

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ЕКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ЗАПЛІДНЕННЯ ПІСЛЯ ПЕРЕНЕСЕННЯ ВІТРИФІКОВАНИХ БЛАСТОЦИСТ У ПРИРОДНОМУ ЦИКЛІ ТА ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ЗАМІСНОЇ ГОРМОНАЛЬНОЇ ТЕРАПІЇ

Проф. М. Г. ГРИЩЕНКО, А. С. ЛУЦЬКИЙ, канд. мед. наук В. Ю. ПАРАЦУК

Харківський національний медичний університет, Україна

Подано результати дослідження ефективності екстракорпорального запліднення після перенесення вітрифікованих бластоцист у природному циклі та із застосуванням замісної гормональної терапії. Визначено, що найефективнішим є протокол, у якому перенесення вітрифікованих бластоцист відбувається у модифікованому природному менструальному циклі з підтримкою лютеїнової фази шляхом внутрішньовагінального введення (протягом двох тижнів) 90 мг прогестерону у вигляді гелю.

Ключові слова: екстракорпоральне запліднення, замісна гормональна терапія, підтримка лютеїнової фази, вітрифіковані бластоцисти.

У теперішній час найбільш ефективним методом лікування безпліддя є екстракорпоральне запліднення (ЕКЗ). Для отримання кількох ооцитів застосовується контрольована оваріальна стимуляція (КОС), оскільки успішне настання вагітності залежить від достатньої кількості й хорошої якості отриманих яйцеклітин [1].

За даними літератури, у програмах допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) велике значення має замісна гормональна терапія (ЗГТ), при застосуванні якої пацієнтки мають більше шансів для успішної імплантації у кріоциклах, ніж жінки, що проходять стандартне ЕКЗ [2, 3].

Доведено, що ефективність програми ЕКЗ підвищується з кількістю аспірованих преовуляторних ооцитів, отриманих на тлі індукції суперовуляції. Частота настання вагітності зростає у тих ситуаціях, коли при пункції фолікулів вдається отримати більше п'яти яйцеклітин. Припускають, що цей факт асоційований із можливістю вибору для імплантації якісних ембріонів [4]. При тому що КОС є необхідним і важливим етапом ЕКЗ [5], у процесі його проведення можуть спостерігатися негативні наслідки: синдром гіперстимуляції яєчників (СГЯ) і недостатня відповідь яєчників (НВЯ) [2, 6].

СГЯ характеризується вираженим збільшенням яєчників із формуванням у них кіст, підвищенням судинної проникності й пропотіванням рідини у черевну та плевральну порожнини, гіпотензією та олігоурією [7]. Для його профілактики як тригер фінального дозрівання ооцитів може бути використаний агоніст гонадотропін-релізинг гормону. З іншого боку, відсутність ембріо-перенесення і консервація усіх ембріонів знижує загрозу розвитку СГЯ. У пацієнток із прогнозовано високим ризиком СГЯ доцільно проводити кріоконсервування усіх ембріонів [8].

Стероїдні гормони відіграють найважливішу роль у розвитку вагітності. Прогестерон, що викликає децидуальні зміни в ендометрії, створює умови для імплантації. Одночасно цей гормон стимулює проліферативну активність у міометрії, підсилює його васкуляризацію, має виражену токолітичну дію, перешкоджає стимулюючому ефекту окситоцину і простагландинів. Присутність прогестерону в достатніх концентраціях у лютеїнової фази (ЛФ) менструального циклу (МЦ) дає змогу запустити і підтримувати нормальні імунні реакції, що виникають у відповідь на імплантацію та формування плідного яйця. Повноцінна друга фаза МЦ забезпечує нормальне прогресування вагітності. Недостатність лютеїнової фази (НЛФ) часто призводить до несприятливих результатів [9]. Все це свідчить про виправданість і доцільність проведення підтримуючої ГТ у програмі ЕКЗ після перенесення ембріонів.

Для підвищення ефективності ДРТ важливо домогтися перенесення ембріонів із високим імплантаційним потенціалом під час найбільшої сприйнятливості ендометрію до імплантації [10]. Підтримка ЛФ стала невід'ємним компонентом програм ДРТ. Однак вибір препаратів і схем їх введення найчастіше виконується на підставі емпіричного підходу. В останні роки намітилася чітка тенденція зниження інтенсивності ГТ у зв'язку з її небажаними наслідками.

Наразі об'єктивних досліджень про можливість відмови від медикаментозної підтримки або зниження дози немає.

Метою цього дослідження було підвищення ефективності ЕКЗ після перенесення вітрифікованих бластоцист у модифікованому природному циклі із застосуванням ЗГТ.

Робота виконувалася у Клініці репродуктивної медицини імені акад. В. І. Грищенка «Імплант» (Харків).

**Характеристика протоколів підготовки до екстракорпорального запліднення
в обстежених пацієнток**

Підготовка до протоколу ЕКЗ	Групи		
	1, n = 51	2, n = 92	3, n = 30
Перенесення вітрифікованих бластоцист	У природному МЦ	Після агоніста гонадотропін-рилізінг гормону	У модифікованому природному МЦ
Підготовка ендометрію	Не проводилась	Естрадіол валерат по 6 мг щоденно	Не проводилась
Підтримка ЛФ	Не проводилась	Внутрішньовагінальна форма прогестерону у вигляді гелю (двічі на день)	Внутрішньовагінальна форма прогестерону у вигляді гелю (одноразово на день)

У дослідженні взяли участь 173 пацієнтки, яким у зв'язку з безпліддям різного генезу проводилось ЕКЗ. Для порівняння ефективності різних варіантів підтримуючої терапії в програмі ЕКЗ після перенесення ембріонів жінок було розділено на три групи.

Групу 1 становила 51 пацієнтка з перенесенням вітрифікованих ембріонів у природному МЦ. Усім жінкам за допомогою ультразвукового дослідження (УЗД) проводився моніторинг росту фолікулів. Трансвагінальне УЗД виконувалося на апараті В-К Medical. Через п'ять днів після констатації овуляції ембріони переносили в матку. З огляду на наявність жовтого тіла в яєчнику з моменту овуляції підтримку другої фази МЦ не проводили.

У групу 2 увійшли 92 жінки, яким застосовували схему ЗГТ із попередньою десенситизацією гіпофіза (за 10 дн до менструації був призначений агоніст гонадотропін-рилізінг гормону в дозі 0,05 мг підшкірно щодня). Підготовка ендометрію проводилася естрогенами (естрадіола валерат по 6 мг щодня). При досягненні товщини ендометрію 8 мм припиняли введення агоніста гонадотропін-рилізінг гормону. Через 2 дн для підтримки ЛФ протягом 14 дн внутрішньовагінально вводили 90 мг прогестерону у вигляді гелю щодня, двічі на добу.

Групу 3 було сформовано з 30 пацієнток із модифікованим природним МЦ, у яких раніше ембріоперенесення не проводилось у зв'язку з високим ризиком розвитку тяжкого СГЯ. У цій групі пацієнток усі отримані ембріони були вітрифіковані (Freeze-all). Відігріті ембріони переносили в порожнину матки на п'ятий день після констатації овуляції. Підтримку ЛФ у цієї групи жінок здійснювали за допомогою внутрішньовагінального введення 90 мг прогестерону у вигляді гелю щодня, 1 раз на добу протягом 2 тиж.

Середній вік пацієнток групи 1 – $30,5 \pm 0,5$ року; групи 2 – $32,3 \pm 0,8$ року, групи 3 – $31,2 \pm 0,6$ року і не мав достовірних відмінностей. Групи були однорідні за зростом, масою і масо-зростовим індексом. В усіх пацієнток був регулярний овуляторний МЦ, репродуктивний анамнез не мав достовірних відмінностей в обстежених групах. У жінок не було операцій на внутрішніх статевих

органах, ендокринних захворювань, ендометріозу, урогенітальних інфекцій. За даними трансвагінального УЗД, у порожнині матки були відсутні гіперпластичні процеси ендометрію.

У дослідження було включено тільки випадки з ембріонами хорошої якості.

Через 14 дн після перенесення ембріонів у пацієнток усіх трьох груп проводили дослідження крові на хоріонічний гонадотропін (ХГ). При позитивному тесті через місяць після ембріоперенесення проводили діагностику вагітності за допомогою УЗД. У день ембріоперенесення у пацієнток досліджували концентрацію у сироватці крові прогестерону й естрадіолу за допомогою електрохемолюмінесцентного методу на апараті Cobas E 411, тест-система Roshe Diagnostics GmbH, Німеччина.

Для статистичної обробки матеріалів дослідження використовували пакет прикладних програм Statistica 7,0.

Естрадіол і прогестерон є важливими факторами, необхідними для розвитку вагітності після перенесення ембріонів у матку при ЕКЗ, їх недостатня концентрація зумовлює порушення імплантації і переривання вагітності [11].

Щоб визначити стабільність функціонування жовтого тіла і своєчасно змінити необхідну гормональну підтримку, у всіх пацієнток визначали рівні естрадіолу і прогестерону у день перенесення ембріонів, через тиждень і на 14-й день програми ЕКЗ.

Жінки групи 1 з природним МЦ і без підтримки ЛФ порівнювалися з пацієнтками груп 2 і 3 (табл. 2). У день перенесення ембріонів показники естрадіолу жінок групи 2 достовірно відрізнялися від показників пацієнток групи 1 ($p < 0,001$), при використанні стандартної ЗГТ концентрація естрадіолу була вищою, ніж у природному циклі. Показники естрадіолу в групах пацієнток 1 і 3 були практично однаковими ($p > 0,5$).

Рівень прогестерону у жінок групи 2 у день перенесення ембріонів був достовірно нижчим ($p < 0,01$), ніж у групі 1. Показники прогестерону у групах 1 і 3 виявилися практично ідентичними. Отримані результати відповідали допустимим значенням гормонального фону для проведення ЕКЗ.

Таблиця 2

Концентрації естрадіолу і прогестерону в обстежених пацієнток

Концентрація гормонів	Групи		
	1, n = 51	2, n = 92	3, n = 30
<i>У день перенесення ембріонів</i>			
Естрадіол (пг/мл)	106,7±9,9	198,6±13,5***	111,5±9,6
Прогестерон (нмоль/л)	51,6±4,3	38,7±5,1**	48,8±5,3
<i>Через 7 дн після перенесення ембріонів</i>			
Естрадіол (пг/мл)	119,4±13,2	147,7±12,1*	131,7±11,8*
Прогестерон (нмоль/л)	47,7±2,2	58,9±11,3*	53,9±4,4*
<i>Через 14 дн після перенесення ембріонів</i>			
Естрадіол (пг/мл)	129,5±7,4	158,8±10,2**	142,2±12,2*
Прогестерон (нмоль/л)	56,6±3,3	61,1±9,0	58,3±2,6

Примітка. Достовірність відмінностей між групами 2 і 3 порівняно з групою 1: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Таблиця 3

Результативність екстракорпорального запліднення після перенесення вітрифікованих бластоцист у природному циклі та використання замісної гормональної терапії

Показники	Групи					
	1, n = 51		2, n = 92		3, n = 30	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%
Частота імплантації	22	43,1	33	35,9	15	50*
Клінічні вагітності	32	62,7	59	64,8	23	70,6*
Кількість пологів	28	54,8	45	47,7	19	63*
Багатоплідні вагітності	4	7,8	5	5,3	3	10*
Вагітності, що перервалися	4	7,8	14	15,2*	4	13,3*

* $p < 0,05$ – достовірність відмінностей груп 2 і 3 порівняно з групою 1.

Через 7 дн відбулося вирівнювання гормонального фону у жінок груп 2 і 3 відповідно до дня МЦ, однак концентрації естрадіолу і прогестерону були достовірно вищими за показники обстежених групи 1 ($p < 0,05$), що може бути пов'язане з підтримкою ЛФ.

У всіх групах спостереження показники естрадіолу і прогестерону перебували у межах норми, у зв'язку з чим пацієнтки залишалися у тих же умовах спостереження і терапії.

Через 14 дн достовірно підвищувалася концентрація естрадіолу у групах спостереження 2 і 3, а показники прогестерону у всіх групах практично не відрізнялися і були недостовірними у відмінностях ($p > 0,5$).

Отримані результати підтверджують те, що після перенесення ембріонів у маткову порожнину протягом перших двох тижнів організм жінки реагує на підтримку ЛФ по-різному, проте навіть за відсутності ЗГТ продовжує зберігати у нормальних концентраціях гормональний потенціал, налаштований на імплантацію й розвиток ембріона.

Естрадіол забезпечує подальше нормальне функціонування фетоплацентарного комплексу, формування кісткової системи плода, покращання обмінних процесів. Вплив естрадіолу на судинну систему забезпечує посилення кровотоку і достатнє забезпечення ембріонів поживними речовинами [12].

Нами вивчено показники результативності ЕКЗ після перенесення вітрифікованих бластоцист у природному циклі та із застосуванням ЗГТ (табл. 3). Найвищі показники імплантації ембріонів (50%), клінічної вагітності (70%) і пологів (63%) спостерігалися у групі 3, в якій перенесення вітрифікованих бластоцист відбувалось у модифікованому природному МЦ із підтримкою ЛФ внутрішньовагінальним прогестероном 90 мг у вигляді гелю одноразово на добу ($p < 0,05$). Кількість вагітностей, що перервалися, була ідентичною із групою 2 і достовірно вищою порівняно з групою 1 ($p < 0,05$).

Частота імплантації, клінічних вагітностей і пологів у групах 1 та 2 не відрізнялася ($p > 0,05$).

Однак кількість вагітностей, що перервалися, була вищою в циклах із використанням агоніста гонадотропін-релізинг гормону (група 2).

Отримані нами результати збігаються із даними зарубіжних авторів, які наводять частоту настання клінічної вагітності після перенесення вітрифікованих бластоцист у циклах зі штучною підготовкою ендометрію близько 60% [13]. У нашому дослідженні — 64,8%.

Деякі автори не виявили різниці у результатах настання вагітності і частоті пологів при перенесенні вітрифікованих бластоцист у природному МЦ і при штучній підготовці ендометрію.

Частота настання вагітності в модифікованому природному МЦ вище, ніж у циклах із застосуванням агоністів гонадотропін-релізинг гормону [14].

У природному МЦ, як показало дослідження, вміст прогестерону вищий, а естрадіолу нижчий, ніж у циклах із використанням агоніста гонадотропін-релізинг гормону. Низький вміст естрадіолу і прогестерону негативно позначається на готовності ендометрію до імплантації.

Перенесення ембріонів у природному МЦ має ряд переваг. У природному МЦ ендометрій формується синхронно зі зростанням фолікула. Овуляція відбувається самостійно, жовте тіло, що формується, забезпечує готовність ендометрію до імплантації. У циклах з агоністами гонадотропін-релізинг

гормону відповідний стан ендометрію створюється штучно. Вітрифіковані бластоцисти, перенесені в природному МЦ, потрапляють у більш сприятливі фізіологічні умови для подальшого розвитку, імплантації і доношування вагітності. Такий протокол ЕКЗ економічно більш вигідний для пацієнток через мінімальну підтримку ЛФ і зниження рівня медикамизації вагітності.

Найвищий показник позитивних результатів настання вагітності і пологів був при перенесенні вітрифікованих бластоцист у модифікованому природному МЦ без попереднього перенесення свіжих ембріонів.

Адекватно підібрана циклічна ЗГТ позитивно впливає на рецептивність ендометрію, що дає можливість реалізувати імплантаційні властивості ембріонів у рамках підготовки до перенесення в кріоциклах. Найбільш ефективним є протокол перенесення вітрифікованих ембріонів, в якому перенесення бластоцист відбувається у модифікованому природному МЦ з підтримкою ЛФ внутрішньовагінальним введенням 90 мг прогестерону у вигляді гелю протягом 2 тиж.

Відмова від перенесення свіжих ембріонів у стимульованих МЦ дає високу можливість для отримання вагітності після перенесення вітрифікованих бластоцист у модифікованому природному МЦ без ризику для здоров'я пацієнтки.

Список літератури

1. Грищенко В. И. История создания и развития вспомогательных репродуктивных технологий в Украине / В. И. Грищенко, Н. Г. Грищенко // Медицинские аспекты здоровья женщины.— 2008.— Т. 13, № 4.— С. 91–94.
2. Допоміжні репродуктивні технології лікування безпліддя: навч. посіб.; за ред. Ф. В. Дахна, В. В. Каміньського, О. М. Юзька.— К., 2011.— 129 с.
3. Денисова В. М. Поддержка лютеиновой фазы цикла в программах вспомогательных репродуктивных технологий / В. М. Денисова, Э. В. Исакова, В. С. Корсак // Проблемы репродукции.— 2017.— № 2 (23).— С. 37–46.
4. Наими З. Эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий при переносе эмбрионов в стимулированном цикле по сравнению с переносом криоконсервированных/размороженных эмбрионов / З. Наими, Е. А. Калинина, А. Е. Донников [и др.] // Акушерство и гинекология.— 2016.— № 6.— С. 11–17.
5. Эффективность и исходы программ с криоконсервацией эмбрионов в протоколах вспомогательных репродуктивных технологий / Я. Н. Кравчук, А. С. Калугина, О. В. Быстрова, С. А. Шлыкова // Журн. акушерства и женских болезней.— 2014.— № 4.— С. 39–46.
6. Гайворонская С. И. Влияние факторов риска на развитие синдрома гиперстимуляции яичников в программе вспомогательных репродуктивных технологий / С. И. Гайворонская, Н. Г. Грищенко, В. Ю. Паращук // Теоретичні та практичні аспекти розвитку сучасної медицини: збірник тез наукових робіт учасників Міжнар. наук.-практ. конф., Львів, 26 червня 2015 р.— Львів, 2015.— С. 17–18.
7. Predicting factors for endometrial thickness during treatment with assisted reproductive technology / W. Amir, B. Micha, H. Ariel [et al.] // Fertil. Steril.— 2007.— Vol. 87 (4).— P. 799–804.
8. Evidence of impaired endometrial receptivity after ovarian stimulation for in vitro fertilization: a prospective randomized trial comparing fresh and frozen-thawed embryo transfer in normal responders / B. S. Shapiro, S. T. Daneshmand, F. C. Garner [et al.] // Fertil. Steril.— 2011.— Т. 96 (2).— P. 344–348.
9. Цитокины в регуляции овариального фолликулогенеза (обзор литературы) / Е. А. Андреева, Н. А. Хонина, Н. М. Пасман, Е. Р. Черных // Проблемы репродукции.— 2017.— № 1.— С. 8–14.
10. Митюрин Е. В. Причины повторных неудач имплантации в программе экстракорпорального оплодотворения / Е. В. Митюрин, С. Г. Перминова, Т. С. Амян // Акушерство и гинекология.— 2016.— № 11.— С. 34–40.
11. Simon A. Assessment and treatment of repeated implantation failure (RIF) / A. Simon, N. Laufer // J. Assist. Reprod. Genet.— 2012.— Т. 29 (11).— P. 1227–1239.
12. The human endometrium as a fertility-determining factor / Th. Strowitzki, A. Germeyer, R. Popovice, M. von Wolff // Human Reprod. Update.— 2006.— Vol. 12, № 5.— P. 617–630.
13. Progesterone rise on HCG day in GnRH antagonist/

stimulated cycles affects endometrial gene expression / I. Van Vaerenbergh, H. M. Fatemi, C. Blockeel [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.*— 2011.— Т. 22 (3).— P. 263–271.

14. Rogers W. Endometrial microvascular growth in normal and dysfunctional states / P. A. W. Rogers, F. Lederman, N. Taylor // *Human. Reprod. Update.*— 2008.— Vol. 4, № 5.— P. 503–508.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ ПОСЛЕ ПЕРЕНОСА ВИТРИФИЦИРОВАННЫХ БЛАСТОЦИСТ В ЕСТЕСТВЕННОМ ЦИКЛЕ И С ПРИМЕНЕНИЕМ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ГОРМОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

Н. Г. ГРИЩЕНКО, А. С. ЛУЦКИЙ, В. Ю. ПАРАЩУК

Приведены результаты исследования эффективности экстракорпорального оплодотворения после переноса витрифицированных blastocysts в естественном цикле и с применением заместительной гормональной терапии. Установлено, что наиболее эффективным является протокол, в котором перенос витрифицированных blastocysts происходит в модифицированном естественном менструальном цикле с поддержкой лютеиновой фазы путем внутривагинального введения (в течение двух недель) 90 мг прогестерона в виде геля.

Ключевые слова: экстракорпоральное оплодотворение, заместительная гормональная терапия, поддержка лютеиновой фазы, витрифицированные blastocysts.

ESTIMATION OF THE EFFECTIVENESS OF EXTRACORPOREAL FERTILIZATION AFTER TRANSFER OF VITRIFIED BLASTOCYSTS IN THE NATURAL CYCLE AND WITH THE USE OF HORMONE REPLACEMENT THERAPY

M. H. HRYSHCHENKO, A. S. LUTSKYI, V. Yu. PARASHCHUK

The authors report the results of evaluation of the effectiveness of extracorporeal fertilization after the transfer of vitrified blastocysts in the natural cycle and with the use of hormone replacement therapy. It was found that the most effective is the protocol, in which the transfer of vitrified blastocysts occurs in a modified natural menstrual cycle with the support of the luteal phase by intravaginal administration of 90 mg of progesterone in the form of a gel for 2 weeks.

Key words: extracorporeal fertilization, hormone replacement therapy, luteal phase support, vitrified blastocysts.

Надійшла 30.10.2017