

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ, МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРЕДИКТОРОВ СОСТОЯТЕЛЬНОСТИ ФУНКЦИИ ЯИЧНИКОВ С ЦЕЛЬЮ СОХРАНЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ И ЗДОРОВЬЯ ЖЕНЩИН

Руководитель исследования: И.о. директора Института перинатологии и педиатрии, д.м.н. Зазерская И.Е

Ответственный исполнитель: Ведущий научный сотрудник НИЛ оперативной гинекологии, к.м.н. Гамзатова З.Х.

Перечень научных подразделений, участвовавших в исполнении исследования:

1. Институт перинатологии и педиатрии;
2. Институт молекулярной биологии и генетики;
3. Институт экспериментальной медицины;
4. Институт сердца и сосудов;
5. Патологоанатомическое отделение;
6. Центральная клиничко-диагностическая лаборатория;
7. Федеральный специализированный перинатальный центр: Консультативно-диагностическое отделение, отделение патологии беременности, отделение анестезиологии и реанимации

Цель исследования:

Оценка факторов риска, поиск предикторов снижения функции яичников, разработка диагностических критериев в зависимости от этиопатогенеза и оптимизация методов лечения.

Целью настоящего междисциплинарного проекта является разработка методов сохранения овариального резерва при помощи трансплантации криоконсервированной овариальной ткани. В связи с этим, увеличение числа молодых пациенток, излечившихся от основного онкологического заболевания, является главным стимулом для развития и совершенствования современных технологий сохранения фертильности.

Материалы и методы исследования:

В гинекологическое отделение ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России направлялись пациентки для обсуждения вопросов сохранения фертильности.

Создан криобанк овариальной ткани, в котором хранится 150 образцов овариальной ткани 25 пациенток. Данные образцы хранятся для научных целей, а также для последующей аутотрансплантации.

Процедура стандартного медленного замораживания ткани яичника осуществлялась согласно протоколу, разработанному Donnez J., Jadoul P., 2010. Перед замораживанием, по 2 образца ткани яичников от каждой пациентки были фиксированы в формальдегиде и растворе Буэна.

В исследование впоследствии включены 30 пациенток с лимфомами, которым планируется выполнить:

- клинический анализ крови,
- биохимический анализ крови,
- коагулограмму,
- анализ крови на HBV, HCV, HIV, RW,
- анализ крови на ФСГ, ЛГ, эстрадиол, прогестерон, АМГ,
- общий анализ мочи,

- УЗИ органов малого таза трансвагинальным датчиком с AFC (с подсчетом количества антральных фолликулов),
- МРТ малого таза с контрастированием.

Перед выполнением операции оценивается гормональный статус пациенток (ФСГ, ЛГ, эстрадиол, прогестерон, пролактин, АМГ и УЗИ органов малого таза с AFC). Частичная декорткация ткани яичника выполняется с использованием лапароскопической Криоконсервации или витрификации подвергается лишь кортикальный слой яичника, так как он содержит до 90% пула примордиальных фолликулов. Сохраняем овариальный резерв пациенток. Пациенткам, которым будет выполняться в последующем лучевая терапия, после получения образцов кортикального слоя яичников, выполнется транспозиция яичников для выведения их из зоны облучения малого таза.

Основные результаты:

В настоящее время проводятся патоморфологическое и иммуногистохимическое исследования с целью оценки качества выживаемости овариальной ткани после длительной её заморозки в жидком азоте при -196С. Патоморфологическое исследование включает в себя подсчет количества фолликулов на единицу площади, качество фолликулов, наличие или отсутствие метастазов в овариальной ткани.

Иммуногистохимическое исследование (оценка качества фолликулов и жизнеспособности овариального трансплантата после размораживания) выполняется с использованием ИГХ с маркированными специфическими АТ:

1. ki-67 - для оценки жизнеспособности и роста фолликулов
2. PCNA – оценка пролиферативного клеточного потенциала
3. caspase-3 – оценка апоптоза стромальных клеток
4. метод Masson trichrome – для оценки очагов фиброза
5. VEGF-A – оценка ангиогенеза
6. AMH и GDF-9 - для оценки функции фолликулов.

Овариальная ткань 10 пациенток, прооперированных по поводу образований яичников, фиксирована в формалине и растворе Буэна: по 2 образца до заморозки (контрольные образцы) и по 2 образца после разморозки (в течение 3 месяцев биоптаты овариальной ткани хранились в жидком азоте при -196С). 40 образцов овариальной ткани окрашены гематаксилин-эозином для дальнейшего патоморфологической оценки внутри- и внеклеточных структур. Также еще 40 образцов овариальной ткани приготовлены для ИГХ исследования на наличие экспрессии ki-67, PCNA, caspase-3, VEGF-A, AMH и GDF-9.

В соответствии с планом на 2015 год опубликованы статьи: 3.