thromboembolism associated with long-term use of central venous catheters in cancer patients / M. Verso, G. Agnelli // J Clin Oncol. - 2003. – Vol.21. – P.3665–3675.
231. *Verspyck E.* Thrombophilies et pathologies vasculaires placentaires / E. Verspyck, L. Marpeau. // Revue de la litterature. La revue de medecine interne – 2005. - Vol. 103. -P.1-8.
232. *Vickaryous N.* The role of early embryonic environment on epigenotype and phenotype / N. Vickaryous, E. Whitelaw // Reproduction, Fertility and Development – 2005. - Vol 17. – P.1-6.
233. *Wagenaar K.* Cognitive and psychological functioning of adolescents born after IVF / K. Wagenaar – Amsterdam, 2009.- 148 p.
234. *Wagenaar K.* Information processing, attention and visual-motor function of adolescents born after in vitro fertilization compared with spontaneous conception / K. Wagenaar, M.M. van Weissenbruch, D.L. Knol // Human Reproduction – 2009. - Vol.24, N.4. - P. 913–921
235. *Weight* maternal cigarette smoking, metabolic gene, polymorphism, and infant birth weight / X. Wang; B. Zuckerman, C. Pearson [et al.] // JAMA - 2002. –Vol. 287, N2. – P.195-202
236. *Whitelaw N.C.* How lifetimes shape epigenotype both within and across generations / N.C. Whitelaw, E. Whitelaw // Human Molecular Genetics – 2006. – Vol. 1. – P. 131-137
237. *Wright C.* Evaluation of genetic tests for susceptibility to common complex diseases: why, when and how? / C. Wright , M. Kroese // Human Genetics.- 2010. – Vol. 127, N2. – P.- 125-134

238. *Zimmern R.* Genomic medicine: the future is now. Lessons for Hong Kong from the House of Lords Report on Genomic Medicine / R. Zimmern // Hong Kong Medical Journal. – 2009. – Vol.15, N5. – P. 324-325
239. *Zygmunt M.* ART and prenatal programming/ M. Zygmunt // Materials of the Berlin international symposium «Perinatal programming «The state of the art». – Berlin, March 04-06, 2010 – P.51

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение

Консультативное наблюдение специалистов и методы обследования детей, рожденных при помощи вспомогательных репродуктивных технологий

Специалисты, методы обследования	1 мес	2 мес	3 мес	4 мес	5 мес	6 мес	7 мес	8 мес	9 мес	10 мес	11 мес	12 мес
Педиатр	+д	+д	+д	+	+	+д	п/п		+д	п/п		+д
Невролог	+д	+	+д	+	+	+д	п/п		+д	п/п		+д
Офтальмолог	+д	+	+	+	+	+			+			+д
Хирург	+д		+д	п/п					+д			+д
Ортопед	+д	+			+			+				+д
Иммунолог		+д	п/п									
ЛОР-врач			+									+д
Сурдолог				+								+д
Логопед	п/п											+д
Психолог	+											+д
Врач ЛФК			+			+			+			+д
Стоматолог									+д			+д
ОАК		+д	+д	+	+	+	п/п					+д
ОАМ			+д	п/п								+д
Биохимия	п/п											+д
УЗИ, в том числе:												
- головного мозга	+д		+		+	п/п						
- органов брюшной полости	+д	+	п/п									+д
- тазобедренных суставов	+д	п/п										
- сердца	п/п											
ЭКГ	+д	п/п										+д
Генетические полиморфизмы тромбофилии, нарушений фолатного цикла и эндотелиальной дисфункции (семьям с СПП)	+д											
Гемостазиограмма (детям высокой группы риска по реализации МФЗ)	+д	п/п										+д