

МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ПЛАЦЕНТАРНЫХ НАРУШЕНИЙ

(инструкция по применению)

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ:

Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»

АВТОРЫ:

В.В. Крупейченко, д.м.н., профессор Е.И. Барановская, д.м.н., профессор
С.В. Жаворонок, к.м.н., доцент О.А. Теслова

УДК 618.36-07(083.133)
ББК 57.162я82
М41

Авторы-разработчики:
*Крупейченко Виктория Владимировна,
Барановская Елена Игоревна,
Жаворонок Сергей Владимирович,
Теслова Оксана Александровна.*

Рецензенты:

Кандидат медицинских наук,
врач акушер-гинеколог
ГУЗ «Гомельская центральная городская поликлиника»
Марина Александровна Кустова

Доктор медицинских наук, доцент,
заместитель директора по научной работе
ГУ «РНПЦ РМиЭЧ»
Виктор Михайлович Мицура

М41 Метод диагностики плацентарных нарушений /авт. – разраб. – В.В.Крупейченко, Е.И.Барановская, С.В.Жаворонок, О.А.Теслова – Гомель: Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», 2021.- с.19.

В настоящей инструкции по применению (далее - инструкция) изложен метод диагностики плацентарных нарушений (О43), основанный на использовании антенатальной наружной кардиотокографии, ультразвукового исследования с доплерометрией и определении содержания ассоциированного с беременностью плазменного протеина А (РАРР-А) в периферической крови беременной женщины. Внедрение инструкции позволит своевременно верифицировать нарушение функции плаценты, сделать выбор срока и способа родоразрешения.

Инструкция предназначена для врачей-акушеров-гинекологов учреждений здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь беременным женщинам среднего и высокого перинатального риска, в амбулаторных и стационарных условиях.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ



МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ПЛАЦЕНТАРНЫХ НАРУШЕНИЙ (инструкция по применению)

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ:

Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»

АВТОРЫ:

В.В. Крупейченко, д.м.н., профессор Е.И. Барановская, д.м.н., профессор
С.В. Жаворонок, к.м.н., доцент О.А. Теслова

Гомель, 2021

В настоящей инструкции по применению (далее - инструкция) изложен метод диагностики плацентарных нарушений (О43), основанный на использовании антенатальной наружной кардиотокографии (КТГ), ультразвукового исследования (УЗИ) с доплерометрией и определении содержания ассоциированного с беременностью плазменного протеина А (Pregnancy-associated plasma protein-A, PAPP-A) в периферической крови беременной женщины. Внедрение инструкции позволит своевременно верифицировать нарушение функции плаценты, сделать выбор срока и способа родоразрешения.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Настоящая инструкция предназначена для врачей-акушеров-гинекологов учреждений здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь беременным женщинам среднего и высокого перинатального риска, в амбулаторных и стационарных условиях.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Средний и высокий перинатальный риск при доношенной беременности.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Многоплодная беременность (О30);
2. Искусственное оплодотворение (Z31.1);
3. Сахарный диабет (О24);
4. Преэклампсия средней степени тяжести (О14.0), тяжелая преэклампсия (О14.1);
5. Ожирение 2-3 степени (Е66);
6. Клинические и лабораторные признаки острого воспаления.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Оснащение клинико-диагностической лаборатории учреждений здравоохранения II-IV уровня перинатальной помощи.

1. Фетальный монитор со встроенной системой анализа сердечного ритма плода;
2. Аппарат для ультразвукового исследования с функцией доплерометрии;
3. Анализатор иммуноферментный фотоэлектрический;
4. Автоматическое устройство для отмывки иммунологических планшетов;
5. Термостат электрический суховоздушный;
6. Универсальный лабораторный встряхиватель;
7. Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации плазменного белка А, ассоциированного с беременностью, в сыворотке крови.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА С УКАЗАНИЕМ ЭТАПОВ

1 ЭТАП – ДИАГНОСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПЛАЦЕНТАРНЫХ НАРУШЕНИЙ.

1. Антенатальная наружная кардиотокография (КТГ) с нестрессовым тестом проводится с 30 недель беременности (амбулаторно при каждом плановом посещении врача женской консультации, в период госпитализации ежедневно).

Оценка теста по наличию акцелераций в ответ на движения плода в течение 20 минут. Тест считать реактивным, если в течение 20 минут зарегистрировано не менее 4 шевелений плода, сопровождающихся акцелерациями.

Тип КТГ определяется в соответствии с классификацией Международной федерации гинекологии и акушерства (International Federation of Gynecology and Obstetrics-FIGO).

2. Ультразвуковое исследование (УЗИ):

- биометрия для диагностики недостаточного роста плода,
- локализация, эхоструктура плаценты,
- индекс амниотической жидкости;
- доплерометрия маточно-плацентарно-плодовой гемодинамики.

Проводится в сроки согласно клиническому протоколу «Медицинское наблюдение и оказание медицинской помощи женщинам в акушерстве и гинекологии» (Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 19.02.2018г. № 17) и по показаниям:

1. Отклонение от нормы количественных параметров КТГ и ареактивный нестрессовый тест.

2. Заключение КТГ «Критерии не соблюдены».

2 ЭТАП – КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ КОНЦЕНТРАЦИИ АССОЦИИРОВАННОГО С БЕРЕМЕННОСТЬЮ ПЛАЗМЕННОГО ПРОТЕИНА А (РАРР-А) (МКГ/МЛ) МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА (ИФА).

Отбор беременных для исследования на втором этапе осуществляется на основании результатов первого этапа. Беременные, у которых зарегистрированы патологический тип КТГ, критические

нарушения плодово-плацентарного кровотока и нарушения маточно-плацентарного кровотока, а также тревожный тип КТГ в сочетании с нарушением маточно-плацентарного кровотока и/или нарушением плодово-плацентарного кровотока, из исследования на 2-м этапе исключаются.

Показания:

1. Физиологический тип КТГ и отсутствие ультразвуковых признаков плацентарных нарушений.
2. Тревожный тип КТГ при отсутствии ультразвуковых признаков плацентарных нарушений.
3. Ультразвуковые признаки компенсированных плацентарных нарушений.

Концентрацию PAPP-A определяют согласно инструкции производителя тест-системы. Концентрация PAPP-A ≥ 178 мкг/мл свидетельствует о наличии плацентарных нарушений.

Дальнейшее ведение беременных осуществляется на основании полученных результатов согласно алгоритма (Рисунок 1).

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ МЕТОДА

Нарушение техники используемых методов исследования.



Рисунок 1. - Алгоритм диагностики плацентарных нарушений у беременных

Обоснование целесообразности практического использования метода диагностики плацентарных нарушений

Плацентарные нарушения (О43) являются одной из важных проблем акушерства и перинатологии. Несмотря на современные успехи в профилактике и лечении, их частота составляет до 45% [1]. Клиническим проявлением нарушения диффузии газов на уровне плацентарного барьера является гипоксия плода, длительное нарушение метаболической функции плаценты приводит к задержке внутриутробного роста плода, данные нарушения могут существовать изолированно или сочетано. [2]. Причиной антенатальной гибели плода в 68% случаях являются плацентарные нарушения [3]. В настоящее время предложена прогностическая таблица развития плацентарных нарушений, в которой все факторы риска сформированы в основные группы: социально-бытовые условия, нарушение питания, соматическая патология, особенности акушерского анамнеза, осложнения беременности, инфекционные факторы [2].

Частым осложнением гестационного периода, сопряженным с плацентарными нарушениями, является угроза прерывания беременности [1, 4]. Частота развития плацентарных нарушений у пациенток с вирусной и/или бактериальной инфекцией составляет 45,0-64,2% [5, 6]. Среди механизмов инфицирования структур фетоплацентарного комплекса выделены восходящий, гематогенный, нисходящий и смешанный. Механизм инфицирования зависит от вида возбудителя и источника инфекции [7, 8]. Развитие плацентарных нарушений под влиянием инфекции происходит за счет повреждающего действия медиаторов воспаления и микробных токсинов [9].

Патоморфологическими проявлениями плацентарных нарушений являются дисциркуляторные расстройства, инволютивно-дистрофические

процессы, гипоплазия плаценты, патологическая незрелость ворсин, а также диффузные воспалительные изменения в системе мать-плацента-плод в сочетании с нарушениями компенсаторно-приспособительных реакций [10, 11]. При сочетании нарушения плацентарно-плодовой гемодинамики с инфицированием развиваются более выраженные морфофункциональные изменения плаценты [12]. А дистрофические и некробиотические изменения синцитиокапиллярных мембран повышают проницаемость капиллярного барьера и способствуют проникновению возбудителей в органы плода [13].

Клинические проявления плацентарных нарушений в большинстве случаев возникают постепенно, и существует промежуток времени от формирования структурных изменений в фетоплацентарном комплексе до развития страдания плода [14]. Раннее выявление и своевременная терапия в соответствии с патогенетическими механизмами плацентарных нарушений способствуют увеличению вероятности благоприятного исхода беременности [15].

Основой в работе родовспомогательных учреждений является дифференцированный лечебно-диагностический подход к каждому пациенту фетального возраста, с использованием диагностического оборудования. В лечебных учреждениях доступны и широко используются такие методы как кардиотокография, биофизический профиль, ультразвуковое исследование с доплерометрией [16]. Всеми вышеизложенными методами регистрируется наличие у беременной дефекта одной или нескольких функций плаценты. Плацентарная дисфункция обусловлена срывом компенсаторно-приспособительных механизмов на тканевом уровне. В патогенезе ее решающая роль принадлежит молекулярным и клеточным изменениям с нарушением регуляции адаптационных реакций клеток плаценты. [17].

В регуляции плодово-материнских взаимоотношений большую роль играют гуморальные факторы – фетоплацентарные протеины. Изучение плацентарных белков, выполняющих роль ферментов, гормонов, рецепторов, факторов роста, иммунорегуляторных агентов, синтезируемых различными частями плаценты, дает новый клинический взгляд на их роль в развитии беременности [18]. Точность диагностики плацентарных нарушений может быть повышена путем количественной оценки биомаркеров материнской сыворотки [19].

К специфическим белкам беременности относится ассоциированный с беременностью плазменный протеин А (РАРР-А) (pregnancy-associated plasma protein A). Он обнаруживается в крови матери с 5-й недели гестации, специальными иммуноморфологическими методами РАРР-А выявлен в гранулах апикальной зоны синцитиотрофобласта ворсин плаценты, в поверхностном эпителии эндометрия и в децидуальных клетках вокруг зоны имплантации и в эпителии амниона [18]. Концентрация РАРР-А в сыворотке представляет собой многообещающий прогностический биомаркер [19]. Выявление РАРР-А в сыворотке крови матери используется для прогноза беременности. Установлено, что сывороточная концентрация РАРР-А к 10-й неделе повышается в 100 раз, градиентно увеличивается в течение беременности и при доношенной беременности может превышать 100 мкг/мл. [20, 21]. В настоящее время РАРР-А широко применяется в биохимическом скрининге для диагностики хромосомных аномалий плода. Установлено наиболее резкое снижение белка при трисомиях по 21, 18 и 13-й хромосомам и синдроме Дауна, что может быть проявлением фетопатии, при которой имеет место поступление в кровотоки токсических метаболитов, избирательно блокирующих синтез белка плацентой [22, 23]. Многоплодная беременность характеризуется высокой концентрацией этого

макроглобулина. А низкие концентрации РАРР-А характерны для женщин с ожирением 2-3 степени. У женщин с беременностью после экстракорпорального оплодотворения уровень РАРР-А уменьшается в первом триместре и увеличивается во втором и третьем триместрах. Установлено снижение концентрации данного белка у женщин с сахарным диабетом [24]. Большая прогностическая ценность данного белка как маркера невынашивания: низкий уровень РАРР-А в I и II триместре предшествует спонтанным абортam у 50 % беременных женщин, а высокое содержание в 34 недели выявляется у тех беременных, у которых в дальнейшем бывают преждевременные роды [23, 25, 26]. Установлено снижение концентрации РАРР-А в сыворотке крови при неразвивающейся беременности в I триместре [27].

Колебание уровня РАРР-А в материнском кровотоке происходит при изменениях кровообращения в плаценте. Наблюдается нарастание содержания РАРР-А в сыворотке крови при преэклампсии задолго до появления гиповолемии и протеинурии, что обусловлено стимулирующим воздействием микроциркуляторных нарушений в плацентарной ткани на секрецию этого белка. [23, 28]. В современных исследованиях установлено, что 12,9% женщин, у которых выявлены нестандартные концентрации РАРР-А в период гестации и в последующих беременностях имеют отклонения от нормы уровня данного белка в сыворотке крови. Для пациенток с рецидивирующим ненормальным уровнем РАРР-А характерен более высокий уровень плацентарных нарушений [29]. РАРР-А является ингибитором эластазы гранулоцитов (фермента, индуцируемого при воспалении), чувствительность РАРР-А как маркера воспаления выше, чем С-реактивного белка. Установлено, что даже незначительные повреждения в тканях, такие как ишемия, приводят к активации механизма защиты и вызывают увеличение продукции белка

[30, 31, 32]. Развитие плацентарных нарушений сопровождается повышением концентрации PAPP-A [33].

Таким образом, большое количество факторов риска развития плацентарных нарушений и высокая частота встречаемости данной патологии, несмотря на существующие методы прогнозирования и профилактики, обуславливает необходимость усовершенствования диагностики.

Широкое применение ассоциированного с беременностью плазменного протеина А для прогноза и диагностики осложнений беременности, увеличение его концентрации при дисциркуляторных, ишемических и воспалительных изменениях, лежащих в основе патогенеза плацентарных нарушений, предрасполагает к использованию определения содержания данного протеина для диагностики плацентарных нарушений. Определение концентрации данного белка в комплексе с широко применяемыми методами (КТГ, УЗИ с доплерометрией) будет способствовать усовершенствованию диагностики плацентарных нарушений, обеспечит возможность диагностировать изменения на тканевом уровне, что опосредованно позволит своевременно проводить комплекс лечебных мероприятий, родоразрешение.

Список использованных источников:

1. Кузьмин, В.Н. Фетоплацентарная недостаточность: проблема современного акушерства / В.Н. Кузьмин // Лечащий врач. – 2011. - № 3. – С. 50-54.
2. Стрижаков, А.Н. Синдром задержки роста плода / А.Н. Стрижаков, И.В. Игнатко, Е.В. Тимохина; под ред. А.Н. Стрижаков. – М. : ГЭОТАР, 2013. – 120 с.

3. Investigating in utero fetal death: outcome of internal medicine consultation / Belhomme, N. [et al.] // International Journal of Rheumatic Diseases. – 2018. – № 21(2). – P. 381-386.

4. Климанцев, И.В. Клинико-морфологические и молекулярно-генетические критерии плацентарной недостаточности у беременных с недифференцированной дисплазией соединительной ткани : автореф. дис. канд. мед. наук : 14.01.01 / И.В. Климанцев ; Моск. «Научн.центр акуш., гинек. и перинат. – М., 2016. – 25 с.

5. Leading role of infection in formation of placental insufficiency / Bondarenko, K.R. [et al.] // Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. – 2013. № 4. P. 3-9.

6. Щербина, Н.А. Пренатальная диагностика внутриутробного инфицирования плода и факторы риска его реализации у серопозитивных беременных при обострении генитальной герпетической инфекции / Н.А. Щербина, Л.А. Выговская // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2017. - № 2 (75). – С. 84-91.

7. Поиск путей оптимизации ведения гестационного, родового и послеродового периода у женщин с вульвовагинальным кандидозом / Г.О. Гречканев [и др.] // Медицинский альманах. – 2016. - № 5/45. – С. 38-41.

8. Leplans, D.M. Role for dendritic cells in immunoregulation during experimental vaginal candidiasis / D.M. Leplans, M.M Barouse, P.L. Fidel // Infection and Immunity. – 2006. – Vol. 74, № 3. – P. 3213-3221.

9. Redline, R.W. Placental inflammation / R.W. Redline // Seminars in Neonatology. – 2004. - № 3. – Vol. 9. – P. 265-274.

10. Казанцева, Е.В.. Морфофункциональные изменения в плацентах детей, родившихся с малым к сроку гестации весом / Е.В Казанцева, Н.Н Чарторижская, М.Н. Мочалова // ЭНИ Забальский медицинский вестник. – 2014. - № 3. – С. 1-5.

11. Милованов, А.П. Патология системы мать-плацента-плод / А.П. Милованов. – М. : Медицина, 1999. – 448 с.
12. Глуховец, Б.И. Компенсаторные и патологические реакции плода при хронической плацентарной недостаточности / Б.И. Глуховец, Ю.В. Рец // Архив патологии. – 2009. - № 2. – С. 59-62.
13. Концепция плацентарной недостаточности / В.Ф. Мельникова [и др.] // Педиатр. – 2013. – Т. 4. - № 4. – С. 28-32.
14. Зефирова, Т.П. Новые аспекты патогенеза плацентарной недостаточности / Т.П. Зефирова, М.Е. Железова // Consilium medicum. – 2018. - № 20 (6). – С. 46-49.
15. Плацентарная недостаточность: особенности патогенеза, терапии и профилактики / А.Л. Унанян [и др.] // Consilium medicum. – 2015. – № 17 (6). – С. 37-40.
16. Воскресенский, С.Л. Оценка состояния плода. Кардиотокография. Допплерометрия. Биофизический профиль: Учеб. пособие. – Мн. : Книжный Дом, 2004. – 304 с.
17. Рыбалко, А.Н. Плацентарная дисфункция и перинатальные потери / А.Н. Рыбалко, Я.А. Егорова // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2012. – Т. 2. - № 3-4. – С. 50-54.
18. Милованов, А.П. Структурные основы белоксинтезирующей функции плаценты и децидуальной оболочки матки / А.П. Милованов, Е.С. Ляшко // Вестник. – 1999. - № 4. – С. 32-37.
19. Relative value of serum pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) and GRACE score for a 1-year prognostication: A complement to calculation in patients with suspected acute coronary syndrome / Ojrzanowski, M. [et al.] // Advances in Clinical Experimental Medicine. – 2018. - № 27 (11). – P. 1573-1580.

20. A placenta clinic approach to the diagnosis and management of fetal growth restriction / Kingdom, J.C. [et al.] // American Journal Obstetrics and Gynecology. – 2018. – Vol. 218. - P. 803-817.

21. Maternal serum activina at 11-13 weeks of gestation in hypertensive disorders of pregnancy / Akolekal, R. [et al.] // Fetal Diagnosis and Therapy. – 2009. – Vol. 25. - № 3. – P. 320-327.

22. Турсунова, Д.Т. Динамический контроль за состоянием плода с использованием не инвазивных методов пренатальной диагностики / Д.Т. Турсунова // Акушерство. – 2012. - № 1. – С. 18-25.

23. Ассоциированный с беременностью протеин – А и другие макроглобулины как белковые маркеры перинатальной патологии / В.С. Горин [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 1998. - № 4. – С. 18-23.

24. Serum pregnancy-associated plasma protein-A in the three trimesters of pregnancy: effect of maternal characteristics and medical history / Wright, D. [et al.] // Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. – 2015. - № 46. – P. 42-50.

25. Кудряшов, А.Г. Перинатальные исследования в первом триместре беременности с использованием биохимических маркеров фетоплацентарного комплекса : А2-АГФ, β -ХГЧ, РАРР-А, ТБГ / А.Г. Кудряшов, Е.В. Печковский // Мать и дитя в Кузбассе. – 2003. – Т. 14, № 3. – С. 9-13.

26. Ассоциированный с беременностью протеин – А и другие макроглобулины как белковые маркеры перинатальной патологии / Горин [и др.] // Научная сеть [Электронный ресурс]. – 2011. – Режим доступа : <http://nature web. ru/db/msg.html> – Дата доступа : 08.02.2011.

27. Нарушение секреции эмбриоспецифических белков в генезе фетальных потерь / К.Ю. Сагамонова [и др.] // Мать и дитя: материалы XI

Всероссийс. научн. форума, Москва, 28 сент.-1 окт. 2010 г. / ред. Г.Т. Сухих, И.И. Баранов. – Москва, 2010. – С. 213-214.

28. The efficiency of first-trimester serum analytes and maternal characteristics in predicting fetal growth disorders / K.R. Goetzinger [et al] // American Journal Obstetrics and Gynecology. – 2009. - № 201(4). – P. 412-416.

29. Are Women with a History of Low PAPP-A at Risk for Adverse Perinatal Outcomes in a Subsequent Pregnancy? / Zafman K.B. [et al] // American Journal of Perinatology. – 2019. - № 36 (6). – P. 647-652.

30. Шевченко, О.П. Сравнительный анализ протеина плазмы А и других маркеров воспаления у больных с острым коронарным синдромом / О.П. Шевченко, Ю.С. Слесарева, О.А. Шевченко // Российский кардиологический журнал. – 2008. - № 6. – С. 34-39.

31. PAPP-A: a possible pathogenic link to the instability of atherosclerotic plaque / X. Li [et. al.] // Medical Hypotheses. – 2008. – Vol. 70. -№ 3. – P. 597-599.

32. PAPP-A as a marker of increased long-term risk in patients with chest pain / P.A. Kavsak [et. al.] // Clinical Biochemistry. – 2009. – Vol. 42. - № 10-11. - P.1012-1018.

33. Барановская, Е.И. Вульвовагинальный кандидоз у беременных / Е.И. Барановская, В.В. Плющай, С.В. Жаворонок, Н.В. Москалева, С.А. Баранчук // Здоровоохранение. – 2012. - № 3. – С. 16-20.

УТВЕРЖДАЮ

(инициалы, фамилия)

_____ 20__ г.

АКТ
о практическом использовании результатов исследования

в практическое здравоохранение

(сфера, в которой нашли практическое применение результаты исследования)

Комиссия в составе _____

_____ настоящим подтверждает,

что _____

(название структурного подразделения организации)

Осуществлено внедрение в _____

материалов инструкции по применению «Метод диагностики
плацентарных нарушений»

(указываются конкретные научные результаты, которые нашли применение)

полученных В.В.Крупейченко, Е.И.Барановской, С.В.Жаворонком,
О.А.Тесловой
при выполнении темы _____

для _____

(указываются решаемые практические задачи)

на основании чего материалы инструкции «Метод диагностики
плацентарных нарушений» №088-0721 утв. МЗ РБ от 22.07.2021 г.

используются для _____

Члены комиссии:

(подпись)

(инициалы, фамилия)

(дата)

Научное издание

**Крупейченко Виктория Владимировна,
Барановская Елена Игоревна,
Жаворонок Сергей Владимирович,
Теслова Оксана Александровна.**

МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ПЛАЦЕНТАРНЫХ НАРУШЕНИЙ

инструкция по применению