Ковалев В.В., Мельникова Н.В.

Современные возможности прогнозирования восстановления фертильности при преждевременном снижении овариального резерва в рамках программ вспомогательных репродуктивных технологий

Кафедра акушерства и гинекологии ФПК и ПП ФГБОУ ВО УГМУ, ГБУЗ СО КДЦ ОЗМР, ООО Европейский МЦ «УГМК-Здоровье» г.Екатеринбург

Kovalev V.V., Melnikova N.V.

Evaluation of the effectiveness of a predictive model to restore fertility in premature reduction of ovarian reserve in programmes of assisted reproductive technologies

Резюме

Овариальный резерв – функциональное состояние репродуктивной системы, полноценность которой обеспечивает рост, созревание фолликула, созревание ооцита в доминантом фолликуле, овуляцию и оплодотворение полноценной яйцеклетки. Полноценный овариальный резерв в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) обеспечивает адекватный ответ яичника на введение индукторов овуляции и определяет успешность таких программ [4,5] Сегодня существуют несколько способов определения биологического и функционального возраста яичников. Эти способы помогают прогнозировать исходы лечения бесплодия методом вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Разработка прогностической модели восстановления фертильности у женщин с бесплодием, обусловленным преждевременным истощением овариального резерва, на основе изучения их молекулярно-генетических и гормональных особенностей позволит повысить эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий.

Ключевые слова: овариальный резерв, прогностическая модель восстановления фертильности, программы вспомогательных репродуктивных технологий

Summary

Ovarian reserve - the functional state of the reproductive system, the full value of which provides growth, maturation of the follicle, maturation of the oocyte in the dominant follicle, ovulation and fertilization of a full egg. A full ovarian reserve in assisted reproductive technology (art) programs provides an adequate ovarian response to the introduction of ovulation inducers and determines the success of such programs [4,5] Today, there are several ways to determine the biological and functional age of the ovaries. These methods help to predict the outcomes of infertility treatment by the method of assisted reproductive technologies (art). The development of a predictive model of fertility recovery in women with infertility due to premature depletion of ovarian reserve, based on the study of their molecular genetic and hormonal characteristics will improve the effectiveness of assisted reproductive technology programs.

Key words: ovarian reserve, prognostic model of fertility restoration, assisted reproductive technology programs.

Актуальность бесплодия бесспорна. По определению ВОЗ (1986г.) бесплодным считается брак, в котором, несмотря на регулярную половую жизнь без применения противозачаточных средств, у женщины не возникает беременности в течение одного года при условии, что супруги находятся в детородном возрасте.

В XXI веке бесплодный брак является значимой медико-социальной проблемой. Частота бесплодия до-

стигает 20%. Актуальность этой проблемы обусловлена тем, что с каждым годом увеличивается процент женщин старшего репродуктивного возраста (35-38 лет), обращающихся в центры ЭКО с целью лечения бесплодия. [1-3]. Доля таких пациенток достигает 40%. Как правило, данная возрастная категория женщин имеет сниженный овариальный резерв. Овариальный резерв – функциональное состояние репродуктивной системы, полноцен-

ность которой обеспечивает рост, созревание фолликула, созревание ооцита в доминантом фолликуле, овуляцию и оплодотворение полноценной яйцеклетки. Полноценный овариальный резерв в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) обеспечивает адекватный ответ яичника на введение индукторов овуляции и определяет успешность таких программ [4,5]

В настоящее время одной из главных проблем, препятствующих высокой эффективности программ ВРТ является низкий овариальный резерв. С целью оценки овариального резерва в настоящий момент используются следующие методы: клинические данные (возраст, оперативные вмешательства на яичниках, наличие гинекологических, соматических заболеваний, длительность менструального цикла, действие повреждающих факторов внешней среды); гормональные тесты (базальные уровни фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), эстрадиола, ингибина В, уровень антимюллерова гормона (АМГ), ультразвуковые тесты (измерение объема яичников, определение числа антральных фолликулов). При этом наиболее значимыми факторами выступают возраст женщины, оперативные вмешательства на яичниках в анамнезе. Уровень АМГ и число антральных фолликулов. С возрастом в яичнике женщины уменьшается число фолликулов и изменяется качество ооцитов. Возрастные инволютивные процессы. Снижающие вероятность спонтанной беременности и эффективность программы ЭКО, начинают проявлять себя уже после 30 лет и заметно усугубляются после 35 лет. Число антральных фолликулов – это количество фолликулов в обоих яичниках размером от 2 до 10 мм, определяемое с помощью УЗИ на 2-5 день менструального цикла [3,6].

Антимюллеров гормон (АМГ), другие названия – антимюллеровская субстанция или антимюллеровый фактор, является одним из наиболее интересных маркеров репродуктивной системы женщины, появившихся за последние годы. Измерение этого нового яичникового нестероидного гормона позволило изучить более глубокие процессы роста и созревания фолликулов и выяснить отдельные вопросы патогенеза ряда гинекологических заболеваний. В отечественной литературе роли АМГ в норме и патологии яичников посвящены пионерские работы профессора Орлова В. М (Санкт-Петербург) [7,8] и профессора Назаренко Т. А. (Москва) [9].

Немецкий анатом Йохан Мюллер (1801-1858) описал эмбриональный проток, предшественник матки. Маточных труб и верхней трети влагалища. Этот проток получил название мюллерова. Другой анатом – Каспар Вольф (1733-1794) описал проток, предшественник семявыводящих путей, эпидидимиса и семенных пузырьков. Этот проток получил название вольфова.

Во время эмбрионального развития в мужском организме на сроке 8-10 недель мюллеров проток рассасывается. В середине XX века были приведены эксперименты, которые показали, что эмбриональное яичко выделяет субстанцию, которая способна вызвать рассасывание мюллерова протока. Это вещество получило название антимюллеров гормон [10]. Физиологическая

функция данного гормона различается в мужском и женском организме. В мужском организме в фертильный период формируются клетки Лейдега продуцируют тестостерон, под воздействием которого развивается вольфов проток. Клетки Сертоли продуцируют АМГ, что вызывает регрессию мюллерова протока. В мужском организме АМГ выделяется клетками Сертоли с высокой интенсивностью в течение фетального периода и в детстве, однако уровень экспрессии снижается, когда половые клетки начинают процесс мейоза, в пубертатный период и во взрослом возрасте [11].

В женском организме впервые измерение АМГ как метод определения овариального резерва был предложен Seifer D. et al. в 2002 году. Авторы обнаружили, что у пациенток с числом полученных ооцитов 6 и менее, по сравнению с пациентками, у которых было получено 11 и более ооцитов, статистически различаются уровни АМГ. Измеренного перед началом стимуляции, $1,0 \pm 0,4$ нг/мл и $2,5 \pm 0,3$ мл соответственно [12].

Назаренко Т. А. с соавторами исследовали АМГ у 30 здоровых женщин и у 210 пациенток с бесплодием. Авторы выявили, что у пациенток с трубно-перитонеальным фактором имелась тенденция к увеличению доли женщин с низким показателями АМГ. Авторы сделали вывод о применении АМГ как показателя овариального резерва [9].

Van Rooij et al. тщательно изучили клиническое значение определения АМГ в программе ЭКО. Выяснилось, что уровень АМГ имеет корреляцию с возрастом пациентки ($R = -0,30, P < 0,01$), с базальным уровнем ингибина В ($R = 0,32, P < 0,01$), с числом антральных фолликулов ($R = 0,77, P < 0,01$) и с числом полученных ооцитов ($R = 0,57, P < 0,01$). При логистическом прогрессивном анализе влияния АМГ на частоту плохого ответа на стимуляцию (наличие менее 4 полученных ооцитов) выяснилось, что уровень АМГ определял статистически достоверную вероятность этого состояния, независимо от уровня ФСГ, ингибина В и эстрадиола. [13].

Группа французских исследователей выявила, что уровень АМГ мало подвержен колебаниям при измерении в разных менструальных циклах одной женщины по сравнению с другими показателями овариального резерва. Базальными уровнями ФСГ, ингибина В, эстрадиолом и числом антральных фолликулов. [14].

Австралийские исследователи показали, что у пациенток с низким уровнем АМГ (менее 2 нг/мл) наблюдалась более низкая частота оплодотворения ооцитов, чем у женщин с высоким уровнем этого гормона, причем вне зависимости от способа оплодотворения – стандартного ЭКО или интраплазматической инъекции сперматозоида в яйцеклетку. У пациенток с низким уровнем АМГ наблюдалось меньшее число полученных ооцитов, меньшее число эмбрионов и более высокая частота выкидышей в сроке до 12 недель, что в общем приводило к тому, что частота беременности на сроке более 12 недель была в два раза выше у пациенток с высоким уровнем АМГ. [15]

Kwee J. et al. сравнили однократное измерение гормона АМГ с определением овариального резерва с помо-

шью гормональных тестов с нагрузкой (тест с нагрузкой кломифен цитратом и тест с нагрузкой экзогенным ФСГ). Не смотря на то, что ТНКЦ и ТЭФСГ были лучшими показателями для предсказания вероятности беременности после процедуры ЭКО, авторы считают одиночное определение АМГ наиболее применимым методом для оценки овариального резерва в клинической практике. [16]

Fraisse T. et al. описали 2 случая спонтанной беременности у женщин 29 лет и 41 года со вторичным бесплодием и уровнем АМГ не определяемом стандартными методиками – менее 0.4 нг/мл [17]. Эти данные говорят о необходимости разработки более чувствительных методов определения АМГ и изучения более тонких механизмов фолликулогенеза. Однако строить клинические рекомендации для программ ЭКО на двух наблюдениях спонтанных беременностей не стоит, так как у пациенток с крайне низкими уровнями АМГ наблюдается низкая частота наступления беременности как при применении стимуляции с высокими стартовыми дозами ФСГ, так и при использовании модифицированного естественного цикла [18].

Ген FMR1 ответственен за дифференцировку примордиальных герминативных клеток, синтез трансмембранного белка, участвующего в антипролиферативных процессах и механизмах адгезии. FMR1 — ген, участвующий в развитии синдрома хрупкой X-хромосомы FгаХА (fragile X syndrome). Термин «хрупкая X-хромосома» означает, что X-хромосома при выращивании лимфоцитов на обедненной фолиевой кислотой среде выглядит как бы разломанной в длинном плече [19]. Причиной «ломкости» служит возрастание числа (экспансия) тринуклеотидного повтора CGG, локализованного в 1-м экзоне FMR1. У здоровых людей число тринуклеотидных повторов CGG, находится в пределах от 7 до 60. При возрастании числа повторов от 60 до 200 отмечается состояние премутации FгаХА. В процессе образования половых клеток у женщин, в отличие от мужчин, число повторов CGG может резко возрасти (экспансия). Следовательно, если в результате экспансии число повторов превысит 200, у матери с премутацией FгаХА может родиться больной ребенок. Увеличение числа повторов CGG более 200 сопровождается аномальным метилированием промотора и резким подавлением гена FMR1 на X-хромосоме. Экспрессия белка FMRP у пораженных лиц резко снижена и составляет от 1 до 70% от необходимого количества. Синдром ломкой X хромосомы (синдром Мартина—Белл) — самая распространенная причины семейной формы задержки умственного развития (встречается у 10% лиц с умственной отсталостью), его распространенность среди мужчин в популяции составляет 1:4000. Ранее считалось, что при наличии премутации специфические клинические проявления отсутствуют, однако уже очевидно, что при премутации наблюдаются легкие познавательные и/или поведенческие нарушения, преждевременное истощение яичников и у носителей старшего возраста нейродегенеративные нарушения (fragile-X-associated

tremor/ataxia syndrome — FXTAS). Легкое снижение интеллекта отмечается у 35% женщин-носительниц аномального метилирования гена FMR1.

Премутация FгаХА (аномальное метилирование гена FMR1) имеется у 6% женщин с преждевременным истощением яичников (преждевременном снижении овариального резерва) и нормальным кариотипом (46, XX): 14% пациенток с семейной агрегацией преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) и 2% пациенток при спорадической ПНЯ [20,21]. Консультация генетика и анализ семейного анамнеза проводятся как в случаях семейной агрегации ПНЯ, так и при синдроме хрупкой X-хромосомы, задержке умственного развития неясной этиологии, задержке развития ребенка или при синдроме тремора/атаксии [22]. Женщины с аномальным метилированием гена FMR1 входят в группу риска рождения ребенка с задержкой умственного развития, однако именно они относятся к 5—10% пациенток с ПНЯ, которым удается добиться спонтанной беременности. Проведение молекулярно-генетического анализа гена FMR1 является стандартным методом и доступно в клинической практике. При спорадическом ПНЯ отсутствуют как клинико-экономическая эффективность, так и этические, юридические или социальные причины, объясняющие целесообразность молекулярно-генетического исследования. Допустимо обследование этих пациенток в исследовательских центрах, где изучение генетики ПНЯ финансируется из других источников. К таким редким генетическим причинам семейных форм ПНЯ, для которых молекулярно-генетическое исследование в спорадических случаях не показано, относятся мутации, вовлекающие гены FSHR, GALT, FOXL2, INHA, EIF2B, BMP151 и AIRE2 [22—32]. Приблизительно у 4% женщин с кариотипом 46, XX ПНЯ — следствие аутоиммунной деструкции тканей, участвующих в стероидогенезе [33, 34].

Таким образом, сегодня существуют несколько способов определения биологического и функционального возраста яичников. Эти способы помогают прогнозировать исходы лечения бесплодия методом ВРТ. Также необходимо учитывать, что сниженные показатели овариального резерва могут быть результатом воспалительных, инфекционных и аутоиммунных заболеваний. Поэтому пробы необходимо повторять в течение нескольких месяцев, особенно у женщин молодого возраста, чтобы окончательно убедиться в достоверности результатов. При сохраняющихся низких показателях овариального резерва можно воспользоваться донорскими яйцеклетками в цикле ЭКО, что позволяет достичь беременности и родить здорового ребенка. ■

Ковалев Владислав Викторович, профессор, д-мн, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии ФПК и ПП ФГБОУ ВО УГМУ; Мельникова Наталья Владимировна врач акушер-гинеколог МЦ «УГМК-Здоровье»

Литература:

1. Назаренко Т.А., Мишьева Н. Г. Бесплодие и возраст: пути решения проблемы. М.: МЕДпресс – информ., 2010. 208с.
2. Боярский К. Ю. Роль показателей овариального резерва при лечении бесплодия методом ЭКО и ПЭ/В кн.: Лечение женского и мужского бесплодия, спомазательные репродуктивные технологии. Под ред. В. И. Кулакова, Б. В. Леонова, Л. Н. Кузьмичева. М.: МИА. 2005. С. 53-61.)
3. Кравченко Е. Н., кривчик Г. В., Макаркина Л. Г. И др. Диагностика и лечение бесплодия. Омск: Издательство «ЮНЗ». 2012. 89 с.)
4. Краснополская К. В., Назаренко Т. А. Клинические аспекты ведения бесплодия в браке. М.: ГЭОТАР – Медиа, 2013. 327с.)
5. Назаренко Т. А. Стимуляция функции яичников. 5-е изд., доп. и перераб. М.: МЕД пресс-информ, 2015. 288 с.)
6. Волков Н. И. Тактика ведения пациенток с миомой матки в клинике женского бесплодия. В кн.: Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению: руководство. Под. Ред. Г. И. Сухих, Т.А. Назаренко. 2-е изд. М.: ГЭОТАР – МЕДИА – 2010. С 468-463.
7. Бебия З. Н. Новый взгляд на патогенез синдрома поликистозных яичников// Бебия З. Н., Гаджиева Т. С. Новые подходы к решению проблем женского здоровья. – Спб.: СПБМАПО 2000. – с.11 – 18.
8. Бебия З. Н., Орлов В. М. антимюллеровый фактор/Ж. акуш. и жен. Болезн. – 1999. -№2. – с. 66-70.
9. Назаренко Т. А., Мишьева Н. Г., Фанченко Н. Д. Роль антимюллерова гормона в оценке овариального резерва/Проблемы репродукции. – 2002. – Т.8. № 3. – С. 36-43.
10. Teixeira J., Maheswaran S., Donahoe P.K. Mullerian inhibiting substance: an instructive development hormone with diagnostic applications \ Endocr. Rev. – 2001. – Vol. 22. –P. 657-674.
11. – Defieux X., Antoine J. M. Inhibins, activins and anti-Mullerian hormone: structure, signalling pathways, roles and predictive value in reproductive medicine \ Gynecol. Obstet. Fertil. – 2003. –Vol. 31, № 11. – P. 900-911.
12. – Early follicular serum mullerian-ingibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted predictive technology cycles\ Seifer D. B. [et al.] \ Fertil. Steril. / - 2002/ - Vol/ 77/ - P/ 468-471
13. – Inhibin B and anti-Mullerian hormone: markers of ovarian respons in IVFUCSI patients\ Mutukrishna S. [et al.] \ BJOG. – 2004. – Vol. 111 – P.1248-1253 - 43?
14. – High reproducibility of serum anti-Mullerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status\ Fachin R. [et. al.] \ Hum. Reprod. – 2005. –Vol. 20/ - P. 923-92
15. –Anti-Mullerian hormone as a predictor of IVF outcome\ Lecamge D. N. [et al.] \ Reprod. Biomed. Online. – 2007. –Vol. 14. № 5. – P. 602-610.
16. –Evaluation of Mullerian hormone as a test for the prediction of ovarian reserve\Kwee J. [et. al.] \ Fertil. Steril. – 2008. – Vol. 90№ 3. P 737 - 743
17. – Undetectable serum Anti-Mullerian hormone levels and occurrence of ongoing pregnancy \Fraisie T. [et. al.] \ Fertil. Steril. – 2008. – Vol. 89 № 3. P. 723
18. Anti-Mullerian hormone –based approach to controlled ovarian stimulasian for assisted coseption\Nelson S. M. [et. al.] \ Hum. Reprod. – 2009. –Vol. 24 - P. 867-875
19. – Марченко Л.А., Залетаев Д.В. Генетическая гетерогенность преждевременного истощения яичников и наследственные факторы ранней менопаузы. Пробл репрод 2007; 1: 6—12.
20. – Марченко Л.А., Залетаев Д.В. Генетическая гетерогенность преждевременного истощения яичников и наследственные факторы ранней менопаузы. Пробл репрод 2007; 1: 6—12.
21. Marozzi A., Vegetti W., Manfredini E. et al. Association between idiopathic premature ovarian failure and fragile X premutation. Hum Reprod 2000; 15: 197—202.
22. Sherman S L. Premature ovarian failure in the fragile X syndrome. Am J Med Genet 2000; 97: 189— 194.
23. 7. Hagerman R.J., Leavitt B.R., Farzin F et al. Fragile-X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) in females with the FMR1 premutation. Am J Hum Genet 2004; 74: 1051—1056.
24. – Hagerman R.J., Hagerman P.J. The fragile X premutation: into the phenotypic fold. Curr Opin Genet Dev 2002; 12: 278—283.
25. Kaufman FR., Kogut M.D., Donnell G.N. et al. Hypergonadotropic hypogonadism in female patients with galactosemia. N Engl J Med 1981; 304: 994— 998.
26. Crisponi L., Deiana M., Loi A. et al. The putative forkhead transcription factor FOXL2 is mutated in blepharophimosis/ptosis/epicanthus inversus syndrome. Nat Genet 2001; 27: 159—166.
27. Bodega B., Porta C., Crosignani P.G. et al. Mutations in the coding region of the FOXL2 gene are not a major cause of idiopathic premature ovarian failure. Mol Hum Reprod 2004; 10: 555—557.
28. De Baere E., Dixon M.J., Small K.W. et al. Spectrum of FOXL2 gene mutations in blepharophimosis-ptosis-epicanthus inversus (BPES) families demonstrates a genotype—phenotype correlation. Hum Mol Genet 2001; 10: 1591—1600.
29. Fogli A., Rodriguez D., Eymard-Pierre E. et al. Ovarian failure related to eukaryotic initiation factor 2B mutations. Am J Hum Genet 2003; 72: 1544— 1550.
30. Di Pasquale E., Beck-Peccoz P., Persani L. Hypergonadotropic ovarian failure associated with

- an inherited mutation of human bone morphogenetic protein-15 (BMP15) gene. Am J Hum Genet 2004; 75: 106—111.*
31. Ahonen P., Myllarniemi S., Sipila I. et al. *Clinical variation of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED) in a series of 68 patients. N Engl J Med 1990; 322: 1829—1836.*
 32. Nagamine K., Peterson P., Scott H.S. et al. *Positional cloning of the APECED gene. Nat Genet 1997; 17: 393—398.*
 33. *The Finnish—German APECED Consortium. An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains. Autoimmune Polyendocrinopathy-Candidiasis-Ectodermal Dystrophy. Nat Genet 1997; 17: 399—403.*
 34. Hoek A., Schoemaker J., Drexhage H.A. *Premature ovarian failure and ovarian autoimmunity. Endocrinol Rev 1997; 18: 107—134.*
 35. Bakalov V.K., Vanderhoof V.H., Bondy C.A. et al. *Adrenal antibodies detect asymptomatic auto-immune adrenal insufficiency young women with spontaneous premature ovarian failure. Hum Reprod 2002; 17: 2096—2100. 883—890.*