

Заявление

о рассмотрении протокола клинической апробации

1	Наименование Федеральной медицинской организации, научной или образовательной организации, осуществляющей деятельность в сфере охраны здоровья, являющейся разработчиком протокола клинической апробации	Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
2	Адрес места нахождения организации	117997 Москва, ул. Ак. Опарина, д.4.
3	Контактные телефоны и адреса электронной почты	+ 7-495-4384977, +7-495-4388507 va_klimov@oparina4.ru secretariat@oparina4.ru
4	Название предлагаемого для клинической апробации метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации	Протокол клинической апробации метода микрохирургической биопсии яичка с целью получения тестикулярных сперматозоидов для интрацитоплазматической инъекции в ооцит у пар с привычным невынашиванием беременности и неудачными попытками применения вспомогательных репродуктивных технологий в анамнезе.
5	Число пациентов, необходимое для проведения клинической апробации	200

Приложение:

1. Протокол клинической апробации на 19 л.
2. Индивидуальная регистрационная карта наблюдения пациента в рамках клинической апробации на 3 л.
3. Согласие на опубликование протокола клинической апробации на официальном сайте Министерства здравоохранения России на 1 л.

Директор

« _____ » _____ 2020 г.
М.П.



И.Т. Сухих

Протокол клинической апробации метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации

Идентификационный № _____

Дата " ____ " _____ 2020 г.

I. Паспортная часть

1. Название апробируемого метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации (далее метод).

Протокол клинической апробации метода микрохирургической биопсии яичка с целью получения тестикулярных сперматозоидов для интрацитоплазматической инъекции в ооцит у пар с привычным невынашиванием беременности и неудачными попытками применения вспомогательных репродуктивных технологий в анамнезе.

2. Наименование и адрес федеральной медицинской организации, разработавшей протокол клинической апробации метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации (далее - протокол клинической апробации).

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ. Адрес: 117997, г. Москва, ул. акад. Опарина, д.4.

3. Фамилия, имя, отчество и должность лиц, уполномоченных от имени разработчика подписывать протокол клинической апробации.

- Гамидов С.И., доктор медицинских наук, руководитель отделения андрологии и урологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России;
- Шатылко Т.В., кандидат медицинских наук, врач отделения андрологии и урологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

II. Обоснование клинической апробации метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации

4. Аннотация метода.

Невынашивание беременности встречается часто и является итогом около 15–15% клинических беременностей. Под привычным невынашиванием беременности (ПНБ) понимают ситуацию, когда у пары две и более клинических беременности завершаются эпизодами невынашивания [Van Den Boogard et al., 2010]. Проблема ПНБ тесно соприкасается с проблемой повторных неудач при применении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Два последовательных эпизода невынашивания встречаются менее чем у 5% женщин, и только у 1%

отмечается три и более эпизода подряд [Stirrat et al., 1990]. Этиология ПНБ до сих пор остаётся предметом научного поиска. Обследование пар с ПНБ сосредоточено на выявлении женского фактора в виде эндокринных нарушений, аномалий развития и миомы матки, патологии системы гемостаза и геномных мутаций [Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion, 2013]. Несмотря на то, что мужчина является необходимым участником процесса зачатия, часто его обследование ограничивается стандартным кариотипированием.

Спермограмма как метод лабораторной диагностики обладает существенными ограничениями, и по ней практически нельзя сделать вывод о вкладе мужчины в ПНБ. Однако, качество сперматозоидов является критически важным для их взаимодействия с яйцеклеткой, фертилизации и развития эмбриона [Simerly et al., 1995; Van Blerkom et al., 1996; Moomjy et al., 1999]. Экспрессия отцовских генов регулирует пролиферацию и инвазивность трофобласта, а в дальнейшем и пролиферацию плаценты [Janny et al., 1994; Check et al., 2001; Goshen et al., 1994]. Несмотря на то, что доказательства влияния сперматозоида на ранние этапы эмбриогенеза и плацентарную функцию были получены достаточно давно, очень часто мужчины из пар с ПНБ и неудачами ВРТ остаются недообследованными. При таком подходе ПНБ оказывается необъяснимым примерно у половины пар [Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion, 2013]. Идиопатическое ПНБ становится клинически и психологически сложным диагнозом. В значительной доле случаев в основе идиопатического ПНБ лежит нераспознанный мужской фактор. Учитывая то, что сперматозоид является источником половины генетического материала для эмбриона и плаценты, целостность его генома важна для инициации и поддержания беременности [Puscheck et al., 2007].

5. Актуальность метода для здравоохранения, включая организационные, клинические и экономические аспекты.

В ряде случаев ПНБ связано с фрагментацией ДНК сперматозоидов и другими функциональными дефектами. Использование тестикулярных сперматозоидов в протоколе ВРТ позволяет снизить риск невынашивания беременности из-за того, что повреждение ДНК обычно происходит на более поздних этапах созревания мужских половых клеток. Впервые сравнение репродуктивных исходов при использовании сперматозоидов из эякулята и из тестикулярной ткани провели Greco et al. [Greco et al., 2005]. В исследование было включено 18 пар, которым последовательно выполнялась ICSI с использованием сперматозоидов из эякулята и из яичка. В тестикулярных сперматозоидах показатель фрагментации ДНК был значительно ниже по сравнению со сперматозоидами из эякулята (4.8% против 23.6%); соответственно, выше была частота наступления беременности и ниже частота невынашивания. За этой работой последовало

несколько ретроспективных и проспективных исследований с объёмом выборки от 8 до 172 пар, и во всех из них было подтверждено, что индекс фрагментации ДНК в тестикулярных сперматозоидах ниже, независимо от метода его определения (TUNEL или тест дисперсии хроматина) [Mehta et al., 2015; Moskovtsev et al., 2012; Moskovtsev et al., 2010; Esteves et al., 2015; Rabuccu et al., 2017]. При использовании тестикулярных сперматозоидов была меньше частота невынашивания, выше частота наступления беременности и рождения живого ребёнка [Esteves et al., 2017]. В проспективном когортном исследовании Esteves et al. число пациентов, у которых необходимо было выполнить биопсию яичка, чтобы добиться рождения ещё одного ребёнка (анализ «number needed to treat»), составило 5, что позволяет говорить об эффективности этой тактики [Esteves et al., 2015]. Помимо прочего, эти наблюдения говорят о ценности анализа на фрагментацию ДНК сперматозоидов в клинической практике.

Традиционно биопсия яичка используется для поиска сперматозоидов у пациентов с азооспермией. В дальнейшем методы хирургического получения сперматозоидов стали применяться и у мужчин с тяжёлой олигозооспермией, астенозооспермией и тератозооспермией, чтобы улучшить репродуктивные исходы применения ВРТ. В последних исследованиях сообщается о выполнении биопсии яичка при повышенном уровне фрагментации ДНК сперматозоидов даже на фоне нормозооспермии [Esteves et al., 2015; Bradley et al., 2016; Arafa et al., 2018]. В этих работах сперматозоиды были получены либо с помощью аспирации сперматозоидов (TESA), либо с помощью открытой тестикулярной экстракции (TESE), в зависимости от этиологии мужского бесплодия. В любом случае, тестикулярные сперматозоиды характеризовались меньшим уровнем фрагментации ДНК, а их применение сопровождалось более высокой частотой рождения детей.

Закономерным доводом против применения тестикулярных сперматозоидов у пациентов без азооспермии является риск хирургических осложнений. В большинстве опубликованных исследований об осложнениях не сообщается, либо они не были зафиксированы [Moskovtsev et al., 2010; Moskovtsev et al., 2012]. В самой крупной работе с участием 172 пар была представлена частота осложнений, равная 6.2% (в 4 случаях – болевая симптоматика, в 2 случаях – умеренный отёк мошонки) [Esteves et al., 2015]. Даже после тщательной микродиссекционной TESE частота долгосрочных осложнений невысока [Ramasamy et al., 2005]. При оценке инвазивности процедуры необходимо учитывать и возможные риски со стороны женщины. Так, обычная ICSI с применением сперматозоида из эякулята может казаться практически неинвазивной процедурой, но если учесть низкую частоту фертилизации и риск невынашивания на фоне фрагментации ДНК сперматозоидов, такой подход характеризуется большей инвазивностью для женщины, которой приходится подвергаться повторным циклам стимуляции яичников, пункциям и вмешательствам по поводу замершей беременности. Что касается потенциального негативного влияния биопсии яичка на уровень тестостерона, то определённая доля бесплодных мужчин и так имеет

признаки гипогонадизма, и в последующем им может потребоваться тестостерон-заместительная терапия независимо от того, подвергались они операции на яичках или нет.

Ещё одной потенциальной проблемой, связанной с применением тестикулярных сперматозоидов, является риск генетически и эпигенетически обусловленных аномалий у потомства. Однако, существующие данные по применению ICSI тестикулярными сперматозоидами свидетельствуют об отсутствии повышенного риска аномалий развития у потомства [Esteves et al., 2013; Esteves et al., 2014]. Наконец, применение тестикулярных сперматозоидов ассоциировано с более высокой частотой рождения детей по сравнению с методами лабораторной селекции сперматозоидов, такими как ICSI с физиологическим отбором (PICSi) и ICSI с морфологическим отбором (IMSI) [Bradley et al., 2016].

6. Новизна метода и (или) отличие его от известных аналогичных методов.

В большинстве опубликованных работ по применению тестикулярных сперматозоидов для ICSI у пар без азооспермии рассматривается применение тонкоигольной тестикулярной аспирации по методике TESA [Moskovtsev et al., 2012; Arafa et al., 2018; Alharbi et al., 2019]. Это объясняется кажущейся неинвазивностью методики, возможностью её амбулаторного выполнения и технической простотой. В то же время, она обладает рядом недостатков, все из которых связаны с тем, что пункция яичка выполняется «вслепую». Так, без визуального контроля нельзя контролировать ход иглы, что чревато повреждением кровеносных сосудов и риском развития геморрагических осложнений. Техника тонкоигольной биопсии ограничивает применимость методов хирургического гемостаза. Ещё более важным ограничением методики является то, что без визуального контроля нельзя выбрать наиболее сохраннный участок паренхимы яичка, где с наибольшей вероятностью можно обнаружить сперматозоиды хорошего качества.

Также для получения сперматозоидов может применяться открытая биопсия (TESE) [Esteves et al., 2015]. Она лишена недостатков, свойственных процедуре TESA, так как выполняется под прямым визуальным контролем и позволяет применять методы гемостаза. Однако, для получения сперматозоидов с помощью TESE необходимо уносить достаточно большой объём тестикулярной паренхимы, особенно если у пациента исходно имеются глубокие нарушения сперматогенеза, проявляющиеся олигозооспермией разной степени выраженности. При этом удаляются не только семенные каналы, в которых и будет проводиться поиск сперматозоидов, но и интерстициальная ткань, содержащая клетки Лейдига, продуцирующие тестостерон. Таким образом, TESE может характеризоваться более высоким риском развития гипогонадизма в послеоперационном периоде.

Мы предлагаем использовать микрохирургическую биопсию яичка для получения сперматозоидов у мужчин из пар с ПНБ и неудачными попытками

ЭКО в анамнезе. С нашей точки зрения, этот подход позволит наиболее щадящим образом получить достаточное количество высококачественных сперматозоидов из наиболее сохранных семенных канальцев с минимальным риском хирургических осложнений.

7. Краткое описание и частота известных и потенциальных рисков для пациентов исследования, если таковы имеются, и прогнозируемых осложнений:

Потенциальные риски для пациентов, включённых в исследование, связаны с анестезиологическим пособием и проведением оперативного вмешательства: возможным формированием гематомы, инфекционно-воспалительными осложнениями и снижением продукции тестостерона.

8. Ссылки на литературные источники публикаций результатов научных исследований метода или отдельных его составляющих (в том числе собственных публикаций) в рецензируемых научных журналах и изданиях, в том числе в зарубежных журналах (названия журналов/изданий, их импакт - фактор):

1. Van den Boogaard E, Kaandorp SP, Franssen MT, et al. Consecutive or non-consecutive recurrent miscarriage: is there any difference in carrier status? *Hum Reprod* 2010;25:1411-4. 10.1093/humrep/deq089 (импакт-фактор 5.506)
2. Stirrat GM. Recurrent miscarriage. *Lancet* 1990;336:673-5. 10.1016/0140-6736(90)92159-F (импакт-фактор 59.102)
3. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril* 2012;98:1103-11. 10.1016/j.fertnstert.2012.06.048 (импакт-фактор 5.411)
4. Simerly C, Wu GJ, Zoran S, et al. The paternal inheritance of the centrosome, the cell's microtubule-organizing center, in humans, and the implications for infertility. *Nat Med* 1995;1:47-52. Erratum in: *Nat Med* 1995;1:599. 10.1038/nm0195-47 (импакт-фактор 34.848)
5. Van Blerkom J. Sperm centrosome dysfunction: a possible new class of male factor infertility in the human. *Mol Hum Reprod* 1996;2:349-54. 10.1093/molehr/2.5.349 (импакт-фактор 3.675)
6. Moomjy M, Colombero LT, Veeck LL, et al. Sperm integrity is critical for normal mitotic division and early embryonic development. *Mol Hum Reprod* 1999;5:836-44. 10.1093/molehr/5.9.836 (импакт-фактор 3.675)
7. Janny L, Menezo YJ. Evidence for a strong paternal effect on human preimplantation embryo development and blastocyst formation. *Mol Reprod Dev* 1994;38:36-42. 10.1002/mrd.1080380107 (импакт-фактор 3.113)
8. Check JH, Katsoff D, Check ML. Some semen abnormalities may cause infertility by impairing implantation rather than fertilization. *Med Hypotheses* 2001;56:653-7. 10.1054/mehy.2000.1166 (импакт-фактор 1.322)

9. Goshen R, Ben-Rafael Z, Gonik B, et al. The role of genomic imprinting in implantation. *Fertil Steril* 1994;62:903-10. (импакт-фактор 5.411)
10. Puscheck EE, Jeyendran RS. The impact of male factor on recurrent pregnancy loss. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2007;19:222-8. 10.1097/GCO.0b013e32813e3ff0 (импакт-фактор 2.411)
11. Greco, E., Scarselli, F., Iacobelli, M., Rienzi, L., Ubaldi, F., Ferrero, S. et al. Efficient treatment of infertility due to sperm DNA damage by ICSI with testicular spermatozoa. *Hum Reprod*. 2005; 20: 226–230 (импакт-фактор 5.506)
12. Mehta, A., Bolyakov, A., Schlegel, P.N., and Paduch, D.A. Higher pregnancy rates using testicular sperm in men with severe oligospermia. *Fertil Steril*. 2015; 104: 1382–1387 (импакт-фактор 5.411)
13. Moskovtsev, S.I., Alladin, N., Lo, K.C., Jarvi, K., Mullen, J.B., and Librach, C.L. A comparison of ejaculated and testicular spermatozoa aneuploidy rates in patients with high sperm DNA damage. *Syst Biol Reprod Med*. 2012; 58: 142–148 (импакт-фактор 1.204)
14. Moskovtsev, S.I., Jarvi, K., Mullen, J.B., Cadesky, K.I., Hannam, T., and Lo, K.C. Testicular spermatozoa have statistically significantly lower DNA damage compared with ejaculated spermatozoa in patients with unsuccessful oral antioxidant treatment. *Fertil Steril*. 2010; 93: 1142–1146 (импакт-фактор 5.411)
15. Esteves, S.C., Sánchez-Martín, F., Sánchez-Martín, P., Schneider, D.T., and Gosálvez, J. Comparison of reproductive outcome in oligozoospermic men with high sperm DNA fragmentation undergoing intracytoplasmic sperm injection with ejaculated and testicular sperm. *Fertil Steril*. 2015; 104: 1398–1405 (импакт-фактор 5.411)
16. Pabuccu, E.G., Caglar, G.S., Tangal, S., Haliloglu, A.H., and Pabuccu, R. Testicular versus ejaculated spermatozoa in ICSI cycles of normozoospermic men with high sperm DNA fragmentation and previous ART failures. *Andrologia*. 2017; 49: e12609 (импакт-фактор 1.458)
17. Esteves, S.C., Roque, M., Bradley, C.K., and Garrido, N. Reproductive outcomes of testicular versus ejaculated sperm for intracytoplasmic sperm injection among men with high levels of DNA fragmentation in semen: systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2017; 108: 456–467.e1 (импакт-фактор 5.411)
18. Bradley, C.K., McArthur, S.J., Gee, A.J., Weiss, K.A., Schmidt, U., and Toogood, L. Intervention improves assisted conception intracytoplasmic sperm injection outcomes for patients with high levels of sperm DNA fragmentation: a retrospective analysis. *Andrology*. 2016; 4: 903–910 (импакт-фактор 3.259)
19. Arafa, M., AlMalki, A., AlBadr, M., Burjaq, H., Majzoub, A., AlSaid, S. et al. ICSI outcome in patients with high DNA fragmentation: Testicular versus ejaculated spermatozoa. *Andrologia*. 2018; 50 (импакт-фактор 1.458)
20. Ramasamy, R., Yagan, N., and Schlegel, P.N. Structural and functional changes to the testis after conventional versus microdissection testicular sperm extraction. *Urology*. 2005; 65: 1190–1194 (импакт-фактор 1.861)

21. Esteves, S.C. and Agarwal, A. Reproductive outcomes, including neonatal data, following sperm injection in men with obstructive and nonobstructive azoospermia: case series and systematic review. Clinics (Sao Paulo). 2013; 68: 141–150 (импакт-фактор 1.591)
22. Esteves, S.C., Prudencio, C., Seol, B., Verza, S., Knoedler, C., and Agarwal, A. Comparison of sperm retrieval and reproductive outcome in azoospermic men with testicular failure and obstructive azoospermia treated for infertility. Asian J Androl. 2014; 16: 602–606 (импакт-фактор 2.862)
23. Alharbi, M., Hamouche, F., Phillips, S., Kadoch, J.I., Zini, A. Use of testicular sperm in couples with SCSA-defined high sperm DNA fragmentation and failed intracytoplasmic sperm injection using ejaculated sperm. Asian J Androl. 2019 (импакт-фактор 2.862)

9. Иные сведения, связанные с разработкой метода.

Медицинская помощь в рамках клинической апробации будет проводиться в соответствии с протоколом клинической апробации, GCP, приказом Минздрава России от 12.11.2012 №907н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «урология» и другими утвержденными нормативными актами.

III. Цели и задачи клинической апробации

10. Детальное описание целей и задач клинической апробации

Цель клинической апробации: сравнить эффективность применения сперматозоидов, полученных с помощью микрохирургической биопсии, для процедуры ICSI с применением сперматозоидов из эякулята у пар с привычным невынашиванием беременности и неудачными попытками применения вспомогательных репродуктивных технологий в анамнезе.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **основные задачи:**

1. Сравнительная оценка клинической эффективности применения сперматозоидов, полученных с помощью микрохирургической биопсии, для процедуры ICSI с применением сперматозоидов из эякулята у пар с привычным невынашиванием беременности и неудачными попытками применения вспомогательных репродуктивных технологий в анамнезе.
2. Сравнительная оценка безопасности применения сперматозоидов, полученных с помощью микрохирургической биопсии, для процедуры ICSI с применением сперматозоидов из эякулята у пар с привычным невынашиванием беременности и неудачными попытками применения вспомогательных репродуктивных технологий в анамнезе.
3. Сравнительная оценка клинико - экономической обоснованности применения сперматозоидов, полученных с помощью микрохирургической биопсии, для процедуры ICSI с применением сперматозоидов из эякулята у пар с привычным невынашиванием беременности и неудачными попытками применения вспомогательных репродуктивных технологий в анамнезе.

V. Дизайн клинической апробации

11. Научная обоснованность и достоверность полученных на стадии клинических исследований данных. Полученные данные обладают средней степенью достоверности.

12. Описание дизайна клинической апробации должно включать в себя:

12.1. Указание основных и дополнительных (при наличии) исследуемых параметров, которые будут оцениваться в ходе клинической апробации:

Основные параметры: частота наступления клинической беременности, частота рождения детей.

Дополнительные параметры: индекс фрагментации ДНК сперматозоидов, частота анеуплоидии сперматозоидов, доля связанных с гиалуроновой кислотой зрелых сперматозоидов, частота фертилизации, качество эмбрионов, безопасность микрохирургической биопсии яичка у пациентов без азооспермии, динамика уровня половых гормонов после микрохирургической биопсии яичка.

12.2. Описание дизайна клинической апробации с графической схемой (этапы и процедуры, а также сроки и условия их проведения)

Дизайн клинической апробации: проспективное когортное исследование.

Группа 1 (группа метода, n=100) – пациенты из пар с ПНБ или неудачами применения ВРТ в анамнезе, которым будет выполняться микрохирургическая биопсия яичка для последующей ICSI.

Группа 2 (группа сравнения, n=100) – пациенты из пар с ПНБ или неудачами применения ВРТ в анамнезе, которым будет выполняться стандартная андрологическая подготовка перед ICSI с дополнительными методами отбора сперматозоидов из эякулята.

- **Визит 1:** Отборочный этап и включение в исследование. Пациенты, подписавшие форму информированного согласия, будут оценены на соответствие критериям отбора для участия в исследовании. Они пройдут физикальное обследование, включая измерение витальных показателей, сбор анамнеза и данных о сопутствующем лечении, ультразвуковое исследование органов мошонки и предстательной железы, анализ крови на гормоны (тестостерон, эстрадиол, пролактин, ЛГ, ФСГ, ингибин В), кариотипирование, расширенный спермиологический анализ (спермограмма, MAR-тест, НВА-тест, TUNEL-тест, FISH-тест на анеуплоидию).

Визит 2: Хирургическая процедура с целью получения сперматозоидов. В день овариальной пункции у супруги будет произведена микрохирургическая биопсия яичка (fresh-протокол). Сперматозоиды, полученные хирургическим путём из паренхимы яичка и содержимого придатка яичка, будут использованы для процедуры ICSI, а при получении в достаточном количестве также будут отправлены для

проведения НВА-теста, TUNEL-теста и FISH-теста на анеуплоидию. Материал тестикулярной паренхимы будет отправлен на гистологическое исследование.

Визит 3:

Послеоперационный период – через 3 месяца после микрохирургической биопсии яичка.

- Общий осмотр, физикальное исследование половых органов, ультразвуковое исследование органов мошонки, оценка уровня половых гормонов, спермограмма, MAR-тест.
- Опрос на предмет особенностей течения беременности у супруги.

Визит 4:

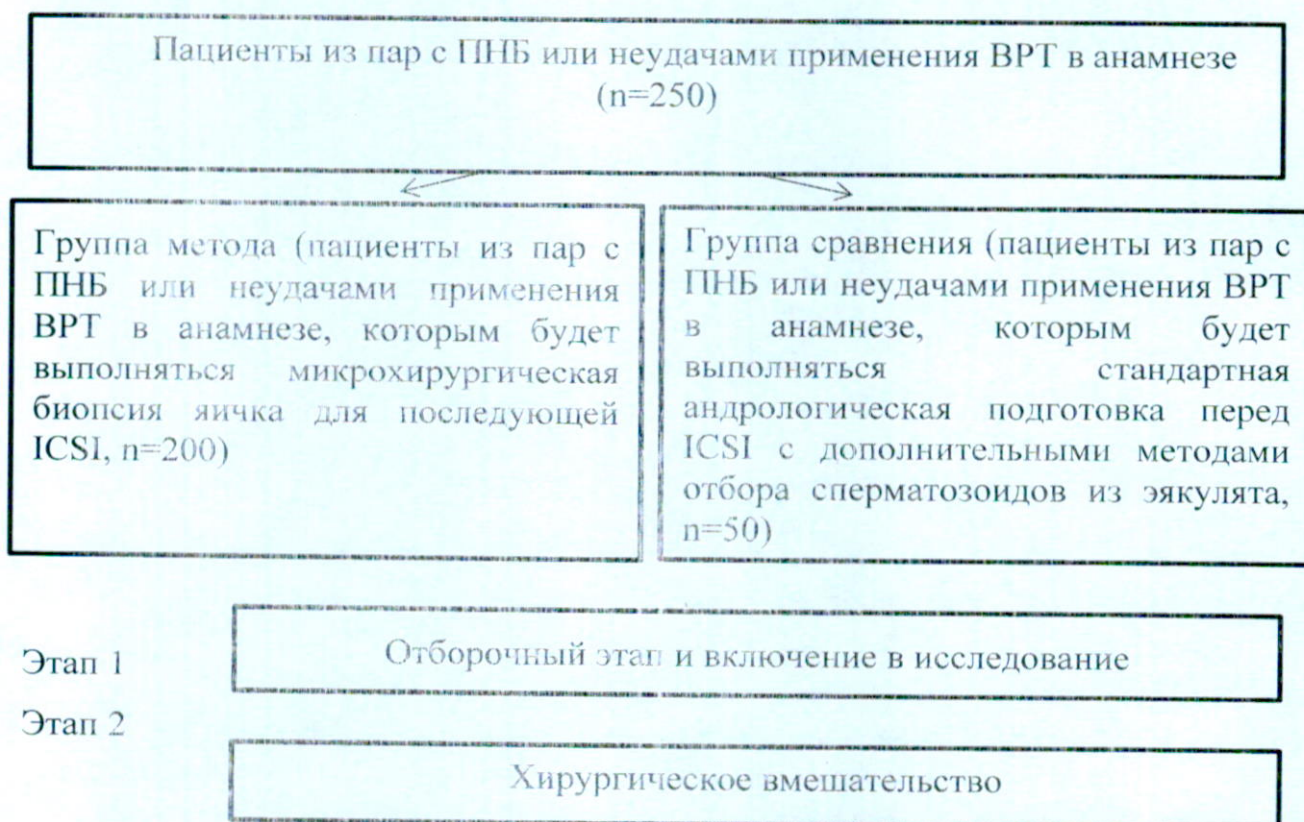
Послеоперационный период – через 6 месяцев после микрохирургической биопсии яичка.

- Общий осмотр, физикальное исследование половых органов, ультразвуковое исследование органов мошонки, оценка уровня половых гормонов, спермограмма, MAR-тест.
- Опрос на предмет особенностей течения беременности у супруги.

Визит 5:

Послеоперационный период – через 9 месяцев после микрохирургической биопсии яичка.

- Общий осмотр, физикальное исследование половых органов, ультразвуковое исследование органов мошонки, оценка уровня половых гормонов, спермограмма, MAR-тест.
- Опрос на предмет особенностей течения беременности у супруги.



Этап 3	Послеоперационный период – через 3 месяца после операции
Этап 4	Послеоперационный период – через 6 месяцев после операции
Этап 5	Послеоперационный период – через 9 месяцев после операции

12.3 Описание метода, инструкции по его проведению:

Методика заключается в проведении микрохирургической биопсии яичка у пациентов из пар с привычным невынашиванием беременности и/или неудачами применения вспомогательных репродуктивных технологий в анамнезе. Хирургический этап осуществляется с использованием операционного микроскопа для проведения аспирации сперматозоидов из придатка яичка и экстракции визуально нормальных семенных канальцев для получения сперматозоидов максимально возможного качества. Эмбриологический этап заключается в проведении процедуры ICSI супруге пациента в день операции, при необходимости – с применением дополнительных методов отбора сперматозоидов.

12.4 Ожидаемая продолжительность участия пациентов в клинической апробации, описание последовательности и продолжительности всех периодов клинической апробации, включая период последующего наблюдения, если таковой предусмотрен

Продолжительность диагностического этапа составляет до 1 месяца. Хирургический этап и последующая терапия в стационаре проводятся в течение 3 дней. Оценка репродуктологической эффективности процедуры ICSI с использованием тестикулярных сперматозоидов и долгосрочная оценка безопасности микрохирургической биопсии яичка проводится через 9 месяцев после операции.

12.5. Перечень данных, регистрируемых непосредственно в индивидуальной регистрационной карте клинической апробации метода (т.е. без записи в медицинской документации пациента) и рассматриваемых в качестве параметров, указанных в пункте 12.1. настоящего протокола клинической апробации

- Идентифицирующая информация о пациенте, медицинский анамнез, сопутствующие заболевания, данные, относящиеся к изучаемой патологии.
- Дата и время визитов и обследований, включая описание физикального обследования.
- Показатели витальных функций, рост, масса тела.
- Данные ультрасонографического и доплерографического исследования.

- Данные спермиологических исследований.
- Показатели гормонального статуса.
- Протокол операции, её продолжительность.
- Продолжительность послеоперационного периода, госпитализации.
- Акушерско-гинекологический статус супруги.

V. Отбор и исключение пациентов, участвующих в клинической апробации

13. Критерии включения в исследование:

- Возраст старше 18 лет.
- Два и более эпизода невынашивания беременности у супруги или две и более неудачных попытки применения вспомогательных репродуктивных технологий в анамнезе.

14. Критерии исключения

- Азооспермия.
- Эктопия яичек.
- Противопоказания к хирургическому вмешательству.
- Лица, указанные в пункте №30 приказа Минздрава России от 10.07.2015г. №433н «Об утверждении Положения об организации клинической апробации методов профилактики, диагностики, лечения и реабилитации и оказания медицинской помощи в рамках клинической апробации методов профилактики, диагностики, лечения и реабилитации (в том числе порядка направления пациентов для оказания такой медицинской помощи), типовой формы протокола клинической апробации методов профилактики, диагностики, лечения и реабилитации».

15. Критерии исключения пациентов из клинической апробации (т.е. основания прекращения применения апробируемого метода):

- Отказ мужчины от хирургического лечения.
- Отказ женщины от вступления в протокол вспомогательных репродуктивных технологий и проведения процедуры ICSI.
- Отсутствие возможности проведения всех мероприятий, запланированных в протоколе клинической апробации данного метода.

VI. Медицинская помощь в рамках клинической апробации

16. Вид, профиль и условия оказания медицинской помощи.

Вид медицинской помощи: в рамках клинической апробации.

Форма медицинской помощи: плановая.

Условия оказания медицинской помощи: в стационарных условиях.

17. Перечень медицинских услуг (вмешательств).

В рамках клинической апробации будут применены медицинские услуги в соответствии с Приказом Минздрава России от 13 октября 2017 года №804н «Об утверждении номенклатуры медицинских услуг»:

Наименование медицинской услуги	Усредненный показатель кратности применения	Усредненный показатель кратности применения	Стоимость, руб.
Прием (осмотр, консультация) врача-уролога первичный	1	1	3 000
Трансректальное пальцевое исследование	1	1	2 000
Осмотр (консультация) врачом-анестезиологом-реаниматологом первичный	1	1	2 500
Прием (осмотр, консультация) врача-терапевта первичный	1	1	3 500
Ежедневный осмотр врачом-урологом с наблюдением и уходом среднего и младшего медицинского персонала в отделении стационара	3	3	3 500
Суточное наблюдение врачом-анестезиологом-реаниматологом	1	1	11 000
Анестезиологическое пособие (включая раннее послеоперационное ведение)	1	1	11 500
Прием (осмотр, консультация) врача-терапевта повторный	1	1	3 000
Процедуры сестринского ухода за пациентом, находящимся в отделении интенсивной терапии и реанимации	1	1	-
Эластическая компрессия нижних конечностей	3	3	1 300
Наложение повязки при операциях на наружных мужских половых органах	3	3	150
Измерение артериального давления на периферических артериях	3	3	100
Лабораторные методы исследования			
Комплекс исследований предоперационный для проведения планового оперативного вмешательства	1	1	4 500
Определение антигена (HbsAg) вируса гепатита В (Hepatitis B virus) в крови	1	1	350

Определение антител к вирусу гепатиту С (Hepatitis C virus) в крови	1	1	350
Определение антител классов М, G (IgM, IgG) к вирусу иммунодефицита человека ВИЧ-1 (Human immunodeficiency virus HIV 1) в крови	1	1	350
Определение антител классов М, G (IgM, IgG) к вирусу иммунодефицита человека ВИЧ-2 (Human immunodeficiency virus HIV 2) в крови	1	1	350
Анализ крови биохимический общетерапевтический	1	1	1 500
Общий (клинический) анализ мочи	1	1	400
Общий (клинический) анализ крови развернутый	1	1	400
Коагулограмма (ориентировочное исследование системы гемостаза)	1	1	1 350
Исследование уровня фибриногена в крови	1	1	310
Исследование сосудисто-тромбоцитарного первичного гемостаза	1	1	350
Определение основных групп по системе АВ0	1	1	500
Определение антигена D системы Резус (резус-фактор)	1	1	500
Определение подгруппы и других групп крови меньшего значения А-1, А-2, D, Сс, Е, Kell, Duffy	1	1	1 900
Определение антител к бледной трепонеме (Treponema pallidum) в крови	1	1	550
Исследование уровня фолликулостимулирующего гормона в сыворотке крови	4	4	500
Исследование уровня лютеинизирующего гормона в сыворотке крови	4	4	500
Исследование уровня общего тестостерона в крови	4	4	550
Исследование уровня свободного тестостерона в крови	4	4	900
Исследование уровня общего эстрадиола в крови	4	4	500
Исследование уровня пролактина в крови	4	4	550
Исследование уровня ингибина В в крови	4	4	1 600
Цитогенетическое исследование (кариотип)	1	1	3 500

Патолого-анатомическое исследование биопсийного (операционного) материала яичка, семенного канатика и придатков	1	1	1 400
Сбор образца спермы для исследования	4	4	900
Микроскопическое исследование спермы	4	4	900
Тест «смешанная антиглобулиновая реакция сперматозоидов»	4	4	1 500
Спермограмма	4	4	2 500
НВА-тест	3	3	3 900
TUNEL-тест на фрагментацию ДНК сперматозоидов	3	3	1 100
FISH-тест на анеуплоидию сперматозоидов	3	3	3 000
Инструментальные методы исследования			
Ультразвуковое исследование органов мошонки	4	4	2 500
Ультразвуковое исследование предстательной железы трансректальное	1	1	1 700
Дуплексное сканирование сосудов мошонки и полового члена	4	4	2 000
Методы лечения			
Биопсия яичка	1	1	30 000
Биопсия яичка придатка	1	1	10 000
Введение сперматозоида в ооцит	1	1	12 000

Наименования специализированных продуктов лечебного питания, частота приема, объем используемого продукта лечебного питания;

Наименование вида лечебного питания	Частота приема	Стоимость, руб.
Основной вариант стандартной диеты	3	6 000

18. Лекарственные препараты для медицинского применения, дозировка, частота приема, способ введения, а также продолжительность приема, включая периоды последующего наблюдения:

Наименование лекарственного препарата	Средняя суточная доза	Средняя курсовая доза		Путь введения	Стоимость курса, руб.
Натрия хлорид	400	1600	мл	в/в	204,0
Лидокаин	80	600	мг	в/в	42,0
Кеторолак	30	90	мг	в/м	44,4
Фентанил	0,2	0,6	мг	в/в	1 212,0
Диазепам	10	30	мг	в/в	50,4
Мидазолам	15	150	мг	в/в	686,0
Галантамин	30	150	мг	в/в	6 237,0
Неостигмина метилсульфат	0,5	2	мг	п/к	29,2

VII. Оценка эффективности

19. Перечень показателей эффективности

- Частота фертилизации.
- Частота наступления клинической беременности.
- Частота рождения детей.

20. Перечень критериев дополнительной ценности

- Отсутствие отрицательной динамики уровня половых гормонов.
- Отсутствие отрицательной динамики показателей спермограммы и MAR-теста.
- Отсутствие анатомических изменений яичек после микрохирургической биопсии по данным физикального обследования и ультразвукографии.
- Отсутствие послеоперационных осложнений.

21. Методы и сроки оценки, учета и анализа показателей эффективности

Показатели эффективности	Методы оценки	Критерий эффективности	Сроки оценки
Частота фертилизации	Число процедур ICSI, которые успешно привели к фертилизации	Более 60%	Через 1 день после операции
Частота наступления клинической беременности у супруги	Число случаев продолжающейся беременности у партнёрши	Более 50%	Через 3 месяца после операции

Показатели эффективности	Методы оценки	Критерий эффективности	Сроки оценки
Частота рождения детей	Число случаев рождения живого ребёнка после ICSI с применением тестикулярных сперматозоидов	Более 40%	Через 9 месяцев после операции
Отсутствие отрицательной динамики уровня половых гормонов	Анализ крови на тестостерон, ЛГ, ФСГ, пролактин, эстрадиол, ингибин В	Снижение уровня тестостерона и ингибина В не более чем на 15%, повышение уровней ЛГ, ФСГ и пролактина не более чем на 20%; отсутствие случаев гипогонадизма de novo	Через 3, 6 и 9 месяцев после операции
Отсутствие отрицательной динамики показателей спермограммы и MAR-теста	Спермиологическое исследование	Снижение общего количества подвижных сперматозоидов (TMSC) не более чем на 20%, отсутствие случаев иммунного бесплодия (MAR IgG > 50%) de novo	Через 3, 6 и 9 месяцев после операции
Отсутствие анатомических изменений яичек после микрохирургической биопсии по данным физикального обследования и ультрасонографии	Физикальное исследование, доплерография	Отсутствие гидроцеле, признаков хронического эпидидимита, орхита, гипотрофии яичек	Через 3, 6 и 9 месяцев после операции
Осложнения в раннем послеоперационном периоде	Наличие	Нет	В раннем послеоперационном периоде

VII. Статистика

22. Описание статистических методов, которые предполагаются использовать на промежуточных этапах анализа клинической апробации и при ее окончании. Уровень значимости применяемых статистических методов.

База данных будет сделана в формате Excel и импортирована в статистическую программу IBM SPSS для дальнейшей обработки данных. Стандартной сводной статистикой для количественных и порядковых переменных явится число наблюдений (n), среднее, стандартное отклонение (SD), медиана, минимум (min) и максимум (max) для пациенток с наличием данных. При анализе соответствия распределений количественных признаков нормальному закону будет применяться критерий Колмогорова-Смирнова. Описательная статистика качественных признаков будет представлена абсолютными и относительными частотами значений этих признаков. Для сравнения несвязанных выборок по количественным и порядковым признакам будет применяться тест Манна-Уитни или t-тест (в случае нормальных распределений в каждой из сравниваемых групп и с учетом равенства/неравенства дисперсий), при необходимости - непараметрический дисперсионный анализ по Краскел-Уоллису, для сравнения связанных групп - тест Вилкоксона и дисперсионный анализ по Фридмену. Сравнение групп по качественным признакам будет проводиться с использованием теста Хи-квадрат, точного критерия Фишера и критерия МакНемара. В случае необходимости будет проведен анализ в подгруппах, результаты которого могут свидетельствовать о различной величине эффекта от лечения в зависимости от различных независимых переменных. Уровень значимости, применяемый при проверке статистических гипотез, устанавливается на уровне 0,05. В случае необходимости будет применяться поправка Бонферрони. Для основных результатов исследования будут рассчитаны показатели эффективности и безопасности и их 95%-ные доверительные интервалы.

23. Планируемое количество пациентов, которым будет оказана медпомощь в рамках клинической апробации с целью доказательной эффективности апробируемого метода. Обоснование численности пациентов, включая расчеты для обоснования статистической мощности и клинической правомерности клинической апробации.

Для расчета размера выборки, необходимой и достаточной для выявления запланированного размера эффекта (частота достижения результата 90% в группе вмешательства и 70% в группе сравнения), нами был использован онлайн калькулятор Sealed Envelope.

Для расчета необходимого размера выборки по исходу частота достижения клинического ответа использовались статистическая гипотеза превосходства для бинарных исходов. Размер необходимой выборки был

вычислен с заданной статистической мощностью 90% и уровнем альфа-ошибки (ошибки первого рода) 5%.

Планируемое количество случаев апробации – 200: в 2020 году – 50 пациентов, в 2021 году – 75 пациентов, в 2022 году – 75 пациентов.

Продолжительность клинической апробации – 3 года

IX. Нормативы финансовых затрат

24. Описание применяемого метода расчета нормативов финансовых затрат.

Для определения норматива финансовых затрат произведена оценка стоимости оказания медицинских услуг, а также текущей стоимости медицинских изделий и лекарственных препаратов, применяемых при апробации. Расчет нормативов финансовых затрат на оказание одной услуги одному пациенту проводили в соответствии с приказом Минздрава России от 13.08.2015г. №556 «Об утверждении Методических рекомендаций по расчету финансовых затрат на оказание медицинской помощи по каждому протоколу клинической апробации методов профилактики, диагностики, лечения и реабилитации».

25. Предварительный расчет объема финансовых затрат на оказание медицинской помощи в рамках клинической апробации на 1 пациенту, который включает:

Общая стоимость апробации метода в одном случае составляет 151,71 тыс. руб. Планируемое количество случаев апробации – 200. Общая стоимость апробации составит 30 342,00 тыс. руб.

В том числе, в 2020 году – 50 пациентов на сумму 7 585,50 тыс. руб., в 2021 году – 75 пациентов на сумму 11 378,25 тыс. руб., в 2022 году – 75 пациентов на сумму 11 378,25 тыс. руб.

№ п/п	Наименование расходов	тыс. руб.
1	Расходы на оплату труда и начисления на выплаты по оплате труда	72,06
2	Расходы на приобретение материальных запасов (лекарственных препаратов, медицинского инструментария, реактивов, химикатов, мягкого инвентаря, прочих расходных материалов, включая импланты, вживляемые в организм человека, других медицинских изделий), используемых в рамках реализации протокола клинической апробации	63,69
3	Расходы на оплату услуг, предоставляемых на договорной основе, связанных с оказанием медицинской помощи по протоколу клинической апробации на одного пациента	0,0

4	Расходы на общехозяйственные нужды (коммунальные услуги, расходы на содержание имущества, связь, транспорт и т.д.)	15,96
4.1	в том числе расходы на оплату труда и начисления на выплаты по оплате труда работников, которые не принимают непосредственного участия в реализации протокола клинической апробации	7,99
		151,71

Директор

« ___ » _____ 2020г.



Г.Т. Сухих

Индивидуальная регистрационная карта наблюдения пациента в рамках
клинической апробации

*«Протокол клинической апробации метода микрохирургической
биопсии яичка с целью получения тестикулярных сперматозоидов для
интрацитоплазматической инъекции в ооцит у пар с привычным
невынашиванием беременности и неудачными попытками
применения вспомогательных репродуктивных технологий в
анамнезе»*

Код исследования:

Версия: 01

Индивидуальный идентификационный код пациента (ИИКП):

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Скрининговый № пациента

--	--	--	--

--

Группа

Подпись _____ Дата: _____

Ответственный исследователь

Подпись _____ Дата: _____

Исследователь

Клинический центр: федеральное государственное бюджетное
учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр
акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И.
Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Демографические данные

Рост пациента (см)

--	--	--

Вес пациента (кг)

--	--

Возраст пациента (полных лет)

--	--

Индекс массы тела

--	--	--

Дата подписания

информированного согласия

--	--	--	--	--	--

Социально-экономические факторы

	Отметить (V)	Отметить (V)
Высшее образование	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Курение	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Семейное положение - женат	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет

Мужские факторы риска для невынашивания беременности

	<u>Отметить (V)</u>	<u>Отметить (V)</u>
Варикоцеле	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Аномалии кариотипа	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Повышение фрагментации ДНК сперматозоидов	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Низкая функциональная способность сперматозоидов (НВА- тест)	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет

Анеуплоидия сперматозоидов	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Курение	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет

Перенесенные соматические заболевания

	<u>Отметить (V)</u>	<u>Отметить (V)</u>
Переливание крови в анамнезе	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Заболевания органов дыхания	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Заболевания сердечно- сосудистой системы	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Заболевания системы кровообращения	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Заболевания желудочно- кишечного тракта	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Заболевания мочевыделительной системы	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Эндокринные заболевания	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Заболевания нервной системы	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Психические расстройства	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Заболевания органов зрения	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет
Аллергические реакции	<input type="checkbox"/> Да	<input type="checkbox"/> Нет

Исход проведенного лечения: улучшение, выздоровление, без перемен.

Осложнения: да/нет.

**Согласие на опубликование протокола клинической апробации на
официальном сайте Минздрава России в сети «Интернет»**

ФГБУ «НМИЦАГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России дает согласие на опубликование данных протокола клинической апробации «Протокол клинической апробации метода микрохирургической биопсии яичка с целью получения тестикулярных сперматозоидов для интрацитоплазматической инъекции в ооцит у пар с привычным невынашиванием беременности и неудачными попытками применения вспомогательных репродуктивных технологий в анамнезе» на официальном сайте Минздрава России в сети «Интернет».

Директор

«__» _____ 2020 г.

М.П.



Г.Т. Сухих