

# Дискуссионные вопросы репродуктологии

По материалам Международного симпозиума по репродуктивной медицине «Теория и практика репродукции человека», 30-31 мая, г. Львов

**Постепенный переход от агонистов гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) к антагонистам ГнРГ является общим трендом в мировой репродуктологии. Цель назначения агонистов и антагонистов ГнРГ в протоколах оплодотворения in vitro (IVF) одна и та же – предупреждение появления так называемых паразитических пиков лютеинизирующего гормона (ЛГ). Без назначения аналогов ГнРГ выброс ЛГ происходит приблизительно у 20% пациенток в протоколах стимуляции и приводит к лютеинизации фолликулов. Известно, что предотвращение выброса ЛГ способствует созреванию большего количества яйцеклеток и эмбрионов, что позволяет отобрать лучшие и повысить частоту наступления беременности. Однако в цикле IVF было бы неправильно рассматривать ЛГ как артефакт. Этот гормон имеет важное значение не только в ходе нормального менструального цикла, его добавление в виде синтетических аналогов может существенно улучшить результаты IVF.**

О роли ЛГ в ходе нормального менструального цикла и в циклах IVF рассказал **Орвието Рауль (Израиль)**.



— Известно, что ЛГ на фолликулярной фазе вместе с фолликулостимулирующим гормоном (ФСГ) отвечает за стероидогенез, овуляцию, завершение созревания яйцеклетки, секрецию эстрогенов, а также образование желтого тела. Наибольшая выработка этого гормона наблюдается также во время овуляции. ЛГ отвечает за стимуляцию выработки главного гормона беременности — прогестерона. Для обычного стероидогенеза в яичнике должно быть задействовано минимум 1% рецепторов ЛГ.

Во время беременности ЛГ уступает лидирующее место в организме женщин эстрогенам. При бесплодии у женщин наблюдается повышенная концентрация ЛГ, сочетающаяся с низким уровнем стероидов.

Интересные данные о роли тропных гормонов были получены при лечении пациенток с гипогонадизмом (синдромом Кальмана): лечение лишь при помощи ФСГ, стимулирующего фолликулярный рост, практически не сказывалось на выделении эстрадиола и росте эндометрия. Кроме того, фолликулы, которые подверглись воздействию ФСГ, как правило, не проходили лютеинизации, в таких циклах отсутствовала овуляция. Добавление ЛГ в определенной дозе и режиме способствовало выработке эстрадиола и росту фолликулов, что приводило к успешной лютеинизации и овуляции.

Первые исследования, посвященные изучению рекомбинантного ЛГ, проводились в Европе в 1998 г.

Следует отметить, что первые данные были противоречивыми, поскольку в них изучались пациентки с разной подготовкой, различные аналоги ЛГ (мог быть хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) или рекомбинантный ЛГ), часто использовались разные дозы и схемы введения ЛГ.

Изучение ЛГ в последние десятилетия было продиктовано поиском причин неудачи в циклах IVF, а также рассматривалось в контексте синдрома гиперстимуляции яичников (СГСЯ).

В 2007 г. с целью изучения возможностей профилактики СГСЯ было проведено три метаанализа, в которых рассматривался эффект добавления ЛГ к ФСГ. Авторы этих исследований указали на отсутствие какого-либо преимущества в циклах IVF с добавлением ЛГ.

Объяснимый интерес в применении ЛГ представляли пациентки с ожидаемым хорошим ответом на стимуляцию. Два крупных рандомизированных исследования сравнивали ХГЧ с рекомбинантным ФСГ. При анализе данных у пациентов с высоким ответом было установлено, что использование только лишь ФСГ позволяет получить больше ооцитов, но если рассматривать частоту живорождения, то

она была намного выше в группе с применением ХГЧ.

Следующая группа исследований включала категорию пациенток с ожидаемым плохим ответом. Некоторые исследования, посвященные использованию ЛГ, не показали каких-либо преимуществ по показателям беременности и живорождений. Однако, если ЛГ применялся в отобранной популяции женщин (возраст старше 35 лет), то у «плохих ответчиц» использование ЛГ намного улучшало частоту беременности.

Мы попытались объяснить причину этого результата, для чего рассмотрели кумулюсные клетки и уровень апоптоза в них относительно ооцитов. Оказалось, что показатели апоптоза у женщин с использованием ЛГ был намного ниже, в отличие от пациенток, которым ЛГ не вводился. Это означает, что добавление ЛГ у испытуемых с плохим ответом улучшает качество хроматина кумулюсных клеток, который участвует в контроле за созреванием ооцитов.

В еще одном проспективном рандомизированном исследовании, проведенном в Испании, пациентки получали либо ФСГ, либо ФСГ и ЛГ. После стратификации данных по возрасту (ниже 35 лет и выше 35 лет) было установлено, что овуляторно-стимуляционные результаты в целом были сравнимы между собой. Однако в группе старше 35 лет добавление ЛГ улучшало уровень имплантации. То есть, применение ЛГ позитивно сказывается на результатах в группе «плохих ответчиц», а также в популяции женщин старше 35 лет.

Такая ситуация с позиции современной медицины объясняется старением яичника, у которого снижается функциональное число рецепторов, биоактивность самого ЛГ, а также снижением секреторных возможностей тека-клеток.

Еще один биомаркер, который поможет выявить пациенток, это высокий базовый уровень соотношения ФСГ/ЛГ. Известно, что плохой ответ яичников также может отмечаться при низком уровне ЛГ на третий день цикла. Низкий уровень ЛГ на третьи сутки определяет высокое соотношение ФСГ/ЛГ и может предсказать плохой ответ при цикле IVF.

Закономерно наблюдается рост соотношения ФСГ/ЛГ с увеличением возраста пациентки.

За последние 20 лет были проведены исследования, в которых рассматривался абсолютный уровень ЛГ на третьи сутки цикла. Результаты этих научных изысканий противоречивы — одни авторы указывают на плохой прогноз циклов IVF при снижении ЛГ, другие опровергают такую закономерность. Тем не менее исследования, которые рассматривают соотношение ФСГ/ЛГ на третьи сутки, дают одинаковые результаты — если ФСГ/ЛГ-соотношение растет, то вероятность беременности падает. Это подтвердило исследование, проведенное в Израиле, в котором показано, что у пациентов с высоким соотношением ФСГ/ЛГ (относительно низкий уровень ЛГ) наблюдается снижение числа ооцитов, в том числе оплодотворенных. Однако такая же картина

отмечается в случае исключения пациенток с ФСГ, превышающим 8 мМЕ/л на третьи сутки.

Изучив результаты этих научных работ, мы решили вернуться к собственному опыту и рассмотреть случаи пациенток в циклах IVF с благоприятным прогнозом. Анализировались данные только молодых женщин (менее 35 лет) с нормальным уровнем ФСГ, прошедших 1-3 цикла IVF, у которых уровень ФСГ на третьи сутки был одинаков, с разным исходом стимуляции. В группе пациенток с повышенным соотношением ФСГ/ЛГ на третьи сутки повышалась частота беременности. Однако такая картина наблюдалась среди тех испытуемых, у которых проводили циклы с агонистами ГнРГ.

Те же результаты получили и в группе антагонистов ГнРГ, однако дифференцированный подход в этой группе показал, что если соотношение ФСГ/ЛГ на третьи сутки превышало 2, то частота беременности значительно уменьшалась.

Такая клиническая ситуация родила идею применения ЛГ у пациенток с относительно низким его уровнем и высоким соотношением ФСГ/ЛГ.

То есть, при высоком соотношении ФСГ/ЛГ на третьи сутки необходимо рассматривать возможность применения ЛГ в циклах IVF.

В фокус внимания исследователей попала еще одна проблема — глубокое подавление ЛГ при использовании антагонистов/агонистов ГнРГ. Прежде всего речь идет о длинных циклах с использованием агонистов — падение уровня ЛГ ниже 1 мМЕ/л наблюдается в 10% случаев. Возникает вопрос: как это отражается на конечном результате?

Группа репродуктологов в Барселоне провела исследование, изучая уровень ЛГ на этапе стимуляции яичников. Авторы этой научной работы пришли к выводу, что абсолютный уровень ЛГ в ходе контролируемой стимуляции яичников согласно протоколу не может предсказать результат IVF.

В метаанализе, который посвящен смежной проблеме, рассматривали взаимосвязь между эндогенным ЛГ и вероятностью беременности до и после 12 недель гестации. Его авторы, не устанавливая взаимосвязи между низким уровнем эндогенного ЛГ и отсутствием беременности, приходят к выводу, что низкие показатели гормона не могут служить основанием к его применению в цикле IVF.

Если рассмотреть медианные исследования, то их результаты указывают на наличие подгрупп пациенток, у которых применение ЛГ улучшило исход циклов IVF. Это наблюдалось в подгруппе женщин старше 35 лет — 36% беременностей против 13%; в подгруппе пациенток, у которых ЛГ на 8-е сутки превышает 2 мМЕ/л — 36 против 21%; в подгруппе пациенток в длинном протоколе с агонистами с уровнем ЛГ на 8-е сутки, превышающим 1,99 мМЕ/л.

Кроме того, выявлена еще одна группа испытуемых, у которых использование ЛГ принесло позитивные результаты — это пациентки с применением длинного протокола, со снижением

уровня эстрадиола в сыворотке ниже 180 пг/мл на 5-8-е сутки. Следует отметить, что таких женщин в циклах IVF — около 10-20%. Дополнительное применение ЛГ уменьшало ежедневную дозу ФСГ.

Также в практической деятельности следует обращать внимание на пациенток, у которых наблюдается относительное снижение уровня ЛГ между ранней и средней, средней и поздней фолликулярной фазой — снижение ЛГ между этими фазами предсказывает плохой исход в цикле IVF.

В целом были обобщены данные исследования 17 864 пациенток с циклами IVF, при этом сделаны выводы об отсутствии взаимосвязи между уровнем ЛГ и частотой беременности у женщин, проходящих лечение антагонистами ГнРГ. Такие результаты в некоторой степени сместили акцент с ЛГ на прогестерон, который, возможно, в день введения ФСГ может повлиять на исход IVF.

Оказалось, что по мере возрастания уровня прогестерона частота беременности снижается. Это наблюдается даже в случае стратификации на группы антагонисты/агонисты — высокий уровень прогестерона на момент введения ХГЧ в группе с антагонистами также снижает частоту беременности.

То есть, высокий уровень прогестерона на момент введения ХГЧ связан с более явной стимуляцией, но это снижает частотность беременности. Ответом на это может быть исследование гипотезы R. Fleming.

Еще в прошлом столетии было доказано, что ФСГ воздействует на зернистые клетки яичника и способствует синтезу прогестерона. Накапливаясь в тека-клетках под воздействием ЛГ, прогестерон преобразуется в андрогены, определенное количество которых попадает в кровь. Из крови андрогены возвращаются назад в зернистую клетку и при помощи ароматазной активности преобразуются в эстрогены.

Что происходит у пациентки с хорошим ответом? ФСГ способствует значительному накоплению прогестерона, который при отсутствии ЛГ приостанавливает свой путь превращений через андрогены в эстрогены. Добавление ЛГ повышает преобразование прогестерона в андроген, что повышает частоту беременности в циклах IVF.

Таким образом, на сегодня доказано, что женщины с хорошим ответом в длинном протоколе нуждаются в ЛГ. Для других групп пациенток такой ясности нет, для того чтобы ответить на этот вопрос, необходимо проводить исследования.

**Питер Хумайдан (Дания)** продолжил обсуждение проблемы целесообразности использования ЛГ при вспомогательных репродуктивных технологиях (ВРТ).

— Относительно необходимости применения ЛГ в циклах IVF сказано достаточно. На сегодня известно, что у молодых пациенток эффект от использования ЛГ не наблюдается. Эффект отмечается у женщин старше 35 лет, у которых применение ЛГ влияет на имплантацию эмбрионов.



Однако научные споры вокруг ЛГ не прекращаются. Сторонники применения ЛГ выдвигают определенные гипотезы, объясняющие его эффект. В основе одной из такой гипотез лежит роль андрогенов и их антиапоптотического воздействия. В фолликулогенезе все сводится именно к ним — андрогены индуцируют работу рецепторов ФСГ, стимулируют формирование зернистых клеток, повышают чувствительность фолликулов. Андрогены действуют в синергизме с инсулиноподобным фактором роста. Их уровень имеет прямую корреляцию с количеством преантральных и антральных фолликулов.

При достижении размеров фолликулов 8-12 мм зернистые клетки обретают рецепторы ЛГ. С этого момента стероидогенез и фолликулогенез уже находятся под контролем активности ЛГ. Добавление ЛГ на начальной фолликулярной фазе приводит к увеличению активности андрогенов. Применение ЛГ в средней фолликулярной фазе обуславливает возрастание синтеза эстрадиола и стимуляции роста фолликулов. Такая реакция более характерна для женщин старшего возраста.

Кроме того, нам известно, что ооциты полностью зависят от кумулюсных клеток — чем лучше их качество, тем лучше качество самих ооцитов. У женщин старшей возрастной группы процесс апоптоза в кумулюсных клетках более выражен. На сегодня известны вещества, которые входят в зернистых клетках и позитивно влияют на этот процесс (амфигулин, эпирегулин и др.). Их активность регулируется ЛГ.

Рецепторы ЛГ также имеются в эндометрии, они отвечают за имплантацию, однако пока ученые не разобрались с их биологическим действием.

С целью изучения влияния ЛГ на апоптоз кумулюсных клеток проведено исследование, в котором участницы были разделены на две группы — в первой получали ФСГ, во второй — ЛГ и ФСГ. Результаты этого исследования показали, что у пациенток, получавших ЛГ, отмечалось снижение апоптоза, уменьшалось количество незрелых ооцитов и увеличивалось количество эмбрионов, подлежащих переносу.

Кроме женщин старшего возраста, в плане изучения действия ЛГ научный и практический интерес представляет группа из «плохих ответчиков». Согласно данным литературы приблизительно 14% от общего числа пациенток можно отнести к этой категории.

В процессе изучения вышеназванной проблемы оказалось, что нормальный уровень ЛГ может иметь низкую биоактивность, что является следствием полиморфизма и мутаций гена. Полиморфными принято называть гены, которые представлены в популяции несколькими разновидностями — аллелями, что обуславливает разнообразие признаков внутри вида. Различия между аллелями одного и того же гена, как правило, заключаются в незначительных вариациях его «генетического» кода. Большинство известных полиморфизмов выражаются либо в заменах одного нуклеотида, либо в изменении числа повторяющихся фрагментов ДНК.

Полиморфизм встречается в популяции с частотой 1% и более. Реже отмечаются случаи мутации.

Нами проведено интересное исследование, в котором изучалось потребление ФСГ. Для этого было выделено три группы пациенток: с большим, средним и низким потреблением ФСГ. Оказалось,

что полиморфизм гена ЛГ наблюдался в группе с большим потреблением ФСГ. Таким образом, необходимо помнить, что реакция организма на ФСГ является результатом работы его генов. На сегодня существует достаточно тестов, которые позволяют выявить наличие полиморфизмов и проводить отбор пациентов. То есть, применять ЛГ можно у женщин старшего возраста и плохих ответчиков в виде рекомбинантного ЛГ при использовании агонистов ГнРГ.

В заключение позволю остановиться на противоречивых позициях, касающихся прогестерона в поздней фолликулярной фазе. Выработка прогестерона возможна при определенном балансе ФСГ и ЛГ. Есть мнение, что у человека прогестерон — это конечный продукт метаболизма, дальнейшие его преобразования невозможны, при этом чем больше фолликулов, тем больше прогестерона. Однако есть и другое мнение, согласно которому прогестерон в присутствии ЛГ может превращаться в тестостерон и далее — в эстрадиол.

Мы провели много исследований и убедились, что уровень прогестерона оказывает незначительное влияние на наступление беременности. Кроме того, повышение уровня ЛГ приводит к повышению уровня прогестерона.

На сегодня неоспоримым является тот факт, что количество фолликулов коррелирует с уровнем прогестерона, числом беременностей и одновременно с более высоким риском СГСЯ. Однако полной ясности в этом вопросе нет. Существуют утверждения об ухудшении репродуктивных результатов при высоком уровне прогестерона на поздней фолликулярной фазе.

**Поль Деврой (Бельгия)** представил доклад, касающийся общих задач в репродуктологии, а также вопросов безопасности ВРТ.



— На международных форумах по репродуктологии довольно много внимания уделяется теоретическим и практическим сторонам нашей работы. Однако есть не менее важные общие вопросы, которые определяют успех нашей деятельности и на которых необходимо вкратце остановиться.

На сегодня следует понимать, что работа репродуктологической клиники требует привлечения врачей смежных специальностей, а также определенных консультантов. Психологи, эмбриологи, лабораторные техники — это специалисты, от которых существенно зависят результаты работы клиники. Немаловажное значение имеют масштабы и глубина мышления руководства учреждения. Будущее будет принадлежать тем клиникам, которые способны обрабатывать клинический материал, организовывать клинические исследования, анализировать, выдвигать научные теории и версии, проводить внутренний аудит.

Наличие пресс-атташе, освещение деятельности онлайн, уменьшение потери рабочего времени на рутину и бумаготворчество также не являются второстепенными факторами в организации работы. Следует признать, что далеко не все клиники могут похвастаться такими подходами.

Среди более узких проблем репродуктологии актуальными на сегодня являются вопросы безопасности IVF, малоизученность лютеиновой фазы цикла и эндометрия.

Что касается безопасности IVF, то под этим подразумевается не только

профилактика СГСЯ, но и многоплодной беременности, а также эктопической беременности. Кроме того, следует помнить о возможности тромбоэмболических осложнений.

Так, согласно данным 2012 г. по США главным осложнением программ IVF являются многоплодные беременности, которые естественно составляют главную причину преждевременных родов. За 2012 г. было представлено 149 публикаций по осложнениям, связанным с многоплодной беременностью.

Показательными в этом контексте являются некоторые африканские страны, в которых IVF-циклы заканчиваются многоплодной беременностью в 83% случаев, причем 17% из них — тройней. Очевидно, что такой подход продиктован желанием избежать значительных финансовых издержек. В Бельгии репродуктологическим клиникам шесть циклов IVF компенсирует государственный бюджет, что позволяет абстрагироваться от финансовых проблем и проводить перенос одного эмбриона.

В нашей клинике частота живорождений после переноса одного эмбриона на пятые сутки достигает 67%.

Поэтому мы предлагаем осуществлять один перенос, отказаться от медленной заморозки и вернуться к витрификации. Что касается дня переноса эмбриона в полость матки, то на сегодня существует два подхода — перенос эмбриона либо на третьи, либо на пятые сутки. В нашей клинике эмбриотрансфер проводят на пятый день.

Усилия, направленные на повышение безопасности ВРТ, позволили открыть преимущества антагонистов ГнРГ. Однако не следует полагать, что переход на антагонисты полностью исключает СГСЯ. Следует признать, мы также были в плену этих заблуждений. Если высказаться иначе, то протокол с антагонистами позволяет полностью избежать СГСЯ при выполнении определенных условий, но не исключает его, тогда как в случае с агонистами риск СГСЯ присутствует при любых обстоятельствах. В этом, собственно, и состоит преимущество антагонистов перед агонистами.

Хорошие результаты по профилактике СГСЯ отмечаются при витрификации яйцеклетки, поскольку риск этого синдрома выше в стимулированном цикле. Кроме того, размещение эмбриона в стимулированном цикле также демонстрирует худшие показатели имплантации. Данные статистики утверждают, что перенос лучше проводить в естественном цикле в подготовленный миометрий.

Интересное исследование было проведено в Атланте, в нем изучался уровень имплантации. Это исследование подтвердило факт негативного влияния препаратов, используемых для стимуляции овуляции, на качество эндометрия — показатель имплантации в стимулированном цикле был на 15% ниже, чем в естественном (40 против 55%).

В мире был проведен ряд похожих исследований, которые подтвердили эти данные.

В нашей клинике также проведено исследование, в котором тщательно изучалась гистологическая структура эндометрия в стимулированных и нестимулированных циклах. Наличие секреторной трансформации эндометрия наблюдалось во всех случаях, но патогистологические заключения показали вероятность имплантации эмбриона в 90% случаев. Это означает, что даже при идеальном качестве эмбрионов риск неудачи имплантации составляет 10%.

Ряд исследований, направленных на изучение проблемы имплантации, указывают на оптимальные свойства эмбрионов на пятые сутки, когда уровень имплантации достигает 50%.

Важно учитывать, что оптимальный день переноса эмбриона в матку, использование витрификации эмбрионов и естественных циклов при ВРТ не только повышают уровень имплантации и живорождения, но и существенно снижают уровень эктопической беременности, который даже в Европе остается малоизвестным.

На сегодня существуют убедительные данные, доказывающие, что частота эктопической беременности в стимулированном цикле выше, чем в естественном, с использованием витрифицированных эмбрионов.

Следующий вопрос, заслуживающий отдельного внимания, касается применения ЛГ. В свое время существовало мнение, что в циклах с антагонистами не требуется использование ЛГ. Однако первые результаты лечения антагонистами оканчивались безрезультатно — раннее кровотечение и нулевая беременность. При дальнейшем изучении этой проблемы оказалось, что в случае инъекции антагонистов на определенном этапе отмечается низкая концентрация ЛГ, которая обнаруживает тенденцию к падению. Это объясняется резким повышением уровня половых стероидов после инъекции ХГЧ, что приводит к нарушению восприимчивости рецепторов в лютеиновую фазу цикла.

Таким образом, при применении антагонистов ГнРГ уровень ЛГ быстро и значительно подавляется, что может привести к атрезии малых фолликулов. Их потеря является мерой профилактики СГСЯ, поскольку они не развиваются до стадии зрелой яйцеклетки и только способствуют повышению риска этого осложнения. Хотя после появления антагонистов ГнРГ на рынке было заявлено, что при их применении продемонстрированы более низкие показатели наступления беременности, результаты метаанализов это опровергают. Показатели наступления беременности в рандомизированных исследованиях были сходны с результатами, полученными при применении длинного протокола с агонистами ГнРГ, что подтверждается также данными недавнего систематического обзора (Al-Inany H.G., Youssef M.A., Aboulghar M. et al. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. Cochrane Database Syst Rev. 2011).

Кроме того, использование антагонистов ГнРГ обеспечивает большую гибкость, чем проведение длинного протокола с агонистами. Если, несмотря на все предпринятые усилия, отмечается гиперреакция на стимуляцию овуляции, вместо ХГЧ можно использовать агонист ГнРГ для стимулирования овуляции, что поможет снизить риск СГСЯ. Идеальные методы для поддержки лютеиновой фазы в таких случаях не определены, поэтому показатели наступления беременности могут быть несколько ниже.

Использование антагонистов ГнРГ позволяет также обеспечить более гибкое начало цикла IVF, если пациентка принимала пероральные контрацептивные средства перед стимуляцией овуляции. Много аргументов может быть приведено в пользу назначения антагонистов ГнРГ у женщин с предполагаемым чрезмерным ответом на стимуляцию овуляции. Кроме того, поскольку продолжительность стимуляции короче и количество используемых лечебных средств уменьшено, этот метод, вероятно, является экономически более выгодным.

Риск развития незначительной/умеренной формы СГСЯ был сходен при использовании каждого из этих протоколов. Риск развития тяжелой формы СГСЯ был ниже при применении протокола с антагонистами ГнРГ.