

ОПТИМИЗАЦИЯ СТИМУЛЯЦИИ СУПЕРОВУЛЯЦИИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МОНО- И КОМБИНИРОВАННЫХ ПРЕПАРАТОВ В ПРОГРАММЕ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕРЕОИЗОМЕРИИ ЖЕНСКОГО ОРГАНИЗМА

Линде В.А.¹, Боташева Т.Л.¹, Тянь Ю.А.¹, Кузьмин А.В.¹, Гудзь Е.Б.¹, Ганиковская Ю.В.¹

¹ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, E-mail: Secretary@rniiap.ru

В статье представлены данные о показателях гормонального статуса, репродуктивного резерва и системы крови до и после гормональной стимуляции суперовуляции у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием и у фертильных женщин с мужским фактором бесплодия до и после гормональной стимуляции суперовуляции в программе экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов при использовании моно- и комбинированных препаратов. На основании данных корреляционного и многофакторного анализа результатов программы ЭКО в зависимости от вида используемого препарата и конституциональных особенностей женского организма (латеральный поведенческий профиль асимметрий), разработан новый подход к оптимизации программы ЭКО. Установлено, что у женщин с правоориентированным профилем асимметрий положительные исходы программы в наибольшем числе случаев отмечались при использовании комбинированных препаратов, тогда как в случае левоориентированного профиля – при использовании монопрепаратов.

Ключевые слова: экстракорпоральное оплодотворение, латеральный поведенческий профиль асимметрий препараты для гормональной стимуляции суперовуляции, прогнозирование исходов программы ЭКО.

OPTIMIZATION OF INDUCTION SUPEROVULATION WITH MONO- AND COMBINE MEDICATIONS IN IN-VITRO FERTILIZATION PROGRAMMS IN DEPENDENCE ON MATERNAL BRAIN LATERALITY

Linde V.A.¹, Botasheva T.L.¹, Tyan J.A.¹, Kuzmin A.V.¹, Gudz E.B.¹, Ganikovskaya Y.U.¹

¹Federal State Budget Establishment "Rostov-on-Don research institute of obstetrics and pediatrics" of Ministry of Health of Russian Federation, Rostov-on-Don, E-mail: Secretary@rniiap.ru

The article presents data on the indicators of the hormonal, reproductive reserve and the blood system before and after hormonal stimulation of superovulation in women with tubal-peritoneal infertility and in fertile women with male factor of infertility in in-vitro fertilization programs and embryo transfer using mono- and combine medications. Based on the correlation and multivariate analysis of the results of the IVF program, depending on the type of drug used and the constitutional features of the female body (lateral behavioral profile asymmetries), a new approach to optimize the IVF program was developed. It was found that positive outcomes of the program in the largest number of cases have been detected with the use of combined drug in women with right-oriented profile of asymmetries, while in the case of left-oriented profile - using monotherapies.

Key words: IVF, lateral behavioral phenotype, medications for stimulation of superovulation, prognosis of IVF programs outcome.

Актуальность проблемы неудачных исходов программы экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) побуждает к поиску путей оптимизации не только на этапе подготовки, но и в процессе стимуляции гонадотропными препаратами с использованием монопрепарата и комбинированных схем.

Согласно данным литературы, в течение всего репродуктивного периода женщины фолликулы в яичниках проходят различные стадии развития, начиная от примордиальной и заканчивая преовуляторной. Рост и развитие фолликулов происходит под воздействием различных паракринных и эндокринных факторов. Имеются данные, свидетельствующие о

влиянии уровня антимюллерова гормона (АМГ) на качество ооцитов [5,6,9] и связи с морфологией эмбриона [8]. Такие гормоны, как гонадотропные, антимюллеровый, играют важную роль в рекрутировании фолликулов и ингибировании процессов апоптоза. Учитывая то, что более 99% примордиальных фолликулов подвергаются атрезии, антиапоптотическое действие экзогенно введенного ФСГ в процессе контролируемой стимуляции в программе экстракорпорального оплодотворения приводит к росту и созреванию нескольких доминантных фолликулов в одном лечебном цикле [7].

Использование гонадотропных гормонов для индукции суперовуляции позволило повысить эффективность метода ЭКО и переноса эмбриона (ПЭ) в 80е годы прошлого столетия [2,8]. Рекомбинантные аналоги лекарственных средств имеют ряд несомненных преимуществ, поскольку технология их производства не требует сбора мочи, рекомбинантный продукт не содержит вирусных, белковых, углеводных и стероидных примесей, обладает высокой биохимической однородностью и состоит из наиболее активных фракций гормона, что, по-видимому, способствует получению существенно большего количества зрелых ооцитов и соответственно эмбрионов высокого качества. С целью оптимизации метода ЭКО и ПЭ до настоящего времени ведутся новые разработки, в том числе разработка новых лекарственных препаратов и подбор схем адекватной гормональной стимуляции.

При исследовании репродуктивных процессов, в том числе и при использовании репродуктивных технологий, большое значение уделяется конституциональным особенностям женского организма, к числу которых относят морфо-функциональные асимметрии [1,3,4]. Согласно данным Bayer U. (2009) функциональная межполушарная асимметрия колеблется на протяжении менструального цикла. В своих исследованиях Sanders и Wenmoth в 1998 году подтвердили, что эти колебания происходят за счет влияния эстрогенов на активность левого полушария, а также влияния прогестерона на процессы торможения межполушарной асимметрии с подавлением доминантного полушария и относительной активацией субдоминантного полушария.

В процессе гормональной стимуляции суперовуляции отмечается функциональный отклик со стороны парно организованного репродуктивного аппарата (правый и левый яичник). Очевидно, что характер этого отклика у пациенток с доминированием правого и левого полушарий головного мозга будет отличаться, поскольку асимметрия функции яичников (периферические асимметрии) находится в тесной связи с асимметриями женского организма (центральные асимметрии).

Методы

В исследование было включено 247 женщин, планирующих проведение программы ЭКО, у которых оценивали латеральный поведенческий профиль асимметрий (тест Аннет), являющийся коррелятом межполушарных асимметрий. По результатам теста формировали подгруппы с правым, левым и амбидекстральным профилем.

Для стимуляции яичников в программе ЭКО и ПЭ применяли «короткий» протокол с агонистом гонадотропин-рилизинг гормона («Диферелин», Ипсен) по двум схемам: с использованием монопрепарата - рекомбинантного ФСГ (рФСГ) («Гонал-Ф», Мерк-Сероно) и комбинированная схема с использованием двух гонадотропных препаратов: рекомбинантного ФСГ и ЛГ (рЛГ) («Гонал-Ф», Мерк Сероно и «Луверис», Сероно). Со 2-3 дня менструального цикла на фоне применения препарата «Диферелин» 0,1 мг/сутки пациентке было назначено подкожное введение препарата «Гонал-Ф» в дозировке 75-175 МЕ (при комбинированном применении назначали «Луверис» в дозировке 75-37,5 МЕ) ежедневно до 9-10 дня менструального цикла, после ультразвукового мониторинга роста и созревания фолликулов дозировка корректировалась в диапазоне 112,5-75 МЕ в зависимости от показателей овариального ответа. Назначался триггер овуляции («Прегнил», Органон) в дозировке 8-10 тысяч МЕ внутримышечно при достижении лидирующим (-и) фолликулом (-ами) преовуляторных размеров от 18 до 20 мм и М-эхо от 8 мм.

Пункция фолликулов проводилась через 36 часов после введения овуляторной дозы триггера («Прегнил», Органон) под внутривенной анестезией и трансвагинальным ультразвуковым контролем с применением адаптера для крепления пункционной иглы. С помощью специального вакуумного отсоса под отрицательным давлением 130-150 мм водного столба была аспирирована фолликулярная жидкость, которую во время пункции отбирали в стерильные одноразовые пробирки отдельно из правого и левого яичников. Фолликулярную жидкость помещали под поток проходящего света на рабочий столик бинокулярного микроскопа «Zeiss». Полученные ооциты культивировали в питательной среде Ориджио (Дания) система последовательного культивирования в каплях под слоем минерального масла Ориджио (Дания) в специальных инкубаторах при температуре 37⁰С, концентрации CO₂ 5-6% и влажности газовой среды - 98-100% в инкубаторе. Полученную сперму после разжижения (30 минут), центрифугировали в градиенте плотности силановых частиц 80/40 (Супрасперм, Ориджио, Дания). После удаления надосадочной жидкости на осадок наслаивали культуральную среду Сперм Препарэйшн Медиум (ориджио, Дания). Данный этап повторялся дважды, затем пробирки с осадком сперматозоидов помещали в инкубатор для проведения активации. Оплодотворение проводили активированными сперматозоидами. Осадок с активно-подвижными сперматозоидами (0,5мл) осторожно отбирали и помещали на чистую лунку культуральных четырехлунных чашек в CO₂-

инкубатор. Через 4 часа после пункции фолликулов (40 часов после введения триггера овуляции) проводилась методика ICSI. Развивающиеся эмбрионы культивировались до стадии бластоцисты в системе последовательных сред (ICM1 BlastAssist, Ориджио, Дания) 3-5 дней отдельно из левого и правого яичников.

Применялись процедуры описательной статистики, с помощью которых находились – оценивались значения медианы и интерквартильного размаха (25%, 75%). Статистическая значимость полученных результатов рассчитывалась при доверительной вероятности 95%. Для сравнения межгрупповых различий использовали непараметрический критерий Вилкоксона для независимых групп. Уровень значимости устанавливался равным 0,05. При помощи пакета SPSS рассчитывались доверительные интервалы для медиан и проводился корреляционный анализ, для которого применялся критерий Пирсона и его непараметрический аналог критерий Спирмена. Оценка результатов которого предусматривала учет связей средней силы ($r > 0,6$) и сильных корреляций ($r > 0,8$) при $p < 0,05$ (Афифи А., Эйзен С., 1982). Также использовался метод «Деревья решений (decision trees)». Обработка исходных признаков осуществлялась с использованием пакетов прикладных программ Statistica версии 10.01, EXCEL 2010, IBM SPSS 22.0.

Результаты

На основании результатов многофакторного анализа «Деревья решений» были построены прогностические плеяды, включающие в себя показатели овариального резерва, число ооцитов из правого и левого яичников, эмбрионов различного класса и исходы переноса эмбриона (-ов) в матку в виде наступления клинической беременности.

На основании корреляционного анализа было установлено, что при применении комбинированных препаратов наименьшее число корреляций, отражающих внутри- и межсистемные взаимодействия и свидетельствующих о менее выраженном функциональном напряжении репродуктивного аппарата, наблюдалось у женщин с правоориентированным латеральным поведенческим профилем асимметрий ($p < 0,05$) (табл. 1, 2),

Таблица 1

Корреляционные связи у женщин с правоориентированным профилем асимметрий при использовании моно-препарата (pФСГ)

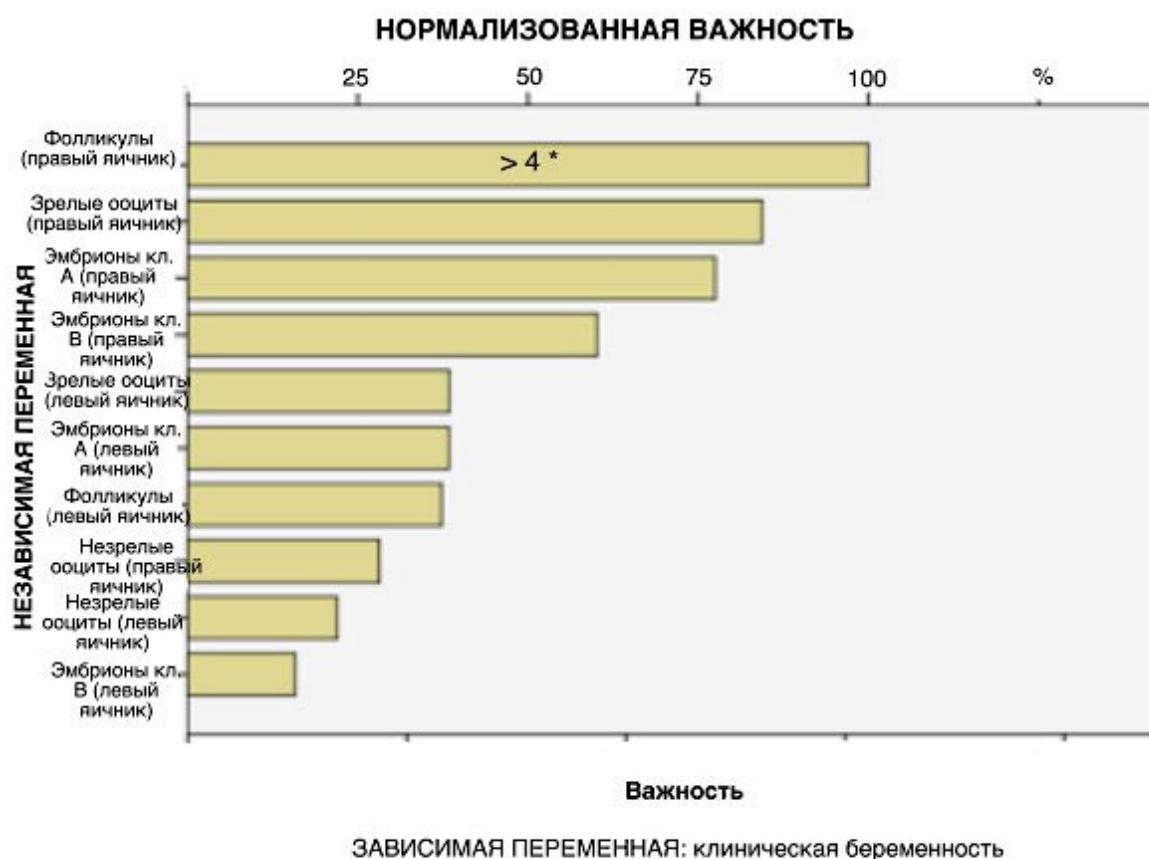
	Фолликулы (оба яичника)	Фолликулы (правый яичник)	Фолликулы (левый яичник)	Ооциты (оба яичника)	Ооциты (правый яичник)	Зрелые ооциты (правый яичник)	Незрелые ооциты (правый яичник)	Эмбрионы класса А (правый яичник)	Эмбрионы класса В (правый яичник)
Нейтрофилы				0,6			-0,9		
Лимфоциты	0,7						0,8		
Моноциты					0,6			0,96	-0,9
АЧТВ		0,6						-0,8	
ПТВ								-0,8	0,9
МНО	-0,8		-0,9						

Моноциты										0,8	
Нейтрофилы	0,97										
Эозинофилы				-0,97	-0,9			-0,97	-0,9		
Базофилы	-0,6									-0,6	
АЧТВ									0,8		
МНО			0,6	-0,9							
ПТВ			0,7					0,6	0,6		0,6
ТВ			-0,7	-0,6				-0,7	-0,7		
ПТИ			-0,6								
Фибриноген				0,9				0,9			
Кортизол			0,9								
АМГ			0,8								
Пролактин		-0,8									
Т4	0,99		0,8	0,9		-0,6					
ФСГ			-0,6				-0,5	-0,6	-0,5		
Эстрадиол					-0,6	-0,5					
ТТГ	-0,5	-0,6		-0,7	-0,7	-0,7		-0,6	-0,6		-0,9

Примечание: ($p < 0,05$) АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; МНО- международное нормализованное отношение; ПТВ – протромбиновое время; ТВ –тромбиновое время; ПТИ – протромбиновый индекс; АМГ – антимюлеров гормон; ФСГ – фолликулостимулирующий гормон; ТТГ – тиреотропный гормон.

Таким образом, для женщин с правоориентированным латеральным поведенческим профилем асимметрий (правшей и амбидекстров с преобладанием правых признаков) вероятность благоприятного исхода программы экстракорпорального оплодотворения повышалась при использовании комбинированной схемы гормональной стимуляции с применением препаратов, содержащих рФСГ и рЛГ ($p=0,02381$); в случае левоориентированного профиля асимметрий (левшей и амбидекстров с преобладанием левых признаков) - с применением моно-препарата, содержащего рФСГ ($p=0,04768$).

Особый интерес представляли данные о том, что количество фолликулов в правом яичнике после индукции суперовуляции менее 4 ($p < 0,05$), свидетельствует о низком потенциале овуляторной системы. Из чего следует, что характер функционального отклика со стороны правого яичника в процессе индукции суперовуляции является определяющим для построения благоприятного прогноза эффективности экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов (рисунок).



Иерархия факторов репродуктивного резерва, влияющих на наличие доминантных фолликулов в правом яичнике при прогнозировании благоприятных исходов программы ЭКО

Примечание: ($p < 0,05$) * - статистически значимые показатели количества доминантных фолликулов в правом яичнике.

Заключение

Исследование конституциональных особенностей женского организма (морфо-функциональных асимметрий) при проведении вспомогательных репродуктивных технологий способствует адекватному выбору необходимого для конкретного фенотипа гормонального препарата и влияет на исходы программы: у пациенток с правоориентированным профилем асимметрий наибольшая эффективность программы экстракорпорального оплодотворения достигается при использовании комбинированных препаратов для стимуляции суперовуляции, тогда как в случае левоориентированного профиля – монопрепаратов.

Список литературы

1. Боташева Т. Л. Общая теория систем: живые системы, основные понятия, закономерности функционирования / Т. Л. Боташева, А. В. Черноситов // Медицинский вестник юга России. - Ростов-на-Дону. - 2011. - №2. - С. 51-56.
2. Здановский В. М. Современные подходы к лечению бесплодного брака: автореф. дис.... докт. мед. наук: 14.00.01 / Здановский Валерий Мстиславович. - М., 2000. – 76 с.
3. Орлов В. И. Межполушарная асимметрия мозга в системной организации процессов женской репродукции / В. И. Орлов, А. В. Черноситов, К. Ю. Сагамонова, Т. Л. Боташева // Функциональная межполушарная асимметрия. Хрестоматия. - М. - 2004. - С. 316-321.
4. Черноситов А. В. Функциональная асимметрия мозга и неспецифическая резистентность. Функциональная межполушарная асимметрия. Хрестоматия / А. В. Черноситов В. И. Орлов. – М.: Научный мир, 2004. – С. 444-480.
5. Ebner V. Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles / V. Ebner, M. Sommergruber, M. Moser, O. Shebl, E. Schreier-Lechner, G. Tews // Human Reproduction. – 2006. - Vol.21, №8. – P. 2022–2026.
6. Guerif F. Serum anti-Müllerian hormone is not predictive of oocyte quality in vitro fertilization / F. Guerif, M. Lemseffer, M. L. Couet, O. Gervereau, V. Ract // Ann Endocrinol (Paris). – 2009. – Sep.70(4):230.
7. La Marca F. J. On behalf of the ESHRE Special Interest Group for Reproductive Endocrinology / La Marcal F. J. et al. // AMH Round Table Human Reproduction. – 2009. - Vol.24, №9. – P. 2264–2275.
8. Revelli A. Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics / L. D. Piane, S. Casano, E. Molinari, M. Massobrio, P. Rinaudo // Reprod Biol Endocrinol. – 2009. - Vol. 7. - 40p.
9. Sills E. S. Bivariate analysis of basal serum anti-Müllerian hormone measurements and human blastocyst development after IVF / Sills E. S. et al. // Reproductive Biology and Endocrinology. – 2011. – P. 9:153.

Рецензент:

Каушанская Л.В., д.м.н., главный научный сотрудник акушерско-гинекологического отдела ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Минздрава РФ, г. Ростов-на-Дону;

Ермолова Н.В., д.м.н., заместитель директора по науке ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Министерства здравоохранения России, г. Ростов-на-Дону.