

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

# акушерство и ГИНЕКОЛОГИЯ



## 11 /2013

- Паукер В.А., Шмаков Р.Г.  
Онкологические заболевания и беременность
- Гомболевская Н.А.,  
Бурменская О.В., Демура Т.А.,  
Марченко Л.А., Коган Е.А.,  
Трофимов Д.Ю., Сухих Г.Т.  
Оценка экспрессии мРНК генов  
цитокинов в эндометрии при хро-  
ническом эндометрите
- Федорова Е.В., Кирсанова Т.В.,  
Клименченко Н.И. Системная  
красная волчанка и вторичный  
антифосфолипидный синдром

---

Scientifically-practical magazine **AND**  
**OBSTETRICS**  
**GYNECOLOGY**

- Paucker W.A., Shmakov R.G.  
Cancer and pregnancy
- Gombolevskaya N.A.,  
Burmenskaya O.V., Demura T.A.,  
Marchenko L.A., Kogan E.A.,  
Trofimov D.Yu., Sukhikh G.T.  
Estimation of the mRNA expression of  
cytokine genes in the endometrium  
in chronic endometritis
- Fedorova E.V., Kirsanova T.V.,  
Klimenchenko N.I. Systemic lupus  
erythematosus and secondary  
antiphospholipid syndrome

© Коллектив авторов, 2013

М.Г. ШНЕЙДЕРМАН<sup>1</sup>, И.А. АПОЛИХИНА<sup>1,2</sup>, Е.А. КАЛИНИНА<sup>1</sup>,  
А.Н. АБУБАКИРОВ<sup>1</sup>, Н.Г. МИШИНОВА<sup>1</sup>, К.У. АЛИЕВА<sup>1</sup>, А.Г. БУРДУЛИ<sup>1</sup>,  
А.А. АКСЕНЕНКО<sup>1</sup>, В.А. ЗАМЯТИНА<sup>1</sup>, М.А. ВЕЮКОВА<sup>1</sup>, И.В. УШАКОВА<sup>1</sup>

## НОВОЕ ОБ ИМПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНА В ЭНДОМЕТРИЙ

<sup>1</sup>ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии  
им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, Москва  
<sup>2</sup>ФППОВ ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. Сеченова Минздрава России

*Успешное оплодотворение in vitro и перенос эмбрионов в полость матки не всегда заканчивается наступлением желанной беременности. Поиски новых методов повышения эффективности ЭКО проходят в основном в русле высоких технологий. Однако нередко успех проводимых медицинских исследований и манипуляций зависит не только от применения высоких технологий, но и от простых методов и методик, которые также имеют право на изучение и применение в практике.*

*Нами разработан и испытывается новый способ повышения возможности удачной имплантации эмбриона к эндометрию (патент на изобретение № 2444315) и имплантатор эмбрионов (патент на полезную модель № 106521). По нашей методике технический результат «повышение возможности имплантации blastоцисты к эндометрию» достигается за счет создания минимального воздушного давления в полости матки с помощью газовой смеси (CO<sub>2</sub>+N), благодаря чему осуществляется теснейшее соприкосновение и «слипание» blastоцисты с эндометрием и последующая имплантация. На первоначальном этапе исследования нам представлялось весьма интересным проверить влияние газовой смеси, состоящей из углекислого газа (6%) и азота (94%), на жизнеспособность ооцитов. С этой целью мы исследовали незрелые ооциты 30 пациенток, непригодные для оплодотворения и подлежащие утилизации. По результатам исследования во всех случаях после воздействия газовой смеси CO<sub>2</sub>+N жизнеспособность ооцитов не изменилась. Параллельно с этим мы проверили влияние газовой смеси (CO<sub>2</sub>+N) на подвижность и жизнеспособность сперматозоидов. Нами было установлено, что суммарная подвижность (a+v%) прогрессивно быстрых и прогрессивно медленных сперматозоидов и жизнеспособность сперматозоидов в образцах эякулята, инкубируемого в термостате в среде IVF с добавлением экспериментальной газовой смеси (CO<sub>2</sub>+N), увеличивается соответственно на 8,3 и 7,3% по сравнению с образцами, инкубируемыми в тех же условиях, но без добавления экспериментальной газовой смеси (5,5 и 3,7%).*

**Ключевые слова:** ЭКО, сперматозоиды, имплантация, углекислый газ, азот.

### Сведения об авторах:

- Шнейдерман Михаил Григорьевич, кандидат медицинских наук, акушер-гинеколог гинекологического отделения восстановительного лечения ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России  
Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (926) 245-05-51. E-mail: innamike@lmi.net
- Апалыхина Инна Анатольевна, доктор медицинских наук, руководитель гинекологического отделения восстановительного лечения и дневного стационара ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, профессор кафедры акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии ФППОВ ПМГМУ им. И.М. Сеченова  
Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (495) 735-10-55. E-mail: apolikhina@inbox.ru
- Калинина Елена Анатольевна, доктор медицинских наук, руководитель отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России  
Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (495) 438-26-22. E-mail: e.kalinina@oparina4.ru
- Абубакиров Айдар Назимович, кандидат медицинских наук, руководитель I-го гинекологического отделения ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России  
Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (916) 552-49-91. E-mail: nondoc555@yahoo.ru
- Мишшова Нонна Говдовна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник I-го гинекологического отделения ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России  
Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (910) 424-41-97. E-mail: nondoc555@mail.ru
- Алиева Камилла Уллубиевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России  
Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (495) 438-26-22. E-mail: kaza79@inbox.ru
- Бурдули Анна Георгиевна, кандидат медицинских наук, акушер-гинеколог ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России  
Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (495) 438-26-22. E-mail: bourdouli-anna@yandex.ru
- Аксененко Артем Анатольевич, акушер-гинеколог отделения сохранения и восстановления репродуктивной функции ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России  
Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (495) 438-26-22. E-mail: a\_axenenko@oparina4.ru
- Замятина Виктория Александровна, кандидат биологических наук, научный сотрудник ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России  
Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (495) 438-26-22. E-mail: velister@yandex.ru
- Веюкова Мария Александровна, кандидат биологических наук, старший эмбриолог отделения сохранения и восстановления репродуктивной функции ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России  
Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (495) 438-26-22. E-mail: veymary@gmail.com
- Ушакова Ирина Вячеславовна, кандидат биологических наук, эмбриолог I-го гинекологического отделения ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России  
Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (495) 438-26-22. E-mail: irisun07@mail.ru

M.G. SHNEIDERMAN<sup>1</sup>, I.A. APOLIKHINA<sup>1,2</sup>, E.A. KALININA<sup>1</sup>,  
A.N. ABUBAKIROV<sup>1</sup>, N.G. MISHIEVA<sup>1</sup>, K.U. ALIEVA<sup>1</sup>, A.G. BURDULI<sup>1</sup>,  
A.A. AKSENEKO<sup>1</sup>, V.A. ZAMYATNINA<sup>1</sup>, M.A. VEYUKOVA<sup>1</sup>, I.V. USHAKOVA<sup>1</sup>

### NOVELTY ABOUT EMBRYO IMPLANTATION INTO THE UTERINE ENDOTHELIUM

<sup>1</sup>Acad. V.I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow  
<sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia

*Successful in vitro fertilization (IVF) and embryo transfer into the uterine cavity do not always result in desired pregnancy. Novel methods for enhancing the efficiency of IVF are mainly sought among high technologies. However, the success of ongoing medical studies and maneuvers frequently depends not only on the application of high technologies, but also on that of simple methods and procedures, which are to be studied and used in practice. The authors developed and tested a new procedure to increase the possibility of successful embryo implantation to the uterine cavity (patent for invention No. 2444315) and an embryo implanter (patent for useful model No. 106521). According to the authors' procedure, the technical result in improving the implantation of blastocysts to the endometrium is achieved by creating the minimal air pressure in the uterine cavity by means of a gas mixture (CO<sub>2</sub> + N), which gives rise to the closest contact with and adhesion of blastocysts to the endometrium, and to subsequent implantation. In the initial phase of the investigation, it was very interesting for the authors to test the effect of a gas mixture of 6% CO<sub>2</sub> and 94% N on oocyte viability. For this, the immature oocytes of 30 patients, which were unfit for fertilization and should be disposed, were examined. The findings showed that the viability of oocytes exposed to the gas mixture of CO<sub>2</sub> and N remained unchanged in all cases. The gas mixture was concurrently examined for its effect on sperm motility and viability. The total motility (a + b%) of fast progressive and slow progressively spermatozooids in the ejaculate samples incubated in IVF medium in a thermostat, by adding the experimental gas mixture (CO<sub>2</sub> + N) was ascertained to increase by 8.3 and 7.3%, respectively, as compared in the samples incubated under the same conditions, but without adding the gas mixture 5.5 and 3.7%.*

**Key words:** *in vitro fertilization, spermatozooids, implantation, carbon dioxide, nitrogen.*

Успешное оплодотворение *in vitro* и перенос эмбрионов в полость матки не всегда заканчивается наступлением желанной беременности. Эффективность метода ЭКО достаточно высока и достигает 31,5% наступления беременности в расчете на цикл [1]. В ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России этот показатель достигает 35%. Однако большое количество неудач заставляет исследователей все глубже изучать эту проблему и искать новые методики в применении ЭКО. Поиски новых способов повышения эффективности ЭКО проходят в основном в русле высоких технологий и ориентируются на такие факторы, как состояние эндометрия, число переносимых эмбрионов, перенос эмбрионов на стадии дробления или на стадии бластоцисты. Рассматриваются эффективность и недостатки двойного переноса эмбрионов [2, 3]. Углубленно изучается роль иммунологических и генетических факторов [4]. Анализируется эффективность применения питательной среды Embryo Gen, рекламируемой австралийскими и датскими учеными. По данным I. Bar-Nava, H. Krissi, J. Ashkenazi, применение фибринового клея повышает частоту наступления беременности [5]. Успех имплантации во многом зависит от синхронности обмена сигнальными молекулами между матерью и эмбрионом в ходе «диалога», который характеризуется интенсивными молекулярными взаимодействиями между клетками и тканями, экспрессией молекул адгезии, факторов роста и цитокинов, осуществляющих паракринную, аутокринную и интракринную регуляцию столь сложного процесса [6].

Однако нередко успех проводимых медицинских исследований и манипуляций зависит не только от применения высоких технологий, но и от простых методов и методик, которые также имеют право на изучение и применение в практике [5]. Так, например, в мировой литературе редко отмечается такой важный фактор, как первоначальное тесное механическое «слипание» бластоцисты с эндометрием для последующей имплантации. В связи с этим идея о повышении возможности удачной имплантации путем «прижатия» эмбриона к преградившему эндометрию является актуальной и своевременной.

В ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России разработан и испытывается новый способ повышения возможности удачной имплантации эмбриона к эндометрию (патент на изобретение № 2444315) и имплантатор эмбрионов (патент на полезную модель № 106521). По нашей методике технический результат «повышение возможности имплантации бластоцисты к эндометрию» достигается за счет создания минимального воздушного давления в полости матки, благодаря чему осуществляется теснейшее соприкосновение и «слипание» бластоцисты с эндометрием и последующая адгезия и имплантация. Практически это происходит следующим образом: после переноса бластоцисты в полость матки через специально сконструированный катетер с шестью микроскопическими отверстиями на боковых поверхностях его дистального отдела в полость матки вводится под строго определенным давлением (1,3 атм.)

дозированная воздушная смесь (углекислый газ и азот ( $\text{CO}_2 + \text{N}$ )), которая, заполняя полость матки, создает в ней минимальное давление. Благодаря этому происходит легкое «придавливание» бластоцисты к эндометрию матки с образованием тесного контакта между этими структурами. Тем самым создаются условия для повышения возможности удачной адгезии и имплантации. Сам имплантатор представляет собой одноразовый баллончик со сжатой дозированной стерильной смесью (углекислый газ и азот) и вышеописанный одноразовый стерильный силиконовый катетер.

Планируемая дополнительная процедура имплантации эмбриона безопасна, так как при этом используются всегда применяемые при проведении ЭКО проводник и катетер, а состав газовой смеси состоит из ингредиентов, применяемых для культивирования эмбрионов ( $\text{CO}_2$  – 6% и  $\text{N}$  – 94%) и является благоприятной средой для развития эмбриона (рис. 1).

Имплантация эмбриона проходит три известные стадии: опозицию, адгезию бластоцисты (это цепь биохимических реакций, ведущих к ее прикреплению к эндометрию) и инвазию. Как регулируется и осуществляется имплантация, остается загадкой, поэтому исследования в области имплантации представляют большой интерес, так как именно имплантация является одним из основных факторов, ограничивающих эффективность ЭКО.

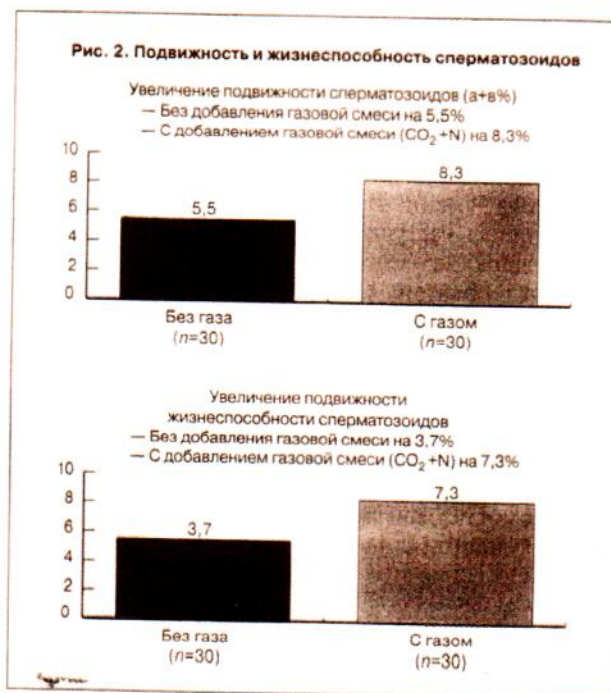
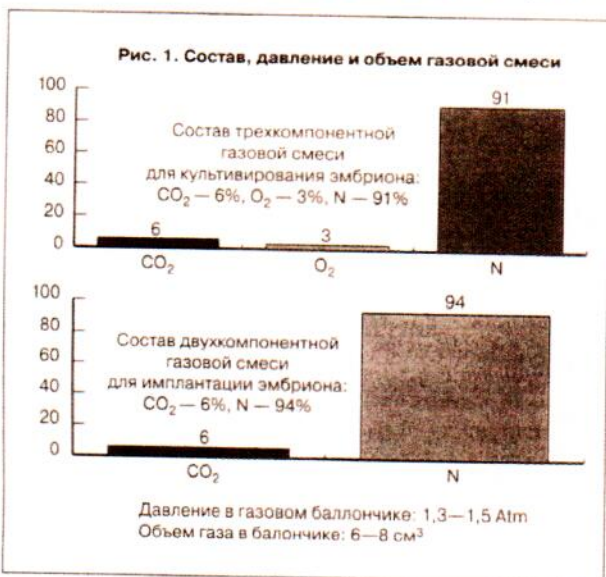
На первоначальном этапе исследования нам представлялось весьма интересным проверить влияние газовой смеси, состоящей из углекислого газа (6%) и азота (94%) на жизнеспособность ооцитов. С этой целью мы исследовали незрелые ооциты 30 пациенток (с их информированного согласия), непригодные для оплодотворения и подлежащие утилизации. По результатам исследования во всех случаях после воздействия газовой смеси  $\text{CO}_2 + \text{N}$  жизнеспособность ооцитов не изменилась. Параллельно с этим мы проверяли влияние газовой смеси ( $\text{CO}_2 + \text{N}$ ) на подвижность и жизнеспособность сперматозоидов. С этой целью мы исследовали сперматозоиды из эякулята 30 пациентов, полученного путем мастурбации в стерильный контейнер после периода воздержания

минимум в течение 48 ч. Образцы спермы получены от доноров-добровольцев (с их информированного согласия). Обработка исходного эякулята для получения контрольного и опытного образцов проводилась в спермальном градиенте (sperm Gradient Kit Cook) и гаметном буфере (Sydney IVF Gamete Buffer Cook) путем двукратного центрифугирования (9 мин при 1900g и 8 мин при 1600g соответственно) с последующим сливанием супернатанта. Культивировали образцы в стандартных 4 луночных чашках в термостате (37C) с подачей газа  $\text{CO}_2$  (6%) +  $\text{N}$  (94%) в среде IVF (Sydney IVF Fertilization medium Cook) в течение 16–18 ч.

В чашки с опытными образцами подача экспериментальной газовой смеси  $\text{CO}_2$  (6%) +  $\text{N}$  (94%) производилась путем впрыскивания из герметичного баллончика с подсоединенным к нему специальным катетером. После впрыскивания чашки быстро закрывали парафином и помещали в термостат. Оценка эякулята проводилась в камере Горяева и Маклера через 16–18 ч после начала эксперимента.

Нами было установлено (рис. 2), что суммарная подвижность (a+v%) прогрессивно быстрых и прогрессивно медленных сперматозоидов и жизнеспособность сперматозоидов в образцах эякулята, инкубируемого в термостате в среде IVF с добавлением экспериментальной газовой смеси ( $\text{CO}_2 + \text{N}$ ), увеличивается соответственно на 8,3 и 7,3% по сравнению с образцами, инкубируемыми в тех же условиях, но без добавления экспериментальной газовой смеси (5,5 и 3,7%). Можно предположить, что используемая нами газовая смесь оказывает влияние на работу митохондрий в митохондриальной спирали, расположенной в аксонеме сперматозоида.

Однако для проверки этой гипотезы необходимы дальнейшие исследования в этой области с привлечением методов современной молекулярной биологии и электронной микроскопии.



Полученные нами результаты после дальнейшей проработки и получения ответов на поставленные вопросы могут быть использованы для «реанимации» сперматозоидов у пациентов с тяжелыми формами астеноспермии, повышения активности сперматозоидов после процедуры криоконсервации, а также для увеличения подвижности сперматозоидов, полученных путем биопсии придатков и яичек при азооспермии (TESA, PESA) [7].

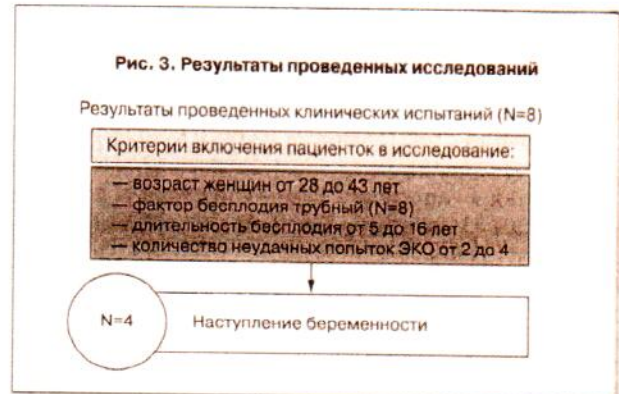
После проведения исследования по влиянию газовой смеси на ооциты и сперматозоиды мы убедились в ее благоприятном воздействии на гаметы человека, что позволило нам перейти к изучению возможности применения нашего метода при переносе blastocисты [8].

Применяемая нами методика весьма проста, безболезненна и не требует сложных технических устройств.

На первом этапе перенос blastocисты в полость матки производится традиционным методом через катетер Cook под ультразвуковым контролем. Затем, убедившись в правильном расположении blastocисты, не извлекая проводник из цервикального канала, проводят удаление катетера Cook. На втором этапе через оставшийся в цервикальном канале проводник вводится специально сконструированный катетер для доставки газовой смеси (N и CO<sub>2</sub>), соединенный с газовым баллончиком. При однократном, кратковременном нажатии на головку баллончика газовая смесь в объеме 5–6 см<sup>3</sup> поступает в полость матки и создает в ней заданное давление (1,3 атм.). После этого процедура заканчивается, проводник и катетер извлекаются. Под действием минимального давления blastocиста плотнее прижимается к прегравидарному эндометрию, что и требуется для повышения возможности адгезии и последующей инвазии [9]. Кроме этого, смесь CO<sub>2</sub> и N оказывает благоприятное воздействие не только на blastocисту, перенесенную из культуральной среды в воздушную среду полости матки, но и на эндометрий, усиливая в нем кровообращение и окислительно-восстановительные процессы. За последний год было проведено 8 исследований с применением новой технологии. Исследования проводились в рамках «критерия включения», определенного решением Комиссии по этике биомедицинских исследований при ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России. Из 8 проведенных исследований 4 закончились наступлением беременности (рис. 3).

Количество проведенных исследований не позволяет пока провести статистическую обработку данных, но предварительные результаты дают надежду на успешное повышение результативности наступления беременности в программе ЭКО и требуют продолжения исследований.

По мнению специалистов, сложно однозначно объяснить, что будет определяющим в усилении эффекта имплантации blastocисты в эндометрий матки при воздействии газовой смеси. В одних случаях это может быть результатом создания давления в полости матки и плотного прижатия blastocисты к эндометрию с усилением процесса адгезии. В других случаях – благоприятное влияние углекислого газа и азота на blastocисту и прегравидарный эндометрий. Вполне возможно и сочетание обоих факторов. Несомненно одно –



применение новой методики важно и актуально и требует дополнительных исследований с привлечением специалистов различного профиля.

## Литература

1. Яковенко Е.М., Яковенко С.А. Современные методы преодоления бесплодия. М.: Миклош; 2010: 197–8.
2. Карамызова Т.С., Разина О.Ю. Эффективность двойного переноса эмбрионов. Проблемы репродукции. 2006; 3: 37–9.
3. Ashkenazi J., Yoeli R., Orvieto R., Shalev J., Ben-Rafael Z., Bar-Hava I. Double (consecutive) transfer of early embryos and blastocysts: aims and results. Fertil. Steril. 2000; 74(5): 936–40.
4. Келлэт Е.П., Корнеева И.Е., Шуришалина А.В. Бесплодие неясного генеза: фокус современных научных исследований (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2010; 1: 32–5.
5. Bar-Hava I., Krissi H., Ashkenazi J., Orvieto R., Shelef M., Ben-Rafael Z. Fibrin glue improves pregnancy rates in women of advanced reproductive age and in patients in whom in vitro fertilization attempts repeatedly fail. Fertil. Steril. 1999; 71(5): 821–4.
6. Амирова А.А., Назаренко Т.А., Мишинева Н.Г. Факторы, влияющие на исходы ЭКО (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2010; 1: 68–74.
7. Божedomов В.А., Громенко Д.С., Ушакова И.В., Торопцева М.В., Галимов Ш.Н., Александрова Л.А., Теодорович О.В., Сухих Г.Т. Оксидативный стресс сперматозоидов в патогенезе мужского бесплодия. Урология. 2009; 2: 51–6.
8. Шнейдерман М.Г., Аполихина И.А., Калинина Е.А., Замятникова В.А., Бурдули А.Г., Колесников Л.Л. Повышение эффективности программы ЭКО и активизация подвижности сперматозоидов путем использования газовой смеси (CO<sub>2</sub>+N). В кн.: Материалы 26-го Международного конгресса с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний». Москва, 10–13 июня 2013 года. М.; 2013: 230–1.
9. Шнейдерман М.Г., Аполихина И.А., Калинина Е.А., Абубакаров А.Н., Мишинева Н.Г., Алиева К.У., Аксененко А.А., Замятникова В.А., Веюкова М.А., Бурдули А.Г., Ушакова И.В. Новый подход к проблеме имплантации эмбриона в эндометрий матки. В кн.: Материалы 26-го Международного конгресса с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний». Москва, 10–13 июня 2013 года. М.; 2013: 138–41.