

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИМЮЛЛЕРОВА ГОРМОНА И ДОПЛЕРОМЕТРИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВΟΣНАБЖЕНИЯ ЯИЧНИКОВ В ДИАГНОСТИКЕ СИНДРОМА СЛАБОГО ОТВЕТА ЯИЧНИКОВ

Проф. В. А. ПИТЬКО, О. А. ЛОГИНОВА, доц. А. И. ТКАЧЕВ

ГУ «Украинский медицинский центр акушерства, гинекологии и репродуктологии МЗ Украины, Харьков»

Для установления степени вероятности развития синдрома слабого ответа яичников в программах вспомогательных репродуктивных технологий при контролируемой стимуляции яичников проведена сравнительная характеристика двух методов диагностики: определения в плазме крови антимюллера гормона и доплерометрического исследования кровоснабжения яичников. Доплерометрическое исследование кровоснабжения яичников во всех клинических наблюдениях указывает на вероятный ответ яичников на протоколы стимуляции, тогда как уровень антимюллера гормона может быть как ниже нормы у женщин с нормальным ответом яичников, так и иметь нормальные значения у пациенток со слабым ответом яичников.

Ключевые слова: антимюллеров гормон, доплерометрическое исследование, синдром слабого ответа яичников, контролируемая стимуляция яичников.

Последние два десятилетия характеризуются стремительным развитием и широким внедрением в практику лечения бесплодных супружеских пар вспомогательных репродуктивных технологий, и прежде всего методики оплодотворения *in vitro* [1, 2]. Однако выяснилось, что не у всех пациенток программ вспомогательных репродуктивных технологий фолликулярный аппарат яичников одинаково реагирует (отвечает) на вводимые стандартные дозы фолликулостимулирующего гормона при проведении контролируемой стимуляции яичников (КСЯ) с целью получения мультифолликулярного роста. Данное состояние получило название синдрома слабого ответа яичников (ССОЯ) и характеризуется добавлением к концу протокола контролируемой стимуляции яичников 3–5 преовуляторных фолликулов и/или ооцитов при пункции [3–7]. Такой ответ яичников на стимуляцию снижает результативность проводимых программ, приводя к высоким экономическим затратам на лечение. В связи с этим прогнозирование возможного ответа яичников на контролируемую стимуляцию является актуальной задачей современной репродуктологии. Имея возможность предвидеть ответ яичников на проводимые программы, врачи репродуктивной медицины могут своевременно проводить коррекцию лечения, меняя по мере необходимости его тактику и методики [8, 9].

Цель работы — провести сравнительную характеристику эффективности определения антимюллера гормона и доплерографического исследования кровоснабжения яичников в диагностике ССОЯ.

Под нашим наблюдением находилось 109 пациенток с бесплодием, из которых — 35 (32,1%) с нормальным ответом яичников на проводимую стимуляцию (неудачные попытки лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий в анамнезе), они составили I клиническую группу, II клиническая группа — 38 (34,9%) пациенток с ССОЯ (диагноз установлен при предыдущих попытках проведения программы ЭКО), лечение проводилось по длинному «лютеиновому» протоколу и III клиническая группа — 36 (33,0%) пациенток с ССОЯ (диагноз установлен впервые на основании диагностических критериев при проведении исследования на антимюллера гормон и доплерометрического исследования состояния кровоснабжения яичников), лечение проводилось по разработанному нами модифицированному протоколу. II клиническая группа в начале обследования была разделена на подгруппу с афолликулярным типом строения яичников — 16 пациенток и на подгруппу с фолликулярным — 22 пациентки. III клиническая группа была разделена на подгруппу с афолликулярным типом строения яичников — 15 пациенток и на подгруппу с фолликулярным — 21 пациентка. Возраст пациенток варьировал от 27 до 43 лет и составил в среднем $35 \pm 2,1$ года. Следует отметить, что в I клинической группе возраст пациенток составил в среднем $31 \pm 1,7$ года, во II клинической группе — $36,8 \pm 2,0$ года и в III клинической группе — $37,2 \pm 2,2$ года, т. е. можно считать, что возрастной состав пациенток II и III клинических групп был сопоставим между собой, тогда как возрастной контингент I клинической группы был моложе по возрасту.

Трансвагинальное ультразвуковое исследование органов малого таза и доплерометрическое исследование яичникового кровотока проводились на аппарате экспертного класса «Philips HD-11» с использованием трансвагинального датчика с частотой сканирования 7,5 МГц, в режиме сканирования двухмерной серой шкалы (B-mode), цветного доплеровского картирования (C-mode) и импульсного спектрального доплеровского режима (D-mode). При трансвагинальной эхографии органов малого таза вычислялся объем яичников и проводился подсчет фолликулов. При доплерометрическом исследовании визуализировались цветные локусы, соответствующие расположению сосудов, и оценивались особенности их васкуляризации. Для получения доплеровской кривой выбирались те локусы, размер и окно которых строго соответствовали обследуемой зоне. Угол сканирования был в пределах 50–60°, базовая линия устанавливалась по центру скоростной шкалы, мощность выбирали максимальной, при которой не было артефактов. Для подавления возникающих шумов (цветовых артефактов) использовали частотный фильтр.

Анализ кривой скорости кровотока проводился на протяжении не менее двух последовательных сердечных циклов. Полученные данные затем усредняли. При исследовании доплеровской кривой обращали внимание на особенности ее формы: тип 0 — диастолический кровоток полностью отсутствует, тип А — диастолический кровоток присутствует на протяжении всего сердечного цикла, тип В — отсутствует поздний диастолический кровоток, тип С — отсутствует ранний диастолический кровоток, тип D — диастолический кровоток отсутствует в раннюю диастолу, присутствует в среднюю и отсутствует в позднюю диастолу.

Для количественной интерпретации спектральных кривых скоростей кровотока использовали такие показатели доплерометрического исследования, как индекс резистентности (ИР) и пульсационный индекс (ПИ). Допплерометрическое исследование проводили в начале комплексной диагностики обследования пациенток — кандидаток на лечение методами вспомогательных репродуктивных технологий с применением контролируемой стимуляции яичников.

В комплекс обследования было включено и обследование по установлению в плазме крови содержания антимюллера гормона. Исследование выполнялось с использованием иммуноферментного набора «AMH Gen II ELISA» (Beckman Coulter, Inc., США). Забор крови проводился утром натощак из локтевой вены. Определение антимюллера гормона основано на принципе ферментно-усиленного «двухступенчатого» сэндвич-контроля. При проведении анализа стандарты, контроль и образцы пациенток инкубировались в микропланшетных ячейках, покрытых антителами к антимюллерову гормону. После инкубации и промывки ячейки обрабатывались

биотинилированными антителами к антимюллерову гормону. После второй инкубации и последующей промывки добавлялся стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена. После третьей инкубации и последующей промывки ячейки инкубировались с субстратом хреногенного раствора. Затем добавлялся стоп-раствор и определялось количество превращенного ферментом субстрата путем измерения оптической плотности при длинах волн 450 и между 600 и 630 нм. Измеренное поглощение прямо пропорционально концентрации присутствующего антимюллера гормона. Набор стандартов антимюллера гормона использовался для построения стандартной кривой поглощения, по которой можно было рассчитать его неизвестные концентрации в исследуемых образцах.

Определение антимюллера гормона было проведено в I клинической группе у 19 (54,2%) пациенток, во II — у 22 (57,8%), в III — у 20 (55,5%). В I клинической группе установлен достоверно более высокий уровень антимюллера гормона ($1,94 \pm 0,22$), чем у пациенток с ССОЯ: во II клинической группе он составил $1,31 \pm 0,27$ и в III — $1,29 \pm 0,25$. Данные о распределении уровней антимюллера гормона по клиническим группам представлены в табл. 1.

В I клинической группе отмечалось колебание уровней антимюллера гормона в пределах от 0,1 нг/мл до 2,9 нг/мл, во II — от 0,05 нг/мл до 2,4 нг/мл, в III — от 0,1 нг/мл до 2,3 нг/мл. Таким образом, нами было установлено, что во всех клинических группах имеет место пересечение значений уровней антимюллера гормона. Однако разделение частоты, с которой встречаются те или иные значения уровней антимюллера гормона, существенно отличаются по группам. Так, у пациенток I клинической группы в 17 (89,5%) случаях определялись уровни антимюллера гормона, превышающие 1 нг/мл, и в 2 (10,5%) случаях уровни гормона были ниже нормы и по своим значениям могли указывать на вероятность развития ССОЯ, хотя таковых на практике не наблюдалось и ответ яичников был нормальным, адекватным проводимому лечению. Во II клинической группе уровень антимюллера гормона в 59,1% наблюдений был ниже нормы, а в 40,9% случаев входил в установленные параметры нормальных значений. В III клинической группе уровень значений антимюллера гормона был ниже нормального в 60,0% клинических наблюдений и в 40,0% случаев — в пределах нормы. Во II и III клинических группах уровни значений антимюллера гормона больше приближались к нижней границе нормы. На основании полученных результатов исследования уровней антимюллера гормона нами был сделан вывод о том, что близкие значения его уровней у пациенток с нормальным ответом яичников на стимуляцию и со слабым ответом не позволяют нам рассматривать антимюллеров гормон как абсолютный критерий

Таблица 1

Распределение уровней антимюллера гормона по клиническим группам

Концентрация АМГ (нг/мл)	Группы					
	I		II		III	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%
0–1	2	10,5	13	59,1	12	60,0
1,0–1,5	6	31,7	5	22,7	5	25,0
1,5–2,0	5	26,3	2	9,1	2	10,0
2,0–2,5	4	21,0	2	9,1	1	5,0
> 2,5	2	10,5	—	—	—	—

Таблица 2

Показатели кровотока в яичниках пациенток клинических групп в начале комплексного обследования

Показатель	Группы				
	I	II		III	
	фолликулярный тип строения яичников, <i>n</i> = 35	ССОЯ с афолликулярным типом, <i>n</i> = 16	ССОЯ с фолликулярным типом, <i>n</i> = 22	ССОЯ с афолликулярным типом, <i>n</i> = 15	ССОЯ с фолликулярным типом, <i>n</i> = 21
ПИ яичниковой артерии правого яичника	1,20±0,05	2,51±0,08*	2,07±0,17*	1,74±0,11*	1,41±0,07*
ПИ яичниковой артерии левого яичника	1,11±0,04	3,20±0,05*	2,40±0,16*	3,15±0,18*	1,92±0,18*
ИР яичниковой артерии правого яичника	0,75±0,09	1,64±0,05*	1,30±0,12*	1,73±0,06*	1,07±0,11*
ИР яичниковой артерии левого яичника	0,72±0,06	1,83±0,07*	1,53±0,05*	1,64±0,12*	1,36±0,09*
ПИ стромы правого яичника	0,99±0,05	3,42±0,09*	2,57±0,23*	3,23±0,06*	1,82±0,26*
ПИ стромы левого яичника	1,11±0,17	2,88±0,07*	2,05±0,12*	3,78±0,15*	2,03±0,24*
ИР стромы правого яичника	0,67±0,08	2,40±0,22*	1,08±0,14*	1,52±0,04*	0,96±0,26*
ИР стромы левого яичника	0,55±0,06	0,87±0,03*	0,76±0,02*	1,02±0,06*	0,66±0,06*

* $p < 0,05$ по сравнению с показателями пациенток I клинической группы, установленными на момент начала обследования.

ответа яичников в программах вспомогательных репродуктивных технологий.

Допплерометрическое исследование кровоснабжения яичников было проведено всем пациенткам клинических групп в начале комплексного обследования (табл. 2).

Показатели сосудистого сопротивления во II и III клинических группах были достоверно выше, чем в I клинической группе. Сравнивая полученные значения, мы сделали вывод о том, что на развитие ССОЯ с афолликулярным типом строения яичников указывает повышение ИР более чем в 1,5 раза и ПИ более чем в 2 раза

по сравнению с соответствующими показателями, характерными для нормального ответа яичников. Для фолликулярного типа строения яичников при синдроме их слабого ответа характерно повышение ИР сверх нормы, но не более чем в 1,5 раза и ПИ больше нормы, но не более чем в 2 раза.

Таким образом, в результате проведенных нами исследований можно сделать следующие выводы.

Допплерометрическое исследование кровоснабжения яичников как метод прогнозирования ответа яичников в программах вспомогательных репродуктивных технологий является более точным и надежным по сравнению с определением

в плазме крови уровня антимюллера гормона, так как полученные при исследовании значения индексов сосудистого сопротивления (ИР и ПИ) в проведенном нами исследовании ни разу не

перекрещивались с аналогичными показателями доплерометрического исследования у пациенток с нормальным ответом яичников на проводимую контролируемую стимуляцию.

Список литературы

1. Дахно Ф. В. Новые достижения в решении проблемы бесплодия / Ф. В. Дахно // *Жіночий лікар*.— 2008.— № 3.— С. 18.
2. Боярский К. Ю. Лечение женского и мужского бесплодия / К. Ю. Боярский // *Вспомогательные репродуктивные технологии*; под ред. В. И. Кулакова [и др.].— М., 2005.— С. 53–61.
3. Боярский К. Ю. Старение репродуктивной системы и результативность вспомогательных репродуктивных технологий (обзор литературы) / К. Ю. Боярский // *Проблемы репродукции*.— 1996.— № 4.— С. 57–62.
4. Боярский К. Ю. Функциональные тесты, определяющие овариальный резерв, и вспомогательные репродуктивные технологии / К. Ю. Боярский // *Проблемы репродукции*.— 1998.— № 3.— С. 26–31.
5. Дахно Ф. В. Допоміжні репродуктивні технології лікування безпліддя: навч. посіб. / Ф. В. Дахно, В. В. Камінський, О. М. Юзько.— К., 2011.— 338 с.
6. Влияние резекции яичников на их функциональный резерв / В. С. Корсак, В. Н. Парусов, А. А. Кирсанов, Э. В. Исакова // *Проблемы репродукции*.— 1996.— № 4.— С. 63–67.
7. Краснопольская К. В. Феномен «бедного» ответа яичников на стимуляторы суперовуляции в программах ЭКО (обзор литературы) / К. В. Краснопольская, А. С. Калугина // *Проблемы репродукции*.— 2003.— Т. 10, № 1.— С. 51–58.
8. Кулаков В. И. Современные подходы к диагностике и лечению женского бесплодия / В. И. Кулаков, И. Е. Корнеева // *Акушерство и гинекология*.— 2002.— № 2.— С. 56–59.
9. Милютин М. А. Экстракорпоральное оплодотворение у пациенток со сниженным ответом яичников на стимуляцию суперовуляции / М. А. Милютин // *Акушерство и гинекология*.— 2007.— № 3.— С. 26–28.

ВИЗНАЧЕННЯ АНТИМЮЛЛЕРОВА ГОРМОНА І ДОПЛЕРОМЕТРИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ КРОВОПОСТАЧАННЯ ЯЄЧНИКІВ У ДІАГНОСТИЦІ СИНДРОМУ СЛАБКОЇ ВІДПОВІДІ ЯЄЧНИКІВ

В. А. ПІТЬКО, О. О. ЛОГІНОВА, О. І. ТКАЧОВ

Для встановлення ступеня вірогідності розвитку синдрому слабкої відповіді яєчників у програмах допоміжних репродуктивних технологій при контрольованій стимуляції яєчників проведено порівняльну характеристику двох методів діагностики: визначення в плазмі крові антимюллера гормона та доплерометричного дослідження кровопостачання яєчників. Доплерометричне дослідження кровопостачання яєчників у всіх клінічних спостереженнях свідчить про вірогідну відповідь яєчників на протоколи стимуляції, тоді як рівень антимюллера гормона може бути як нижчим за норму у жінок із нормальною відповіддю яєчників, так і мати нормальні значення у пацієток зі слабкою відповіддю яєчників.

Ключові слова: антимюллерів гормон, доплерометричне дослідження, синдром слабкої відповіді яєчників, контрольована стимуляція яєчників.

ANTI-MULLER HORMONE DETECTION AND DOPPLER STUDY OF OVARY BLOOD SUPPLY IN DIAGNOSIS OF POOR OVARIAN RESPONSE SYNDROME

V. A. PITKO, O. A. LOGINOVA, A. I. TKACHEV

In order to establish the probability of development of poor ovarian response syndrome at assisted reproductive technologies with controlled ovarian stimulation, comparative analysis of two diagnostic methods (determining plasma anti-Muller hormone and ovarian blood flow Doppler investigation) were compared. Doppler investigation of ovarian blood supply in all clinical observations indicated the likely response of ovaries to stimulation protocols, whereas anti-Muller hormone levels may be both below the norm in women with normal ovarian response and have normal values in patients with poor ovarian response.

Key words: anti-Muller hormone, Doppler investigation, syndrome of poor ovarian response, controlled ovarian stimulation.

Поступила 08.04.2013