Перевод статьи из журнала “Fertility & Sterility”, Vol. 81, No.5, May 2004

Активность экзогенного лютеинизирующего гормона может влиять на исход лечения методом ЭКО, но не ИКСИ

P.Platteau, J.Smitz, C.Albano, P.Sørensen, J.-C.Arce, P.Devroey
Центр репродуктивной медицины и лаборатория биологии фолликулов, Брюссель, Бельгия; “Ферринг Фармасьютикалс” (Копенгаген, Дания)

В настоящее время широко обсуждается вопрос о возможных различиях в исходах контролируемой гиперстимуляции яичников в рамках вспомогательных репродуктивных технологий при использовании препаратов чМГ и препаратов, содержащих только ФСГ, в частности препаратов рекомбинантного ФСГ (рФСГ). Неизвестно, все ли женщины в одинаковой степени получают преимущества от использования одного вида препарата гонадотропинов или же препараты гонадотропинов с разными фармакодинамическими характеристиками (например, уровнями эстрадиола и динамикой роста фолликулов) могут напрямую влиять на оплодотворение, развитие эмбриона и имплантацию. Недавний метаанализ исследований, сравнивающих чМГ и рФСГ, выявил более высокую частоту наступления беременности на грани статистической значимости (p=0,05) у женщин, получавших чМГ, по сравнению с женщинами, получавшими рФСГ [1]. Однако ни в одном из четырех рандомизированных контролируемых клинических исследований [2–5], включенных в метаанализ, не проводилось различие между пациентками, включенными в программы ЭКО и ИКСИ.

Мы провели отдельный анализ циклов ЭКО и ИКСИ из ранее опубликованных больших рандомизированных контролируемых открытых параллельных многоцентровых исследований, сравнивающих высокоочищенный чМГ – ВЧ-чМГ (менопур, "Ферринг Фармасьютикалс", Дания) с рФСГ (гонал-Ф, "Сероно", Швейцария) [5]. Этот повторный анализ был выполнен с использованием научного подхода к данным. Исследование не выявило значительных преимуществ ВЧ-чМГ над рФСГ в отношении частоты прогрессирующих беременностей [5]. Однако наличие гетерогенности в методах лечения при использовании для оплодотворения методик ЭКО/ИКСИ означает, что интерпретация основных результатов лечения нуждается в дальнейшем исследовании. Следует отметить, что рандомизация осуществлялась согласно планируемому методу оплодотворения: ЭКО или ИКСИ. Влияние метода оплодотворения, результаты гормонального мониторинга и возможные взаимосвязи уровней гормонов и исхода беременности представлены в данном сообщении. Детальная информация о дизайне исследований, объеме выборок, критериях включения/исключения, методах исследований и общих результатах была изложена в предыдущей публикации [5].

В целом в исследование включена 781 женщина, из которых 727 пациенток начали введение гонадотропинов и 694 выполнено ЭКО или ИКСИ. Для текущего анализа пациентки были разделены на группы в соответствии с методом оплодотворения: ЭКО (n=233), или ИКСИ (n=458), или оба (n=3). На 6-й день стимуляции и в день введения чХГ (или в пределах 48 ч) определяли сывороточные концентрации Е2 и ЛГ, на 6-й день стимуляции (в 1-й день изменения дозы) также определяли концентрации чХГ. Исследования выполнены в центральной лаборатории (LFK, Райсдорф, Германия) с использованием метода ELISA (Roche Elecsys System; Roches Diagnostics, Маннхейм, Германия). Группы ВЧ-чМГ и рФСГ сравнивали с использованием t-теста или критерия Вилкоксона для непрерывных переменных. Различия между группами в частоте на-

Клинические исходы

Параметр	ЭКО			ИКСИ		
	ВЧ-чМГ	рФСГ	p	ВЧ-чМГ	рФСГ	p
Число пациентов	121	112	–	237	221	–
Число фолликулов ⩾16 мм в день чХГ[а]	7,4±3,8	8,0±4,5	НЗ	8,4±4,6	8,5±5,7	НЗ
Число полученных ооцитов	11,7±7,1	14,4±8,7	0,022	13,4±7,4	14,0±8,4	НЗ
Частота оплодотворения (% от полученных)[б]	59	59	НЗ	54	57	НЗ
Число перенесенных эмбрионов	2,1±0,9	2,1±0,8	НЗ	2,2±0,8	2,2±0,8	НЗ
Положительный тест на β-ХГЧ[с]	48 (40%)	30 (27%)	0,035	71 (30%)	70 (32%)	НЗ
Клиническая беременность[с]	42 (35%)	22 (20%)	0,009	56 (24%)	55 (25%)	НЗ
Прогрессирующая беременность[с]	38 (31%)	22 (20%)	0,037	49 (21%)	50 (23%)	НЗ
Частота имплантации[б]	21%	15%	0,054	12%	13%	НЗ
Уровень ЛГ на 6-й день, МЕ/л (MD±SD)	1,6±1,2	1,4±1,0	НЗ	1,4±1,1	1,3±0,8	НЗ
Уровень чХГ на 6-й день, МЕ/л (MD±SD)	1,4±0,5	–	–	1,4±0,6	–	–
Уровень Е2 на 6-й день, пмоль/л (MD±SD)	634±654	793±664	НЗ	769±829	686±648	НЗ
Уровень Е2 в день чХГ, пмоль/л (MD±SD)	7560±5343	6531±4717	НЗ	8381±6170	6262±4311	<0,001
Прогрессирующие беременности в зависимости от уровня ЛГ на 6-й день						
<0,75 МЕ/л	24% (6/25)	9% (2/23)	НЗ	22% (5/23)	21% (10/47)	НЗ
⩾0,75 МЕ/л	35% (32/92)	21% (17/81)	0,045	19% (37/193)	23% (36/157)	НЗ
Прогрессирующие беременности в зависимости от уровня чХГ на 6-й день						
<1,0 МЕ/л	8% (2/24)	–	–	8% (4/51)	–	–
1,0–2,0 МЕ/л	35% (27/77)	–	–	22% (29/133)	–	–
⩾2,0 МЕ/л	53% (8/15)	–	–	28% (9/32)	–	–
Прогрессирующие беременности в зависимости от уровня Е2 в день чХГ						
<4500 пмоль/л	18% (7/38)	19% (8/42)	НЗ	17% (10/58)	26% (21/81)	НЗ
⩾4500 пмоль/л	38% (30/79)	18% (12/67)	0,008	21% (34/164)	20% (25/127)	НЗ

Примечание. По сравнению с ранее опубликованными общими результатами [5], 1 из 4 женщин из смешанных циклов ЭКО/ИКСИ в группе ВЧ–чМГ, как оказалось, получила только ЭКО и была отнесена в соответствующую группу согласно проводимому анализу; остальных 3 случая смешанных циклов ЭКО/ИКСИ не включили в настоящее исследование. НЗ – статистически незначимо.
[а] – среднее±стандартное отклонение, [б] – процент, [с] – число (процент).

ступления беременности определяли с помощью генерализованной линейной модели с использованием биноминального распределения с функцией однородности. Для оценки различий использовали критерий Вальда. Подгруппы данных, соответствующие разным категориям, сравнивали с применением теста хи-квадрат или точного критерия Фишера. Кроме того, в каждой группе с помощью логистических регрессионных моделей проводили анализ связи между частотой прогрессирующей беременности и такими прогностическими факторами, как возраст, индекс массы тела, длительность бесплодия, число предыдущих попыток, препарат аГнРГ (депо или дейли), концентрация ЛГ исходно и на 6-й день, концентрация чХГ на 6-й день (только в группе ВЧ-чМГ), концентрация Е2 на 6-й день и в день введения чХГ, метод оплодотворения (ЭКО или ИКСИ). Отсутствующие данные по умолчанию считали отрицательным результатом (т. е. отсутствие беременности).

Основные демографические характеристики и сведения, касающиеся бесплодия, в исследуемой популяции оказались сравнимы между группами ВЧ-чМГ и ФСГ и подгруппами ЭКО и ИКСИ. Наиболее частыми причинами бесплодия среди ЭКО-пациенток были трубный фактор (38%) и необъяснимое бесплодие (31%). Среди ИКСИ-пациенток преобладал мужской фактор бесплодия (91%).

В таблице представлены основные клинические исходы и результаты гормонального обследования в соответствии с методом оплодотворения и препаратом гонадотропинов. Среди ИКСИ-пациенток не обнаружено отличий между группами ВЧ-чМГ и рФСГ ни по одному из клинических исходов. Напротив, для ЭКО-пациенток в группе ВЧ-чМГ оказались статистически значимо выше процент положительных тестов на бета-чХГ и частота наступления клинической и прогрессирующей беременности, несмотря на то что в группе рФСГ было получено больше ооцитов. Суммарная доза гонадотропинов и длительность лечения статистически незначимо отличались между группами ВЧ-чМГ и рФСГ и популяциями ЭКО и ИКСИ.

Не обнаружено отличий в концентрациях ЛГ и Е2 на 6-й день стимуляции между группами ЭКО и ИКСИ и ВЧ-чМГ и рФСГ. Концентрации Е2 в день введения чХГ оказались статистически значимо выше в группе ВЧ-чМГ по сравнению с группой рФСГ среди ИКСИ-пациенток, похожую статистически незначимую тенденцию наблюдали у пациенток ЭКО.

Результаты показали, что концентрация ЛГ на 6-й день стимуляции не оказывает никакого влияния на частоту прогрессирующих беременностей у пациенток ИКСИ. У пациенток ЭКО частота прогрессирующих беременностей при любом уровне ЛГ на 6-й день стимуляции была выше в группе ВЧ-чМГ по сравнению с группой рФСГ, однако это различие оказалось статистически значимым только у пациенток с концентрацией ЛГ более 0,75 МЕ/л. Повышенные сывороточные концентрации чХГ оказывали благоприятное влияние на частоту прогрессирующих беременностей у пациенток ЭКО и ИКСИ, более выраженное у пациенток ЭКО. Концентрация Е2 в день введения чХГ не оказывала никакого влияния на частоту прогрессирующей беременности у пациенток ИКСИ. Среди пациенток ЭКО частота прогрессирующей беременности была одинаковой в группах ВЧ-чМГ и рФСГ при концентрации Е2 менее 4500 пмоль/л (т.е. 1285 пг/мл). При концентрации Е2 более 4500 пмоль/л частота прогрессирующей беременности была значительно выше в группе ВЧ-чМГ по сравнению с группой рФСГ.

В группе ВЧ-чМГ многовариантный факторный анализ показал, что только метод оплодотворения и концентрация чХГ на 6-й день стимуляции статистически значимо влияют на исход беременности. Коэффициент вероятности для метода оплодотворения составил 1,73 (95% доверительный интервал – ДИ – 1,15–2,60) для ЭКО по сравнению с ИКСИ. Для концентрации чХГ на 6-й день стимуляции коэффициент вероятности составил 3,38 (95% ДИ 1,52–7,54) и 4,59 (95% ДИ 1,89–11,1) для концентрации чХГ 1–2 МЕ/л и ⩾2 МЕ/л соответственно по сравнению с концентрацией чХГ⩽1 МЕ/л. В группе рФСГ статистически значимых взаимосвязей не обнаружено.

Проведенный дополнительный анализ предполагает наличие связи между активностью ЛГ и частотой прогрессирующей беременности в циклах ЭКО, но не ИКСИ. Несмотря на получение меньшего количества ооцитов, ВЧ-чМГ оказывает явное благоприятное влияние на частоту наступления беременности у женщин в программе ЭКО. В недавно опубликованном метаанализе [1], сравнивающем эффективность чМГ и рФСГ для стимуляции яичников по длинному протоколу, не проводили отдельного анализа циклов ЭКО и ИКСИ. Повторный анализ четырех исследований, включенных в этот метаанализ, позволит выявить статистически значимое различие: поскольку преобладали циклы ИКСИ, меньше различие в частоте клинической беременности между чМГ и рФСГ: Gordon и соавт. [2]: 0% ИКСИ; чМГ 11/29 (38%) против рФСГ 11/39

(28%); Westergaard и соавт. [3]: 25% ИКСИ; чМГ 75/189 (40%) против рФСГ 65/190 (34%); Европейская и Израильская группа исследователей [5]: 64% ИКСИ, чМГ 98/373 (26%) против рФСГ 78/354 (22%); Ng и соавт. [4]: 100% чМГ 5/20 (25%) против рФСГ 4/20 (20%). Соотношение женщин, включенных в программу ИКСИ, в этих исследованиях нивелирует положительное влияние активности экзогенного ЛГ на частоту наступления беременности.

В отношении настоящего исследования мы выдвинули две основные причины для более высокой частоты прогрессирующих беременностей в циклах ЭКО, но не ИКСИ, в группе ВЧ-чМГ. Первая гипотеза заключается в том, что дополнительная активность ЛГ в циклах ЭКО необходима при наличии женского фактора бесплодия. Предполагается, что женщины в программе ЭКО, в частности с идиопатическим бесплодием (30% в данном исследовании), имеют пограничную недостаточность или нарушения секреции ЛГ, которые восполняются за счет дополнительного введения ЛГ при стимуляции яичников. Однако критерии включения/исключения из данного исследования делают это маловероятным, поскольку согласно им все женщины должны иметь регулярный овуляторный менструальный цикл и нормальные исходные эндокринные показатели, в том числе концентрации ЛГ.

Второе объяснение подразумевает возможность влияния через cumulus oophorus. Вероятно, cumulus oophorus продуцирует факторы или гормоны и высвобождает их во внеклеточное окружение или непосредственно в ооциты через контактные связи. Кумулюс также может быть необходим для поддержания жизнеспособности ооцита и адекватного раннего развития эмбриона. У некоторых видов животных удаление кумулюса перед оплодотворением приводит к снижению частоты дробления оплодотворившихся ооцитов [6], ухудшению раннего развития эмбрионов [7–10] и снижению частоты формирования бластоцисты [11, 12]. Magier и соавт. [13] подтвердили эти данные на ооцитах человека; результаты их исследования показали положительное влияние окруженных кумулюсом ооцитов на оплодотворение, защитное действие, распространяющееся на ооциты в случае неоптимальных окружающих условий, а также благоприятное влияние на дальнейшее развитие эмбриона и беременность. Недавнее проспективное рандомизированное исследование Hassan [14] на ооцитах-сиблингах показало, что предварительное культивирование с интактным кумулюсом перед ИКСИ улучшает результаты. Положительное влияние активности экзогенного ЛГ во время стимуляции яичников, таким образом, способно проявиться в первые часы оплодотворения во время процедуры ЭКО; клетки кумулюса могут в большей степени благоприятно влиять на ооциты вследствие предварительного влияния активности ЛГ уже в процессе стимуляции. Точный механизм этого влияния неизвестен, но, предположительно, может быть связан с различием в экспрессии генов в клетках гранулезы под действием возрастающей активности ЛГ.

Факторный анализ, проведенный с целью прогнозирования вероятности наступления прогрессирующей беременности, привел к интересным результатам. Для женщин, получавших ВЧ-чМГ, мы не обнаружили связи между концентрацией ЛГ в кровотоке на 6-й день стимуляции и частотой прогрессирующей беременности, однако наблюдали статистически значимую зависимость между частотой прогрессирующей беременности и концентрацией чХГ в кровотоке на 6-й день стимуляции. Среди пациенток с концентрацией чХГ более 1 МЕ/л частота прогрессирующей беременности оказалась статистически значимо выше. Возможно, что наиболее важным фактором в препаратах чМГ [15, 16] является не собственно ЛГ, а ЛГ-активность, которую проявляет чХГ, имеющий более длительный период полувыведения. Концентрации ЛГ не являются статистически значимыми показателями для прогнозирования наступления беременности у женщин, получающих ВЧ-чМГ, однако полученные результаты могут быть отнесены к ограничениям для собственно установленных концентраций ЛГ из-за его очень короткого периода полувыведения.

Таким образом, мы обнаружили статистически значимое повышение частоты наступления беременности у женщин в программе ЭКО при использовании для стимуляции яичников ВЧ-чМГ по сравнению с рФСГ. Среди пациенток в программе ИКСИ различий не обнаружено. Подтверждение полученных результатов в проспективном исследовании может привести к модификации протоколов стимуляции яичников в программе ЭКО и, возможно, также в программе ИКСИ.

Литература

1. Van Wely M, Westergaard LG, Bossuyt PM, Van der Veen F. Human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle stimulation hormone for ovarian stimulation in assisted reproductive cycles. Cochrane Database Syst Rev 2003; 1: CD003973.

2. Gordon UD, Harrison RF, Fawzy M et al. A randomized prospective assessor-blind evaluation of luteinizing hormone dosage and in vitro fertilization outcome. Fertil Steril 2001; 75: 324–31.

3. Westergaard LG, Erb K, Laursen SB et al. Human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle-stimulating hormone in normogonadotropic women down-regulated with a gonadotropin-releasing hormone agonist who were undergoing in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a prospective randomized study. Fertil Steril 2001; 76: 543–9.

4. Ng EHY, Lau EYL, Yeung WSB, Ho PC. HMG is as good as recombinant human FSH in terms of oocytes and embryo quality: a prospective randomized trial. Hum Reprod 2001; 16: 319–25.

5. The European and Israeli Study Group, Efficacy and safety of highly purified menotropin versus recombinant follicle-stimulating hormone in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles: a randomized, comparative trial. Fertil Steril 2002; 78: 520–8.

6. Cross PC, Brinster RL. In vitro development of mouse oocytes. Biol Reprod 1970; 3: 298–307.

7. Eyestone WH, Leibfried-Rutlege ML, Northey DL et al. Culture of one– and two–cell bovine embryos to the blastocyst stage in the ovine oviduct. Theriogenology 1987; 28: 1–24.

8. Goto K, Kajihara Y, Kosaka S et al. Pregnancies after co-culture of cumulus cells with bovine embryos derived from in-vitro fertilization of in-vitro matured follicular oocytes. J Reprod Fertil 1988; 83: 753–8.

9. Nandi S, Chauhan MS, Palta P. Influence of cumulus cells and sperm concentration on cleavage rate and subsequent embryonic development of buffalo oocytes matured and fertilized in vitro. Theriogenology 1998; 50: 1251–62.

10. Fatehi AN, Zeinstra EC, Kooij RV et al. Effect of cumulus cell removal of in vitro matured bovine oocytes prior to in vitro fertilization on subsequent cleavage rate. Theriogenology 2002; 57: 1347–55.

11. Zhang L, Jiang S, Wozniak PJ et al. Cumulus cell function during bovine oocyte maturation, fertilization, and embryo development in vitro. Mol Reprod Dev 1995; 40: 338–44.

12. Liu Y, Holyoak GR, Wang S, Bunch TD. The importance of cumulus cells on the in vitro production of bovine oocytes. Theriogenology 1995; 43: 267.

13. Magier S, van der Ven HH, Diedrich K, Krebs D. Significance of cumulus oophorus in in-vitro fertilization and oocytes viability and fertility. Hum Reprod 1990; 5: 847–52.

14. Hassan HA. Cumulus cell contribution to cytoplasmic maturation and oocytes developmental competence in vitro. J Assist Reprod Genet 2001; 18: 539–43.

15. Akar AH, Gervasi G, Blacker C et al. Human chorionic gonadotrophin-like and -core-like materials in postmenopausal urine. J Endocrinol 1990; 125: 477–84.

16. Stokman PGW, de Leeuw R, van den Wijngaard HAGW et al., Human chorionic gonadotropin in commercial human menopausal gonadotropin preparations. Fertil Steril 1993; 60:175–8.