

Влияние поддержки лютеиновой фазы агонистом гонадотропин-рилизинг-гормона на рецептивность эндометрия и исходы программы экстракорпорального оплодотворения

Е.М.Савельева¹, С.Г.Перминова², Т.А.Демура², Д.А.Стрельченко¹

¹ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова Минздрава России. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4;

²ГБОУ ВПО Первый Московский государственный университет им. И.М.Сеченова Минздрава России. 119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

У пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия в окно имплантации выявлены сокращение зрелых пиноподий и экспрессии лейкоингибирующего фактора, дисбаланс прогестероновых и эстрогеновых рецепторов в строме эндометрия, снижение экспрессии гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ), ГнРГ-рецептора и гена гомеобокса-10, что свидетельствует о нарушении рецептивности эндометрия и снижении его имплантационных свойств. Применение препаратов агониста ГнРГ для поддержки лютеиновой фазы оказывает благоприятный эффект на рецептивность эндометрия и клинические исходы программы экстракорпорального оплодотворения.

Ключевые слова: экстракорпоральное оплодотворение, поддержка лютеиновой фазы, агонист гонадотропин-рилизинг-гормона, микронизированный прогестерон, рецептивность эндометрия, гонадотропин-рилизинг-гормон, рецептор гонадотропин-рилизинг-гормона, НОXA10.

✉ perisvet@list.ru

Для цитирования: Савельева Е.М., Перминова С.Г., Демура Т.А., Стрельченко Д.А. Влияние поддержки лютеиновой фазы агонистом гонадотропин-рилизинг-гормона на рецептивность эндометрия и исходы программы экстракорпорального оплодотворения. Гинекология. 2016; 18 (3): 48–53.

Effect of luteal phase support gonadotropin-releasing hormone agonist on the endometrial receptivity and outcomes of in vitro fertilization programs

E.M.Savelyeva¹, S.G.Perminova², T.A.Demura², D.A.Strelchenko¹

¹V.I.Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology of the Ministry of Health of the Russian Federation. 117997, Russian Federation, Moscow, ul. Akademika Oparina, d. 4;

²I.M.Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation. 119991, Russian Federation, Moscow, ul. Trubetskaia, d. 8, str. 2

Patients with tubal infertility in implantation window period show impaired endometrial receptivity with low implantation potentation that is characterized by decrease in mature pinopodes level on endometrium, decreased expression of leukemia inhibitory factor, gonadotropin-releasing-hormone, gonadotropin-releasing-hormone receptors, HOXA10 gene in epithelium and stroma and disbalance in progesterone and estradiol receptors in stroma. The use of gonadotropin-releasing-hormone agonist for luteal phase support has a favorable impact on endometrial receptivity and clinical outcomes of in vitro fertilization programs.

Key words: in vitro fertilization, luteal phase support, gonadotropin-releasing-hormone agonist, micronized progesterone, endometrial receptivity, gonadotropin-releasing-hormone, gonadotropin-releasing-hormone receptors, HOXA10.

✉ perisvet@list.ru

For citation: Savelyeva E.M., Perminova S.G., Demura T.A., Strelchenko D.A. Effect of luteal phase support gonadotropin-releasing hormone agonist on the endometrial receptivity and outcomes of in vitro fertilization programs. Gynecology. 2016; 18 (3): 48–53.

В качестве одной из причин неудач программы экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) предполагают потери на этапе имплантации эмбриона. Это связывают с тем, что стимуляция суперовуляции в программе ЭКО сопровождается супрафизиологическими уровнями стероидов, секретируемых большим количеством желтых тел в начале лютеиновой фазы (ЛФ), которые подавляют секрецию лютеинизирующего гормона по механизму отрицательной обратной связи, что приводит к недостаточности ЛФ [1, 2]. Для поддержки ЛФ используют препараты прогестерона, хорионического гонадотропина человека (ХГЧ), эстрадиола, которые часто назначаются эмпирически. В метаанализе Кохрановского сообщества 2011 и 2015 гг. было отмечено существенное увеличение частоты наступления беременности при использовании комбинированного режима поддержки ЛФ (препараты микронизированного прогестерона в сочетании с препаратами агониста гонадотропин-рилизинг-гормона – аГнРГ) по сравнению со стандартным режимом (препараты микронизированного прогестерона) [3, 4]. Несмотря на то что положительное влияние аГнРГ подтверждено рядом клинических исследований [5–12], нет однозначного мнения об эффективности

данного режима поддержки. Не изучен механизм действия аГнРГ в ЛФ в программе ЭКО [13].

В работе H.Qublan (2008 г.) было выявлено позитивное влияние аГнРГ в ЛФ программы ЭКО на эндометрий [14], которое можно объяснить тем, что ГнРГ и его рецепторы присутствуют в эндометрии женщин на протяжении всего менструального цикла в эпителиальных и стромальных клетках с повышением экспрессии рецепторов ГнРГ (ГнРГR) в децидуализированных стромальных клетках в ЛФ [15, 16].

Цель исследования – оценить влияние аГнРГ для поддержки ЛФ стимулированного цикла на рецептивность эндометрия и эффективность программ ЭКО.

Материалы и методы

В исследование была включена 221 женщина, основную группу составили 207 пациенток с трубно-перитонеальным фактором (ТПФ) бесплодия, которые обратились для проведения программы ЭКО, из них 41 участница имела неудачные попытки программ ЭКО в анамнезе (исследуемая группа для изучения эндометрия). Средний возраст пациенток составил 32,1±0,2 года. Контрольную группу для изучения эндометрия представили 14 здоровых фертиль-

ных женщин, имеющих здоровых детей, средний возраст которых составил $32,2 \pm 0,2$ года.

Стимуляцию функции яичников проводили по фиксированному протоколу с антагонистами ГнРГ (антГнРГ) с использованием препаратов рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) со 2–3-го дня менструального цикла. Введение гонадотропинов начинали при наличии условий для начала стимуляции суперовуляции по данным ультразвукового исследования: отсутствие кист яичников, толщина эндометрия не более 4 мм. Подбор стартовой дозы индуктора осуществляли исходя из параметров овариального резерва пациенток (возраст, уровень ФСГ, антимюллерова гормона, количество антральных фолликулов и ответ на предыдущую стимуляцию). Дозу индуктора корректировали в соответствии с ответом яичников на стимуляцию. При достижении диаметра фолликулов 14–15 мм начинали введение препаратов антГнРГ в дозе 0,25 мг/сут подкожно. В качестве триггера овуляции для финального созревания ооцитов назначали ХГЧ 10 000 МЕ при визуализации 3 и более фолликулов 17 мм и более в диаметре и толщине эндометрия 8–10 мм. Трансвагинальную пункцию яичников осуществляли через 35–36 ч после введения триггера овуляции. Преинкубация, оплодотворение ооцитов, или интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида, а также культивирование эмбрионов осуществлялось в средах для культивирования фирмы Origio (Дания). Оценка качества полученных ооцитов по степени зрелости и эмбрионов осуществлялась на основании общепринятых критериев. Перенос 1–2 эмбрионов проводили на 3–5-е сутки культивирования.

В зависимости от режима ведения ЛФ пациентки были рандомизированы на 2 группы: в 1-й ($n=92$) получили микронизированный прогестерон – 600 мг в день с 1-х суток после оплодотворения и трипторелин – 0,1 мг подкожно на 6-е сутки после оплодотворения, во 2-й группе ($n=115$) – микронизированный прогестерон – 600 мг в день с 1-х суток после оплодотворения.

Аспирационная пайпель-биопсия эндометрия проводилась в естественном цикле из области дна матки с помощью аспирационной коретки Pipelle de Cornier (Laboratoire C.C.D., Франция) на 7–8-й день после овуляции естественного цикла (пик лютеинизирующего гормона + 7).

Материалы биоптатов фиксировали в 10% нейтральном формалине и заключали в парафин, изготавливали срезы толщиной 4 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином. Исследование гистологических препаратов проводилось в световом микроскопе при увеличении от 50 до 600. Гистологическое датирование эндометрия, оценку процента клеток поверхностного эпителия с наличием зрелых пиноподий осуществляли в световом микроскопе при увеличении 400 в 5 полях зрения.

Пиноподии оценивались как избыточные, умеренные и незначительные в зависимости от процента клеток поверхностного эпителия эндометрия с наличием зрелых пиноподий (более 50, 20–50 и менее 20%).

Истологическое и иммуногистохимическое (ИГХ)-исследование эндометрия проводили в лаборатории патоморфологии ФГБУ «НЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова» (руководителем лаборатории на момент проведения исследования являлась доктор медицинских наук, профессор Е.А.Коган). Заключение формулировали в соответствии с современными стандартами, изложенными в общепринятых фундаментальных руководствах (Н.И.Кондриков, 1999) [17].

ИГХ-реакции проводили на серийных депарафинированных срезах толщиной 3–4 мкм по общепринятым методам (Dako protocols).

Определение стероидных рецепторов осуществляли с использованием мышиных моноклональных антител к эстрогеновым рецепторам – ER (клон 1D5 RTU Dako, Дания) и прогестероновым рецепторам – PR-A (клон 636 RTU Dako, Дания). Для выявления экспрессии лейкемия-ингибирующего фактора (LIF) использовали первичные антитела к LIF (R@DSystems, USA, clone: 9824, 1:100), выявления экспрессии ГнРГ – первичные антитела к ГнРГ (поликлональные кроличьи антитела Abscam 1:400), выявления экспрес-

сии ГнРГ и гомеобокса-10 (НОХА10) – первичные антитела к ГнРГ и НОХА10 (поликлональные кроличьи антитела GeneTex 1:100).

Анализ результатов ИГХ-реакций для ER и PR-A проводили с учетом количества окрашенных клеток и интенсивности окраски в железах и строме эндометрия, используя метод гистологического счета H-score по формуле:

$$HS = 1a + 2b + 3c,$$

где a – процент слабо окрашенных клеток, b – процент умеренно окрашенных клеток, c – процент интенсивно окрашенных клеток; 1, 2, 3 – интенсивность окрашивания, выраженная в баллах.

Степень выраженности экспрессии ER и PR-A расценивали следующим образом: 0–10 – отсутствие экспрессии, 11–100 – слабая, 101–200 – умеренная, 201–300 – выраженная. Рассматривали также коэффициент PR/ER, рассчитанный по строме.

Результаты ИГХ-реакции для LIF, ГнРГ, ГнРГ и НОХА10 оценивали полуквантитативным методом в баллах по общепринятой методике: отсутствие иммуноокрашенных клеток (–) – 0 баллов, менее 5% иммуноокрашенных клеток (\pm) – 0,5 баллов, менее 20% иммуноокрашенных клеток (+) – 2 балла, от 20 до 40% окрашенных клеток (++) – 4 балла, более 40% окрашенных клеток (+++) – 6 баллов.

Статистическая обработка данных выполнена на индивидуальном компьютере с использованием программы IBM SPSS Statistics, версия 21. Все полученные в нашем исследовании количественные анэмистические, клинические, лабораторные и инструментальные данные обработаны методом вариационной статистики. Для каждого количественного параметра были определены: среднее значение (M), среднеквадратичное отклонение (δ), ошибка среднего (m), медиана (Me), 95% доверительный интервал, для качественных данных – частоты (%).

При нормальном характере распределения данных результаты представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). При распределении данных, отличных от нормального (значение теста Колмогорова–Смирнова менее 0,05), исследованные количественные показатели представлены в виде $Me (L-H)$, где L – 25 (нижний) квартиль, H – 75 (верхний) квартиль.

С целью сравнения непараметрических данных применяли метод Манна–Уитни (для двух групп) для несвязанных совокупностей; критерий χ^2 для таблиц сопряженности признаков 2×2 , 2×3 и 2×4 (для сравнения частот встречаемости признаков в анализируемых группах). Статистически значимыми считали отличия при $p < 0,05$ (95% уровень значимости).

Результаты

Оценка основных параметров стимулированного цикла при разных режимах поддержки ЛФ показала отсутствие различий в стартовой дозе гонадотропинов в двух группах ($p=0,386$). Суммарная доза индуктора и продолжительность стимуляции суперовуляции также не различались между группами: $1851,7 \pm 68,4$ и $1982,0 \pm 65,3$ МЕ ($p=0,166$) и $8,76 \pm 0,1$ и $9,02 \pm 0,1$ дня; ($p=0,061$); табл. 1.

Эмбриологические параметры в обеих группах были сопоставимы по количеству полученных ооцитов ($9,72 \pm 0,4$ и $9,01 \pm 0,3$; $p=0,130$), зрелых ооцитов – M11 ($7,33 \pm 0,3$ и $6,8 \pm 0,3$; $p=0,247$) и зигот – 2PN ($7,3 \pm 0,3$ и $6,8 \pm 0,3$; $p=0,814$). Не наблюдалось различий в частоте дробления ($5,6 \pm 0,2$ и $5,9 \pm 0,2$; $p=0,792$) и развития эмбрионов до стадии бластоцисты ($4,5 \pm 0,3$ и $4,9 \pm 0,3$; $p=0,549$). Не было выявлено различий по количеству полученных эмбрионов хорошего качества ($1,7 \pm 0,1$ и $1,47 \pm 0,1$; $p=0,062$), перенесенных эмбрионов ($1,85 \pm 0,03$ и $1,83 \pm 0,03$; $p=0,967$) и перенесенных эмбрионов хорошего качества ($1,04 \pm 0,08$ и $0,8 \pm 0,07$; $p=0,047$); см. табл. 1.

В табл. 2 представлены клинические исходы программы ЭКО в зависимости от режима ведения ЛФ.

У пациенток в группе комбинированного режима поддержки ЛФ отмечена более высокая частота биохимической беременности (51,1 и 34,8%; $p=0,02$), имплантации (30,6 и 16,6%; $p < 0,05$), клинической (40,2 и 26,9%; $p=0,04$), прогрессирующей беременности (36,9 и 21,7%; $p=0,01$), родов живым плодом (31,5 и 19,1%; $p=0,04$), многоплодной бе-

Таблица 1. Сравнительные характеристики основных параметров цикла и эмбриогенеза при различных режимах поддержки ЛФ

Параметры, М±m	Основная группа (n=207)		P
	1-я группа (n=92), комбинированный режим поддержки ЛФ	2-я группа (n=115), стандартный режим поддержки ЛФ	
Стартовая доза гонадотропина, МЕ	223,6±6,7	220,0±6,1	0,386
Суммарная доза гонадотропина, МЕ	1851,7±68,4	1982,0±65,3	0,166
Продолжительность стимуляции, дни	8,76±0,1	9,02±0,1	0,061
Получено ооцитов	9,72±0,4	9,01±0,3	0,130
Из них на стадии метафазы (M11)	7,33±0,3	6,8±0,3	0,247
Количество зигот (2PN)	7,3±0,3	6,8±0,3	0,247
Количество эмбрионов на стадии дробления	5,6±0,2	5,9±0,2	0,792
Количество бластоцист	4,5±0,3	4,9±0,3	0,549
Количество полученных эмбрионов хорошего качества	1,7±0,1	1,47±0,1	0,062
Перенесено эмбрионов	1,85±0,038	1,83±0,035	0,967
Перенесено эмбрионов высокого качества	1,04±0,08	0,8±0,07	0,074

Таблица 2. Сравнительные характеристики клинических исходов программы ЭКО в зависимости от режимов поддержки ЛФ

Параметры	Основная группа (n=207)		P
	1-я группа (n=92), комбинированный режим поддержки ЛФ, %	2-я группа (n=115), стандартный режим поддержки ЛФ, %	
Положительный анализ крови на ХГЧ	51,1	34,8	0,02
Частота имплантации	30,6	16,6	<0,05
Частота клинической беременности	40,2	26,9	0,04
Прогрессирующая беременность	36,9	21,7	0,01
Многоплодная беременность	14,3	4,3	0,005
Преждевременные роды	7,6	1,7	0,03
Прерывание беременности	8,7	7,8	0,82
Частота родов живым плодом	31,5	19,1	0,04

Примечание: p<0,05 по сравнению с группой со стандартным режимом поддержки ЛФ (U-критерий Манна-Уитни).

Таблица 3. Экспрессия PR и ER в эндометрии в окно имплантации у пациенток с бесплодием и фертильных женщин

Параметры	Пациентки с бесплодием (n=41); Me (L–H)	Фертильные женщины (n=14); Me (L–H)	P
PR железы	165 (140–180)	160 (132,5–180)	0,980
PR стромы	160 (112,5–177)	170 (110–180)	0,445
ER железы	120 (82,5–147,5)	80 (62,5–102,5)	0,012
ER стромы	35 (20–47)	75 (60–101)	0,001
PR/ER в строме	5,5 (2,45–8,85)	2,7 (2,5–3,14)	0,035
LIF	4,4±0,1	5,8±0,2	0,021

реименности (14,3 и 4,3%; p=0,005) и как следствие – преждевременных родов (7,6 и 1,7%; p=0,03) по сравнению со стандартным режимом поддержки.

На этапе подготовки к программе ЭКО с целью оценки морфофункционального состояния и имплантационного потенциала эндометрия было проведено морфологическое и ИГХ-исследование эндометрия, в окно имплантации естественного цикла у 41 пациентки с ТПФ бесплодия, имеющих неудачные попытки программ ЭКО в анамнезе (основная группа), у 14 фертильных женщин, имеющих здоровых детей.

Анализ морфологической структуры эндометрия показал, что у большинства пациенток основной группы наблюдалась секреторная трансформация эндометрия, при этом ранняя стадия фазы секреции – у 5 (12,2%), средняя – у 32 (78%) и поздняя – у 4 (9,8%). В группе контроля также превалировал эндометрий средней стадии фазы секреции у 13 (92,9%), ранняя стадия фазы секреции наблюдалась у 1 (7,1%) женщины.

В группе пациенток с бесплодием зрелые пиноподии обнаружались у 35 (85,4%), регрессирующие – у 6 (14,6%) пациенток, тогда как в контрольной группе у всех женщин (100%) выявлялись зрелые пиноподии. При этом количе-

ство клеток поверхностного эпителия, содержащих зрелые пиноподии у пациенток основной группы, было существенно ниже, чем в группе контроля – Me 20% (интерквартильный интервал 17–25%) и 30% (интерквартильный интервал 20–35%); p=0,003.

Результаты иммуногистохимии показали, что количество PR у пациенток с бесплодием было сопоставимо с таковыми показателями у фертильных женщин в железах (Me 165 и 160, интерквартильный интервал 140–180 и 132,5–180; p=0,980) и строме (Me 160 и 170, интерквартильный интервал 112,5–177 и 110–180; p=0,445); табл. 3.

У пациенток с бесплодием Me экспрессии ER в железах составила 120 (интерквартильный интервал 82,5–147,5), в строме – 35 (интерквартильный интервал 20–47). У фертильных женщин Me экспрессии ER в железах составила 80 (интерквартильный интервал 62,5–102,5), что было существенно ниже, чем в исследуемой группе (p=0,012). В строме Me экспрессии ER составила 75 (интерквартильный интервал 60–101), что было достоверно выше, чем в исследуемой группе (p=0,001).

Коэффициент PR/ER в строме эндометрия в основной группе был значительно выше по сравнению с контрольной (Me 5,5 и 2,7; p=0,035).

Таблица 4. Сравнительная характеристика ИГХ-экспрессии ГнРГ в эндометрии у пациенток с бесплодием и фертильных женщин

Локализация маркера	Пациентки с бесплодием (n=41); Ме (L–H), баллы	Фертильные женщины (n=14); Ме (L–H), баллы	p
ГнРГ, поверхностный эпителий	2 (2–4)	5 (4–6)	0,0001
ГнРГ, эпителий желез	2 (1–2)	4 (2,75–4)	0,0001
ГнРГ, строма	1 (1–2)	2 (2–4)	0,0001
ГнРГР, поверхностный эпителий	1 (0,5–1)	4 (3,2–4)	0,0001
ГнРГР, эпителий желез	1 (0,5–1)	3,7 (2,5–4)	0,0001
ГнРГР, строма	0,75 (0,5–1)	4 (2,3–4)	0,0001

Таблица 5. Сравнительная характеристика ИГХ-экспрессии НОХА10 в эндометрии у пациенток с бесплодием и фертильных женщин

Локализация маркера	Пациентки с бесплодием (n=41); Ме (L–H), баллы	Фертильные женщины (n=14); Ме (L–H), баллы	p
НОХА10, поверхностный эпителий	4 (4–6)	6 (4–6)	0,043
НОХА10, эпителий желез	4 (4–6)	6 (4,3–6)	0,049
НОХА10, строма	4 (4–4)	6 (4,4–6)	0,0001

Таблица 6. Сравнительная характеристика ИГХ-экспрессии ГнРГ, ГнРГР и НОХА10 у пациенток с бесплодием в зависимости от режима ведения ЛФ

Локализация маркера	Пациентки с бесплодием (n=41)		p
	1-я группа (n=20), комбинированный режим поддержки ЛФ; Ме (L–H), баллы	2-я группа (n=21), стандартный режим поддержки ЛФ; Ме, (L–H)	
ГнРГ, поверхностный эпителий	2 (2–4)	2 (2–4)	0,708
ГнРГ, эпителий желез	2 (1–2)	2 (1–2)	0,848
ГнРГ, строма	1 (0,6–2)	1 (1–2)	0,899
ГнРГР, поверхностный эпителий	1 (0,1–1)	1 (0,5–1,5)	0,269
ГнРГР, эпителий желез	0,75 (0,1–1)	1 (0,5–1)	0,222
ГнРГР, строма	0,75 (0,5–1)	1 (0,5–1)	0,998
НОХА10, поверхностный эпителий	5 (4–6)	4 (4–6)	0,488
НОХА10, эпителий желез	4 (2–4)	4 (4–4)	0,079
НОХА10, строма	6 (4–6)	4 (4–6)	0,442

Таблица 7. Частота наступления беременности в программе ЭКО у пациенток со сниженной экспрессией ГнРГ, ГнРГР и НОХА10 в эндометрии в зависимости от режима поддержки ЛФ

Параметр	Пациентки с бесплодием (n=41)		p
	1-я группа (n=20), комбинированный режим поддержки ЛФ	2-я группа (n=21), стандартный режим поддержки ЛФ	
Частота наступления беременности	45%	15%	0,03

Экспрессия LIF в основной группе составила $4,4 \pm 0,1$ балла, что достоверно ниже, чем в контрольной группе – $5,8 \pm 0,2$; $p=0,02$ (см. табл. 3).

В работе впервые оценивалась экспрессия ГнРГ и ГнРГР (табл. 4).

Анализ иммуногистохимии показал, что уровни экспрессии ГнРГ у пациенток с бесплодием были значительно ниже по сравнению с группой фертильных женщин в поверхностном эпителии (Ме 2 и 5, интерквартильный интервал 2–4 и 4–6; $p=0,0001$), эпителии желез (Ме 2 и 4, интерквартильный интервал 1–2 и 2,75–4; $p=0,0001$) и строме (Ме 1 и 2, интерквартильный интервал 1–2 и 2–4; $p=0,0001$). Уровень экспрессии ГнРГР также был существенно ниже в исследуемой группе по сравнению с контрольной в поверхностном эпителии (Ме 1 и 4, интерквартильный интервал 0,5–1 и 3,2–4; $p=0,0001$), эпителии желез (Ме 1 и 3, 7, интерквартильный интервал 0,5–1 и 2,5–4; $p=0,0001$) и строме (Ме 0,75 и 4, интерквартильный интервал 0,5–1 и 2,3–4; $p=0,0001$).

Уровни экспрессии НОХА10 в исследуемой группе были существенно ниже по сравнению с контрольной в поверхностном эпителии (Ме 4 и 6, интерквартильный интервал 4–6 и 4–6; $p=0,043$), эпителии желез (Ме 4 и 6, интерквартильный интервал 4–6 и 4,3–6; $p=0,049$) и строме (Ме 4 и 6, интерквартильный интервал 4–4 и 4,4–6; $p=0,0001$); табл. 5.

Таким образом, в целом у пациенток с ТПФ бесплодия в окно имплантации отмечено снижение количества зрелых пиноподий, дисбаланс PR/ER в строме, снижение экспрессии LIF, ГнРГ, ГнРГР и НОХА10, что свидетельствует о нару-

шении рецептивности эндометрия и снижении его имплантационных свойств у данного контингента женщин.

Учитывая полученные результаты исследования, для уточнения механизма действия аГнРГ в ЛФ программы ЭКО на эндометрий на следующем этапе исследования был проведен сравнительный анализ экспрессии ГнРГ, ГнРГР и НОХА10 у пациенток с бесплодием в зависимости от режима поддержки ЛФ (табл. 6).

Поскольку полученные данные показали сопоставимые уровни экспрессии ГнРГ, ГнРГР и НОХА10 в двух группах ($p>0,05$), далее была проведена оценка частоты наступления беременности у исследуемых пациенток в зависимости от режима поддержки ЛФ (табл. 7).

Таким образом, при исходно низких уровнях экспрессии ГнРГ, ГнРГР и НОХА10 у пациенток с бесплодием в обеих группах частота наступления беременности была достоверно выше в группе женщин, получавших комбинированный режим поддержки ЛФ (45 и 15%; $p=0,03$), что может являться подтверждением влияния аГнРГ на эндометрий и осуществляться за счет стимуляции аГнРГ рецепторов ГнРГ в эндометрии.

Обсуждение

В последние годы предметами активного обсуждения являются новый комбинированный режим поддержки ЛФ (микронизированный прогестерон в сочетании с аГнРГ) и его влияние на эффективность программы ЭКО. Большой интерес связан с публикациями ряда исследований, в кото-

рых отмечено существенное увеличение частоты наступления беременности у пациенток, получавших комбинированную поддержку ЛФ в программах ЭКО по сравнению со стандартной поддержкой ЛФ [5–12, 14].

Однако на сегодняшний момент почти отсутствуют данные о механизме влияния аГнРГ в ЛФ стимулированного цикла. Существуют гипотезы, описывающие три механизма действия аГнРГ: на желтое тело, эндометрий и/или эмбрион.

Предположительно аГнРГ воздействует на эндометрий через локальную экспрессию ГнРГР [15, 16]. В работе F.Raga и соавт. (1998 г.) исследовали экспрессию матричной РНК (мРНК) ГнРГ и ГнРГР в эндометрии фертильных женщин в динамике менструального цикла [15]. Было показано, что ГнРГ и ГнРГР присутствуют в эндометрии женщин на протяжении всего менструального цикла как в эпителии, так и в строме с повышением экспрессии ГнРГ и ГнРГР в секреторную фазу по сравнению с фазой пролиферации. Кроме того, были показаны наиболее высокие уровни мРНК ГнРГ и ГнРГР в децидуализированных стромальных клетках в ЛФ [15]. Результаты нашего исследования показали существенное снижение экспрессии ГнРГ у пациенток с бесплодием в поверхностном эпителии – в 1,75 раза, эпителии желез – в 1,9 раза и строме – в 2 раза, ГнРГР в поверхностном эпителии – в 4,2 раза, эпителии желез – в 4,1 раза, строме – в 4,5 раза в сравнении с группой фертильных женщин ($p=0,0001$). В ходе морфологического и ИГХ-исследования у пациенток с бесплодием было выявлено снижение имплантационных свойств эндометрия: более низкое количество клеток поверхностного эпителия, содержащих зрелые пиноподии (Me 20 и 30%; $p=0,035$), снижение уровня экспрессии LIF ($4,4\pm 0,1$ и $5,8\pm 0,2$; $p=0,02$), увеличение коэффициента PR/ER в строме (Me 5,5 и 2,7; $p=0,035$).

Известно, что процесс синхронизации между развитием эмбриона и рецептивным эндометрием регулируется молекулярным механизмом, опосредованным гомеобоксными (НОХА) генами, которые кодируют факторы транскрипции, в связи с этим НОХА10 ассоциируют с нарушением рецептивности эндометрия у пациенток с бесплодием. По данным D.Vitielle и соавт. (2007 г.), экспрессия генов НОХА10 и НОХА11 в эндометрии достигает максимума в окно имплантации естественного цикла [18]. В нашем исследовании экспрессия НОХА10 в эндометрии была ниже у пациенток с бесплодием по сравнению с фертильными женщинами в эпителии ($p=0,043$) и строме ($p=0,0001$).

Проведенный анализ влияния аГнРГ на эффективность программ ЭКО показал более высокую частоту наступления клинической (40,2 и 26,9%; $p=0,04$), прогрессирующей беременности (36,9 и 21,7%; $p=0,01$) и родов живым плодом (31,5 и 19,1%; $p=0,04$) в группе комбинированной поддержки ЛФ по сравнению со стандартной поддержкой. Полученные в нашем исследовании результаты согласуются с данными исследования Hsiao-Fan Kung и соавт. (2014 г.), в котором частота наступления клинической беременности была достоверно выше в группе с аГнРГ (49 и 33,3%; $p<0,05$) [6]. В работе J.Tesrik и соавт. (2006 г.) было показано увеличение частоты прогрессирующей беременности в группе комбинированной поддержки ЛФ по сравнению с контрольной в протоколе как с аГнРГ, так и с антГнРГ: 46,8 и 38% ($p<0,05$) и 44,8 и 31,9 ($p<0,05$) [11]. В исследовании A.Gulsah и соавт. (2014 г.) отмечена более высокая частота многоплодной беременности в группе аГнРГ (12, 17,9% против 4,2%, $p=0,014$) [5]. Результаты нашего исследования также выявили более высокую частоту многоплодной беременности (14,1 и 4,3%; $p=0,005$) и как следствие – преждевременных родов в группе с комбинированным режимом поддержки ЛФ ($p=0,03$), что свидетельствует о целесообразности совмещения данного режима поддержки ЛФ с селективным переносом одного эмбриона.

Результаты исследования продемонстрировали позитивное влияние аГнРГ на имплантационный потенциал эндометрия, что проявлялось в увеличении частоты наступления беременности у пациенток с нарушенной рецептивностью эндометрия, получавших комбинированную поддержку ЛФ (45 и 15%; $p=0,03$). Аналогичные результаты были получены в исследовании H.Qublan (2008 г.), в кото-

ром положительный эффект аГнРГ для поддержки ЛФ был отмечен у пациенток с тонким эндометрием [14]. Действие аГнРГ на эндометрий может объясняться тем, что локальная экспрессия ГнРГ трофобластом и присутствие его рецепторов в децидуализированном эндометрии играют важную роль в диалоге между бластоцистой и эндометрием на стадии ранней имплантации, что осуществляется путем модуляции баланса между матриксными металлопротеиназами и их ингибиторами [15, 16]. Благодаря специфическому ингибированию тканевых ингибиторов металлопротеиназы повышается инвазивная способность трофобласта, что ведет к более успешной имплантации бластоцисты.

Полученные данные показали, что добавление препаратов аГнРГ к микронизированному прогестерону для поддержки ЛФ оказывает благоприятный эффект на исходы программы ЭКО. Увеличение многоплодной беременности и как следствие – преждевременных родов при использовании комбинированного режима поддержки ЛФ свидетельствует о целесообразности его совмещения с селективным переносом одного эмбриона. Результаты нашего исследования выявили у пациенток с ТПФ бесплодия и неудачными программами ЭКО в анамнезе более низкое количество клеток поверхностного эпителия, содержащих зрелые пиноподии, снижение уровня экспрессии LIF, дисбаланс PR/ER в строме, что свидетельствует о нарушении рецептивности эндометрия у данных женщин. Обнаруженное снижение экспрессии ГнРГ, ГнРГР, НОХА10 в эндометрии у пациенток с бесплодием может явиться значимым маркером, ассоциированным с нарушением рецептивности и имплантационного потенциала эндометрия. При этом полученные в ходе исследования результаты об увеличении частоты наступления беременности у пациенток с нарушенной рецептивностью эндометрия и снижением экспрессии ГнРГ, ГнРГР и НОХА10 в группе женщин с комбинированной поддержкой ЛФ могут свидетельствовать о позитивном влиянии аГнРГ на эндометрий.

Литература/References

1. Beckers NG, Macklon NS, Eijkemans MJ et al. Nonsupplemented luteal phase characteristics after the administration of recombinant human chorionic gonadotropin, recombinant luteinizing hormone, or gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce final oocyte maturation in vitro fertilization patients after ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone and GnRH antagonist cotreatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 4186–92.
2. Fauser BC, Devroey P. Reproductive biology and IVF: ovarian stimulation and luteal phase consequences. *Trends Endocrinol Metab* 2003; 14: 236–42.
3. Van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C et al. *Luteal phase support for assisted reproduction cycles (Review)* Copyright© 2015 The Cochrane Collaboration. Published by John Wiley & Sons, Ltd.
4. Van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C et al. Editorial Group: *Cochrane Menstrual Disorders and Subfertility Group* Published Online: 5 oct 2011. Assessed as up-to-date: 25 may 2011.
5. Gulsah Aynaoglu Yxdxza, Yavuz Emre Sukura, Can Ates, Rusen Aytaca. The addition of gonadotropin releasing hormone agonist to routine luteal phase support in intracytoplasmic sperm injection and embryo transfer cycles: a randomized clinical trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014; 182: 66–70.
6. Hsiao-Fan Kung, Ming-Jer Chen, Hua-Fen Guua et al. Luteal phase support with decapeptyl improves pregnancy outcomes in intracytoplasmic sperm injection with higher basal follicle-stimulating hormone or lower mature oocytes. *J Chin Med Assoc* 2014; 77: 524–30.
7. Isik AZ, Caglar GS, Sozen E et al. Single-dose GnRH agonist administration in the luteal phase of GnRH antagonist cycles: a prospective randomized study. *Reprod Biomed Online* 2009; 19: 472–7.
8. Isikoglu M, Ozgur K, Oebninger S. Extension of GnRH agonist through the luteal phase to improve the outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 2001; 16: 1671–5. *J Reprod Med* 2007; 52 (7): 639–44.
9. Mohamed AAboulghar, Heba Marie, Yabia M Amin et al. GnRH agonist plus vaginal progesterone for luteal phase support in ICSI cycles: a randomized study. *Reprod Biomed Online* 2015; 30: 52–6.
10. Raziab DF, Maryam AR, Nasim T. Beneficial effect of luteal-phase gonadotropin-releasing hormone agonist administration on implanta-

- tion rate after intracytoplasmic sperm injection. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2009; 48: 245–8.
11. Tesarik J, Hazout A, Mendoza-Tesarik R et al. Beneficial effect of luteal-phase GnRH agonist administration on embryo implantation after ICSI in both GnRH agonist- and antagonist-treated ovarian stimulation cycles. *Hum Reprod* 2006; 21: 2572–9.
 12. Zafardoust S, Jeddi-Tebrani M, Akbondi MM et al. Effect of Administration of Single Dose GnRH Agonist in Luteal Phase on Outcome of ICSI-ET Cycles in Women with Previous History of IVF/ICSI Failure: A Randomized Controlled Trial. *J Reprod Infertil* 2015; 16 (2): 96–101.
 13. Pirard C, Donnez J, Loumaye E. GnRH agonist as novel luteal support: results of a randomized, parallel group, feasibility study using intranasal administration of buserelin. *Hum Reprod* 2005; 20: 1798–804.
 14. Qublan H, Amarin Z, Al-Quda M et al. Luteal phase support with GnRH-a improves implantation and pregnancy rates in IVF cycles with endometrium of [less-than or equal to] 7 mm on day of egg retrieval. *Hum Fertil* 2008; 11 (1): 43–7.
 15. Raga F, Casan EM, Kruessel JS et al. Quantitative gonadotropin-releasing hormone gene expression and immunohistochemical localization in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Biol Reprod* 1998; 59: 661–9.
 16. Raga F, Casan EM, Wen Y et al. Independent regulation of matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1), and TIMP-3 in human endometrial stromal cells by gonadotropin-releasing hormone: implications in early human implantation. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 636–42.
 17. Кондриков Н.И. Структурно-функциональные изменения эндометрия под воздействием стероидных гормонов. *Журн. практического гинеколога*. 1999; 1 (1): 12–9. / Kondrikov N.I. Strukturno-funktsional'nye izmeneniia endometriia pod vozdeistviem steroidnykh gormonov. *Zhurn. prakticheskogo ginekologa*. 1999; 1 (1): 12–9. [in Russian]
 18. Vitielle D. HOX Genes in Implantation. *Seminars Reprod Med* 2007; 25: 431–6.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Савельева Елена Маратовна – аспирант 1-го гинекологического отд-ния ФГБУ НЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова. E-mail: elena-galliamova@rambler.ru

Перминова Светлана Григорьевна – д-р мед. наук, вед. науч. сотр. 1-го гинекологического отд-ния ФГБУ НЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова. E-mail: perisvet@list.ru

Демура Татьяна Александровна – д-р мед. наук, проф. каф. патологической анатомии им. А.И.Струкова ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова.

E-mail: demura-t@yandex.ru

Стрельченко Дарья Андреевна – аспирант 1-го гинекологического отд-ния ФГБУ НЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова. E-mail: da_strelchenko@mail.ru