

Теорія і практика репродуктивної медицини

30 мая – 1 июня во Львове состоялся международный симпозиум, посвященный вопросам репродуктивной медицины, организованный Министерством здравоохранения Украины и Украинской ассоциацией репродуктивной медицины. Одним из спонсоров этого мероприятия выступила компания MSD. Кроме проблемы женского бесплодия и вопросов эндокринной репродуктологии, значительная часть докладов была посвящена мужскому бесплодию, применению антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) и оптимизации работы репродуктологических клиник. Предлагаем читателям ознакомиться с наиболее интересными из них.

Доктор David Miller (Университет Лидса, Великобритания) представил доклад «Мужской фактор бесплодия: что нам сообщает сперма?»

Репродуктологами мира широко обсуждаются проблемы женской эндокринологии и овуляции. В последнее время также достаточно внимания уделяется мужскому бесплодию и качеству спермы, однако это внимание часто ограничивается количественными и динамическими показателями, что не дает ответов на многие вопросы. На сегодня существуют молекулярные и генетические аспекты мужского бесплодия, связанные со сперматозоидами, — именно они порой являются причинами неудач программ IVF.



Сперматозоид человека — это специализированная клетка, строение которой позволяет ей выполнять свою функцию: преодолеть половые пути женщины и проникнуть в яйцеклетку, чтобы внести в нее генетический материал мужчины. Строение сперматозоида имеет ряд существенных особенностей. Ядро зрелого сперматозоида значительно мельче ядер других клеток, его уплотнение происходит за счет уникального механизма конденсации хроматина (из ядра удаляются гистоны, и ДНК связывается с белками-протаминами). Удаляется и большая часть цитоплазмы — остаются только самые необходимые органеллы.

Удаление гистонов из ядра во время сперматогенеза не только приводит к уплотнению хроматина. В отличие от хроматина с участием гистонов, хроматин с участием протаминов не активен — в ядре сперматозоидов невозможны процессы транскрипции.

Вопреки общепринятому мнению о том, что индивидуальное развитие заключается в реализации заложенной в геноме программы, ранние стадии эмбрионального развития животных происходят при отключенном геноме. Вплоть до стадии бластулы или даже гаструлы зародыш синтезирует все необходимые ему белки на основе матричных РНК, как полагают, полученных от матери, которые позже уничтожаются при запуске генома эмбриона. Несмотря на то что у млекопитающих включение генома происходит раньше, например, у мышей этот процесс запускается на стадии двух клеток, существует период при оплодотворении, полностью зависящий от РНК.

Первыми, кто выдвинул версию о способности сперматозоидов вырабатывать протеин, были ученые из Израиля. Вначале их предположение, а позже и утверждение были восприняты скептически, поскольку они не вписывались в определенные представления.

Но вскоре было проведено несколько научных экспериментов, которые показали, что протеин синтезируется на митохондриальных рибосомах. Далее появилась версия о возможном участии РНК, которая играет роль в обеспечении яйцеклетки новой информацией.

Было проведено еще одно уникальное исследование, в котором изучали процесс передачи потомству генетического материала, усеченного набора генов, отвечающего

за пигмент части тела у подопытных животных. Ученые пришли к выводу, что изначально процесс передачи осуществляется РНК сперматозоидов, и лишь потом происходит экспрессия генов.

Следующие данные доказывают, что небольшие микроРНК спермы требуются для активации генома эмбриона. Этот факт подтвержден результатами сравнительного изучения экспрессии генома в ооцитах и одноклеточном эмбрионе. Оказалось, что экспрессия генома проходила лишь в одноклеточном эмбрионе, то есть под воздействием РНК сперматозоида.

Также существует мнение, указывающее на роль РНК спермы в делении эмбриона.

Выявление матричных РНК в здоровых сперматозоидах позволяет проследить, каким образом гены нормально проявляются во время сперматогенеза.

Совместно с американскими коллегами был разработан генетический профиль здоровых сперматозоидов, что послужило важным шагом в понимании, диагностике и лечении мужского бесплодия.

Раньше с этой целью использовалось секвенирование (определение аминокислотной или нуклеотидной последовательности), в настоящее время применяют метод анализа экспрессии большого числа генов (от нескольких десятков до нескольких десятков тысяч), заключенный в использовании фиксированного на твердом носителе (чипе) в определенном порядке значительного количества строго определенных проб (олигонуклеотидов или олигонептидов), с которыми осуществляется взаимодействие.

За 10 лет удалось накопить результаты таких исследований. Та же группа авторов рассматривала различия между нормальными образцами спермы и спермы с отклонениями. С помощью техники, позволяющей увидеть кластеры нормальных и ненормальных образцов, проводили последующее разделение на группы, исходя из экспрессии на нормальные и тератозооспермические образцы.

Также были сделаны выводы о том, что профиль с растворимой ДНК сопоставим с плотностью гена. То есть, в геноме сперматозоида есть место с насыщенной геной последовательностью. Если рассмотреть антологию этих последовательностей, можно обнаружить еще ряд удивительных фактов. Растворимая ДНК, как правило, включает все гены, участвующие в развитии эмбриона. С другой стороны, существуют нерастворимые ДНК, отвечающие за восприятие запаха, вкуса.

С помощью флуоресценции *in situ* можно рассмотреть растворимую ДНК и ответить на вопрос о том, где она находится на ядре. Оказалось, что место ее расположения соответствует локализации гистонов.

Группа исследователей из штата Юта изучали изменения гистонов HOXD локуса у нефертильных мужчин. Вначале ученые составили схему, на которой отдельно указали HOXD-локус и гистоны. В процессе исследования оказалось, что существуют значительные расхождения относительно гистонов и их ацетилирования. Иногда образцы нефертильных мужчин не отличались от сравниваемых материалов фертильных мужчин, тем не менее эти мужчины были также бесплодны.

О чем еще может рассказать нам сперма? По метилированию можно рассматривать разнородность, гетерогенность генома — это поддерживает фертильность. Исследования



по метилированию также проводятся с появлением новых технологий секвенирования генома в поиске метилированных цитозиновых оснований.

Подводя итог вышесказанному, можно сделать следующие выводы. Анализируя пробы спермы у здоровых фертильных мужчин, ученые смогли по кусочкам сложить генетические «отпечатки пальцев» нормальной спермы. Этот профиль состоит из так называемых матричных (информационных) РНК. Информационная РНК — это генетический материал в клетках, который переводит инструкции от ДНК с тем, чтобы механизмы клетки могли вырабатывать белки, осуществляющие все функции организма.

Имея этот профиль, врачи наконец-то получили молекулярный ориентир, с которым можно сравнивать мужчин с нарушением фертильности. В настоящее время при анализе спермы измерения формы и подвижности сперматозоидов порой оказывается недостаточно, и в большинстве случаев причина мужского бесплодия остается неизвестной. Анализ матричных РНК проливает свет на корни бесплодия у большого количества пациентов.

Матричные РНК могут стать хорошим подспорьем при диагностике мужского бесплодия и, возможно, для разработки новых методов вспомогательных репродуктивных технологий. Например, в сперму с нарушенными матричными РНК можно ввести матричные РНК во время проведения ICSI — широко распространенной процедуры, при которой сперматозоид вводится в яйцеклетку в лаборатории.

Молекулярный профиль стал доказательством того, что уровень матричных РНК у зрелых сперматозоидов выше, чем у сперматозоидов на ранней стадии развития. Очевидно, что матричные РНК необходимы сперматозоиду для оплодотворения яйцеклетки на ранних этапах развития эмбриона.

Ирина Яковлевна Кононенко (Институт репродуктивной медицины, г. Киев) представила доклад, посвященный сравнению протоколов с использованием агонистов и антагонистов ГнРГ с разными триггерами овуляции.



Процесс усовершенствования IVF-технологий является непрерывным и на сегодня выдвигает следующие требования к проведению экстракорпорального оплодотворения (ЭКО): возможность программирования, индивидуальный подход, селективный трансфер одного эмбриона, отсутствие синдрома гиперстимуляции яичников (СГСЯ), снижение стрессовости лечения для пациента. Однако важно понимать, что процесс усовершенствования происходит в интересах не только пациента, но и репродуктолога, и направлен на уменьшение профессионального риска.

Этим требованиям соответствуют протоколы с антагонистами ГнРГ. Протокол с антагонистами ГнРГ, к которому привыкли репродуктологи, и он уже становится традиционным, имеет дополнительную опцию, в отличие от длинного протокола с использованием агонистов ГнРГ, и отличается выбором на финише стимуляции триггера овуляции, которым может быть либо хорионический гонадотропин человека (ХГЧ), либо агонист ГнРГ. Первые работы по механизму действия триггера овуляции появились в 70-х годах прошлого столетия. В целом протоколы с антагонистами ГнРГ характеризуются более коротким курсом лечения, уменьшением дозы гонадотропинов, снижением риска СГСЯ, дают возможность дифференцированного подхода к триггеру овуляции.

Нами проведено исследование, целью которого было выполнить анализ эффективности и безопасности стимуляции яичников при IVF/ICSI с использованием длинного протокола с агонистами ГнРГ и протокола с антагонистами ГнРГ, который имел два варианта триггеров овуляции — ХГЧ, агонист ГнРГ.

Первая группа — 283 пациентки. Стимуляция овуляции в длинном цикле с применением агонистов ГнРГ.

Вторая группа — 148 пациенток. Стимуляция овуляции в цикле с использованием антагонистов ГнРГ с триггером овуляции ХГЧ.

Третья группа — 64 пациентки. Стимуляция овуляции в цикле с применением антагонистов ГнРГ с триггером овуляции агонистами ГнРГ.

В анализ не вошли пациентки старше 37 лет, со сниженным овариальным резервом, с другими вариантами стимуляции овуляции, доноры ооцитов. В исследовании использовались следующие препараты:

- гонадотропины: фоллитропин бета, менотропин (стартовая доза 150–250 МЕ);
- агонист ГнРГ трипторелин;
- антагонист ГнРГ ганиреликс;
- триггеры овуляции: ХГЧ 5 000–10 000 МЕ; агонист ГнРГ трипторелин 0,1–0,2 мг (критерии выбора — более 11 фолликулов диаметром 12 мм, уровень эстрадиола >3000–4000 пкг);
- поддержка лютеиновой фазы: прогестерон; прогестерон + эстрадиол.

Минимальный средний возраст пациенток отмечен в третьей группе, где в качестве триггера овуляции применяли агонист ГнРГ. Несмотря на то что больше с поликистозом яичников не должны включаться в программы с применением агонистов ГнРГ, таких пациенток в первой группе оказалось 8,8%, поскольку поликистоз у таких женщин сочетался с другой патологией. Наибольшую долю пациенток, вошедших в первую группу, составили женщины с тубно-перитонеальным бесплодием (25%), эндометриозом (17%), тубно-перитонеальным бесплодием в сочетании с мужским фактором (28,6%). Структура заболеваемости во второй и третьей группах была схожей.

Если говорить о результатах стимуляции овуляции, то нами была получена нетипичная картина, что объясняется адекватным

отбором пациентов. Среднее число ооцитов в первой и второй группах составило 13,8 и 12,3 соответственно. В третьей группе получено 24 ооцита. Среднее количество эмбрионов хорошего качества (I, II типа) и blastocyst также отмечено в третьей группе. Что касается количества эмбриотрансфертов, то лучший показатель получен в первой группе — 2,1. Доля криоконсервированных эмбрионов (blastocyst) была существенно выше в третьей группе — 81,25 против 47% в первой и 48% во второй группе.

СГСЯ средней степени тяжести наблюдался у 3% пациенток первой группы. Во второй и третьей группах случаи гиперстимуляции яичников не отмечены. Количество циклов, в которых не проводился перенос эмбриона, было приблизительно одинаковым — 3,4, 5,3 и 7,8% соответственно. Частота беременностей в первой группе составила 41,2%, во второй — 40,1%, в третьей — 36%. Процент многоплодных беременностей и потерь беременностей был приблизительно одинаковым во всех группах.

Таким образом, анализ проведенных циклов в трех группах показал, что по эффективности применения антагонистов ГнРГ сопоставимо с использованием агонистов ГнРГ, но имеет лучший профиль безопасности.

Кандидат медицинских наук Владимир Владимирович Котлик (медицинский центр «Мать и дитя», г. Киев) представил доклад, посвященный опыту тайм-менеджмента в протоколах контролируемой овариальной стимуляции с антагонистами ГнРГ.



— Планирование и организация рабочего времени в клинике ЭКО является важным условием, которое позволяет не только комфортно работать коллективу, но и равномерно распределять нагрузку на структурные подразделения клиники (лаборатория, операционная) и является главным фактором успешности работы учреждения.

Переход на использование антагонистов ГнРГ в программах ЭКО является мировым трендом, однако, говоря о преимуществах этой группы препаратов, часто умалчивают о проблеме планирования рабочего времени, тогда как длинные протоколы с использованием агонистов ГнРГ позволяют программировать день пункции практически безошибочно. Именно этот факт является главной сдерживающей причиной, препятствующей широкому внедрению антагонистов ГнРГ. Например, если суммировать все выходные дни в мае этого года и прибавить к ним дни вынужденного отсутствия репродуктологов на рабочем месте в связи с участием в различного рода научных форумах, то от протоколов с применением антагонистов ГнРГ в этом месяце следовало бы отказаться. Разумным решением в сложившейся ситуации было бы применение длинных протоколов с агонистами, позволяющих использовать календарный хостинг — без мысли о профилактике СГСЯ, но подразумевая смещение даты проведения пункции на удобный день. Кроме того, ситуацию с антагонистами ГнРГ отягощает ряд надуманных проблем.

Дело в том, что действие антагонистов ГнРГ не ограничивается аденогипофизом, под их влиянием оказывается и медиобазальный гипоталамус, что сказывается на ряде биохимических процессов на высшем уровне регуляции нейроэндокринных процессов. Невзирая на то что метаболическая стабильность молекулы антагониста ГнРГ ганиреликса очень высокая, что обычно расценивается как позитивный факт, в данном случае это имеет и негативные стороны — резкое снижение уровня лютеинизирующего гормона ограничивает наши действия и делает протокол достаточно фиксированным.

Удлинение стимуляции в протоколе с антагонистами (более 10 дней) и, соответственно, увеличение количества использованных ампул антагонистов (более 5) значительно влияет на частоту наступления беременности в циклах IVF. Тем не менее

эти протоколы подвластны программированию и, по мнению огромного количества исследователей, являются не менее гибкими, чем протоколы с агонистами.

Не существует классификации программирования планирования протоколов, однако условно его можно разделить на немедикаментозное, которое достигается путем смещения дня старта программы и дня назначения триггера, что позволяет сдвинуть дату трансвагинальной пункции до двух дней, и медикаментозное (комбинированные оральные контрацептивы, эстрогены, гестагены). На сегодня предложено использование антагонистов в первые три последовательных дня до начала менструации для планирования возможного старта на четвертый день цикла. С целью изучения возможностей по рационализации организации рабочего процесса репродуктологов в Европе проведены ряд исследований, посвященных этой проблеме.

Результаты этих исследований указывают на наличие существенных репродуктивных потерь при использовании комбинированных оральных контрацептивов с целью смещения дня пункции, тогда как применение эстрадиола в дозе 4 мг с 25-го дня цикла позволяет избежать пункционных дней в неудобные для клиники даты без негативного влияния на эффективность программ с антагонистами. Длительность приема эстрадиола зависит от дня недели, на который приходится 25-й день менструального цикла.

Кроме того, использование эстрогенов в протоколах с антагонистами выявило целый ряд позитивных моментов: более гомогенный рост фолликулов, лучшее созревание фолликулов.

Ряд авторов провели мультицентровое рандомизированное исследование, в котором попытались проанализировать европейский опыт календарного планирования протоколов с антагонистами. Эти авторы изучили серьезные работы, касающиеся простого календарного сдвига цикла IVF, учитывая дни начала менструации, которые совпадают с определенными днями недели. Выводы исследования оказались просты: если первый день менструации попадает на пятницу — вторник, стимуляцию яичников следует начинать со второго дня цикла, если же начало менструации приходится на среду или четверг, стимуляцию начинают с третьего дня менструального цикла. День назначения триггера овуляции можно отсрочивать на один день от идеального.

Для нашей клиники вопросы планирования и оптимизации организации работы особо актуальны, поскольку более 70% циклов стимуляции проводятся с антагонистами ГнРГ. В 2012 году нами выполнено исследование на клинических материалах за прошедший год.

В исследовании изучались циклы с антагонистами ГнРГ. В первую группу отнесены протоколы, в которых добивались смещения пункционного дня до 3 суток со стопроцентным исключением пункционных дней в выходные дни, во вторую группу вошли протоколы, которые проводились в обычном режиме. Наш календарь имел 12 возможных вариантов планирования короткого протокола в зависимости от дня цикла, который совпадал с определенным днем недели. Например, если цикл начинается с понедельника, то назначение триггера овуляции проводили в субботу с пункцией в понедельник. Аналогичные схемы были разработаны для остальных рабочих дней недели.

Наш опыт использования календарного тайм-менеджмента в планировании протоколов с антагонистами ГнРГ свидетельствует об отсутствии снижения эффективности таких циклов, что подтверждается такими показателями, как количество дней стимуляции, суммарная доза, количество полученных ооцитов, процент беременностей.

Данный материал предоставлен компанией MSD в качестве профессиональной поддержки для специалистов в области медицины. Информация, относящаяся к любому продукту (продуктам), может быть не согласована с информацией по медицинскому применению данного продукта. Просим ознакомиться с полной информацией по медицинскому применению продукта для получения официальной утвержденной информации по любому продуктам, обсуждаемым в данной публикации, до их назначения пациентам.

WOMN-1113504-0000

Подготовила **Наталья Карпенко**



Витамины и минералы для беременных

Беременность является периодом важных физиологических изменений, когда для нормального развития плода требуется регулярное и сбалансированное питание матери с получением достаточного количества нутриентов, в том числе микроэлементов. На сегодня нет никаких сомнений, что правильное развитие плода во многом зависит от того, насколько хорошо организм беременной обеспечивается различными нутриентами. Немалая часть витаминов, минералов, а также питательных веществ, поступающих с пищей, употребляется будущим ребенком.

Витамины и беременность

Беременность является периодом важных физиологических изменений, когда для нормального развития плода требуется регулярное и сбалансированное питание матери с получением достаточного количества нутриентов, в том числе микроэлементов. На сегодня нет никаких сомнений, что правильное развитие плода во многом зависит от того, насколько хорошо организм беременной обеспечивается различными нутриентами. Немалая часть витаминов, минералов, а также питательных веществ, поступающих с пищей, употребляется будущим ребенком.

На этапе внутриутробного развития плода организм матери является единственным источником всех необходимых нутриентов (воды, белков, жиров, углеводов, витаминов, макро- и микроэлементов и т.д.). Физиологическая потребность человека в витаминах — объективная величина, которая сформировалась в процессе эволюции и не зависит от наших знаний и представлений.

Поэтому во время беременности обычно повышается аппетит. Так организм решает проблему нехватки ценных веществ, необходимых для нормальной жизнедеятельности как будущей мамы, так и плода. Однако следует учитывать, что с наступлением беременности серьезной проблемой могут стать разнообразные пищевые прихоти женщины, снижение аппетита, ранние гестозы, которые влияют на уровень поступления в организм витаминов и микроэлементов с пищей и их усвоения. Необходимо также отметить, что во время беременности снижаются сократительная и секреторная функции желудка, моторика кишечника, что приводит к существенным изменениям усвоения различных компонентов пищи, в том числе витаминов и минералов.

Негативное влияние дефицита тех или иных витаминов и микроэлементов по уровню отрицательного воздействия на плод сравнимо с последствиями влияния инфекционных агентов либо других тератогенных факторов. Последствия такого воздействия обнаруживаются не только после родов (например, пороки развития внутренних органов), но и в последующие периоды развития ребенка.

Особый риск гиповитаминоза характерен для беременных подросткового возраста; женщин, которые имеют дефицит массы тела или занимаются тяжелым физическим трудом; беременных с сопутствующей патологией (острыми инфекционными заболеваниями, патологией сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы и т.д.); женщин с многоплодной беременностью; повторно беременных с интервалом между родами менее 2 лет; беременных старше 35 лет; вегетарианок; женщин, которые курят, употребляют алкоголь, наркотики.

Внутриутробный этап развития является периодом повышенной чувствительности к недостаточности микронутриентов, в рамках которого существуют так называемые окна чувствительности. Именно в эти периоды в результате оптимального обеспечения микронутриентами формируется до 60-70% врожденных пороков развития. Неадекватность происхождения эссенциальных компонентов на ранних этапах развития, даже если она не вызывает анатомических изменений, способная приводить к нарушению клеточного дифференцирования. При этом минимальные диспластические или функциональные расстройства, возникшие на стадии внутриутробного развития, могут появляться на разных этапах жизни.

В нашей стране около 70% беременных испытывают тот или иной уровень недостаточности витаминов и минералов. Прежде всего речь идет о витаминах группы В, фолиевой и аскорбиновой кислоте, каротиноидах, а также некоторых важнейших микроэлементах, в частности йоде, особо острый дефицит которого наблюдается в западных областях страны.

Профилактика витаминного дефицита в перинатальном периоде

Усиленное питание вследствие повышенного аппетита либо в виде специализированной диеты не способно решить проблему нехватки витаминов и микроэлементов. Огромное количество разнообразной пищи, необходимое для восполнения нутриентов, является нереальным для усвоения ферментной системой и приводит к повышению массы тела беременной и плода. К тому же в современных продуктах питания уже не содержится того количества полезных веществ, которое необходимо организму.

Неполноценность питания у беременных возмещается с помощью специальных препаратов, содержащих витамины и минералы.

Эффективное предупреждение материнской и перинатальной патологии, особенно на этапе прегравидарной подготовки, — один из самых перспективных и необходимых стратегических направлений в решении данной проблемы.

Не вызывает сомнения тот факт, что витаминно-минеральные комплексы необходимо применять в прегравидарном периоде и на протяжении всей беременности. В период кормления грудью витаминные препараты способствуют нормальной лактации, а также повышают пищевую ценность женского молока.

Необходимость проведения прегравидарной подготовки, включающей использование мультивитаминных препаратов, доказана и признана во многих странах. В США, Канаде, большинстве европейских стран от 20 до 52% населения регулярно принимают витамины и витаминные добавки в течение жизни, 86-92% — при прегравидарной подготовке и в течение всей беременности.

При выборе витаминно-минерального комплекса предпочтение следует отдавать препаратам, содержащим весь спектр необходимых витаминов и микроэлементов, в дозировке, обеспечивающей суточную потребность беременной в тех или иных компонентах.

На фармацевтическом рынке Украины присутствует высокоэффективный и безопасный препарат Витрум Пренатал Форте, который длительное время используется в акушерско-гинекологической практике. Препарат содержит 13 витаминов и 10 минералов, полностью обеспечивая организм беременной необходимыми витаминами и минералами.



Информация про лікарські засоби. Інформація для використання у професійній діяльності медичними та фармацевтичними працівниками. Повна інформація про лікарський засіб міститься в інструкції для медичного застосування.

Подготовила **Наталья Карпенко**

