

ГАБАРАЕВА

Виктория Владиславовна

**ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ВЫБОРУ ПРОТОКОЛА
КОНТРОЛИРУЕМОЙ ОВАРИАЛЬНОЙ СТИМУЛЯЦИИ У ДОНОРОВ
ООЦИТОВ И ПАЦИЕНТОК С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ**

14.01.01 - акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой
степени кандидата медицинских наук

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ-2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении высшего профессионального образования «Северо-западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения РФ.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Калугина Алла Станиславовна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
заведующий отделением вспомогательных
репродуктивных технологий
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
акушерства,
гинекологии и
репродуктологии имени Д.О.Отта»

Гзгзян Александр Мкртичевич

доктор медицинских наук, профессор,
профессор кафедры акушерства и гинекологии
ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский
государственный педиатрический
медицинский
университет» МЗ РФ

Тапильская Наталья Игоревна

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны РФ

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2016 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 001.021.01 при ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта» (199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»

Автореферат разослан « ____ » _____ 2016 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук

Кузьминых Татьяна Ульяновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Возрастающий интерес к развитию вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) во всем мире обусловлен приоритетностью проблемы бесплодия в репродуктивной медицине. Состояние репродуктивного здоровья населения нашей страны, увеличение количества бесплодных браков диктуют необходимость искать новые пути для решения проблем бесплодия. Особое значение приобретают исследования, направленные на повышение эффективности, доступности и безопасности методов ВРТ, которые предоставляют уникальную возможность реализовывать функцию деторождения практически при всех формах женского бесплодия (Кулаков В.И., 2005).

Учитывая возрастание количества пар, обращающихся за медицинской помощью в позднем репродуктивном возрасте, а также увеличение числа пациенток с различным генезом бесплодия, повышение числа женщин, желающих сохранить фертильность, с целью отсроченного материнства, значительное увеличение женщин репродуктивного возраста, имеющих или перенесших онкологические заболевания, которые обращаются в клиники ВРТ с целью сохранения генетического материала – актуальным является повышение эффективности программ ВРТ с использованием витрифицированных ооцитов (Lee S., 2006).

Необходимость проведения витрификации ооцитов может быть обусловлена, как медицинскими или социальными показаниями, так и высокой потребностью в создании криобанков донорских ооцитов (Cobo A., 2008; Cobo A., 2010; Noyes N., 2010; Manipalvarath S., 2008; Scaravelli G., 2010). Важно, также подчеркнуть, что витрификация ооцитов является одним из новейших механизмов сохранения фертильности у пациенток репродуктивного возраста с различными онкологическими заболеваниями.

В литературе недостаточно данных о влиянии витрификации на исход различных программ ЭКО/ИКСИ, а также противоречивы данные о влиянии

применяемого протокола контролируемой овариальной стимуляции в программе донорства с использованием витрифицированных яйцеклеток, - все это определяет необходимость дальнейших исследований в этих направлениях.

Цель исследования - определить новые подходы к лечению бесплодия при использовании различных протоколов овариальной стимуляции для витрификации яйцеклеток в программе донорства ооцитов и у пациенток с онкологическими заболеваниями.

Задачи исследования

Для решения поставленной цели были сформулированы следующие задачи исследования:

1. Провести сравнение применения различных протоколов контролируемой овариальной стимуляции в программе донорства ооцитов.
2. Провести оценку полученных ооцитов, их выживаемость после витрификации, в зависимости от используемого протокола контролируемой овариальной стимуляции (КОС).
3. Сравнить эффективность применения нативных и витрифицированных ооцитов в программе донорства ооцитов.
4. Оценить эффективность селективного переноса одного эмбриона в программах ВРТ с использованием ооцитов донора.
5. Провести оценку полученных ооцитов в программах сохранения репродуктивной функции у пациенток с онкологическими заболеваниями с учетом модификации КОС и необходимости начала ее с любого дня цикла.
6. Создать алгоритм ведения пациенток, нуждающихся в программах с донорскими ооцитами.

Практическая значимость

Проведенное исследование показало, что витрификация ооцитов является надежным методом криоконсервации ооцитов в различных программах ВРТ (донорство ооцитов и сохранение репродуктивной функции у пациенток с онкологическими заболеваниями), вне зависимости от того, какой протокол овариальной стимуляции применяли в программе ЭКО/ИКСИ и не уступает по эффективности применению нативных ооцитов. Полученные результаты позволяют рекомендовать витрификацию яйцеклеток в программах ВРТ, как надежный метод сохранения генетического материала.

Положения, выносимые на защиту

1. Витрификация ооцитов является надежным методом криоконсервации ооцитов, который позволяет получать высокий процент выживаемости ооцитов и способствует достижению идентичных показателей, как и при применении нативных ооцитов.
2. Успешность программ донорства ооцитов не зависит от используемого протокола овариальной стимуляции, применение корифоллитропин - альфа является более комфортным для доноров, а также снижает процент ошибок проведения протоколов овариальной стимуляции у доноров ооцитов, применение а-ГнРГ в качестве триггера овуляции снижает риски развития синдрома гиперстимуляции яичников. В свою очередь, контролируруемую овариальную стимуляцию у пациенток с онкологическими заболеваниями возможно проводить с любой фазы менструального цикла.
3. Селективный перенос одного эмбриона с использованием донорских витрифицированных ооцитов не снижает частоту наступления беременности

в программах ВРТ и позволяет снизить риск развития многоплодной беременности у реципиентов.

Личный вклад автора в работу. Автор участвовал в планировании исследования, составлении его дизайна, самостоятельно отобраны, изучены и проанализированы истории болезни доноров, реципиентов и пациенток с онкологическими заболеваниями. Диссертантом проведен статистический анализ результатов исследования, на основании которого сделаны выводы.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, общей характеристики материалов и методов исследования, клинической характеристики обследованных групп, результатов собственных исследований, заключения, выводов, обсуждения полученных результатов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 257 источников. Материалы диссертации изложены на 152 страницах и иллюстрированы 28 таблицами, 16 рисунками.

Апробация и внедрение результатов исследования в практику

Материалы диссертации доложены на конференции “Мать и Дитя”, Москва, 2014 г., «Эффективность применения программ с использованием ооцитов донора при различных протоколах контролируемой овариальной стимуляции», «Исходы программ ВРТ при использовании ооцитов донора после витрификации», также на XXIV международной конференции РАРЧ 2014г. «Современные возможности сохранения фертильности онкологических пациентов. Собственный опыт»

Результаты исследования внедрены в работу клиники “Ава-Петер”, отделения вспомогательных репродуктивных технологий СПбГБУЗ “Городская Мариинская больница”, в учебный процесс кафедры репродуктивного здоровья женщин ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова МЗ РФ. По теме диссертации опубликовано 5 научных работ, в том числе 4 статьи в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, а также в иностранном журнале.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Настоящую работу проводили на базе клиники Ава-Петер, являющейся клинической базой кафедры репродуктивного здоровья женщин СЗГМУ им. И.И. Мечникова в 2012-2014 гг. Дизайн исследования относился к когортному ретроспективному и проспективному.

В исследовании проанализированы результаты применения программ с витрифицированными ооцитами доноров, полученные в результате применения различных протоколов контролируемой овариальной стимуляции, а также проводили оценку эффективности сохранения фертильности у пациенток репродуктивного возраста с онкологическими заболеваниями, при этом начинали овариальную стимуляцию в разные дни менструального цикла, полученные ооциты впоследствии витрифицировали.

В соответствии с поставленной целью и задачами в данное исследование было включено 174 донора ооцитов и 386 супружеских пар, обратившихся по поводу бесплодия, а также 14 женщин репродуктивного возраста с онкологическими заболеваниями, проходившими программу контролируемой овариальной стимуляции (КОС), с целью сохранения генетического материала.

Все доноры были разделены на 4 группы, в соответствии с применяемым протоколом КОС. В каждой группе выделены подгруппы, в которых проводили сравнение использования ооцитов в нативном состоянии или после витрификации:

I группа – длинный протокол с а-ГнРГ n=78

II группа – протокол с ант-ГнРГ+p-ФСГ n=205

III группа –антиэстроген+p-ФСГ n=54

IV группа – протокол с применением корифоллитропин - альфа n=49.

Критерии включения доноров ооцитов:

1. женщины в возрасте от 18 до 35 лет
2. физически и психически здоровые
3. прошедшие медико-генетическое обследование
4. наличие здорового ребенка в семье

Критерии исключения доноров:

1. наличие оперативных вмешательств на органах малого таза в анамнезе
2. наличие более 6 программ КОС
3. наличие патологических образований яичников
4. СГЯ после предыдущей КОС.

Критерии включения реципиентов в исследование:

1. Возраст от 35 до 49 лет
2. ИМТ от 19 до 29 кг/м²
3. бесплодие, обусловленное эндометриозом, трубно-перитонеальным фактором, мужским фактором, идиопатическое бесплодие, эндокринное бесплодие, отсутствие полового партнера, сочетание перечисленных факторов бесплодия.

Критерии исключения реципиента из исследования:

1. Наличие более 3 неудачных попыток ЭКО/ИКСИ
2. Патология эндометрия
3. Миома матки диаметром более 4 см или миоматозный узел, деформирующий полость матки
4. Опухолевые или опухолевидные образования яичников
5. Отказ от включения в исследование

В исследование включено 14 пациенток с онкологическими заболеваниями в возрасте от 18 до 39 лет, которым проводилась программа сохранения репродуктивной функции, а именно витрификация ооцитов.

Больные направлены из городского онкологического диспансера в клинику АВА-ПЕТЕР для решения вопроса о сохранении генетического материала

перед проведением химиотерапии или лучевой терапии онкологического заболевания.

Для осуществления программы ЭКО с последующей витрификацией ооцитов были включены 14 пациенток:

5 пациенток – подтвержденный рак молочной железы

3 пациентки – онкологические заболевания лимфатической системы

1 пациентка - высокодифференцированная нейроэндокринная опухоль.

Макрофолликулярная аденома правой доли щитовидной железы

3 пациентки – онкология кроветворной системы

1 пациентка- саркома Юинга

1 пациентка - рак толстой кишки.

Обследование доноров и реципиентов, включенных в программу донорства ооцитов, состояло из сбора анамнеза, гинекологического осмотра, лабораторного и инструментального исследования. Протокол контролируемой овариальной стимуляции каждому донору подбирали индивидуально, в зависимости от показателей овариального резерва: число антральных фолликулов по УЗИ, уровень АМГ, учитывали количество предыдущих протоколов КОС. Овариальную стимуляцию выполняли по общепринятой методике, с целью предотвращения пика лютеинизирующего гормона использовали антагонисты ГнРГ или агонисты ГнРГ.

Применяли следующие схемы контролируемой стимуляции суперовуляции:

1. «Длинный» протокол с предварительной десенситизацией гипофиза препаратами а-ГнРГ с 21 дня цикла и последующим назначением р-ФСГ.
1. Протокол с рекомбинантным ФСГ со 2-3-го дня цикла и применением препаратов - антагонистов ГнРГ, которые назначали после достижения лидирующим фолликулом диаметра 14-16 мм.

2. «Модифицированный» протокол с антиэстрогеном – Клостилбегит + р-ФСГ.

3. Протокол с корифоллитропин-альфа + ант-ГнРГ.

Оценку полученных ооцитов производили через 2 часа после пункции фолликулов. Для этого ооцит-кумулюсные комплексы методом пипетирования в растворе гиалуронидазы (80UI) в течение 30 сек. очищали от кумулюса, промывали в культуральной среде и оценивали с помощью инвертированного микроскопа, а также на аппарате Oosight. Витрификации подвергали ооциты, находящиеся на метафазе второго деления. Криоконсервацию полученных ооцитов методом витрификации проводили при комнатной температуре с использованием набора Kitazato Cryotop Safety Kit Vitrification #VT401. Размораживание витрифицированных ооцитов проводили с использованием набора Kitazato Cryotop Safety Kit Thawing #VT402.

Для подготовки эндометрия к переносу эмбрионов у реципиентов применяли режим подготовительной гормональной терапии. Поддержку периода раннего эмбриогенеза проводили до момента установления факта наступления клинической беременности (определяли уровень бета-ХГЧ в крови и УЗИ малого таза - на наличие в полости матки плодного яйца).

Полученные в процессе исследования результаты обрабатывали с помощью программной системы STATISTICA for Windows (версия 5.5 Лицензионный №АХХR402С29502 3FA). Было сформировано 2 массива исходных данных. Первый содержал общие сведения о пациентках. Второй позволял провести углубленный анализ ведения пациентов по конкретным протоколам ВРТ, учитывающий метод витрификации ооцитов, применение различных протоколов овариальной стимуляции у доноров, начало КОС у онкологических пациенток, вне зависимости фазы менструального цикла, подготовку эндометрия у реципиентов, а также исходы программы донорства ооцитов. Анализ частотных характеристик качественных показателей

(исходы, осложнения, варианты ведения и т.п.) проводили с помощью непараметрических методов χ^2 , χ^2 с поправкой Йетса (для малых групп), критерия Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнение различных режимов контролируемой овариальной стимуляции в программах витрификации ооцитов доноров

Доноры ооцитов достоверно не различались по возрасту, индексу массы тела и длительности, проводимой контролируемой овариальной стимуляции ($p > 0,05$) таблица 1. Однако, средняя суммарная доза р-ФСГ на один протокол КОС достоверно ($p < 0,05$) больше в группе, с использованием протокола с а-ГнРГ, по сравнению с другими исследуемыми группами. В среднем, за один протокол КОС ДО наибольшего количества ооцитов получено в II группе (таблица 2), но при этом количество ооцитов, находящихся на МII деления, которые были витрифицированы - получены достоверно больше в III группе ($p < 0,05$). В последующем, на одну программу ЭКО/ИКСИ размораживали в среднем в I группе $10,5 \pm 0,5$, во II группе $11,2 \pm 0,3$, в III группе $12,9 \pm 0,6$ ооцитов. Количество выживших ооцитов, после размораживания (рисунок 2), достоверно отличалось и было выше в III группе с применением протокола антиэстроген+р-ФСГ по сравнению с I и II группами ($p < 0,05$).

Таблица 1 - Характеристика доноров ооцитов

Группа наблюдения		I «длинный» а-ГнРГ n=78	II ант-ГнРГ+ р-ФСГ n=205	III антиэстроген+ р-ФСГ n=54	IV ант-ГнРГ+ КФ-альфа n=49
возраст донора	M ± m	27,1±0,4	27,5±0,2	29,6±0,5	27,3±3
	Min÷max	21÷39	20÷34	22÷38	20÷27
ИМТ	M ± m	22±3	22,4±2,8	21±3,5	21,4±2,5
длительность КОС	M ± m	10,2±0,4	10,6±0,2	9,5±0,2	8±1
	Min÷max	9÷23	6÷23	6÷12	6÷13

Таблица – 2 Оогенез в зависимости от протокола контролируемой овариальной стимуляции доноров ооцитов

Группа наблюдения		I «длинный» а-ГнРГ n=78	II ант-ГнРГ+ р-ФСГ n=205	III антиэстроген+ р-ФСГ n=54
Количество ооцитов	M ± m	27,2± 1,3	28,7± 1,0	26,6± 2,4
Незрелые ооциты	M ± m	1,9±0,2*	3±0,3*	3,8±0,4*
МП ВТР ооциты	M ± m	14± 0,7*	16± 0,6*	19± 1,4*
Размороженные ооциты	M ± m	10±0,5	11±0,3	12±0,6
Выжившие ооциты	M ± m	9,0±0,4*	9,5±0,3*	11,1±0,5*

Примечание. * - $p < 0,01$ по сравнению с показателями в I, II, III группах
 Выживаемость ооцитов в исследуемых группах, в свою очередь составляла $87 \pm 15\%$, $84 \pm 17\%$, $88 \pm 15\%$, соответственно (рисунок 1).

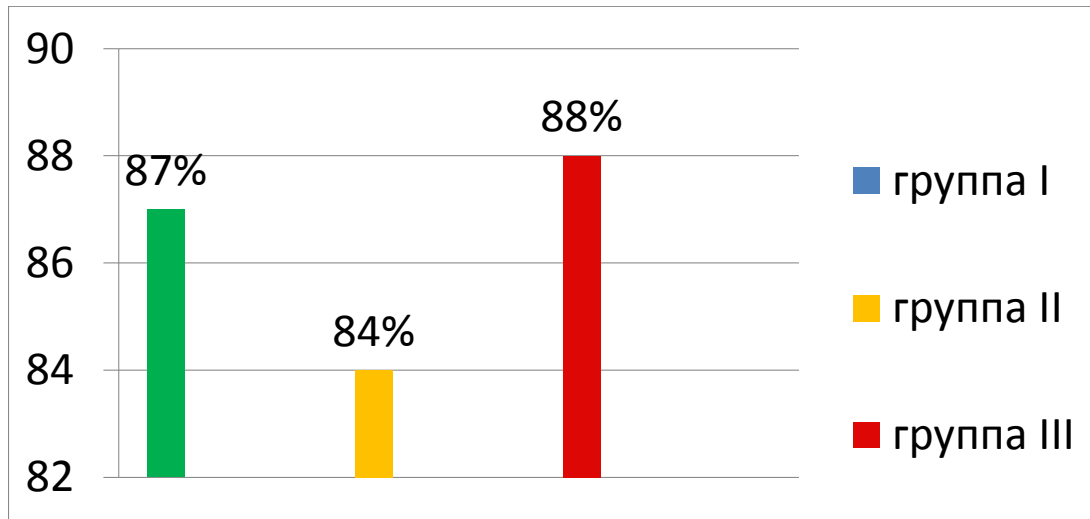


Рисунок 1 - Выживаемость ооцитов после витрификации

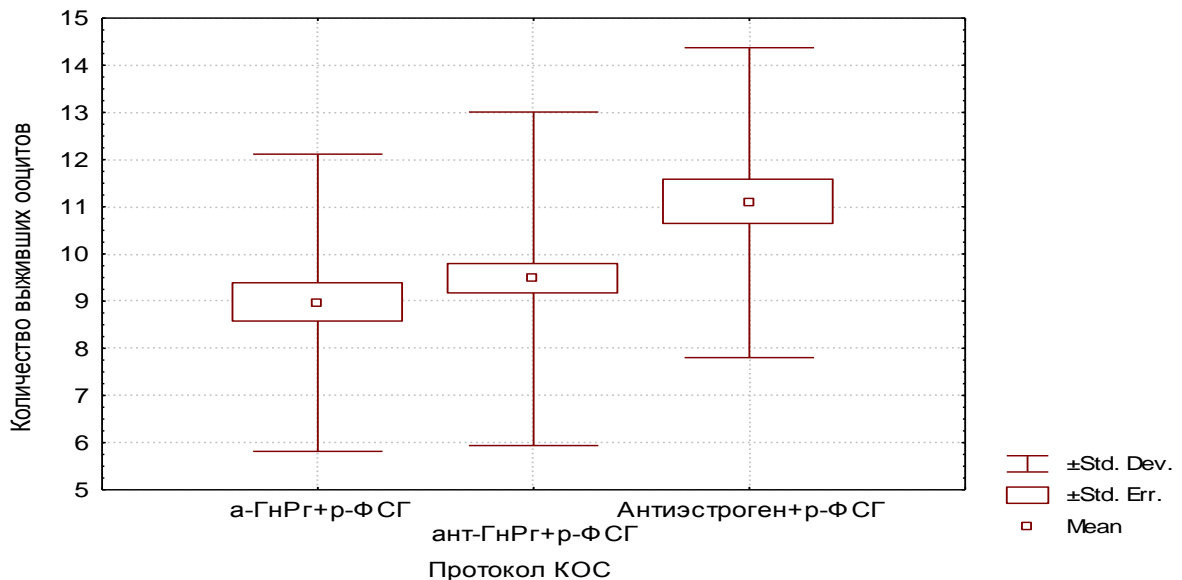


Рисунок 2 - Количество выживших ооцитов, в исследуемых группах

Примечание. * - $p < 0,01$ в протоколе с применением антиэстроген+р-ФСГ по сравнению с двумя другими исследуемыми протоколами КОС-ДО
 Как указано в таблице 3, в качестве триггера овуляции а-ГнРГ применяли со следующей частотой в I-й группе - 0%, II группе - 35%, III группе - 84%, а р-

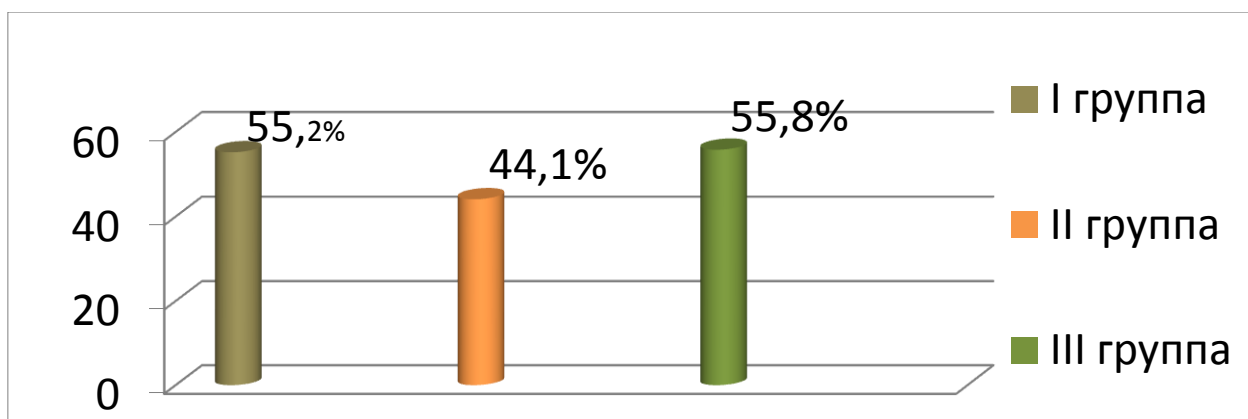
ХГЧ использовали: в I группе - 100%, II группе - 64%, III группе - 16%, соответственно.

Таблица 3 - Применение триггера овуляции в исследуемых группах

Группа наблюдения	n	ХГЧ		СГЯ	а-ГнрГ		СГЯ
		Абс.	%	Абс.	Абс.	%	Абс.
I «длинный» а-ГнрГ	78	69	100%	-	0	0%	-
II ант-ГнрГ+p-ФСГ	205	73	35,8%	3	132	64,2%	0
III антиэстроген+p-ФСГ	54	45	83,7%	1	9	16,3%	0

Примечание. * - $p > 0,05$ достоверных различий выявлено не было

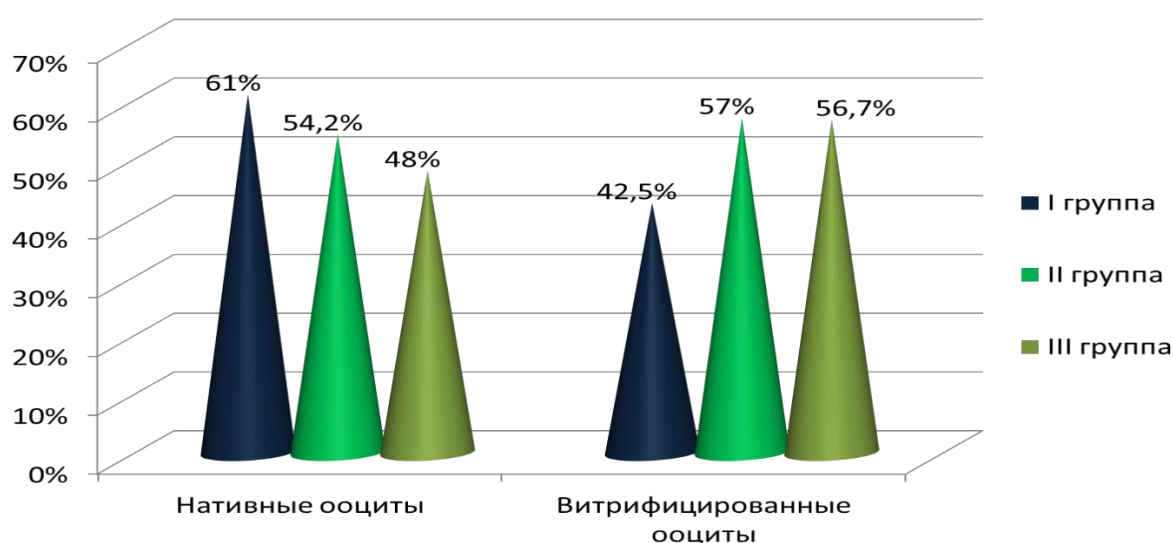
В последующем, ооциты донора размораживали, производили ИКСИ, а перенос эмбрионов осуществляли на 5-й день развития реципиентам. Реципиенты в исследуемых группах статистически значимо не различались ($p > 0,05$) по возрасту $40,6 \pm 0,5$ лет, индексу массы тела, длительности и причине бесплодия. Частота наступления беременности, как изображено на рисунке 3, в трех исследуемых группах составляла: 55,2%; 44,1%; 55,8% соответственно, достоверных различий по данному показателю выявлено не было ($p > 0,05$). Осложнения программ ВРТ в виде синдрома гиперстимуляции яичников наблюдались только при использовании в качестве триггера овуляции-ХГЧ, во II группе – 2 случая СГЯ 2 степени и один случай СГЯ 3 степени, в III группе - один случай СГЯ 2 степени.



Примечание. * - $p > 0,05$ достоверных различий выявлено не было
 Рисунок 3 - Частота наступления беременности при использовании различных протоколов КОС-ДО

Сравнение нативных и витрифицированных донорских ооцитов при различных протоколах контролируемой овариальной стимуляции

Количество нативных ооцитов в зависимости от применяемого протокола КОС достоверно не отличалось ($p > 0,05$) и составляло: в I группе - 15 ± 5 , II группе - 16 ± 6 , III группе 16 ± 8 ооцитов. В свою очередь, количество витрифицированных ооцитов достоверно больше в группе III ($p < 0,01$) при сравнении с I и II группами. В последующем, при использовании витрифицированных ооцитов донора на один протокол ЭКО/ИКСИ размораживали, в среднем, 10 ± 3 ; 11 ± 3 ; 12 ± 3 - ооцитов соответственно.



Примечание. * - $p > 0,05$ достоверных различий выявлено не было
 Рисунок 4 - Частота наступления беременности на перенос эмбриона %

По результатам исследования частота наступления беременности в группах наблюдения статистически значимо не различалась ($p > 0,05$) рисунок 4, но следует обратить внимание, что наиболее высокие показатели ЧНБ получены в I группе с применением нативных ооцитов - 61% и во II группе с применением витрифицированных ооцитов - 57%.

Возможности использования селективного переноса одного эмбриона в программах донорства ооцитов

Доноры ооцитов II группы были разделены на подгруппы, в зависимости от количества переносимых эмбрионов и использования ооцитов донора после витрификации или в нативном состоянии.

II группа СПОЭ с использованием нативных ооцитов - включает в себя $n=23$ протокола контролируемой овариальной стимуляции с применением препаратов ант-ГнРГ у 10 доноров в результате КОС-ДО получены ооциты, которые сразу применяли в программах ЭКО/ИКСИ ДО. В данной группе осуществляли селективный перенос одного эмбриона (СПОЭ).

II группа с витрифицированными ооцитами СПОЭ - $n=30$ протоколов с ант-ГнРГ у 13 доноров яйцеклетки, полученные в данной группе исследования подвергали витрификации. В данной группе осуществляли селективный перенос одного эмбриона (СПОЭ).

II группа ПДЭ с использованием нативных ооцитов $n=11$ протоколов с применением ант-ГнРГ у 9 доноров. Ооциты сразу применяли в программах ЭКО/ИКСИ ДО. В данной группе осуществляли перенос двух эмбрионов (ПДЭ).

II группа ПДЭ витрифицированные ооциты $n=10$ протоколов с ант-ГнРГ у 8 доноров яйцеклетки, полученные в данной группе исследования подвергали витрификации. В данной группе осуществляли перенос двух эмбрионов (ПДЭ).

Среднее количество полученных ооцитов в группах исследования статистически значимо не различалось ($p > 0,05$) и составляло во II группе с нативными ооцитами СПОЭ группе - $26,4 \pm 1,0$, во II группе с витрифицированными ооцитами СПОЭ группе - $28,7 \pm 1,0$, в группе II с нативными ооцитами СПОЭ и в группе II с витрифицированными ооцитами ПДЭ группах - $25,3 \pm 2,0$. Среднее количество витрифицированных ооцитов, находящихся на МП деления, во II группе с витрифицированными ооцитами СПОЭ группе составляло $16 \pm 0,6$, а в группе II витрифицированные ооциты ПДЭ - $17 \pm 0,5$ - данный показатель статистически значимо не различался при сравнении групп ($p > 0,05$). Следующей ступенью явилось оплодотворение и перенос эмбрионов реципиентам. Перед переносом эмбрионов каждая пациентка с бесплодием получала заместительную подготовительную гормональную терапию. Толщина эндометрия в день переноса эмбриона у реципиентов статистически значимо не различалась в исследуемых группах ($p > 0,05$) и составляла в среднем $9,5 \pm 0,4$ мм (рисунок 5).

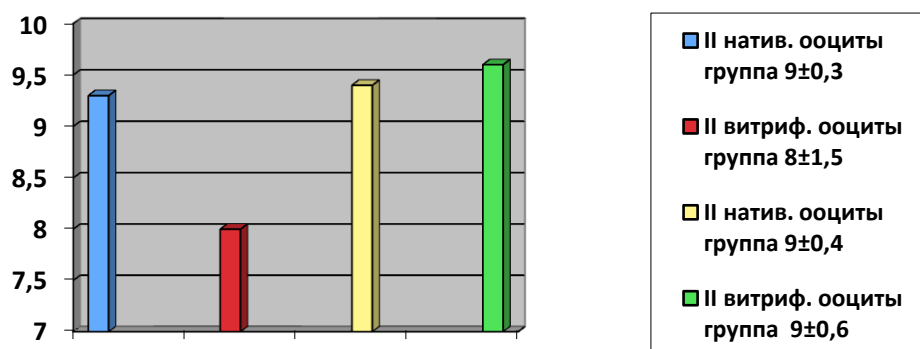


Рисунок 5 - Толщина эндометрия у реципиентов в день переноса эмбрионов Примечание. * - $p > 0,05$ достоверных различий выявлено не было

Частота имплантации (ЧИ) достоверно не различалась ($p > 0,05$) в исследуемых группах (таблице 3) и составляла при использовании в донорских программах нативных ооцитов 52,1%, а при применении ооцитов

после витрификации 56,6%, а при переносе двух эмбрионов данный показатель в контрольных группах достигал 36,4% и 30% соответственно ($p>0,05$). Показатель дробления во всех в группах нашего исследования составил 85,7 %. Частота наступления беременности достоверно не различалась ($p>0,05$) при селективном переносе одного эмбриона: II – группа 52,1% и в группе II с использованием витрифицированных ооцитов СПОЭ группа 56,6%, а в контрольных группах ЧНБ при ПДЭ 54,5% и 50% соответственно. Следует отметить, что ЧНБ оказалась выше в группе СПОЭ при использовании ооцитов после витрификации, но достоверных различий при сравнении данных показателей выявлено не было. Достоверных различий при сравнении полученных показателей: ЧНБ, ЧИ, выживаемости ооцитов, в группах наблюдения и контрольных группах выявлено не было ($p>0,05$).

Результаты использования корифоллитропин-альфа в программе донорства ооцитов

С целью сравнения протоколов с применением ант-ГнРГ + р-ФСГ и с ант-ГнРГ + корифоллитропин-альфа получено несколько групп исследования:

II группа $n=208$ протоколов КОС ДО с ежедневной инъекцией р-ФСГ. Необходимо отметить, что из данной группы исследования исключены 3 протокола овариальной стимуляции, вследствие неправильно произведенной донором ежедневной инъекции р-ФСГ.

IV группа $n=49$ протоколов с использованием корифоллитропин-альфа, в зависимости от массы тела донора, - данная группа разделена на подгруппы:

IVA группа $n=9$ протоколов, - корифоллитропин-альфа в дозировке 100мкг/0,5мл, масса тела донора <60 кг.

IVБ группа n=40 протоколов, корифоллитропин-альфа в дозировке 150мкг/0,5мл, масса тела донора >60кг.

Средняя доза р-ФСГ достоверно не различалась при сравнении двух исследуемых групп ($p > 0,05$), во II группе средняя суммарная доза р-ФСГ составила $1772,3 \pm 433,3$ МЕ, а в IV группе $1616,7 \pm 234,8$ МЕ - $p > 0,05$, (при перерасчете инъекций корифоллитропин-альфа в соответствии с ежедневным применением р-ФСГ в дозе 200 МЕ). Во II группе среднее количество полученных ооцитов составило 29 ± 11 ооцитов, а во IV группе 25 ± 12 ооцитов, полученные данные достоверно различались ($p < 0,05$). В свою очередь, среднее количество зрелых ооцитов на стадии МII, которые были далее витрифицированы, достигало в II группе - 15 ± 7 и $20,8 \pm 11$ – в IV группе, соответственно ($p < 0,05$). Среднее количество размороженных ооцитов составило $11,8 \pm 9$ и $11,7 \pm 5$ ($p > 0,05$), среднее количество выживших ооцитов при размораживании после витрификации - 9 ± 3 и 11 ± 7 ($p < 0,05$) во II и IV группах, соответственно. Таким образом, из выше перечисленных результатов следует, что во II группе получено достоверно большее количество ооцитов, но при этом яйцеклетки хорошего качества, находящиеся на метафазе II деления, которые подвергали витрификации, достоверно больше были получены при использовании корифоллитропин-альфа. Выживаемость во II группе достигала 81,8%, а в IV группе 95,2%, рисунок 6.

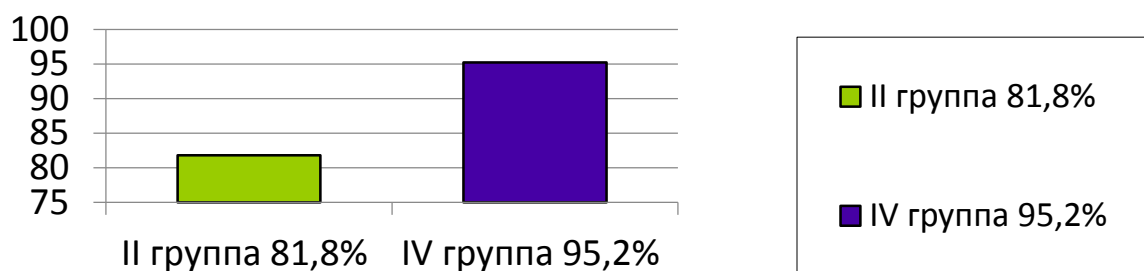


Рисунок 6 - Выживаемость ооцитов после размораживания во II и IV группах

Обращает на себя внимание то, что в качестве триггера овуляции (ТО) в группе II достоверно чаще применяли ХГЧ 127 (62%), а в IV группе – чаще а-ГнРГ 24 (63%) ($p < 0,05$). Также следует отметить, что подбор дозы корифоллитропин-альфа производили каждому донору индивидуально, в зависимости от массы тела. В подгруппах IVA, IVБ достоверных различий выявлено не было ($p > 0,05$) по количеству полученных и МП витрифицированных ооцитов. Частота наступления беременности в группах исследования составила: во II группе - 48,6% (93), а в IV группе, среди известных исходов программ ЭКО/ИКСИ ДО ЧНБ достигала в группе IVA - 60% (3), в IVБ группе - 57% (8), общая частота наступления беременности в IV группе составила 57,8% (11). Синдром гиперстимуляции яичников 1 степени диагностирован во II группе в 3(1,4%) случаях, а в IV группе 1(2%) случай.

Результаты исследования по сохранению репродуктивной функции у пациенток с онкологическими заболеваниями

Средняя продолжительность контролируемой овариальной стимуляции у пациенток с онкологическими заболеваниями составила 8 дней. У 2 пациенток ооциты получены в натуральном менструальном цикле и затем

витрифицированы. В зависимости от периода начала контролируемой овариальной стимуляции пациентки были разделены на три группы:

I группа n= 8, протокол с ант-ГнРГ начинали в I фазе менструального цикла.

II группа n = 4, протокол с ант-ГнРГ начинали во II фазе менструального цикла.

III группа n=2, ооциты получены в натуральном цикле.

Средняя суммарная доза р-ФСГ, которую применяли у данной группы пациенток составила 1612 МЕ (от 1050МЕ до 3000МЕ). В 40% случаев, в качестве триггера овуляции выступал ХГЧ, а в 50% использовали а-ГнРГ с целью снижения уровня эстрадиола. Всего получено 104 ооцита в данной группе, витрифицировано 79 ооцитов (76%). Таблица 4 и рисунок 7 отображают общее количество полученных ооцитов и ооцитов, находящихся на метафазе II деления, которые были витрифицированы. В результате нашего исследования, вне зависимости от периода начала и продолжительности овариальной стимуляции - достоверных различий выявлено не было ($p > 0,05$) по количеству и качеству полученных ооцитов.

Таблица 4 - Показатели оогенеза в группах исследования

Группы исследования	Общее количество полученных ооцитов			Количество МП витрифицированных ооцитов		
	М ± m	Min÷max	Median	М ± m	Min÷max	Median
КОС в I фазе МЦ n=8	14,6 ±3	3 ÷28	13	11±3	0÷ 26	10
КОС в II фазе МЦ n=4	12,5± 3,5	4÷ 21	12,5	9±2	3÷ 12	10,5
НЦ n=2	2	1 ÷1	1	2	1 ÷1	1

Примечание. *- $p > 0,05$ достоверных различий не выявлено

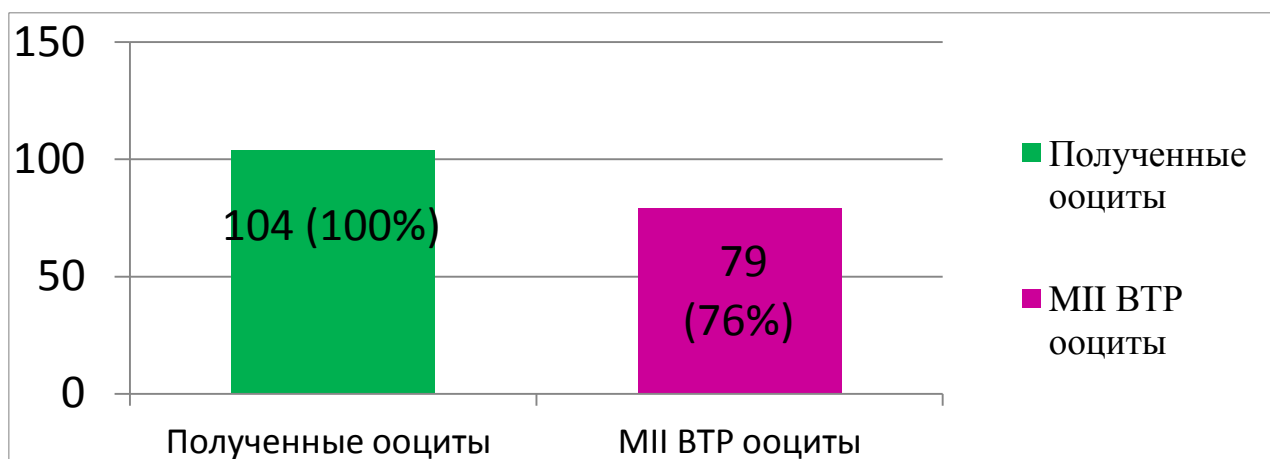


Рисунок 7 - количество ооцитов у пациенток с онкологическими заболеваниями

Необходимо отметить, что при определении зависимости количества полученных ооцитов и процент МII ооцитов - от периода начала овариальной стимуляции (первая фаза или вторая фаза менструального цикла) достоверных различий выявлено не было по критериям Вальда, Манна-Уитни, модуля Нова ($p > 0,05$) рисунок 8.

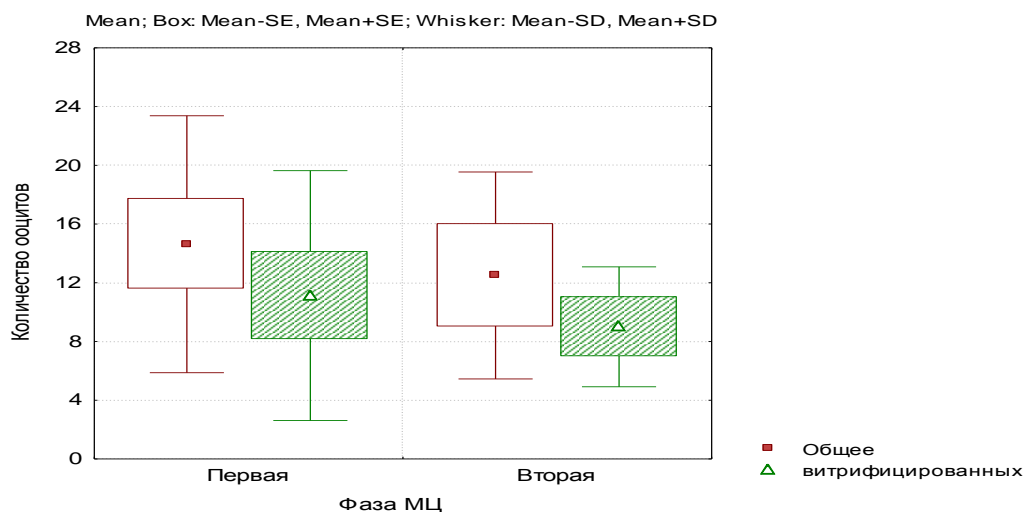


Рисунок 8 -Зависимость количества полученных ооцитов и МII витрифицированных ооцитов от периода начала КОС

ВЫВОДЫ

1. При размораживании донорских ооцитов после использования метода витрификации получены высокие показатели выживаемости, независимо от протокола контролируемой овариальной стимуляции в исследуемых группах (в I «длинный» протокол с а-ГнРГ-84%; II ант-ГнРГ+р-ФСГ-88%; III антиэстроген+р-ФСГ-87%, IV ант-ГнРГ+КФ-альфа-95,2%).
2. При проведении овариальной стимуляции с помощью протокола «антиэстроген+р-ФСГ» получено достоверно наибольшее количество зрелых яйцеклеток ($19 \pm 1,4$), которые были витрифицированы.
3. Применение в программах ЭКО/ИКСИ витрифицированных ооцитов доноров позволяет получить клинические результаты, не уступающие программам вспомогательных репродуктивных технологий с использованием нативных ооцитов (частота наступления беременности при использовании нативных ооцитов - I «длинный» протокол с а-ГнРГ 61%, а при применении витрифицированных ооцитов-42,5%; II ант-ГнРГ+р-ФСГ 54,2%, а при применении витрифицированных ооцитов - 57%; III антиэстроген+р-ФСГ - 48%, а при применении витрифицированных ооцитов -56,7%).
4. Для получения ооцитов с целью витрификации у пациенток с онкологическими заболеваниями овариальную стимуляцию возможно проводить с любого дня, вне зависимости от фазы менструального цикла (зрелые ооциты, полученные в I фазе менструального цикла - 11 ± 3 , во II фазе менструального цикла - 9 ± 2 , достоверных различий не выявлено $p > 0,05$).
5. При использовании корифоллитропин-альфа у доноров ооцитов получено достоверно большее количество ооцитов, находящихся на метафазе второго деления ($20,8 \pm 1,1$) по сравнению с ежедневным р-

ФСГ и высокий процент выживаемости ооцитов после размораживания (95,2%), а также корифоллитропин-альфа способствует снижению процента отмены циклов в программах донорства ооцитов (отмена во II группе ант-ГнРГ+р-ФСГ-1,4%, в IV группе ант-ГнРГ+КФ-альфа-0%).

6. Применение а-ГнРГ в качестве триггера овуляции в программе донорства ооцитов позволяет снизить риски развития синдрома гиперстимуляции яичников (синдром гиперстимуляции яичников во II группе ант-ГнРГ+р-ФСГ при использовании в качестве триггера овуляции ХГЧ - 1,4%, а при применении а-ГнРГ-0%, в III антиэстроген+р-ФСГ при использовании в качестве триггера овуляции ХГЧ-1,8%, а при применении а-ГнРГ-0%, в IV группе ант-ГнРГ+КФ-альфа - при использовании ХГЧ-2%).
7. Применение селективного переноса одного эмбриона в программе донорства ооцитов, при котором получена высокая частота наступления беременности у реципиентов 52-57%, способствует снижению осложнений программ вспомогательных репродуктивных технологий- многоплодной беременности.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Целесообразно применять метод витрификации, который обеспечивает высокий процент выживаемости и высокие клинические результаты в программе донорства ооцитов вне зависимости от используемого протокола контролируемой овариальной стимуляции.
2. Выбор донора в программах вспомогательных репродуктивных технологий должен осуществляться в зависимости от показателей овариального резерва (уровень антимюллерова гормона, число антральных фолликулов, количество преовуляторных фолликулов по УЗИ).

3. Целесообразно использование витрифицированных ооцитов доноров при проведении программы ЭКО/ИКСИ, что исключает необходимость синхронизации менструального цикла донора и реципиента.
4. Рекомендуется с целью снижения рисков развития синдрома гиперстимуляции яичников у доноров ооцитов использовать замену триггера овуляции на а-ГнРГ.
5. Контролируемая овариальная стимуляция может быть рекомендована с целью витрификации ооцитов у пациенток с онкологическими заболеваниями в любую фазу менструального цикла.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. A.S. Kalugina, V.V. Gabaraeva. Comparative efficiency study of fresh and vitrified oocytes in egg donation programs for different controlled ovarian stimulation protocols. //Gynecological Endocrinology. The official journal of the international society of gynecological endocrinology.2014; Volume 30. page 35-38.
2. Габараева В.В., Калугина А.С., Каменецкая Ю.К. Новые возможности применения витрификации ооцитов в программах вспомогательных репродуктивных технологий (обзор литературы)// Журнал акушерства и женских болезней. – 2014. - Т. LXIII №1-С. 33-43.
- 3.Габараева В.В., Калугина А.С. Возможности использования селективного переноса одного эмбриона в программах донорства ооцитов. // Журнал акушерства и женских болезней. – 2015. - Т. LXIV №1-С. 15-23
- 4.Габараева В.В., Калугина А.С., Шлыкова С.А., Корнилов Н.В. Сравнение различных режимов контролируемой овариальной стимуляции в программах витрификации ооцитов доноров. // Проблемы репродукции. -1/2015. -Т.21-С. 41-48.
- 5.Габараева В.В., Калугина А.С., Сравнительная эффективность препарата корифоллитропин-альфа в программе донорства ооцитов. // Проблемы репродукции. -5/2015. -Т.21-С. 58-63.

6. Габараева В.В., Калугина А.С. Эффективность применения программ с использованием ооцитов донора при различных протоколах контролируемой овариальной стимуляции. Сборник тезисов международной научно-практической конференции «Мать и Дитя». - Москва, 23-26 сентября 2014г.- СПб. Клиника «АВА-ПЕТЕР». -С. 461-462.

7. Габараева В.В., Калугина А.С., Шлыкова С.А., Татищева Ю.А., Быстрова О.В., Зубова Ю.Т. Исходы программ ВРТ При использовании ооцитов доноров после витрификации. Сборник тезисов международной научно-практической конференции «Мать и Дитя». - Москва, 23-26 сентября 2014г.- СПб. Клиника «АВА-ПЕТЕР». - С. 462-463.

8. Калугина А.С., Габараева В.В. Современные возможности сохранения фертильности онкологических пациенток. Собственный опыт. XXIV международная конференция РАРЧ. – Ярославль, 3-6 сентября 2014 г.- СПб Клиника «АВА-ПЕТЕР».