Короткий протокол индукции суперовуляции с антагонистами ГнРГ и клинические исходы при различных формах бесплодия в программах вспомогательных репродуктивных технологий

С.А. СЫРОМЯТНИКОВА, асп. Л.А. ГЕРИЛОВИЧ, к.м.н., доц. М.И. БАЗИНА, д.м.н., проф. А.Т. ЕГОРОВА, А.В. ТРОСТЯНСКАЯ

ООО «Медицинский центр гинекологической эндокринологии и репродукции «Три сердца», Красноярск; кафедра акушерства и гинекологии института последипломного образования ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»

Представлены результаты стимуляции суперовуляции по короткому протоколу с использованием фоллитропина-α и цетротида у пациенток с трубно-перитонеальным и мужским факторами бесплодия. Данный метод индукции позволяет получить достаточный клеточный состав и осуществить отбор эмбрионов с лучшими показателями имплантации.

Ключевые слова: бесплодие, ВРТ, рФСГ, эффективность лечения.

Эффективность лечения различных форм бесплодия методами ВРТ во многом зависит от особенностей проведения эмбриологического этапа — инсеминации ооцитов и культивирования эмбрионов *in vitro* [1]. Вследствие лучшего понимания процесса развития эмбриона и достижений техник *in vitro* культивирования появилась возможность переносить эмбрионы в полость матки на более поздних стадиях развития, что дало толчок к определению критериев отбора эмбрионов. Однако на сегодняшний день не существует единого метода селекции эмбрионов — некоторые группы репродуктологов переносят эмбрионы на стадии бластоцисты, другие на стадии пронуклеуса (2PN) или на стадии дробления [2]. Стандартный подход к селекции эмбрионов при ВРТ включает морфологическую оценку [3]. Многие авторы [4, 5] отмечают влияние различных индукторов овуляции на качество ооцитов и эмбрионов. Так, у женщин со сниженным овариальным резервом и у женщин старшего репродуктивного возраста рекомендуют применение коротких схем индукции овуляции с использованием антагонистов ГнРГ как наиболее патогенетически оправданное. Эти препараты быстро и напрямую способны подавлять выброс гонадотропинов путем блокирования гипофизарных рецепторов ГнРГ, не вызывая десенситизации гипофиза. Эффект от назначения антагонистов ГнРГ также заключается в предотвращении выброса лютеинизирующего гормона (ЛГ), что способствует созреванию большего количества яйцеклеток и дальнейшему развитию эмбрионов высокого качества [6, 7]. Не подлежит сомнению, что для повышения частоты имплантации при ВРТ важно добиться переноса эмбриона наилучшего качества во время наиболее оптимальной восприимчивости эндометрия — «окно имплантации» [8, 9].

Цель настоящего исследования — оценка короткого протокола индукции овуляции с применением рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (рФСГ) в сочетании с антагонистами ГнРГ на качество ооцитов и эффективность в программах ВРТ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено когортное исследование 183 супружеских пар с различными формами бесплодия и проведением лечения методом ЭКО и ПЭ. Исследование проводилось на базе ООО «Медицинский центр гинекологической эндокринологии и репродукции «Три сердца» (глав. врач Т.П. Петрова) Красноярска. В ходе исследования пациентки были разделены на две группы. Основную группу составили 150 женщин с трубно-перитонеальной формой бесплодия, группу сравнения — 33 женщины из супружеских пар с мужским фактором бесплодия. Группы были сопоставимы по возрасту, соматическому статусу. С учетом возрастного критерия и средних показателей ФСГ всем пациенткам была проведена контролируемая индукция овуляции с применением рФСГ — фоллитропина-α (гонал-Ф, «Мерк Сероно С.п.А.», Италия). Перед началом стимуляции с каждой пациенткой проводили беседу о планируемом протоколе стимуляции, после чего было получено информированное согласие. Стимуляцию начинали со 2—3-го дня менструального цикла с индивидуальным подбором стартовой дозы, которая составляла от 150 до 225 МЕ. Дальнейшая доза зависела от ответа яичника на стимуляцию. Для подавления преждевременного пика ЛГ при достижении когорты фолликулов

e-mail: medcentr96@mail.ru

размера 14 мм в диаметре вводили антагонист ГнРГ (цетротид, Serono/Baxter Oncology GMBH, Германия) в дозе 0,25 мг/сут вечером строго в одно и то же время, чтобы промежуток между инъекциями не превышал 24 ч. Для завершения процессов созревания ооцитов при достижении лидирующих фолликулов диаметра ≥18 мм и при толщине эндометрия не менее 8 мм вводили овуляторную дозу 6500 ЕД чХГ (овитрель, «Мерк Сероно С.п.А.», Италия) и через 34—36 ч проводили трансвагинальную пункцию всех фолликулов с диаметром более 15 мм. Полученные зрелые ооциты инсеминировали. На 3-й или 5-й день после пункции осуществляли перенос эмбрионов в полость матки.

На дотрансферном этапе ЭКО определяли длительность стимуляции яичников гонадотропинами до дня введения ХГ, количество израсходованного рФСГ и антагониста ГнРГ, число полученных зрелых ооцитов и жизнеспособных эмбрионов. Культивирование эмбрионов осуществляли в средах COOK Medical (Австралия, США). Эмбрионы развивались в специализированных инкубаторах Termoforma (США) и Sanyo (Япония), условия в которых максимально приближены к естественной среде развития эмбрионов в организме женщины (концентрация CO_2 — 6%, температура 37 °С). Для культивирования применялись пластиковые планшеты фирмы «Nunc» (Дания).

Оценка развития и морфологии эмбрионов осуществлялась ежедневно. При описании морфологии эмбрионов цифрами обозначалось количество бластомеров в эмбрионе, буквами — особенности морфологии.

— Класс А — одинаковые симметричные бластомеры.

— Класс В — бластомеры разного размера с фрагментацией <10%.

— Класс С — фрагментация от 10 до 50%.

— Класс D — фрагментация >50% или наличие пронуклеарного одноклеточного эмбриона.

Помимо описанных классов выделяли промежуточные: AB, BC, CD.

Эмбрионы 5-го дня развития оценивались по размеру бластоцисты и стадии ее экспансии.

Для диагностики беременности через 12 дней после переноса эмбрионов определяли концентрацию ХГ в сыворотке крови, а через 7 дней от момента получения положительного результата проводилась ультразвуковая оценка наступления беременности.

При статистической обработке результатов использовали пакет прикладных программ Statistica 6.0. Для сравнения количественных показателей и оценки достоверности различий результатов в начале и в конце стимуляции применялся *t*-критерий Стьюдента для нормально распределенных признаков. Результаты представлены как среднее значение (*M*) ± стандартное отклонение (*SD*). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст пациенток в основной группе составил 33,1±0,66 года, в группе сравнения — 31,8±0,96 года, средняя продолжительность бесплодия — соответственно 7,37±0,59 и 6,4±0,69 года, превалировало вторичное бесплодие — 69% в основной и 67% в группе сравнения.

При оценке уровня гонадотропных и стероидных гормонов на 2—3-й день менструального цикла не получено достоверных различий (p<0,01) в исследуемых группах, медианный показатель ФСГ был равным в основной группе и группе сравнения — 6,35±0,04 и 6,14±0,19 МЕ/л соответственно, уровень ЛГ составил 5,2±0,03 и 5,16±0,16 МЕ/мл, пролактина — 314±2,09 и 309,5±9,4 мМЕ/л, эстрадиола — 37,25±0,25 и 42,1±1,3 пг/мл. Данные показатели свидетельствуют о достаточных овариальных резервах у пациенток исследуемых групп. При проведении контролируемой индукции овуляции общая доза рФСГ в основной группе составила 1367,9±48,08 МЕ, среднее количество введенных доз антагониста ГнРГ — 3,65±0,09 МЕ, в группе сравнения — 1561,3±96,89 и 3,85±0,16 МЕ/мл, соответственно (p<0,05). Средняя продолжительность индукции овуляции составила 10,36±0,27 дня в основной группе и 10,09±0,42 дня в группе сравнения. В нашем исследовании антагонист ГнРГ начинали вводить при достижении лидирующих фолликулов диаметра 14 мм, что в среднем составило 6,71±0,04 сут после начала стимуляции рФСГ в основной группе и 6,24±0,2 сут в группе сравнения. У 2 пациенток основной группы не был получен ответ яичников на стимуляцию. У 148 пациенток не наблюдалось случаев преждевременной овуляции и у всех были получены ооциты. Овариальный ответ яичников на проводимую индукцию овуляции в 40 и 37% случаев у женщин основной группы был оценен как умеренный и выраженный, при котором получено достаточное количество ооцитов для дальнейшего инкубирования **(табл. 1)**. Аналогичный показатель в группе сравнения был несколько выше (42%), но при этом не имел достоверных различий.

Данные об эффективности применения фоллитропина-α и антагониста ГнРГ в протоколах стимуляции суперовуляции в программе ЭКО представлены в **табл. 2**.

В циклах индукции овуляции получено 1288 ооцитов от женщин из основной группы и 340 ооцитов от женщин группы сравнения, из которых 22,4% в основной и 20,9% в группе сравнения оказались незрелыми клетками, процент оплодотворения ооцитов составил 67,7 и 67,4 соответственно. Достоверных

***Таблица 1*. Овариальный ответ на индукцию овуляции в исследуемых группах ($p<0,05$)**

Параметр	Основная группа (n=148)		Группа сравнения (n=33)	
	абс.	%	абс.	%
Низкий ответ яичников (до 3 фолликулов)	34	23	5	15
Умеренный ответ яичников (4—10 фолликулов)	59	40	14	42
Выраженный ответ яичников (>10 фолликулов)	55	37	14	42

***Таблица 2*. Данные об эффективности применения фоллитропина-α и антагониста ГнРГ в протоколах стимуляции суперовуляции в программе ЭКО**

Показатель	Основная группа (n=1288)		Группа сравнения (n=340)	
	абс.	%	абс.	%
Число полученных ооцитов	1288	100	340	100*
Число незрелых ооцитов	288	22,4	71	20,9*
Число оплодотворенных ооцитов	867	67,7	229	67,4

Примечание. * — $p<0,05$.

***Таблица 3*. Оценка качества эмбрионов перед переносом в полость матки ($p<0,05$)**

Показатель	Основная группа (n=358)		Группа сравнения (n=76)	
	абс.	%	абс.	%
Высокое качество эмбрионов	129	36	27	36
Среднее качество эмбрионов	207	57	43	57
Низкое качество эмбрионов	22	6	6	8

***Таблица 4*. Эффективность программ ВРТ в исследуемых группах**

Группа	Число циклов с переносом эмбрионов	Среднее число перенесенных эмбрионов	Положительный β-чХГ, %		Частота клинической беременности, %	
			на первую попытку	на первый перенос эмбриона	на цикл стимуляции	на цикл с переносом эмбрионов
Основная (n=150)	148	2,4	46,7	47,3	41,3	41,9
Сравнения (n=33)	33	2,3	42	42	36	36

различий по изучаемым параметрам в группах исследования не получено.

Культивирование эмбрионов осуществлялось в течение 5 сут с ежедневной оценкой стадии развития эмбрионов. К переносу было отобрано 358 эмбрионов в основной группе и 76 эмбрионов в группе сравнения, что составило 41,3 и 42% от общего количества культивированных эмбрионов соответственно. По морфологическим критериям мы разделили эмбрионы на три группы **(табл. 3)**.

Перенос эмбрионов осуществлялся при среднем показателе толщины эндометрия 9,61±0,06 мм для основной группы и 10,08±0,3 мм для группы сравнения. Данные об эффективности программ ВРТ в исследуемых группах представлены в **табл. 4**.

Частота клинической беременности на начало цикла и перенос эмбрионов оказалась достаточно высокой — в основной группе 41,3 и 41,9%, и по 36% на исследуемый параметр в группе сравнения, что согласуется с результатами некоторых других исследователей [5]. В 10% (15) случаев в основной группе диагностирована многоплодная беременность, в то время как в группе сравнения данный показатель составил 15% (5). Эктопической беременности выявлено не было.

Таким образом, результат проведенного исследования показывает высокую эффективность протокола стимуляции суперовуляции рФСГ (Гонал Ф) в сочетании с антагонистами ГнРГ. Данный протокол не требует введения высоких доз гонадотропинов, средняя продолжительность стимуляции составляет 10—11 дней, своевременность введения антагонистов позволяет избегать патологических пиков ЛГ и потери ооцитов. Наблюдается высокий процент зрелых ооцитов, в 93% случаев отмечено развитие эмбрионов среднего и высокого качества. Эффективность программ ВРТ при данном протоколе индукции овуляции позволяет достичь хороших показателей лечения при трубно-перитонеальной и мужской формах бесплодия.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Левиашвили М.М., Мишиева Н.Г., Костромина Н.Ю. и др.* Оценка морфологии преимплантационных эмбрионов на различных стадиях развития *in vitro* (обзор литературы). Пробл репрод 2011; 3: 74—79.
2. *Щетинина Н.С., Кузьмичев Л.Н., Бурлев В.А. и др.* Оценка эффективности программы ЭКО: день переноса эмбрионов в полость матки и показатели контролируемой индукции овуляции. Пробл репрод 2011; 3: 56—62.
3. *Элдер К., Дэйл Б.* Экстракорпоральное оплодотворение. Пер. с англ. М: МЕДпресс 2008; 304.
4. *Younis J.S., Soltsman S., Izhaki I. et al.* Early and short follicular gonadotropin-releasing hormone antagonist supplementation improves the meiotic status and competence of retrieved oocytes in vitro fertilization–embryo transfer cycles. Fertil Steril 2010; 94: 4: 1350—1355.
5. *Propst A.M., Bates G.W., Robinson R.D. et al.* A randomized controlled trial of increasing recombinant follicle-stimulating hormone after initiating a gonadotropin-releasing hormone antagonist for in vitro fertilization-embryo transfer. Fertil Steril 2006; 86: 1: 58—63.
6. *Казначеева Т.В., Мартышкина Е.Ю.* Короткие протоколы с антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона в клинической практике врача-репродуктолога. Гинекология 2010; 4: 22—25.
7. *Tarlatzis B.C., Fauser B.C., Kolibianakis E.M. et al.* GnRH antagonists in ovarian stimulation for IVF. Hum Reprod Update 2006; 12: 4: 333—340.
8. *Шуршалина А.В., Демура Т.А.* Морфофункциональные перестройки эндометрия в «окно имплантации». Акуш и гин 2011; 7: 2: 9—13.
9. *Teklenburg G., Salker M., Heijnen C. et al.* The molecular basis of recurrent pregnancy loss: impaired natural embryo selection. Mol Hum Reprod 2010; 16: 12: 886—895.