

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ**

На правах рукописи

ОЧАН АННА СЕРГЕЕВНА

Плазмаферез в подготовке женщин с трубно-перитонеальным бесплодием к проведению программы экстракорпорального оплодотворения и переносу эмбрионов в полость матки

14.00.01 - акушерство и гинекология

*Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук*

Москва – 2003

Работа выполнена в отделении гравитационной хирургии крови и лаборатории клинической эмбриологии Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН

Научные руководители:

доктор медицинских наук
доктор медицинских наук

Т.А. Федорова
Л.Н. Кузьмичев

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук
доктор медицинских наук

П.А. Кирющенко
С.Г. Цахилова

Ведущее учреждение: Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии

Защита диссертации состоится «___» _____ 2003г. в ___ часов на заседании диссертационного совета К001.053.01 при Научном центре акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН по адресу: 117997, г.Москва, ул. Академика Опарина, д.4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН.

Автореферат диссертации разослан «___» _____ 2003г.

Ученый секретарь диссертационного совета:

доктор медицинских наук

Е.А. Калинина

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

а-Гл - агонисты гонадолиберина
АВР - активированное время рекальцификации
АТIII - антитромбин III
АФА - антифосфолипидные антитела
АЧТВ - активированное частичное тромбопластиновое время
ВА - волчаночный антикоагулянт
ВПГ - вирус простого герпеса
ВСК - внутрисосудистое свертывание крови
ДВС - диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови
ПА - плазмаферез
ПЦР – цепная полимеразная реакция
ПЭ - перенос эмбриона
РКМФ - растворимые комплексы мономеров фибрина
СГЯ - синдром гиперстимуляции яичников
ТАТ - тромбин-антитромбин III
ТПБ - трубно-перитонеальное бесплодие
ТЭГ - тромбоэластография
ФСГ - фолликулостимулирующий гормон
ХГ - хорионический гонадотропин
ЧМГ – человеческий менопаузальный гонадотропин
ЧХГ - человеческий хорионический гонадотропин
ЦМВ - цитомегаловирус
ЭКО - экстракорпоральное оплодотворение
FVIII:Rco – ристоцетин – кофактор фактора Виллебранда
РАI - ингибитор активатора плазминогена
RF4 - антигепариновый (пластиночный) фактор тромбоцитов 4
Ig - иммуноглобулин
РС – протеин С
Тг - тромбоциты

Общая характеристика работы

Актуальность проблемы

Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) с последующим переносом эмбрионов (ПЭ) в полость матки прочно вошло в медицинскую практику как признанный метод лечения бесплодия. Эффективность терапии бесплодия при помощи современных репродуктивных технологий достигла в лучших медицинских центрах мира 30-40% в расчете на одну попытку (Европейское общество репродукции человека и эмбриологии (ESHRE), 2000). Из литературных данных известно, что наиболее часто встречаемым является трубно-перитонеальное бесплодие вследствие хронических воспалительных заболеваний внутренних половых органов (Овсянникова Т.В., 1995; Назаренко Т.А., 1998; Корнеева И.Е., 2003). Многочисленные исследования указывают на то, что воспалительный процесс приводит не только к спайкообразованию, но и вызывают полисистемные изменения в организме (Давыдовский И. В., 1969; Иванюта Л.И., 1992; Федорова Т.А., 1996; Самсонов Н.Н., 2002). Так, снижение иммунорезистентности, циркуляция патологических аутоантител, эндоинтоксикация оказывают существенное негативное влияние на результаты проведения программы ЭКО и, в дальнейшем, на течение беременности. Особая роль отводится повышению коагуляционного потенциала крови у данного контингента больных, наиболее часто протекающее по типу хронической формы синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС). Это приобретает особое значение в связи с тем, что гормональная стимуляция суперовуляции при проведении программы ЭКО является мощным активирующим фактором запуска процесса патологического микротромбообразования в условиях уже имеющегося гиперкоагуляционного сдвига. Наличие недиагностированных процессов активации внутрисосудистого свертывания крови (ВСК) перед проведением программы является предрасполагающим фактором развития таких осложнения, как синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ), невынашивание беременности, гестоз,

плацентарная недостаточность, в патогенезе которых важным звеном является хронический ДВС-синдром.

Актуальность проблемы обусловлена еще и тем, что в настоящее время широко используются схемы стимуляции суперовуляции с применением агонистов и антагонистов гонадолиберина (аГл), позволяющие достичь наступления беременности у женщин с данной формой бесплодия в 40-50% случаях проведения программы (River J., 2001; Киндарова Л.Б., 2001; Смольникова В.Ю., 2002; Калинина Е.А., 2002). Пропорционально повышению эффективности ЭКО, увеличивается риск возникновения СГЯ и потери беременности. В связи с этим представляется необходимым вести поиск методов, позволяющих нивелировать возможные причины неэффективности ЭКО и снизить риск осложнений при проведении программы и дальнейшего течения беременности. Эффективным способом реабилитации данной группы больных видится применение лечебного плазмафереза (ПА), который, благодаря детоксикационному, рео- и иммунокорригирующим эффектам, оказывает существенное влияние на патогенетические факторы, препятствующие успешному проведению программы ЭКО, а так же позволит существенно снизить медикаментозную нагрузку на организм в процессе коррекции выявленных нарушений.

Исходя из вышесказанного, **целью работы** явилось повышение эффективности ЭКО и ПЭ у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием путем проведения подготовки к программе с использованием плазмафереза.

Для осуществления поставленной цели были сформулированы следующие **задачи исследования:**

1. Выявить особенности состояния системы гемостаза у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием и определить их роль в структуре факторов, снижающих эффективность программы ЭКО.
2. Изучить возможности выявления маркеров ранней активации ВСК (антигепаринового фактора тромбоцитов (PF4) и комплекса тромбин-

антитромбин III (ТАТ) для прогнозирования гемостазиологических нарушений в процессе подготовки и проведения ЭКО и ПЭ у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием.

3. Оптимизировать методику проведения ПА при подготовке к ЭКО и ПЭ у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием.
4. Проанализировать частоту наступления беременности, возникновения осложнений и репродуктивных потерь при проведении ЭКО и ПЭ в группах исследования.
5. Проанализировать течение беременности и исходы родов в группах исследования.

Научная новизна

В результате проведенного исследования впервые показана целесообразность проведения ПА с целью подготовки к ЭКО и ПЭ.

Впервые изучены возможности выявления ранних маркеров активации ВСК у больных с трубно-перитонеальным бесплодием и определена их прогностическая значимость. При помощи прижизненной компьютерной фазометрии были изучены морфофункциональные особенности тромбоцитов у женщин с данной формой бесплодия, выявлены и оценены их изменения под влиянием ПА.

Практическая значимость

В результате проведенного исследования разработана методика подготовки женщин с трубно-перитонеальным бесплодием к проведению программы ЭКО, позволяющая достигнуть высокого процента наступления беременности, существенного снижения риска возникновения СГЯ и репродуктивных потерь. Внедрен в практику ряд практических рекомендаций по наиболее оптимальному использованию данной методики.

Определена возможность использования ранних маркеров активации ВСК для гемостазиологического скрининга нарушений в процессе подготовки и проведения ЭКО и ПЭ, что дает возможность своевременно проводить

лечебные мероприятия и контролировать их эффективность, что в результате позволяет повысить эффективность терапии бесплодия.

Обоснована возможность использования морфометрического исследования тромбоцитов с перспективой создания экспресс-метода диагностики состояния клеточного звена гемостаза.

Внедрение результатов работы

Основные результаты проведенной работы внедрены в практическую деятельность отделения гравитационной хирургии крови и лаборатории клинической эмбриологии НЦ АГ и П РАМН.

Положения диссертации, выносимые на защиту:

1. У женщин с трубно-перитонеальным бесплодием в 70,5% случаев имеется суперкомпенсированная форма хронического ДВС-синдрома, проявляющаяся тромбинемией, повышением субстратов и кофакторов свертывания и относительной тромбоцитопатией потребления в результате хронической активации и изменения морфофункциональных свойств тромбоцитов.
2. Проведение ПА с целью подготовки женщин с трубно-перитонеальным бесплодием к ЭКО и ПЭ позволяет нормализовать состояние системы гемостаза перед проведением программы и существенно снизить активирующее влияние стероидных гормонов на систему свертывания крови в процессе проведения стимуляции суперовуляции.
3. Проведение подготовки женщин с трубно-перитонеальным бесплодием к ЭКО и ПЭ с использованием ПА позволяет повысить эффективность и безопасность проведения программы за счет высокой частоты наступления беременности, снижения частоты репродуктивных потерь и СГЯ.

Апробация работы

Основные положения и результаты исследования представлены и

обсуждены на межклинической конференции (27.12.2001г.) и заседании апробационной комиссии НЦ АГ и П РАМН (1.07.2003г.).

Материалы диссертации доложены и обсуждены на X конференции Московского общества гемафереза, 2002г., на семинаре «Новые технологии в акушерстве, гинекологии и неонатологии (эфферентные и квантовые методы терапии), 2002г. и международном конгрессе «Профилактика, диагностика и лечение гинекологических заболеваний», 2003г.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, 4 глав, выводов и практических рекомендаций, изложена на 138 страницах машинописного текста, включает 21 таблицу и 15 рисунков. Указатель использованной литературы содержит 173 работы, в том числе 127 отечественных и 46 работ иностранных авторов.

Содержание работы

Материалы и методы исследования

Было обследовано 112 женщин с верифицированным диагнозом трубно-перитонеального бесплодия, обратившихся в НЦ АГ и П РАМН для подготовки и проведения ЭКО и ПЭ. Больные были разделены две группы исследования.

Первую (основную) группу составили 62 пациентки в возрасте от 22 до 40 лет, которым после предварительного обследования в программу подготовки к ЭКО были включены сеансы лечебного плазмафереза (3-хкратно через день), после которых, в течение 1-2 месяцев проводилось ЭКО и ПЭ. При выявлении активации вирусной инфекции после окончания курса ПА проводилась иммуноглобулинотерапия.

Вторую (сравнительную) группу - 50 женщин, в возрасте от 22 до 40 лет, подготовка которых к ЭКО и ПЭ осуществлялась по общепринятым методикам (лечение активации вирусно-бактериальной инфекции назначением антибактериальной, специфической противовирусной терапии, иммуноглобулинотерапии и иммуномодуляторов, коррекция

гемостазиологических нарушений антиагрегантами и антикоагулянтами прямого действия, подавление аутоиммунных процессов кортикостероидными препаратами, метаболическая терапия с целью устранения энергетических нарушений и гистотоксической гипоксии).

Основными критериями отбора являлись:

- трубно-перитонеальное бесплодие, подтвержденное данными лапароскопического и гистеросальпингографического исследований;
- отсутствие других причин бесплодия: эндокринного бесплодия, эндометриоза, патологии шейки матки и цервикального фактора бесплодия, опухолей различной этиологии, гиперпластических процессов эндометрия, сочетанного мужского и женского бесплодия;
- наличие в анамнезе 1-3-х неудачных попыток ЭКО и ПЭ;
- отсутствие тяжелой формы герпетической инфекции (обострения не чаще 1 раза в 4 месяца);
- отсутствие тяжелой экстрагенитальной патологии;
- возраст до 40 лет.

Для проведения данного исследования были использованы следующие **методы исследования:**

1. Общие клинические методы исследования: сбор анамнестических данных, общий и гинекологический осмотр, тесты функциональной диагностики, клинический анализ крови, биохимический анализ крови, исследование крови на наличие ВИЧ, гепатитов В и С, сифилиса.

2. Лабораторно-инструментальные методы исследования:

а) Исследование инфекционного статуса

- Определение антител М и G к антигенам цитомегаловируса (ЦМВ) и вируса простого герпеса (ВПГ) I и II типа в плазме крови проводили при помощи стандартных иммуноферментных наборов «Abbot» (США).

- Исследование специфической урогенитальной бактериальной инфекции (уреаплазма, микоплазма, хламидии) в цервикальной слизи проводили при помощи ПЦР-диагностики и культуральных методов исследования.

б) Гемостазиологические методы исследования

Исследование системы гемостаза проводилось всем больным до и после лечения в рамках подготовки к программе ЭКО: в 1-й группе до и после проведения ПА, во 2-й - до и после медикаментозной коррекции выявленных нарушений. Далее, в процессе проведения программы ЭКО исследования проводились на пике стимуляции овуляции (день пункции яичников), спустя 14 дней (период раннего эмбриогенеза) и, в случае наступления беременности, при сроке 3-4 недели гестации.

Методы исследования плазменного звена свертывания крови:

Определение протромбинового индекса (ПИ), активированного времени рекальцификации (АВР), активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), концентрации фибриногена производилось на автоматическом анализаторе «Behring Coagulation Timer» (Германия) хромогенными и клоттинговыми методами.

Исследование общей свертываемости крови:

Тромбоэластография цельной крови (ТЭГ) проводилась на тромбоэластографе фирмы «Hellige» (Германия). Оценивались параметры хронометрической (r+k) и структурной (ma, И.Т.П.) коагуляции.

Методы оценки внутрисосудистого тромбообразования:

- РКМФ (орто-фенантролиновый по Елыкомову и Момоту, этаноловый по Godal и Abildgaard и протаминасульфатный тесты по Niewearowski и Gurevich)
- Д-димер (наборы «DADE», США)
- Определение неактивного комплекса тромбин-антитромбин III (ТАТ), производили иммуноферментным методом на спектрофотометре «Behring

Eliza-photometer» с помощью набора «Enzygnost-TAT» («Behringwerke», Германия).

- Содержание антигена фактора Виллебранда (FV VIII:Ag) и активность фактора Виллебранда определяли с помощью метода иммунодиффузии по Mancini с использованием стандартных пластинок «LC – Partigen» и наборов «von Willebrand reagent» («Behringwerke», Германия).

Исследование ингибиторов свертывания крови и фибринолиза:

Содержание антитромбина III (АТIII) и ингибитора активатора плазминогена (РАI) проводилось на автоматическом анализаторе «Bering Coagulation Timer» (Германия) хромогенными и клоттинговыми методами.

Методы исследования сосудисто-тромбоцитарного гемостаза:

- Подсчет количества циркулирующих тромбоцитов в цельной крови проводили на автоматическом счетчике Cobas Micros 18 «Roche».
- Определение агрегационных свойств тромбоцитов с использованием в качестве стимуляторов аденозиндифосфата, адреналина и коллагена проводили на агрегометре «Payton» фотометрическим методом по Bone.
- Антигепариновый фактор тромбоцитов - 4 (PF4) определяли иммуноферментным методом с помощью набора «Enzygnost-PF4» («Behringwerke», Германия).
- Анализ морфофункционального состояния тромбоцитов проводился с использованием *прижизненной компьютерной динамической фазометрии* на базе компьютерного фазового микроскопа «Цитоскан», (Василенко И.А., Тычинский В.П., 1995).

в) Исследование признаков аутоиммунной активации системы свертывания крови

- Определение активности волчаночного антикоагулянта (ВА) проводилось на автоматическом анализаторе «Behring Coagulation Timer» (Германия) хромогенными и клоттинговыми методами.

- Антифосфолипидные антитела (АФА) IgM и IgG выявляли с помощью иммуоферментного анализа («DRG», США).

г) *Ультразвуковое исследование органов малого таза, гистеросальпингография, гистероскопия, лечебно-диагностическая лапароскопия* проводились в соответствии с алгоритмом обследования перед проведением программы ЭКО и ПЭ лаборатории клинической эмбриологии НЦ АГ и П РАМН.

Методика проведения плазмафереза у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием при подготовке к ЭКО и ПЭ

ПА проводили прерывистым методом с использованием пластмассовых контейнеров «Гемакон 500» с антикоагулянт-консервантом глюгицир. За 1 сеанс производили 2 забора крови. Центрифугирование осуществляли при скорости 2500 оборотов в минуту. Объем плазмоексфузии составлял 30-40% объема циркулирующей плазмы. Плазмозамещение осуществляли препаратами 6% или 10% гидроксипропилированного крахмала (ГЭК) и (или) физиологического раствора в соотношении к объему эксфузии 1:1,2. Гепаринизацию проводили из расчета 50-100 ед. на 1 кг веса. Объем циркулирующей крови определяли с учетом массы тела, роста и типа конституции по методике Moore.

При наличии активации ВПГ и (или) ЦМВ инфекции, после окончания курса ПА проводили иммуноглобулинотерапию (человеческий лейкоцитарный иммуноглобулин 25,0 мл в/в, капельно, №3 с интервалом 1-2 дня).

Методика проведения программы ЭКО и ПЭ

В процессе проведения программы в обеих группах исследования применялись аналогичные схемы стимуляции суперовуляции.

Десенситизация гипофиза проводилась с использованием агониста Гл трипторелина (декапептил 0,1 мг, ежедневная форма) с 19-23 дня менструального цикла до дня введения овуляторной дозы человеческого хорионического гонадотропина (ЧХГ). Стимуляция суперовуляции

осуществлялась ежедневным введением человеческого менопаузального гонадотропина (ЧМГ) (меногон в дозе 150-300 МЕ ЛГ и 150-300 МЕ ФСГ) со 2-3 дня менструального цикла до достижения лидирующими фолликулами 18-21 мм в диаметре, толщины эндометрия 8-10 мм и уровня эстрадиола не менее 1000 пмоль/л в расчете на один фолликул диаметром не менее 15 мм). После этого вводилась овуляторная доза ЧХГ (хорагон 5-10 тыс. МЕ). Продолжительность и интенсивность стимуляции овуляции определялась индивидуально, в зависимости от данных ультразвукового и гормонального мониторинга. Трансвагинальную пункцию яичников и аспирацию ооцитов выполняли через 34-36 часов после введения ЧХГ.

Морфологическую оценку ооцитов, их оплодотворение и культивирование эмбрионов проводили по стандартной методике лаборатории клинической эмбриологии Центра.

Перенос эмбрионов в полость матки проводили на 2-3 сутки после пункции яичников.

С целью гормональной поддержки периода раннего эмбриогенеза (в течение 14-15 дней) все пациентки получали хорагон по 5000 МЕ в день переноса эмбрионов и по 1500 МЕ на 3, 6 и 10 дни после переноса, утрогестан по 100-200 мг 2-3 раза в день и прогестерон по 2 мг в сутки.

После переноса эмбрионов проводился гемостазиологический мониторинг каждые 14 дней. При выявлении активации ВСК и гиперкоагуляционного синдрома проводили антикоагулянтную терапию (фраксипарин 0,3 мл/сутки, фраксин 2500-5000 ЕД/сутки) в течение 7-10 дней под контролем показателей гемостазиограммы.

Все анамнестические, клинические и лабораторно-инструментальные данные подвергнуты анализу и обработаны методом вариационной статистики. Статистическая и графическая обработка результатов выполнена на компьютере Pentium II с использованием пакета программ «Excel», версия 0.7.

Достоверность различий двух экспериментальных совокупностей проверяли с помощью критерия Стьюдента при уровне статистической достоверности $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Из клинической характеристики больных следует, что средний возраст обследованных больных в 1-й группе составил $34,7 \pm 3,4$ лет, во 2-й $33,5 \pm 4,6$ лет.

Сравнительный анализ экстрагенитальных заболеваний в анамнезе показал высокую частоту детских инфекций и подверженность острым респираторным заболеваниям (инфекционный индекс составил 4,8 при норме 3,1) (Федорова Т.А., 1986). У половины обследованных женщин обеих групп имелись хронические воспалительные заболевания пищеварительной и дыхательной систем. Обращала на себя внимание высокая степень аллергизации данного контингента больных (79,5%).

При исследовании менструальной функции отклонений от средних показателей, характерных для популяции, выявлено не было.

Средняя продолжительность бесплодия составила $6,2 \pm 2,4$ года. Первичным бесплодием страдали 30,3% женщин, вторичным – 69,6%. Наличие трубно-перитонеального бесплодия было подтверждено данными гистеросальпингографического и лапароскопического исследований у всех женщин обеих групп исследования.

Из предыдущих беременностей родами закончились только 16,4%. Первое место по частоте исходов остальных беременностей занимали искусственные аборты в I триместре беременности (51,6%), на долю невынашивания беременности приходилось 24,2%, внематочных беременностей - 8,9%.

Из перенесенных урогенитальных инфекций первое место занимал уреаплазмоз, который перенесла половина женщин обеих групп исследования. Частота выявления хламидиоза и микоплазмоза в анамнезе составила 16,1% и 29,5% женщин в 1 и 2 группах соответственно.

Следует отметить, что наблюдаемые группы женщин были однородны по всем исследуемым параметрам и вполне сопоставимы.

В ходе подготовки больных обеих групп к проведению ЭКО наиболее подробно были изучены влияние ПА и медикаментозной терапии на активность вирусной инфекции и систему гемостаза.

Клинические проявления герпетической инфекции (ВПГ) в виде высыпаний на губах или половых органах с частотой 1 раз в 4-8 месяцев имели 13,3% пациенток, при этом обращало на себя внимание обнаружение маркеров обострения ВПГ инфекции у 25% бессимптомных носителей, что свидетельствует о возможности скрытой активации вирусной инфекции, которая может быть причиной невынашивания и других осложнений беременности. Длительность ремиссии после проведения ПА с последующей иммуноглобулинотерапией в 1 группе и после комплексной медикаментозной терапии во 2 группе, достоверно не различалась, но снижение маркеров скрытой активации у женщин с бессимптомным течением заболевания наблюдалось на 20,9% чаще в группе, где использовалось сочетание ПА и медикаментозной терапии.

Активность цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ) также была достаточно высока - Ig класса М к ЦМВ выявлялись у трети всех пациенток. Применение ПА в комплексе с иммуноглобулинотерапией позволило достичь ремиссии в 85% случаев. В группе женщин, которым проводились только иммуноглобулинотерпия в сочетании с иммуномодуляторами, эффективность лечения составила 50%, что свидетельствует о бесспорном преимуществе комплексного использования метода ПА и медикаментозной терапией для лечения этой инфекции.

Данные, полученные при изучении динамики состояния *системы гемостаза* в процессе подготовки и проведения программы ЭКО и ПЭ свидетельствуют о том, что до проведения лечения в обеих группах у 70,5% женщин наблюдались компенсаторные изменения системы гемостаза на различных уровнях (таблица

1). Это выразилось в нестабильности основных показателей гемостазиограммы и их стремлении к пограничным значениям нормы. Повышение средних концентраций фибриногена и Д-димеров свидетельствовало об ускоренном обмене компонентов свертывания крови, снижение уровня активности АТШ, протеина С и РАІ указывало на умеренную депрессию естественных антикоагулянтов. Агрегационная активность тромбоцитов не превышала нормативных значений, что при повышении уровня маркеров активации ВСК является признаком относительной тромбоцитопатии потребления, наблюдаемой при хронической суперкомпенсированной форме ДВС-синдрома. (Макацария А.Д., 1982; Muller-Berghaus G., 1999). Только у 29,5% обследованных женщин была выявлена гиперагрегация тромбоцитов, что сочеталось с хронометрической и структурной гиперкоагуляцией по данным тромбоэластограммы. При исследовании маркеров активации ВСК обнаружено, что в среднем у 20% женщин выявлялись РКМФ на уровне положительных и слабopоложительных реакций. Средние значения концентраций ТАТ и PF4 были повышены в 1,5-2 раза у 70-80% больных обеих групп исследования. Повышение маркеров активации ВСК и особенно маркера активации тромбоцитов PF4 на фоне незначительного повышения коагуляционного потенциала, подтверждает факт того, что нормальный уровень агрегационной активности является проявлением тромбоцитопатии потребления вследствие длительной и постоянной активации системы свертывания крови.

Интересным фактом, выявленным при проведении индивидуального анализа уровня содержания этих маркеров, оказалось то, что максимальным значениям концентраций ТАТ и PF4 в 80–90% случаев соответствовали пробы женщин, позитивных по наличию ВА, частота выявления которого составляла 25%. Вероятно, активность ВА послужила пусковым фактором начальных этапов тромбиногенеза, маркером которого является ТАТ. Повышение PF4 подтверждает данные литературы о повреждающем действии ВА на мембраны тромбоцитов, вследствие чего происходит высвобождение антигепаринового

фактора из α -гранул, которые являются резервуаром многих других факторов свертывания, противосвертывания, медиаторов воспаления и др. (Балуда В.П., 1980; Aitokallio-Tallberg A., 1990; Макацария А.Д., 2000).

Ристоцетин-кофакторная (FVIII:Rco) активность фактора Виллебранда была повышена у 17% всех обследованных. В связи с этим, по аналогии с маркерами ТАТ и PF4, проанализировали наличие ВА у женщин с повышением титра FVIII:Rco до 1:160-1:320. Частота совпадения составила 58,3%, что иллюстрирует хорошо известное раздражающее действие антифосфолипидных антител на эндотелий сосудов (Баркаган З.С. 1984; Aron A.I., 1995).

При проведении *прижизненной компьютерной фазометрии тромбоцитов* у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием выявлены достоверные отличия морфометрических клеточных параметров и основных морфологических типов тромбоцитов от показателей здоровых женщин репродуктивного возраста. Отмечалось увеличение объема клеток на 21% и высоты на 10,7%. Содержание «юных» форм было снижено на 16,6% от нормы, «старых» тромбоцитов - повышено в 3 раза. Так же обнаружено, что у женщин с бесплодием содержание форм покоя снижается на 18,2%, а число активированных клеток пропорционально увеличивается на 18,4%.

Таким образом, результаты прижизненной компьютерной фазометрии свидетельствуют о постоянной и высокой степени активации клеточного звена системы гемостаза, следствием которой и явилось развитие тромбоцитопатии потребления, обратимой по степени качественных нарушений. В связи с этим, при исследовании агрегационной активности фотометрическим методом не получены данные, превышающие нормативные значения. Следовательно, морфометрическое исследование тромбоцитов выявляет ранние изменения функциональной активности тромбоцитов, что позволяет считать прижизненную компьютерную фазометрию высокочувствительным и информативным методом исследования морфофункционального статуса тромбоцитов периферической крови.

В результате проведенного гемостазиологического обследования было выявлено, что у 70,5% женщин с трубно-перитонеальным бесплодием имеется хроническая суперкомпенсированная форма активации ВСК, что проявляется в развитии тромбинемии, изменении морфометрических свойств тромбоцитов с преобладанием активированных форм, вплоть до развития тромбоцитопатии потребления. В связи с этим традиционное исследование при помощи агрегометра не выявляет повышения функциональной активности клеточного звена гемостаза.

Возможности компьютерной фазометрии тромбоцитов также позволили проиллюстрировать влияния ПА на тромбоцитарное звено гемостаза у женщин с бесплодием. После проведения курса ПА в популяционном составе тромбоцитов произошли существенные изменения, что выразилось в достоверном увеличении количества «юных» форм и уменьшения «старых». В морфологическом составе произошло увеличение числа форм покоя на 18,5% и снижение количества активированных клеток на 17,6% ($p < 0,001$). А так же была обнаружена тенденция приближения метрических показателей тромбоцитов женщин с бесплодием к нормативным.

При анализе изменения других гемостазиологических параметров после проведения лечения в рамках подготовки к проведению программы ЭКО и ПЭ, обнаружено, что произошло существенное снижение коагуляционного потенциала в обеих группах женщин (таблица 1).

Таблица 1. Результаты гемостазиологических исследований до и после проведения плазмафереза (группа 1) и до и после медикаментозной противотромботической терапии (группа 2)

Показатель, у.е., норма	Группа 1 (n=62)		Группа 2 (n=11)	
	До	После	До	После
Фибриноген, г/л, (1,8-4,5)	4,1±1,8	2,8±1,7**	3,9±1,5	3,7±1,1
Протромбиновый индекс,%, (80-110)	102,3±4,3	97,9±3,8	98±4,5	100,2±4,1
АВР,сек., (60-70)	60,9±4,6	71,3±5,1	65,5±6,6	72,3±4,8
АЧТВ,сек., (20-40)	32,4±6,2	38±7,7	23,7±4,2	39,6±3,9*
Количество Тг x10 ⁹ /л, (180-350)	296,4±9,4	265,4±4,1	289,9±20,3	305,7±26,1
АДФ-агрегация Тг, %, (30-50)	45,2±4,1	31,6±2,7*	55,7±4,6	37,2±5,6
Коллаген-агрегация Тг, %, (30-50)	44,5±3,6	29,1±1,7*	49,5±6,2	33,9±7,1*
Адреналин-агрегация Тг, %, (30-50)	49,1±2,8	30,8±4,2**	50,5±3,5	29,5±4,1**
Тромбоэластограмма:				
r+k, мм, (19-27)	13,9±1,5	9,1±1,2*	15,5±2,9	13±3,8
ма, мм, (48-52)	52,5±1,6	46,5±3,7	52,9±4,2	50,1±4,7
И.Т.П., у.е., (6-12)	13,9±4,1	9,7±3,4*	14,1±4,7	11,1±2,1
Антитромбин III, %, (70-125)	73,5±3,7	75,6±2,3	77,1±3,1	76,7±4,5
Протеин С, %, (75-140)	77,40±6,8	103,4±8,7**	80,1±7,7	81,6±6,4
РАI, ед./мл, (0,5-3,5)	3,3±0,8	3,8±1,4	2,9±1,1	3,4±2,7
РКМФ, п полож./ N слаб.полож.	21% (6/7)	4,8%** (0/3)	20% (6/4)	8%** (0/4)
Д-димер, мкг/л, (до 325)	297,2±20,7	288,1±19,4	281,1±14,8	268,6±9,8
PF 4, x10 ⁻⁹ г/л, (1,4-6,1)	10,4±2,0	6,7±2,9*	9,9±2,4	7,5±1,7*
ТАТ, x10 ⁻⁶ г/л (1-4,1)	7,8±2,5	4,6±2,1*	6,1±1,5	4,9±0,8
FVIII:Rco ф-ра Виллебранда, (1:40-1:160) (n)	до 1:160 (52) 1:320 (8) 1:640 (2)	до 1:160 (56) 1:320 (6) 1:640 (0)	до 1:160 (2) 1:320 (7) 1:640 (2)	до 1:160 (5) 1:320 (5) 1:640 (1)
ВА, %, п полож./ N слаб.полож.	27,4% (9/8)	4,8%** (0/3)	22% (6/5)	8%** (2/2)

Различия между показателями в исследуемых группах статистически достоверны по сравнению с исходными данными: * - p<0,05 и ** - p<0,001

В 1 группе после проведения ПА выявлено достоверное снижение уровня

фибриногена на 31,7% и стабилизация агрегации тромбоцитов на уровне 30%. Так же нормализовались показатели тромбоэластограммы, отметилась тенденция к снижению протромбинового индекса и удлинению временных показателей. Клинически значимым явилось повышение активности протеина С на 25,1% по сравнению с исходным уровнем ($p < 0,001$). Под влиянием ПА произошло выраженное снижение активности ВСК, о чем свидетельствует снижение частоты выявления РКМФ на 76,9%, ТАТ на 41% и PF4 на 35,6% ($p < 0,001$). Элиминация ВА произошла у 82,4% женщин 1 группы, что выражалось в закономерной инверсии ВА - положительных тестов.

Во 2 группе женщин контрольное исследование проводилось после проведения соответствующей медикаментозной коррекции у 22% больных в связи с выявлением гиперфункции тромбоцитов, наличием активации ВСК и наличием активности ВА. Были нормализованы показатели ТЭГ. Применение антиагрегантов позволило снизить тромбоцитарную активность на 30-40%. Положительные паракоагуляционные тесты после проведения гепаринотерапии сохранялись у 40% женщин. Эффективность супрессивной терапии составила 63,6%. В связи с недостаточным эффектом от проводимой антикоагулянтной и гормональной терапии у части больных данной группы потребовалось продолжение курса медикаментозного лечения. Уровень содержания маркеров скрытой активации ВСК достоверно снижался (ТАТ на 19,6% и PF4 на 24,2%). Следует отметить, что у большинства женщин 2 группы, которым медикаментозная терапия не проводилась в виду отсутствия показаний по данным традиционной гемостазиограммы, уровень этих маркеров оставался повышенным в 1,5-2 раза, что свидетельствовало о некупированных процессах тромбогенеза и активации тромбоцитов.

Таким образом, применение ПА перед проведением ЭКО и ПЭ позволяет быстро нормализовать систему гемостаза и свести к минимуму медикаментозную нагрузку на организм женщины. Кроме того, использование ПА позволило купировать скрытые процессы тромбогенеза и активации

тромбоцитов, о чем свидетельствовали данные исследования маркеров ранней активации ВСК ТАТ и PF4, а так же морфофункционального состояния тромбоцитов при помощи прижизненной компьютерной фазометрии.

В процессе проведения *стимуляции суперовуляции* у женщин обеих групп исследования происходят сдвиги всех анализируемых показателей в сторону гиперкоагуляции. К моменту проведения пункции яичников отмечен максимальный уровень общей свертываемости крови, внутрисосудистого фибринообразования и реальной активации тромбоцитов: повышались средние концентрации фибриногена на 21-36%, И.Т.П. на 15-31%, ТАТ на 56-59%, PF4 на 41-53%, Д-димера на 14-19%, РКМФ выявлялись в 2 раза чаще. В данной точке исследования достоверных различий в группах исследования не наблюдалось.

Далее, к 14 дню после подсадки эмбрионов и на фоне беременности малого срока наиболее значимые различия в группах исследования обнаружены при анализе динамики показателей гемостазиограммы в эффективных и не эффективных циклах стимуляции суперовуляции. В неэффективных циклах через 14 дней после ПЭ наблюдалось дальнейшее снижение маркеров ВСК практически до нормальных значений, но в группе женщин, в которой использовался ПА, эти изменения были более выражены. В случае наступления беременности наблюдалась различная динамика состояния системы гемостаза у женщин сравниваемых групп: в 1 группе происходило снижение коагуляционного потенциала, а во 2 группе наблюдался существенный сдвиг гемостазиологических параметров в сторону гиперкоагуляции, что являлось весьма неблагоприятным условием для дальнейшего пролонгирования беременности. Активность процесса тромбиногенеза в группах исследования наглядно демонстрирует динамика уровня содержания ТАТ в эффективных циклах (рис.1).

Рис.1 Динамика уровня содержания ТАТ в исследуемых группах в процессе подготовки и проведения программы ЭКО и ПЭ в эффективных циклах.

Так, в 1 группе женщин к 14 дню после переноса эмбрионов ТАТ снижался на 27,6% по отношению к уровню на фоне стимуляции овуляции, а к достижению срока беременности 4-5 недель на 43,9%. Во 2 группе женщин к 14 дню после переноса эмбрионов концентрация ТАТ снижалась только на 5,1%, а на фоне пролонгируемой беременности 4-5 недель, существенно возрастала на 12,9%. Аналогичную содержанию ТАТ динамику имели и остальные показатели гемостазиограммы (PF4, Д-димер, фибриноген, И.Т.П., РАИ), но изменения носили менее выраженный характер.

Таким образом, в группе женщин, которым проводился ПА с целью подготовки к проведению ЭКО, в процессе проведения программы наблюдалось меньшее повышение общего коагуляционного потенциала свертывания и степени активности ВСК по сравнению с группой женщин, в которой проводилась общепринятая медикаментозная коррекция, что, несомненно, создает более благоприятные условия для процессов имплантации эмбриона и дальнейшего развития беременности.

Применение схемы стимуляции овуляции с использованием аналогов Гл и проведение специфической подготовки к ЭКО обуславливает высокую частоту наступления беременности из расчета на один перенос эмбрионов в обеих группах исследования, но в группе с использованием ПА для подготовки к программе этот показатель был на 9,6% выше - 51,6%, чем в группе с использованием медикаментозной терапии - 42%. Эти показатели совпадают с данными последних исследований эффективности при применении аГл (River J., 2001; Киндарова Л.Б., 2001; Смольникова В.Ю., 2002). Высокая вероятность

наступления беременности при применении этой схемы связана с более мощной стимуляцией суперовуляции при проведении предварительной десенситизации гонадотропной функции гипофиза. По этой же причине применение агонистов Гл увеличивает риск развития СГЯ (до 29%) (Калинина Е.А., 2002). В группе женщин, получавших традиционную медикаментозную терапию, частота возникновения СГЯ совпадала со среднестатистическими данными для пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием - 28%. В группе пациенток после проведения подготовки к ЭКО с использованием ПА это осложнение наблюдалось в три раза реже, что составило 8%. Особенно важным является то, что в группе с применением ПА наблюдались только легкая (4,8%) и средняя (3,2%) степени тяжести течения СГЯ. В сравнительной группе тяжелое течение СГЯ наблюдалось у 4%, средняя и легкая – в 10% и 14% случаев соответственно ($p < 0,001$) (рис.2)

Рис 2. Частота возникновения синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) при проведении ЭКО и ПЭ в исследуемых группах.

Снижение частоты СГЯ может реализоваться путем воздействия на одно из основных патогенетических звеньев его развития – коагулопатию, за счет нормализации исходного коагуляционного потенциала. Также столь выраженное снижения частоты СГЯ может быть обусловлено элиминацией факторов,

вызывающих эндотелиальные повреждения (АФА, циркулирующие иммунные комплексы, гистаминоподобные вещества, простагландины, эндотоксины, и др.). Уменьшение содержания в крови агентов, агрессивных к сосудистой стенке перед проведением стимуляции суперовуляции может обуславливать устойчивость сосудов к проницаемости, что препятствует выходу белка в интерстициальную среду, тем самым, уменьшая вероятности развития отека.

Известно, что высокие результаты проведения программы, достигнутые благодаря применению схем стимуляции овуляции с использованием а-Гл, далее претерпевают существенную редукцию в связи с высокой частотой репродуктивных потерь (до 50%) (Kol S, 1999; Olivennes F., 2001; Калинина Е.А., 2002; Киндарова Л.Б., 2002). При анализе репродуктивных потерь в данном исследовании следует отметить, что в 1 группе женщин, которым проводился ПА число прерываний беременности существенно ниже, чем в сравнительной группе. Так, в группе 1 оно составляет 15,6% от числа наступивших беременностей, а в группе 2 – 23,8% ($p < 0,001$) (таблица 2).

Таблица 2. Клиническая эффективность проведения программы ЭКО и ПЭ и исходы наступивших беременностей в исследуемых группах

Показатель	Группа 1			Группа 2		
	% на один перенос эмбр. (n=62)	% от числ беременностей (n=32)	Абс. число	% на один перенос эмбр. (n=50)	% от числ беременностей (n=21)	Абс. число
Получено беременностей	51,6	100	32	42*	100	21
Из них двойни	3,2	6,3	2	4	9,5	2
Произошедшие роды	43,5	84,4	27	30	71,4*	15
Из них роды двойней	1,6	3,1	1	2	4,8	1
Репродуктивные потери в I триместре (в т.ч. 1 эмбрион из двойни в группе 1)	6,5	12,5	4	6	14,3	3
II триместре (в т.ч. 1 двойня в группе 2)	1,6	3,1	1	4	9,5	2
III триместре	0	0	0	0	0	0
Общее число репродуктивных потерь	8,1	15,6	5	10	23,8**	5

Различия между исследуемыми группами достоверны:

* $p < 0,05$ и ** - $p < 0,001$

При анализе осложнений течения беременности основные различия в группах исследования отмечены в I и II триместрах беременности. Наиболее часто встречались нарушения в системе гемостаза, протекающие в виде гиперкоагуляционного и хронического ДВС синдрома. В I триместре данные осложнения были выражены в обеих группах исследования, но с большей частотой встречались во 2 группе женщин – 85,7%, в 1 группе – достоверно ниже 71,8%. Во II триместре происходит снижение частоты возникновения коагулопатии до 42,8% в группе 1 и до 47% в группе 2, а в III - до 37,1% и 33,3% в 1 и 2 группах соответственно.

Существенные различия в группах исследования были отмечены в частоте выявления АФА. В I триместре АФА обнаруживались в 6,2% случаях у женщин 1 группы, а во 2 группе - в 2,5 раза чаще. Во II триместре частота обнаружения АФА существенно повышается, а различия в группах становятся менее выраженными: группа 1 – 21,4%, группа 2 – 29,4%.

Также были высоки показатели угрозы прерывания беременности. Так, до 12 недель беременности явления угрозы прерывания наблюдались у половины женщин обеих групп. Вместе с тем, во II триместре в 1 группе женщин происходит незначительное снижение с 53,1% до 50%, а во 2 группе увеличивается до 64,7% случаев ($p < 0,05$).

До доношенного срока беременность была пролонгирована у 70% беременных 1 группы и у 66% - 2 группы. Родами закончились 84,4% беременностей в 1 группе и 71,4% во 2 группе ($p < 0,05$). Родоразрешение путем операции кесарева сечения производилось в 85% случаев. При анализе показателей массы, роста и состояния новорожденных детей особенностей и достоверных различий в группах исследования выявлено не было.

Таким образом, при проведении подготовки к программе ЭКО с использованием лечебного ПА отмечается более высокий процент наступления беременности, существенно снижаются репродуктивные потери и частота возникновения СГЯ, а также меньшее число осложнений течения беременности в

I и II триместре по сравнению с группой женщин, получавших традиционную медикаментозную терапию. Полученные данные убедительно свидетельствуют о целесообразности использования ПА при подготовке женщин с трубно-перитонеальным бесплодием к ЭКО и ПЭ.

Выводы

1. У женщин с трубно-перитонеальным бесплодием в 70,5% случаев имеется хроническая суперкомпенсированная форма активации внутрисосудистого свертывания крови (ВСК), что проявляется в развитии тромбинемии (тромбин-антитромбин III (ТАТ) увеличивается на 47,4%) в сочетании с активацией тромбоцитов (увеличение высвобождения антигепаринового фактора тромбоцитов – 4 (PF4) на 41,3%) и изменением морфометрических свойств тромбоцитов (увеличение содержания активированных форм на 18,4%), что не сопровождается повышением их агрегационных свойств (тромбоцитопатия потребления).
2. Предварительная нормализация состояния плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза при помощи плазмафереза перед программой ЭКО и ПЭ предупреждает в процессе проведения стимуляции суперовуляции активацию тромбоцитов на 13,7%, тромбиногенеза на 18,7%. На фоне наступившей беременности в данной группе развитие процесса тромбиногенеза снижено на 53,1%, активация тромбоцитов - на 14,9%, развитие общей гиперкоагуляции - на 22% и фибринообразование - на 25% отношению к группе сравнения.
3. Частота наступления беременности из расчета на один перенос эмбрионов у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием при проведении программы ЭКО и ПЭ с использованием схемы стимуляции суперовуляции с применением а-Гл и проведением плазмафереза с целью подготовки к программе составляет 51,6%, что на 9,6% выше, чем в сравнительной группе.

4. Частота развития синдрома СГЯ в группе женщин, которым проводилась подготовка к проведению ЭКО и ПЭ с использованием плазмафереза составила 8%, что в 3,5 раза ниже, чем в сравнительной группе (28%).
5. У женщин с трубно-перитонеальным бесплодием, которым проводилась подготовка к проведению ЭКО и ПЭ с использованием плазмафереза, частота репродуктивных потерь составила 15,6%, что в 1,5 раза ниже, чем в группе сравнения (23,8%).

Практические рекомендации

1. У больных с трубно-перитонеальным бесплодием необходимо проведение гемостазиологического исследования до проведения ПА, после завершения курса ПА (не ранее чем через 7 суток), в процессе проведения программы и далее в течение беременности. Целью обследования является выявление активации плазменного звена гемостаза (определение уровня содержания фибриногена, антитромбина III, РКМФ, Д-димеров, ТАТ), характера нарушений функции тромбоцитов с помощью определения уровня содержания PF4, агрегации тромбоцитов, компьютерной фазометрии тромбоцитов и общей свертываемости крови (тромбоэластографическое исследование, АЧТВ и АВР). До проведения программы ЭКО и ПЭ и особенно на фоне наступившей беременности следует выявлять факторы иммунной активации ВСК – АФА и ВА.
2. При выявлении начальных признаков активации ВСК требуется своевременная адекватная коррекция нарушений в системе гемостаза перед проведением ЭКО. У женщин с признаками тромбоцитопатии (нормальный или незначительно сниженный уровень агрегации при морфологическом выявлении повышения содержания активированных форм тромбоцитов) - путем проведения курса ПА. Традиционная медикаментозная коррекция (назначение антиагрегантов - курантил и т.п. и антикоагулянтов прямого действия - гепарин, фраксипарин и т.п.) может быть рекомендована

женщинам с гиперфункцией тромбоцитов при наличии противопоказаний к проведению ПА или отсутствию технической возможности проведения ПА.

3. Перед проведением программы необходимо обследование всех больных на степень активности вирусной инфекции (ВПГ, ЦМВ). Для лечения активации вирусной инфекции методом выбора является использование лечебного ПА с последующей иммуноглобулинотерапией (человеческий лейкоцитарный иммуноглобулин 25,0 мл в/в, капельно, №3 с интервалом 1-2 дня). Применение общепринятой медикаментозной терапии (специфическая противовирусная терапия, иммуноглобулинотерапия, иммуномодуляторы) рекомендуется при наличии противопоказаний или отсутствии технической возможности проведения ПА.
4. С целью подготовки женщин с трубно-перитонеальным бесплодием к ЭКО и ПЭ целесообразно проведение курса лечения, состоящего из 3-х сеансов ПА, с интервалами 1-3 дня в первую фазу менструального цикла, не ранее чем за 2 менструальных цикла до проведения программы.
5. Оптимальным является проведение прерывистого (дискретного) ПА с объемом плазмоексфузии 30-40% от объема циркулирующей плазмы. Плазмозамещение следует проводить препаратами 6 или 10% гидроксипропилированного крахмала (ГЭК) и (или) физиологического раствора в соотношении к плазмоексфузии 1:1,2. При наличии гипопротейнемии (общий белок менее 64 г/л) необходимо восполнение белковыми растворами (Альбумин 10-20% - 100-200 мл). Гепаринизация должна осуществляться из расчета 50-100 ед. гепарина на 1 кг веса.
6. Противопоказаниями к проведению плазмафереза являются: гипотония, не корректирующаяся инфузионной терапией, гипокоагуляция, тромбоцитопения, гипопротейнемия (общий белок ниже 55 г/л), анемия (Hb менее 90 г/л, Ht менее 30%), отсутствие венозного доступа.
7. Динамическое наблюдение за состоянием системы гемостаза с целью своевременного выявления нарушений и контроля эффективности

проводимой противотромботической терапии, включающее, наряду с традиционным набором тестов, исследование маркеров активации ВСК ТАТ и PF4, необходимо на всем протяжении беременности.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Плазмаферез в подготовке больных с бесплодием к экстракорпоральному оплодотворению и переносу эмбрионов / Кулаков В.И., Абубакирова А.М., Федорова Т.А., Леонов Б.В., Рогачевский О.В., Очан А.С. // Труды VIII конференции Московского общества гемафереза.- М., 2000.- с.104.
2. Очан А.С., Федорова Т.А., Рогачевский О.В. Возможность использования плазмафереза для лечения аутосенсбилизации к хорионическому гонадотропину в процессе подготовки к программе экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона // Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы клинической медицины».- М., 2001.- с.245-246.
3. Влияние плазмафереза на систему свертывания крови у женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия при подготовке к ЭКО и ПЭ / Очан А.С., Мищенко А.Л., Федорова Т.А., Леонов Б.В., Рогачевский О.В. // Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы акушерства и гинекологии».- Ереван, 2001, с.153.
4. Очан А.С. Плазмаферез в подготовке больных бесплодием воспалительного генеза к программе ЭКО и ПЭ // Материалы семинара «Новые технологии в акушерстве, гинекологии и неонатологии (эфферентные и квантовые методы терапии)».- М., 2002, с.71-81.
5. Фотеева Т.С., Федорова Т.А., Калинина Е.А., Очан А.С. Синдром гиперстимуляции яичников // Материалы семинара «Новые технологии в акушерстве, гинекологии и неонатологии (эфферентные и квантовые методы терапии)».- М., 2002.- с. 82-89
6. Очан А.С., Федорова Т.А. Влияние плазмафереза на морфометрические свойства тромбоцитов у женщин с бесплодием, обусловленным

- воспалительными заболеваниями придатков матки // Труды X конференции Московского общества гемафереза.- М., 2002.- с.89.
7. Применение 10% раствора Рефортана в терапии гиперкоагуляционного синдрома у беременных методом плазмафереза / Федорова Т.А., Очан А.С., Рогачевский О.В., Аппалуп М.В. // Труды XI конференции Московского общества гемафереза.- М., 2003.- с.92
 8. Фотеева Т.С., Очан А.С., Калинина Е.А. Современные принципы интенсивной терапии тяжелых форм синдрома гиперстимуляции яичников // Материалы конференции «Критические состояния в акушерстве, гинекологии и неонатологии».- М., 2003.- с.60-61.
 9. Очан А.С., Федорова Т.А., Кузьмичев Л.Н. Исследование маркеров активации внутрисосудистого свертывания крови у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием в динамике проведения ЭКО и ПЭ после проведения подготовки к программе с использованием плазмафереза // Материалы конференции «Критические состояния в акушерстве, гинекологии и неонатологии».- М., 2003.- с.62-63.
 10. Федорова Т.А., Рогачевский О.В., Очан А.С. Влияние прерывистого плазмафереза в сочетании с 10% ГЭК (Рефортан плюс) на показатели системы гемостаза у беременных с гиперкоагуляционным синдромом // Материалы конференции «Критические состояния в акушерстве, гинекологии и неонатологии».- М., 2003.- с.15-18.
 11. Очан А.С., Федорова Т.А., Кузьмичев Л.Н. Исследование маркеров активации внутрисосудистого свертывания у женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия до и после проведения плазмафереза с целью подготовки к ЭКО и ПЭ // Новые технологии в гинекологии.- М: Пантори, 2003.- с.121-123.

