УДК 618.177-089.888.11:615.357:577.175.328

© Н.В. Протопопова[1,2], Н.А. Болдонова[1], Е.Б. Дружинина[1, 2], Е.В. Одареева[1], Д.В. Маслова[1]

[1]ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» МЗ РФ,
[2]ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Областной перинатальный центр,
г. Иркутск, Россия

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКЗОГЕННОГО ЛЮТЕИНИЗИРУЮЩЕГО ГОРМОНА В ЦИКЛАХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Аннотация (Резюме). Исследовано 324 пациентки с трубно-перитонеальным бесплодием в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Все пациентки отнесены в 4 группы в зависимости от вида применяемого ЛГ-содержащего индуктора (мочевой или рекомбинантный) и дня его добавления в процессе стимуляции (со 2-3 или 6-7 дня). Оценивались параметры: возраст, состояние овариального резерва, продолжительность бесплодия, эффективность предыдущих попыток ЭКО, показатели индуцированного цикла (гормональный статус, количество фолликулов, состояние эндометрия), эмбриологический этап, частота наступления беременности (ЧНБ), «бедного ответа», синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ). Исследование показало, что высокие курсовые дозы гонадотропинов не снижают частоту «бедного» ответа. Протокол с добавлением рекомбинантного ЛГ со 2-3 дня стимуляции у пациенток позднего репродуктивного возраста способствует улучшению качества полученных ооцитов и эмбрионов, тем самым повышая частоту наступления беременности.
ключевые слова: экстракорпоральное оплодотворение, экзогенный лютеинизирующий гормон, частота наступления беременности.

© N.V. Protopopova[1,2], N.A. Boldonova[1], E.B. Druzhinina[1,2], E.V. Odareeva[1], D.V. Maslova[1]

[1]Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education,
[2]Irkutsk Regional Clinical Hospital
Irkutsk, Russia

ESTIMATION OF THE EFFICIENCY OF THE USE OF EXOGENOUS LUTEINIZING HORMONE IN IVF CYCLES

Abstract. 324 patients with tubal peritoneal sterility in-vitro fertilization cycles (IVF) were investigated. All the patients were divided in 4 groups depending on the type of the LG-inductor (urinary or recombinant) and the day of its addition in the course of stimulation (from 2-3 or 6-7 days). The following parameters were estimated: age, ovarian reserve, sterility duration, efficiency of the previous attempts of IVF, indicators of the induced cycle (hormonal status, quantity of follicles, endometrium state), embryological stage, frequency of pregnancy, "poor response", ovarian hyper-stimulation syndrome. The research showed that high course doses of gonadotrophins didn't reduce the frequency of "poor response". The protocol with supplementation of recombinant LG from the 2d-3d days of stimulation in patients of the late reproductive age promotes improvement of the quality of the received oocytes and embryos, thereby increasing the frequency of pregnancy.

Keywords: in-vitro fertilization, exogenous luteinizing hormone, frequency of pregnancy.

Введение. В настоящее время проблема бесплодия является одной из самых актуальных и приоритетных в медицине развитых стран, учитывая неблагоприятные демографические показатели народонаселения. Важнейший и принципиальный этап в лечении бесплодия – разработка и внедрение в клиническую практику методов вспомогательных репродуктивных технологий [2]. Стимуляция функции яичников препаратами гонадотропинов является основой программ вспомогательной репродукции, а ее эффективность определяется числом растущих фолликулов, количеством и качеством получаемых ооцитов и культивируемых эмбрионов. Фармакология овариальной стимуляции базируется на концепции 2-х клеток – 2-х гонадотропинов [4,5,10]. Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) играет ключевую роль в росте и развитии фолликулов в ранней фолликулярной фазе, в то время как в позднюю, когда уровень ФСГ снижается, для выбора доминантного фолликула и его созревания необходим лютеинизирующий гормон (ЛГ). Отсутствие ЛГ в ФСГ-индуцированных циклах может приводить к низким концентрациям эстрадиола, плохому качеству ооцитов и эмбрионов, недостаточности желтого тела, неадекватному росту эндометрия и нарушению имплантации [6,7,9]. Стимуляцию овуляции считают оптимальной, если удается получить не менее 7 преовуляторных фолликулов. Созревание 5-6 или менее 5 фолликулов расценивается как субоптимальный или «бедный» ответ и встречается почти у трети пациенток позднего репродуктивного возраста (старше 35 лет) [1,3,8]. Успех репродуктивных технологий приближается к 50% у женщин в возрасте до 25 лет при длительности лечения около 3 лет и снижается до 15-20% у женщин старше 35 лет, в анамнезе которых длительное лечение по поводу бесплодия.

На сегодняшний день существует множество исследований, сравнивающих эффективность и безопасность применения рекомбинантного ФСГ (р-ФСГ) с мочевыми гонадотропинами (Гн), в состав которых входят

как ФСГ, так и ЛГ [5,7,11,14,15], однако вопросы, посвященные особенностям фолликуло- и оогенеза при стимуляции овуляции мочевыми Гн в сравнении с рекомбинантными ЛГ-содержащими Гн изучены недостаточно.

Цель исследования: оптимизировать протоколы стимуляции яичников в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) у пациенток позднего репродуктивного возраста, с неудачными попытками ЭКО в анамнезе на основании изучения механизмов эндокринной регуляции процессов фолликуло-, стероидо- и оогенеза.

Материалы и методы. Нами было обследовано 324 женщины, получающих лечение по поводу трубно-перитонеального бесплодия в программах ЭКО в отделении ВРТ на базе Областного перинатального центра ГБУЗ ИОКБ в период с мая 2012 по май 2014. Исследуемые пациентки были разделены на 4 группы в зависимости от дня стимуляции, когда был добавлен экзогенный ЛГ-содержащий индуктор (человеческий менопаузальный гонадотропин (ЧМГ) или рекомбинантный ЛГ(р-ЛГ)) – со 2-3 или 6-7 дня. Оценивались такие параметры как возраст, состояние овариального резерва, продолжительность бесплодия, эффективность предыдущих попыток ЭКО, уровень эстрадиола (Е2), ЛГ и антимюллерова гормона (АМГ) на 2-3, 5-7 дни стимуляции и в день трансвагинальной пункции (ТВП), количество фолликулов и состояние эндометрия на 2-3, 5-7 дни стимуляции, эмбриологический этап, частота наступления беременности (ЧНБ), «бедного ответа», синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ).

Трансвагинальная пункция яичников осуществлялась по стандартной методике через 36 ч после введения овуляторной дозы хорионического гонадотропина (ХГ) с применением двухпросветных игл фирмы COOK. Промывание фолликулов проводилось буферным раствором Flushing Medium фирмы «ORIGIO» (MediCult Media) в объёме, не превышающем объём отобранной фолликулярной жидкости. Культивирование гамет и эмбрионов

осуществлялось на линейке сред фирмы «ORIGIO» (MediCult Media) в соответствии с рекомендациями производителя в четырехлуночных планшетах «Nunc», в CO^2 - инкубаторе ThermoForma. Перенос эмбрионов проводился по стандартной методике. Все пациентки дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Статистическая обработка данных выполнена на индивидуальном компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel», и пакета прикладных программ «Statistica for Windows» v.6.1, StatSoft Inc. (США). Использовались программы: дескриптивной статистики; для сравнения параметрических данных (после проверки количественных данных на нормальное распределение) t-критерий Стьюдента для 2-х независимых выборок; z-критерий для сравнения долей; для непараметрических данных критерий Манна-Уитни для 2-х несвязанных групп. Несмотря на то, что распределение по многим признакам не было правильным, в работе представлены средние значения и стандартные отклонения для лучшего понимания представленных результатов. Различия считались значимыми при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. Ведущими медико-биологическими факторами, влияющими на эффективность восстановления репродуктивной функции в программах ВРТ, являются возраст женщины, состояние овариального резерва, причины и продолжительность бесплодия, а также особенности и продолжительность предшествующего лечения [1,3,13]. Мы проанализировали исходные клинико-анамнестические, клинико-лабораторные и ультразвуковые показатели у пациенток 4-х групп (табл. 1).

Из таблицы видно, что пациентки 4-х групп были полностью сопоставимы по клинико-анамнестическим параметрам, а средний возраст пациенток соответствовал позднему репродуктивному периоду.

Таблица 1

Характеристика клинико-анамнестических, клинико-лабораторных и ультразвуковых показателей

Показатели	*1А группа р-ФСГ +ЧМГ со 2-3 дня n=123*	*1В группа р-ФСГ +ЧМГ с 6-7 дня n=68*	*2А группа р-ФСГ +р-ЛГ со 2-3 дня n=70*	*2В группа р-ФСГ +р-ЛГ с 6-7 дня n=63*	Значение р
Возраст, годы	36,1±3,9	35,5±3,6	35,5±5,5	35,6±3,7	p>0,05
Длина менструального цикла, дни	28,9±6,1	28,4±2,1	28,6±4,3	28,4±4,5	p>0,05
Индекс массы тела, кг/м^2	24,8±4,1	24,8±4,9	24,7±4,5	25,6±4,9	p>0,05
Продолжительность бесплодия, годы	7,6±4,2	8,1±4,2	9,3±5,3	9,2±5,2	p>0,05
Базальный ЛГ, (mIU/ml)	5,0±3,3	5,2±2,8	5,1±3,0	5,3±3,2	p>0,05
Базальный ФСГ, (mIU/ml)	8,2±3,8	7,8±2,8	8,4±4,1	7,9±4,2	p>0,05
Базальный Е2, (pg/ml)	49,5±58,9	49,1±36,6	49,5±53,5	66,4±68,1	p_{1A-2B}=0,006 p_{2A-2B}=0,034
Базальный Р, (ng/ml)	11,2±7,4	10,0±7,3	10,2±6,6	10,6±10,3	p>0,05
Базальный АМГ, (ng/ml)	1,9±1,7	2,0±1,9	1,7±1,6	1,9±1,6	p>0,05
Число антральных фолликулов в обоих яичниках	6,0±2,9	6,0±3,2	5,8±3,1	6,1±3,1	p>0,05

Все исследуемые пациентки имели сопоставимые данные исходного овариального резерва, на что показывали базальные уровни ФСГ, АМГ, и количество антральных фолликулов. Однако количество антральных фолликулов во всех 4-х группах соответствовало низкому овариальному резерву. Средние базальные уровни гормонов крови находились в пределах номинативных значений. Надо отметить, что уровень эстрадиола в 2В группе (66,4±68,1 pg/ml) был достоверно выше, чем в 1А (49,5±58,9 pg/ml) и 2А (49,5±53,5 pg/ml) группах (p_{1A-2B}=0,006; p_{2A-2B}=0,034). Данный факт может быть объяснен тем, что пациентки 2В группы имели несколько большее количество антральных фолликулов (6,1±3,1) (p>0,05), чем пациентки других групп, что и способствовало более высокому уровню базального эстрадиола.

Анализ предыдущих циклов ЭКО показал, что среднее количество полученных яйцеклеток составило 2,3±3,5, среднее количество полученных

эмбрионов – 1,6±2,4, то есть отмечался «бедный» овариальный ответ, а ЧНБ регистрировалась на крайне низких цифрах – 4,9%.

Таким образом, поздний репродуктивный возраст, сниженный овариальный резерв, «бедный» овариальный ответ в предыдущих попытках ЭКО явились предрасполагающими факторами к ослабленной реакции яичников в процессе стимуляции.

Эффективность методов ВРТ во многом определяется характером ответа яичников на введение различных индукторов овуляции: количеством растущих фолликулов, количеством и качеством получаемых ооцитов и культивируемых эмбрионов [7,8]. На основании этого нами был проведен анализ показателей индуцированного цикла и эмбриологического этапа при использовании 4-х протоколов стимуляции овуляции.

Таблица 2

Характеристика показателей индуцированного цикла

Показатели	*1А группа р-ФСГ +ЧМГ со 2-3 дня n=123*	*1В группа р-ФСГ +ЧМГ с 6-7 дня n=68*	*2А группа р-ФСГ +р-ЛГ со 2-3 дня n=70*	*2В группа р-ФСГ +р-ЛГ с 6-7 дня n=63*	*Значение р Критерий Манна-Уитни*
Стартовая доза ФСГ, МЕ	161,2±57,4	196,5±58,8	229,6±79,1	226,8±82,3	$p_{1A-1B}<0,001$ $p_{1A-2A}<0,001$ $p_{1A-2B}<0,05$ $p_{1B-2A}=0,039$
Курсовая доза ФСГ, МЕ	1627,9±617,2	1787,2±636,2	2148,4±886,8	2029,9±825,3	$p_{1A-1B}=0,003$ $p_{1A-2A}<0,001$ $p_{1A-2B}<0,001$ $p_{1B-2A}=0,001$
Стартовая доза ЛГ, МЕ	71,1±39,2	58,5±36,3	80,8±23,2	78,6±20,9	$p_{1A-1B}<0,001$ $p_{1B-2A}<0,001$ $p_{1B-2B}<0,001$
Курсовая доза ЛГ, МЕ	839,3±614,5	544,3±412,9	717,5±442,6	665,9±423,2	$p_{1A-1B}<0,001$ $p_{1A-2A}=0,038$ $p_{1A-2B}=0,001$ $p_{1B-2A}<0,001$ $p_{1B-2B}=0,009$
Курсовая доза гонадотропина, МЕ	2473,9±1016,6	2346,1±916,7	2865,8±1163,3	2695,8±995,1	$p_{1A-2A}=0,003$ $p_{1B-2A}<0,001$ $p_{1B-2B}=0,024$
Продолжительность стимуляции, дней	9,8±2,0	10,0±2,1	9,6±2,3	9,9±2,6	$p>0,05$

Из представленной таблицы видно, что наименьшая стартовая (161,2±57,4 МЕ) и курсовая (1627,9±617,2 МЕ) дозы р-ФСГ в процессе стимуляции потребовались в 1А группе (добавление ЧМГ со 2-3 дня), и наоборот, наибольшие дозы р-ФСГ (229,6±79,1 МЕ и 2148,4±886,8 МЕ) были затрачены в 2А группе (добавление р-ЛГ со 2-3 дня). Также в 2А группе отмечалась наибольшая стартовая доза ЛГ (80,8±23,2 МЕ), однако наибольшая курсовая доза ЛГ (839,3±614,5 МЕ) потребовалась в 1А протоколе ($p<0,05$). В итоге суммарная доза гонадотропина, затраченная в процессе индукции овуляции потребовалась в 2А группе (2865,8±1163,3 МЕ) ($p<0,05$). Средняя продолжительность стимуляции овуляции в 4-х протоколах статистически не отличалась.

Таким образом, у пациенток в группе с добавлением р-ЛГ со 2-3 дня отмечался более медленный рост фолликулов, потребовавший наибольшей курсовой дозы гонадотропинов в процессе стимуляции овуляции, что вероятно можно объяснить более низким уровнем базального эстрадиола в данной группе.

Сравнительный анализ показателей эмбриологического этапа у пациенток 4-х исследуемых групп представлен в таблице 3.

Среднее количество пунктированных фолликулов во всех 4-х группах статистически не отличалось и соответствовало субоптимальному овариальному ответу. Наименьшее количество яйцеклеток было получено у пациенток 2А группы (2,9±2,7) ($p_{2A-2B}=0,009$), где в то же время наблюдалось наименьшее количество незрелых яйцеклеток (0,4±0,8) ($p_{1A-2B}=0,049$; $p_{2A-2B}=0,011$; $p_{1B-2A}=0,018$).

Наибольшая доля незрелых яйцеклеток отмечалась в 2В группе (20,8%) ($p_{1A-2B}=0,014$). Это объясняется тем, что пул преовуляторных фолликулов у пациенток 2А группы (добавление р-ЛГ со 2-3 дня) был более однородным, чем у пациенток 1А, 1В и 2В групп, у которых при большем количестве полученных яйцеклеток, значительная часть из них были незрелыми.

Таблица 3

Характеристика показателей эмбриологического этапа

Показатели	*1А группа р-ФСГ +ЧМГ со 2-3 дня n=123*	*1В группа р-ФСГ +ЧМГ с 6-7 дня n=68*	*2А группа р-ФСГ +р-ЛГ со 2-3 дня n=70*	*2В группа р-ФСГ +р-ЛГ с 6-7 дня n=63*	*Значение р*
Количество пунктированных фолликулов	5,0±2,9	4,8±2,9	4,5±3,1	5,0±3,4	p>0,05
Количество полученных яйцеклеток	3,6±2,9	3,6±2,9	2,9±2,7	4,0±3,1	p_{2A-2B}=0,009
Количество зрелых яйцеклеток	3,0±2,6	3,0±2,4	2,3±2,1	3,1±2,6	p>0,05
Количество незрелых яйцеклеток	0,5±0,7	0,6±0,8	0,4±0,8	0,8±1,1	p_{1A-2B}=0,049 p_{2A-2B}=0,011 p_{1B-2A}=0,018
Доля незрелых яйцеклеток	13,3%	16,2%	14,5%	20,8%	p_{1A-2B}=0,014
Количество дегенеративных яйцеклеток	0,2±0,4	0,1±0,3	0,1±0,3	0,1±0,3	p>0,05
Доля дегенеративных яйцеклеток	3,9%	2,0%	2,5%	1,6%	p>0,05
Количество неоплодотворенных яйцеклеток	0,8±0,9	0,8±1,0	0,5±0,8	1,0±1,4	p_{1A-2A}=0,048 p_{2A-2B}=0,016 p_{1B-2A}=0,049
Доля неоплодотворенных яйклеток	22,7%	21,5%	18,0%	27,0%	p_{2A-2B}=0,032
Количество полученных эмбрионов	2,7±2,4	2,8±2,3	2,3±2,1	2,9±2,3	p>0,05
Количество эмбрионов хорошего качества	1,8±1,3	2,0±2,5	1,8±1,1	2,0±1,8	p>0,05
Доля эмбрионов хорошего качества	65,9%	70,5%	78,0%	67,1%	p_{2A-2B}=0,034 p_{1A-2A}=0,009
Индекс оплодотворения	73,0%	73,1%	73,0%	69,5%	p>0,05
Криоконсервация эмбрионов	16,3%	19,1%	14,3%	15,9%	p>0,05
Количество криоэмбрионов	0,4±1,1	0,4±0,9	0,3±0,9	0,6±1,7	p>0,05

С этим же связана и меньшая доля неоплодотворенных яйцеклеток в 2А группе (18,0%) (p_{2A-2B}=0,032). Общее количество полученных эмбрионов и количество эмбрионов хорошего качества у пациенток исследуемых групп статистически не отличалось. Однако доля эмбрионов хорошего качества была наибольшей в 2А группе (78,0%) (p_{2A-2B}=0,034; p_{1A-2A}=0,009). Индекс оплодотворения (процент оплодотворившихся яйцеклеток от общего количества полученных) во всех 4-х группах

статистически не отличался.

Криоконсервация лишних эмбрионов хорошего качества проводилась в 16,3% случаев в 1А группе, в 19,1% – в 1В группе, в 14,3% – в 2А группе и в 15,9% – в 2В группе (p>0,05). Среднее количество криоэбрионов во всех 4-х группах статистически не отличалось.

Проведенный сравнительный анализ 4-х ЛГ-содержащих протоколов стимуляции показал, что добавление ЧМГ или р-ЛГ в процессе стимуляции овуляции на разных этапах созревания фолликулов по-разному влияет на качество и количество полученных ооцитов и эмбрионов. Так, в 1А группе (добавление к р-ФСГ ЧМГ со 2-3 дня) в процессе стимуляции было затрачено максимальное количество ЛГ-содержащих гонадотропинов, отмечалась высокая доля дегенеративных яйцеклеток и низкая доля эмбрионов хорошего качества. В 1В группе (добавление к р-ФСГ ЧМГ с 6-7 дня) пациентки в процессе стимуляции получили средние дозы р-ФСГ и минимальные дозы ЛГ-содержащего индуктора, что привело к получению среднего количества эмбрионов. В 2В группе (добавление к р-ФСГ р-ЛГ с 6-7 дня) стимуляция овуляции проводилась относительно высокими дозами гонадотропинов, было получено наибольшее количество яйцеклеток, однако и наибольшее количество незрелых и неоплодотворенных яйцеклеток. В 2А группе (добавление к р-ФСГ р-ЛГ со 2-3 дня) были затрачены максимальные курсовые дозы р-ФСГ и общего гонадотропина, при этом отмечался медленный рост фолликулов, что привело к получению наименьшего количества яйцеклеток, однако и к наименьшему количеству незрелых и неоплодотворенных яйцеклеток, а также к наибольшей доле эмбрионов хорошего качества.

В настоящее время процессы яичникового стероидогенеза изучены достаточно широко, однако механизмы влияния различных гонадотропинов на процессы фолликуло- и стероидогенеза весьма гипотетичны [3,5,9,12]. Для дальнейшей оценки эффективности применения того или иного

протокола стимуляции мы исследовали показатели фолликуло- и стероидогенеза у пациенток 4-х исследуемых групп.

Таблица 4

Характеристика показателей фолликуло- и стероидогенеза

Показатели	*1А группа р-ФСГ +ЧМГ со 2-3 дня n=123*	*1В группа р-ФСГ +ЧМГ с 6-7 дня n=68*	*2А группа р-ФСГ +р-ЛГ со 2-3 дня n=70*	*2В группа р-ФСГ +р-ЛГ с 6-7 дня n=63*	*Значение р Критерий Манна-Уитни*
Число антральных фолликулов в обоих яичниках	6,5±3,1	6,3±2,4	6,2±4,2	6,9±2,8	p>0,05
Число фолликулов, на 5-й день стимуляции Ø > 10 мм	6,5±3,0	6,1±2,4	6,1±4,3	6,9±2,8	p>0,05
Количество пунктируемых фолликулов	5,2±3,4	5,8±2,7	5,6±4,2	5,9±3,3	p>0,05
Толщина эндометрия на 5-й день, мм	6,3±1,1	6,9±1,6	6,1±1,3	6,3±1,2	p>0,05
Толщина эндометрия в день введения ХГ, мм	10,1±2,1	9,9±1,6	9,9±1,3	9,9±1,2	p>0,05
Базальный Е2, (pg/ml)	71,9±66,4	52,9±24,9	79,3±59,3	82,5±58,4	p_{1B-2B}=0,04
Уровень Е2 на 5-7 день СО, (pg/ml)	436,3±504,2	229,8±147,1	199,9±125,1	462,3±501,1	p_{2A-2B}=0,008
Уровень Е2 в день ТВП, (pg/ml)	1549,9±1725,9	1321,3±1192,9	920±529,3	1325,3±790,1	p_{2A-2B}=0,04
Базальный ЛГ, (mIU/ml)	5,1±4,7	3,9±2,2	4,7±2,1	4,6±2,1	p>0,05
Уровень ЛГ на 5-7 день СО, (mIU/ml)	3,9±3,1	4,0±3,5	2,8±1,5	3,9±3,8	p>0,05
Уровень ЛГ в день ТВП, (mIU/ml)	1,5±2,6	1,5±1,9	3,9±5,6	2,4±2,4	p_{1A-2A}=0,004 p_{1B-2A}=0,013
Базальный АМГ, (ng/ml)	1,8±1,5	2,1±1,3	1,4±1,4	1,4±0,9	p>0,05
Уровень АМГ на 5-7 день СО, (ng/ml)	1,8±2,4	1,6±1,3	1,9±2,6	2,4±2,3	p_{2A-2B}=0,049
Уровень АМГ в день ТВП, (ng/ml)	1,0±1,1	0,9±3,3	1,0±1,3	1,2±1,6	p>0,05

Количество растущих фолликулов на 5 день стимуляции и количество пунктированных фолликулов во всех группах статистически не отличалось и соответствовало количеству антральных фолликулов в своей группе.

Толщина эндометрия на 5-й день стимуляции и в день введения ХГ также во всех группах статистически не отличалась.

Уровень Е2 сыворотки крови повышался одновременно с ростом фолликулов, однако в 2А группе (добавление р-ЛГ со 2-3 дня) уровень Е2 на 5-7 день стимуляции не соответствовал количеству растущих фолликулов в этой группе, отмечался на самом низком уровне **(**199,9±125,1 pg/ml) из 4-х групп и статистически отличался от уровня Е2 в 2В группе (462,3±501,1 pg/ml)**,** несмотря на то, что количество растущих фолликулов было на одном уровне. В день ТВП уровень Е2 сыворотки крови в 2А группе был также самым низким (920±529,3 pg/ml) из 4-х групп и статистически отличался от такового в 2В группе (1325,3±790,1 pg/ml), однако количество пунктируемых фолликулов во всех 4-х группах достоверно не отличалось. Надо отметить, что количество полученных яйцеклеток в 2А группе было наименьшим из 4-х групп, что, вероятно, явилось следствием менее активного стероидогенеза в этой группе.

Уровень ЛГ сыворотки крови на 5-7 день стимуляции в 1А, 2А и 2В группах снизился в 1,5 раза, причем как в протоколах с ЧМГ, так и р-ЛГ. В 1В группе уровень ЛГ на 6-7 день соответствовал базальному. Снижение уровня ЛГ наблюдалось даже в группах, где добавление ЛГ-содержащего препарата начиналось со 2-3 дня менструального цикла. В день ТВП, спустя 36-48 часов после предовуляторного пика ЛГ, в 1А и в 1В группах (протоколы с ЧМГ) уровень ЛГ в сыворотке был в 2,5 раза ниже, чем на 5-7 день. В группе с добавлением р-ЛГ со 2-3 дня уровень ЛГ в день ТВП был в 1,5 раза выше по сравнению с 5-7 днем (3,9±5,6 mIU/ml), а в группе с добавлением р-ЛГ с 6-7 дня стимуляции ЛГ крови в день ТВП был в 1,5 раза ниже, чем на 5-7 день (2,4±2,4 mIU/ml) (рис. 1).

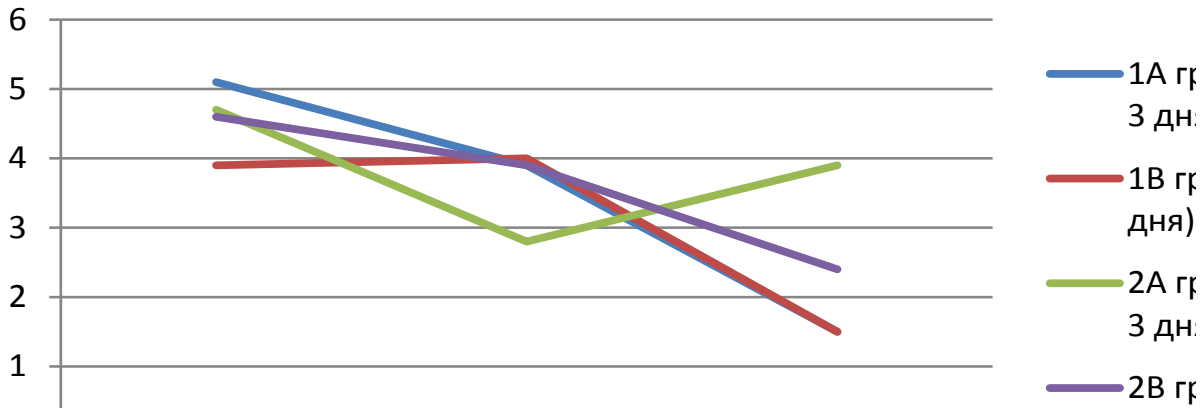

Рис. 1. Динамика ЛГ в течение индуцированного цикла.

Таким образом, в 1А, в 1В и в 2В группах динамика уровней ЛГ в течение индуцированного цикла имела общую тенденцию. Однако процессы стероидогенеза в 2А группе (добавление р-ЛГ со 2-3 дня) несколько отличались. Согласно концепции «потолочных» значений ЛГ (S. Hillier, 1994) существуют пороговые концентрации ЛГ, ниже которых нарушается адекватная функция фолликулов и ооциты могут не достичь степени зрелости. Высокие концетрации ЛГ подавляют пролиферацию гранулезы, вызывая атрезию фолликулов. Впоследствии это приводит к получению эмбрионов низкого качества. Исследования последних лет показали, что концентрации ЛГ от 1 до 3 mIU/ml вполне достаточно для адекватного фолликулогенеза [9,10]. В 2А группе на 5-7 день отмечалось значительное снижение концентрации ЛГ до уровня 2,8±1,5 mIU/ml, что входило в вышеуказанный диапазон. В других группах этот показатель был значительно выше. Также в 2А группе регистрировался низкий уровень продукции Е2, сопровождающийся наименьшим количеством полученных яйцеклеток, однако отмечалась наибольшая доля эмбрионов хорошего качества.

На 5-7 день стимуляции уровень АМГ неоднозначно реагировал на протокол стимуляции. Так, в 1А группе его уровень оставался на значениях базального, в 1В группе отмечалось незначительное снижение,

а в 2А и 2В – повышение. В день ТВП отмечалось стойкое снижение уровня АМГ, причем в 1В группе среднее значение было ниже 1,0 ng/ml (0,9±3,3 ng/ml) (рис.2).

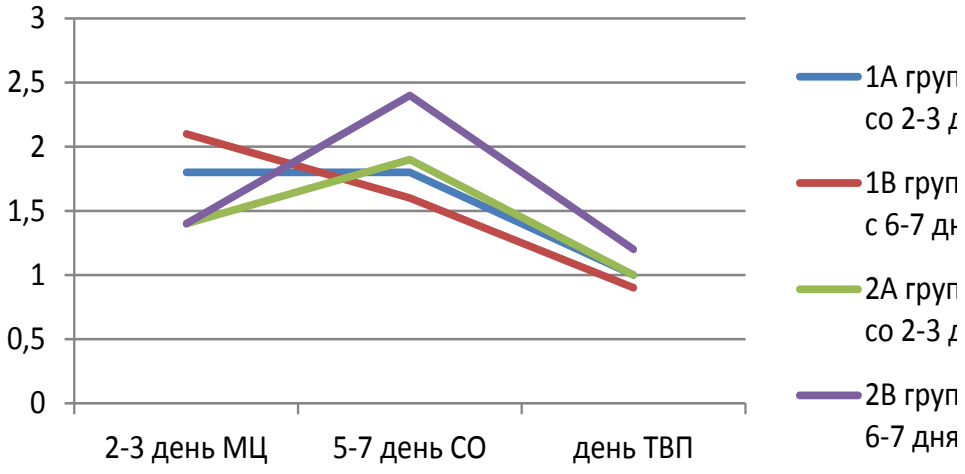

Рис. 2. Динамика АМГ в течение индуцированного цикла.

Анализ динамики уровней АМГ в течение индуцированного цикла показал, что повышение концентрации АМГ на 5-7 день стимуляции в протоколах с р-ЛГ, вероятно, свидетельствовало о запуске пула малых антральных фолликулов.

Эффективность применения двух протоколов стимуляции оценивалась по частоте синдрома пустого фолликула, «бедного ответа», СГЯ и частоте наступления беременности.

Из таблицы 5 видно, что частота синдрома пустого фолликула во всех 4-х группах статистически не отличалась. Частота СГЯ также не отличалась и регистрировалась на низком уровне – 3,3%, 5,9%, 5,7% и 3,2% соответственно ($p>0,05$). Добавление р-ЛГ со 2-3 дня стимуляции чаще всего сопровождалось развитием «бедного ответа» (72,9%), что подтверждалось получением в данной группе пациенток наименьшего количества яйцеклеток.

Таблица 5

Эффективности применения 4-х схем стимуляции

Показатели	*1А группа р-ФСГ +ЧМГ со 2-3 дня n=123*	*1В группа р-ФСГ +ЧМГ с 6-7 дня n=68*	*2А группа р-ФСГ +р-ЛГ со 2-3 дня n=70*	*2В группа р-ФСГ +р-ЛГ с 6-7 дня n=63*	*Значение p z-критерий*
Синдром пустого фолликула	8(6,5%)	7(10,3%)	7(10,0%)	5(7,9%)	p>0,05
«Бедный ответ»	78(63,4%)	38(55,9%)	51(72,9%)	30(47,6%)	p_{2A-2B}=0,005 p_{1B-2A}=0,056
СГЯ	4(3,3%)	4(5,9%)	4(5,7%)	2(3,2%)	p>0,05
Отмена переноса эмбрионов	14(11,4%)	12(17,6%)	13(18,6%)	8(12,7%)	p>0,05
Частота наступления беременности на стимулируемый цикл	19(15,4%)	10(14,7%)	21(30,0%)	12(19,0%)	p_{1A-2A}=0,026 p_{1B-2A}=0,051
Частота наступления беременности на перенос эмбриона	19(17,4%)	10(17,9%)	21(36,8%)	12(21,8%)	p_{1A-2A}=0,01 p_{1B-2A}=0,041
Биохимическая беременность	5(4,1%)	2(2,9%)	-	3(4,8%)	p>0,05
Прерывание беременности до 12 недель	4(3,3%)	4(5,9%)	2(2,9%)	4(6,3%)	p>0,05
Индуцированный выкидыш после 12 недель	-	-	-	1(1,6%)	p>0,05
Внематочная беременность		1(1,5%)	-	-	p>0,05
Срочные роды	14(11,4%)	6(8,8%)	18(25,7%)	8(12,7%)	p_{1A-2A}=0,018 p_{1B-2A}=0,017

В группе с добавлением р-ЛГ с 6-7 дня частота «бедного» ответа, наоборот, была наименьшей (47,6%). Однако частота наступления беременности на стимулируемый цикл, на перенос эмбрионов и процент срочных родов в группе с добавлением р-ЛГ со 2-3 дня стимуляции были наибольшими (30%, 36,8% и 25,7% соответственно), что является следствием получения в этой группе наибольшей доли эмбрионов хорошего качества (78%). Надо отметить, что биохимические беременности в этой группе вообще не регистрировались. Частота потери беременности на ранних этапах (до 12 недель) у пациенток 4-х исследуемых групп не отличалась.

Выводы:

1. Добавление р-ЛГ на начальных этапах фолликулогенеза способствует оптимизации процессов оогенеза. Несмотря на малое количество полученных яйцеклеток, имеет место меньшее количество незрелых, а впоследствии неоплодотворенных яйцеклеток, при одинаковом количестве полученных эмбрионов, но статистически большей доли эмбрионов хорошего качества (78%).

2. Высокие курсовые дозы гонадотропинов в протоколе с добавлением р-ЛГ со 2-3 дня стимуляции не снижают частоту «бедного» ответа, данный протокол экономически более затратный. Однако способствует повышению эффективности лечения бесплодия методом ЭКО по частоте наступления беременности на стимулируемый цикл, перенос эмбрионов и по частоте срочных родов (30% - 36,8% - 25,7% соответственно).

3. Динамика гормонов периферической крови в течение индуцированного цикла имеет определенную закономерность:

– отмечается рост уровня Е2 в течение всего цикла стимуляции;

– на 5-7 день стимуляции отмечается падение уровня ЛГ периферической крови в 1,2-1,4 раза по сравнению с базальным значением; снижение уровня происходит независимо от используемого ЛГ-содержащего индуктора;

– в день ТВП отмечается падение уровня АМГ по сравнению с базальным в 1,2-2 раза.

4. Уровень ЛГ крови на 5-7 день стимуляции выше 3,0 mIU/ml ассоциирован с меньшим количеством эмбрионов хорошего качества.

5. У пациенток позднего репродуктивного возраста (старше 35 лет), с низкими показателями овариального резерва, длительным бесплодием более 8-9 лет, с предшествующими неудачными попытками ЭКО целесообразно применять протокол стимуляции р-ФСГ с добавлением р-ЛГ со 2-3 дня.

Список литературы:

1. *Краснопольская К.В.,* Калугина А.С. Феномен «бедного» ответа яичников на стимуляторы суперовуляции в программах ЭКО: Обзор литературы // Проблемы репродукции. – 2004. – № 1. – С. 51-58.
2. *Кулаков В.И.* Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского и мужского бесплодия / В.И. Кулаков, Б.В. Леонов. – М., 2004. – 781 с.
3. *Назаренко ТА.,* Смирнова А.А. Индукция моно- и суперовуляции. Оценка овариального резерва, ультразвуковой и гормональный мониторинг // Проблемы репродукции. – 2004. – № 1. – С. 36-42.
4. *Сидельникова В. М.* Эндокринология беременности в норме и при патологии / В. М. Сидельникова. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – С. 9 – 26.
5. *Buhler K. F., Fischer R.* Recombinant human LH supplementation versus supplementation with urinary hCG-based LH activity during controlled ovarian stimulation in the long GnRH-agonist protocol: a matched case–control study // Gynecol. Endocrinol. – 2011. – Vol. 28. – P. 345 – 350.
6. *Durnerin C. I., Erb K., Fleming R. [et al.]* Effects of recombinant LH treatment on folliculogenesis and responsiveness to FSH // Hum. Reprod. – 2008. – Vol. 23, N. 2. – P. 421 – 426.
7. *Ferraretti A. P., Gianaroli L., Magli M. C. [et al.]* Exogenous luteinizing hormone in controlled ovarian hyperstimulation for assisted reproduction techniques // Fertil. Steril. – 2004. – Vol. 82. – P. 1521 – 1526.
8. *Ferraretty A. P., Gianaroli L., Magli M. C.* Does recombinant FSH increase embrio viability in poor responder patients? // Hum. Reprod. – 1999. – Vol. 14. – P. 256 – 269.
9. *Filicori M.* The role of luteinizing hormone in folliculogenesis and ovulation // Fertil. Steril. – 1999. – Vol. 71. – P. 405 – 414.
10. *Hillier S.G.* Current concepts of the roles of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in folliculogenesis // *Hum. Reprod*. – 1994. – Vol. 9. – P. 188 – 191.
11. *Kolibianakis E. M., Collins J., Tarlatzis B. [et al.]* Are endogenous LH levels during ovarian stimulation for IVF using GnRH analogues associated with the probability of ongoing pregnancy? A systematic review // Hum. Reprod. Update. – 2006. – Vol. 12. – P. 3 – 12.
12. *La Marca A. [et al.]* Anti-Mullerian hormone plasma levels in spontaneous menstrual cycle and during treatment with FSH to induce ovulation // Hum. Reprod. – 2004. – Vol. 19, No. 12. – P. 2738 – 2741.
13. *Mac Naughton J., Banah M., McCloud P. [et al.]* Age related changes in follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, oestradiol and immunoreactive inhibin in women of reproductive age // Clin. Endocrinol. – 1992. – Vol. 36. – P. 339 – 345.

14. *Westergaard L. G. [et al.]* Human menopausal gonadotropin versus recombinant folliclestimulating hormone in normogonadotropic women down-regulated with a gonadotropinreleasing hormone agonist who were undergoing in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a prospective randomized study // Fertil. Steril. – 2001. – Vol. 76. – P. 543 – 549.
15. *Ziebe S. [et al.]* Influence of ovarian stimulation with HP-hMG or recombinant FSH on embryo quality parameters in patients undergoing IVF // Hum. Reprod. – 2007. – Vol. 22, No. 9. – P. 2404 – 2413.

References

1. Krasnopol'skaya K.V., Kalugina A.S. Fenomen «bednogo» otveta yaichnikov na stimulyatory superovulyatsii v programmakh EKO: Obzor literatury [Phenomenon of “poor” ovarian response to superovulation stimulants in IVF programs: a literature review]. *Problemy reproduktsii*, 2004, no. 1, pp. 51-58 (in Russian).
2. Kulakov V.I., Leonov B.V. Ekstrakorporal'noe oplodotvorenie i ego novye napravleniya v lechenii zhenskogo i muzhskogo besplodiya [In-vitro fertilization and its new directions in treatment of female and male infertility]. Moscow, 2004, 781 p. (in Russian).
3. Nazarenko TA., Smirnova A.A. Induktsiya mono- i superovulyatsii. Otsenka ovarial'nogo rezerva, ul'trazvukovoy i gormonal'nyy monitoring [Induction of mono- and superovulation. Assessment of the ovarian reserve, ultrasound and hormonal monitoring]. *Problemy reproduktsii*, 2004, no. 1, pp. 36-42 (in Russian).
4. Sidel'nikova V.M. Endokrinologiya beremennosti v norme i pri patologii [Endocrinology of pregnancy under normal and pathological conditions]. Moscow: MEDpress-inform, 2007, pp. 9-26 (in Russian).
5. Buhler K.F., Fischer R. Recombinant human LH supplementation versus supplementation with urinary hCG-based LH activity during controlled ovarian stimulation in the long GnRH-agonist protocol: a matched case–control study. *Gynecological Endocrinology*, 2011, vol. 28, pp. 345-350.
6. Durnerin C.I., Erb K., Fleming R. et al. Effects of recombinant LH treatment on folliculogenesis and responsiveness to FSH. *Human Reproduction*, 2008, vol. 23, no. 2, pp. 421-426.
7. Ferraretti A.P., Gianaroli L., Magli M.C. et al. Exogenous luteinizing hormone in controlled ovarian hyperstimulation for assisted reproduction techniques. *Fertility and Sterility*, 2004, vol. 82, pp. 1521-1526.
8. Ferraretty A.P., Gianaroli L., Magli M.C. Does recombinant FSH increase embryo viability in poor responder patients? *Human Reproduction*, 1999, vol. 14, pp. 256-269.
9. Filicori M. The role of luteinizing hormone in folliculogenesis and ovulation. *Fertility and Sterility*, 1999, vol. 71, pp. 405-414.

10. Hillier S.G. Current concepts of the roles of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in folliculogenesis. *Human Reproduction*, 1994, vol. 9, pp. 188-191.
11. Kolibianakis E.M., Collins J., Tarlatzis B. et al. Are endogenous LH levels during ovarian stimulation for IVF using GnRH analogues associated with the probability of ongoing pregnancy? A systematic review. *Human Reproduction Update*, 2006, vol. 12, pp. 3-12.
12. La Marca A. et al. Anti-Mullerian hormone plasma levels in spontaneous menstrual cycle and during treatment with FSH to induce ovulation. *Human Reproduction*, 2004, vol. 19, no. 12, pp. 2738-2741.
13. Mac Naughton J., Banah M., McCloud P. et al. Age related changes in follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, oestradiol and immunoreactive inhibin in women of reproductive age. *Clinical Endocrinology*, 1992, vol. 36, pp. 339-345.
14. Westergaard L.G. et al. Human menopausal gonadotropin versus recombinant folliclestimulating hormone in normogonadotropic women down-regulated with a gonadotropinreleasing hormone agonist who were undergoing in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a prospective randomized study. *Fertility and Sterility*, 2001, vol. 76, pp. 543-549.
15. Ziebe S. et al. Influence of ovarian stimulation with HP-hMG or recombinant FSH on embryo quality parameters in patients undergoing IVF. *Human Reproduction*, 2007, vol. 22, no. 9, pp. 2404-2413.

Протопопова Наталья Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой перинатальной и репродуктивной медицины ИГМАПО, заместитель главного врача по родовспоможению ГБУЗ ИОКБ, тел.: 8-3952-40-78-24, e-mail: doc_protopopova@mail.ru.

Болдонова Наталья Александровна – аспирант кафедры перинатальной и репродуктивной медицины ИГМАПО, e-mail: nata-doc-712@mail.ru.

Дружинина Елена Борисовна – доктор медицинских наук, ассистент кафедры перинатальной и репродуктивной медицины ИГМАПО, заведующая отделением вспомогательных репродуктивных технологий ГБУЗ ИОКБ ОПЦ, тел.: 8-3952-40-78-24; e-mail: ebdru@mail.ru.

Одареева Елена Владимировна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры перинатальной и репродуктивной медицины ИГМАПО, e-mail: eodareeva@mail.ru.

Маслова Дарья Викторовна – клинический ординатор кафедры перинатальной и репродуктивной медицины ИГМАПО, e-mail: ebdru@mail.ru.

ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» МЗ РФ, 664079, Россия, Иркутск, м/р. Юбилейный, 100.

ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Областной перинатальный центр, 664079, Россия, Иркутск, м/р. Юбилейный, 100.

Protopopova Natalya Vladimirovna – Doctor of Medical Science, professor, heard of the department of perinatal and reproductive medicine, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education, Deputy Chief Doctor for obstetric aid, Irkutsk Regional Clinical Hospital, phone: 8-3952-40-78-24, e-mail: doc_protopopova@mail.ru

Boldonova Natalya Alexandrovna – post-graduate student of the department of perinatal and reproductive medicine, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education, e-mail: nata-doc-712@mail.ru

Druzhinina Elena Borisovna – Doctor of Medical Science, teaching assistant of the department of perinatal and reproductive medicine, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education, head of the department of IVF, Irkutsk Regional Clinical Hospital, phone: 8-3952-40-78-24; e-mail: ebdru@mail.ru

Odareeva Elena Vladimirovna – Candidate of Medical Science, associate professor of the department of perinatal and reproductive medicine, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education, e-mail: eodareeva@mail.ru

Maslova Darya Viktorovna – resident of the department of perinatal and reproductive medicine, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education, e-mail: ebdru@mail.ru

State Budgetary Educational Institution of Additional Professional Training “Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education” of the Ministry of Health Care of the Russian Federation, 100, Ubyleiniy community, 664079, Irkutsk, Russia.

State Budgetary Institution of Health “Irkutsk Regional Clinical Hospital”, Regional Perinatal Center, 100, Ubyleiniy community, 664079, Irkutsk, Russia.