

УДК 618.111-007.1; 618.177

© Н. А. Щербина, О. Г. Градиль, 2013.

## ОЦЕНКА ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ОВАРИАЛЬНОГО РЕЗЕРВА У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ

**Н. А. Щербина, О. Г. Градиль***Кафедра акушерства и гинекологии №1 (зав. – профессор Н. А. Щербина), Харьковский национальный медицинский университет; 61022, Украина, г. Харьков, пр. Ленина, 4; E-mail: hnmu\_akusherstvo1@ukr.net*

### ASSESSMENT OF AGE CHANGES OF OVARIAN RESERVE IN INFERTILE WOMEN

**N. A. Shcherbina, O. G. Gradil**

#### SUMMARY

The analysis of the data in literature points to a rapid development of assisted reproductive technologies and emphasizes the need to refine the procedures used. In the main group and the control one, we have studied the functional state of the hypothalamic-pituitary-ovarian system and sex steroid hormones in the blood serum; the pathomorphogenesis of the ovarian dysfunction has been investigated. The data allowed to formulate the concept of the ovarian reserve, highlight the characteristics of the normal, reduced and very low ovarian reserve, and study the correlation between the ovarian reserve and poor ovarian response.

### ОЦІНКА ВІКОВИХ ЗМІН ОВАРІАЛЬНОГО РЕЗЕРВУ У ЖІНОК З БЕЗПЛІДДЯМ

**М. О. Щербина, О. Г. Граділь**

#### РЕЗЮМЕ

Проведений аналіз даних літератури вказує на стрімкий розвиток допоміжних репродуктивних технологій і підкреслює необхідність доопрацювання застосованих методик. В основній та контрольній групах вивчався функціональний стан гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникової системи та статевих гормонів у сироватці крові. Вивчався патоморфогенез оваріальної дисфункції. Отримані дані дозволили виділити характеристики нормального, зниженого і вкрай низького оваріального резерву, а також вивчити кореляцію між оваріальним резервом та недостатньою відповіддю яєчників на оваріальну стимуляцію.

**Ключевые слова:** овариаальный резерв, вспомогательные репродуктивные технологии, бесплодие, экстракорпоральное оплодотворение, контролируемая овариаальная стимуляция, недостаточный ответ яичников.

Женское бесплодие является актуальной проблемой современной медицины, а восстановление репродуктивной функции – основной задачей врачей в клинической практике. Несмотря на стремительное развитие вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) существует необходимость доработки применяемых методик.

С возрастом происходит физиологическое снижение фертильных возможностей, что диктует необходимость точной оценки репродуктивного потенциала пациенток с целью определения тактики и прогнозирования успеха лечения бесплодия [5, 8].

Понятие «овариаальный резерв», несмотря на его широкую употребляемость в различных источниках литературы, сформулировано недостаточно четко и ясно. Под овариаальным резервом понимают функциональный резерв яичника, который определяет способность последнего к развитию здорового фолликула с полноценной яйцеклеткой [2, 4, 10]. Овариаальный резерв – показатель, отражающий величину фолликулярного пула яичников и качество содержащихся в них ооцитов, снижающийся с возрастом и определяющий состояние репродуктивной

функции женщины. К. Ю. Боярский определил овариаальный резерв как способность яичников адекватно отвечать на овариаальную стимуляцию ростом полноценных фолликулов, содержащих здоровые яйцеклетки [3]. Овариаальный резерв отражает количество находящихся в яичниках фолликулов (примордиальный пул и растущие фолликулы) и зависит от физиологических и патофизиологических факторов. Следовательно, овариаальный резерв является важной составляющей частью репродуктивного потенциала женщины.

К физиологическим факторам, определяющим овариаальный резерв, относится в первую очередь количество примордиальных фолликулов (примордиальный пул), находящихся в яичниках девочки к моменту становления менструальной функции. В норме оно составляет 270000-470000 фолликулов [3], а также частота элиминации примордиальных фолликулов в яичнике. Хорошо известно, что с каждым менструальным циклом общее количество фолликулов уменьшается, и при исчезновении последних фолликулов наступает менопауза. Проведенные в последние годы исследования показали, что частота

элиминации фолликулов удваивается, когда примордиальный пул сокращается до 25000 фолликулов, что в норме соответствует возрасту 37,5 лет. Этот возраст определяется как критический, после которого овариальный резерв резко снижается [10, 14].

Наиболее эффективным методом вспомогательных репродуктивных технологий признано экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), но, несмотря на достаточно широкое использование этого метода, частота получения высококачественных результатов еще далека от совершенства [3]. Основным и неотъемлемым этапом ЭКО является контролируемая овариальная стимуляция (КОС). Этот период можно охарактеризовать как основной и наиболее ответственный, так как с целью формирования фолликулярного пула, стимуляции развития фолликулярной когорты и получения максимального количества ооцитов проводится медикаментозное воздействие на фолликулярный аппарат.

В результате проведения терапии гонадотропинами существуют варианты негативных последствий: синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ) и недостаточный ответ яичников (НОЯ) [3, 13]. Оба осложнения связаны с влиянием гонадотропинов на фолликулярный аппарат яичников. Основные вопросы, касающиеся СГЯ, в должной мере освещены в профессиональной литературе, и в то же время на НОЯ обращают внимание меньше из-за того, что он не вызывает существенных осложнений, кроме материально-финансовой нагрузки и психологического истощения. По нашему мнению, эти аспекты не должны оставаться без внимания. Частота прекращения цикла, где причиной является НОЯ, составляет от 11 до 24%, а при повторных циклах потери составляют более 45%. В случае достижения этапа эмбриотрансфера, частота беременности колеблется от 3 до 16% и иногда достигает 21% [12, 13]. Данные обзора литературы по прогнозу овариального ответа свидетельствуют о том, что предлагаемые сегодня скрининговые тесты не имеют специфичности [1, 3]. Очевидно, что идеальным тестом является ответ яичников при терапии гонадотропинами, а НОЯ – это неспособность тканей яичника соответственно реагировать на любое стимулирование, независимо от мощности индукции [11].

Этиология НОЯ досконально не изучена [12, 15]. Считается, что основным физиологическим субстратом этого феномена является уменьшение яичникового резерва [13]. Известными факторами, которые негативно влияют на яичниковый резерв, являются поздний репродуктивный возраст женщины и оперативные вмешательства на яичниках и маточных трубах [6, 9]. Считается, что определенную роль в формировании НОЯ могут играть перенесенные гинекологические заболевания, такие как хронический аднексит, спаечная болезнь органов малого таза, эндометриоз [7].

Остаются невыясненными многие аспекты лечебной тактики у женщин с НОЯ. Практически единственным методом коррекции НОЯ считается модификация протоколов КОС [2]. Для улучшения яичникового ответа у плохих ответчиков предлагаются различные режимы стимуляции: использование коротких протоколов стимуляции, уменьшение дозы агонистов гонадотропин-рилизинг гормона (а-ГнРГ), использование антагонистов гонадотропин-рилизинг гормона (ант-ГнРГ) и прочее [15].

Старение репродуктивной системы, а также ятрогенные факторы и факторы окружающей среды (в том числе и курение), которые вызывают изменения, схожие со старением, оказывают значительное влияние на результаты лечения функционального бесплодия. Представленные в литературе данные отражают растущий научный интерес к определению овариального резерва, которое является попыткой определения индивидуального биологического возраста яичников. Однако отсутствие классификации и систематизации методов определения овариального резерва, разнородность применяемых методов, различие в оценках исхода, отсутствие сравнения эффективности различных методов позволяют говорить о множестве нерешенных задач в данной проблеме.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании приняло участие 98 женщин репродуктивного возраста. Основную (А) группу составили 68 женщин в возрасте от 24 до 45 лет с длительным бесплодием (более 5 лет), преимущественно трубно-перитонеального генеза. Контрольную (В) группу составили 30 здоровых женщин. Путем опроса изучались особенности менструальной функции (продолжительность, регулярность менструального цикла, изменения характера менструаций), наличие в прошлом оперативных вмешательств на придатках матки и их характер.

Функциональное состояние гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы оценивали по уровню гипофизарных гормонов (лютеинизирующий гормон (ЛГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), пролактин (ПРЛ)) и половых стероидных гормонов (эстрадиол, тестостерон) в сыворотке крови. Овуляцию подтверждали данными ультразвукового исследования.

Состояние гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы определяли по наличию и выраженности признаков гиперандрогении (акне, гирсутизма), уровню кортизола, тестостерона в сыворотке крови.

Оценка функционального состояния щитовидной железы, наряду с общеклиническим обследованием, включала исследования тиреотропного гормона, трийодтиронина ( $T_3$ ), тироксина ( $T_4$ ). Исследования проводились по показаниям преимущественно в группе пациенток с нарушениями менструального

цикла. Кровь для исследования набирали из локтевой вены на 3-5 день менструального цикла, содержание прогестерона определяли на 4-6 день после положительного теста на овуляцию.

Определение концентрации ПРЛ, ЛГ, ФСГ, эстрадиола, прогестерона, тестостерона, кортизола,  $T_3$ ,  $T_4$  производили радиоиммунологическими методами с использованием соответствующих тест-систем согласно приложенным к ним инструкциям.

На этапе постановки диагноза «бесплодие» и наличия показаний к оперативному вмешательству 45 пациенткам из основной группы была проведена лечебно-диагностическая лапароскопия. Выполнялся сальпингоовариолизис, резекция яичников по поводу кистозных образований. В 30 случаях был получен резекционный материал ткани яичника, который использовали для патоморфологического исследования. Получено от 1 до 4 резецированных участков капсулы и ткани яичника у каждой пациентки. Предварительно было отобрано 25 образцов, содержащих необходимые элементы для исследования. Все гистологические образцы подлежали обработке 5% раствором формалина, фиксации в парафине, окраске по методу Романовского-Гимза, изучению с помощью микроскопа «Axiostar plus» с последующим патоморфологическим описанием.

На 2-4 день спонтанной менструации или индуцированной комбинированными оральными контрацептивами менструальноподобной реакции всем пациенткам проводили оценку овариального резерва путем трансвагинального ультразвукового исследования яичников. Исследования выполняли на аппарате Pie Medical Equipment BV «Picus» с использованием трансвагинального датчика с частотой 6,5 МГц в режимах сканирования В-mode. Все измерения проводились в первой половине суток (до 12.00) при опорожненном мочевом пузыре. Для каждого яичника при сканировании определяли следующие показатели: объем яичника, средний диаметр наибольшего фолликула. Эхографию при первичном обследовании производили в раннюю фолликулиновую фазу цикла, в процессе последующего наблюдения – по показаниям.

Стимуляция проводилась до дня достижения лидирующими фолликулами диаметра 20 мм, определяемого при трансвагинальной эхографии, после чего назначали инъекцию «овуляторной» дозы хорионического гонадотропина. В этот же день проводилась оценка качества овариального ответа на проводимую стимуляцию. Количество зрелых фолликулов (5 и менее) использовали как критерий оценки НОЯ. 5-16 – оценивали как нормальный ответ на проводимую стимуляцию, более 16, с учетом клинического состояния – как гиперстимуляцию яичников (СГЯ).

В зависимости от применяемого протокола КОС основная группа была поделена на две под-

группы. В I подгруппе (n=32) использовалась схема стимуляции суперовуляции с препаратами агониста гонадотропин-рилизинг-гормона и человеческого менопаузального гонадотропина (а-ГнРГ+чМГ) – длинный протокол. Во II подгруппе (n=32) использовалась схема стимуляции с препаратами человеческого менопаузального гонадотропина и антагониста гонадотропин-рилизинг-гормона (ант-ГнРГ+чМГ) – короткий протокол.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные позволили нам сформулировать понятие овариального резерва и выделить характеристики нормального, сниженного и крайне низкого овариального резерва, а также изучить корреляцию между овариальным резервом и НОЯ. Овариальный резерв мы определили как важную составляющую часть репродуктивного потенциала женщины, которая характеризует функциональное состояние репродуктивной системы и оценивается при помощи биохимических и ультразвуковых параметров. Нормальный овариальный резерв регистрируется при наличии у пациенток следующих показателей: регулярный менструальный цикл 28-31 день, уровень ФСГ не более 9 МЕ/л, объем яичников не менее 5 см, число антральных фолликулов не менее 5 в каждом яичнике. Сниженный овариальный резерв: укорочение менструального цикла на 2-3 дня, эпизоды повышения уровня ФСГ >15 МЕ/л, объем яичников от 3 до 5 см, число антральных фолликулов не более 3 в каждом яичнике. Крайне низкий овариальный резерв: стойкие нарушения менструального цикла, стойкое повышение уровня ФСГ >15 МЕ/л, объем яичников <3 см, число антральных фолликулов не более 2 в каждом яичнике.

На основании патоморфологического исследования пациенток с бесплодием мы изучили патоморфогенез овариальной дисфункции, в котором ведущую роль играет дистрофически-атрофическая перестройка фолликулярного аппарата, ассоциированная с развитием фиброза органа, имеющая прямую корреляцию с возрастом пациенток. У женщин старше 35 лет происходит редукция фолликулярного аппарата с уменьшением числа и размеров примордиальных и созревающих фолликулов, фиброзом коркового слоя, ассоциированным с фиброзом стенок сосудов, кистозная атрезия созревающих форм. Мы считаем целесообразным проведение патоморфологического исследования резецированной ткани яичника для качественной оценки овариального резерва в комплексе лечебно-диагностических мероприятий у женщин с бесплодием, имеющих показания к оперативному вмешательству.

В формировании НОЯ ведущую роль занимает возраст женщины. Наблюдается отчетливая тенденция к увеличению числа женщин позднего репродуктивного возраста, обращающихся по поводу лечения

бесплодия. У пациенток старше 31 года высокий риск возникновения НОЯ. Неблагоприятными факторами также являются оперативные вмешательства на яичниках.

Как в I, так и во II подгруппе, после проведения КОС с использованием различных схем, наблюдалась корреляционная связь между показателями овариального резерва, возрастом женщины и качеством овариального ответа на проводимую стимуляцию.

У женщин до 34 лет нормальный овариальный резерв имел место в 76%, в возрасте от 34 до 38 лет – только в 30% случаев, а у всех пациенток старше 38 лет был обнаружен сниженный или крайне низкий овариальный резерв. В обеих подгруппах с нормальными показателями овариального резерва НОЯ наблюдался не более чем 25%, средний возраст таких пациенток составил 31,5 лет. У женщин со сниженными показателями овариального резерва НОЯ наблюдался более чем в 65-70% случаев, средний возраст этих пациенток составил 36,4 года. У всех пациенток с крайне низкими показателями овариального резерва наблюдался недостаточный ответ на КОС, 3 пациентки на этапе контроля за растущими фолликулами были исключены из программы в связи с абсолютной резистентностью.

Полученные данные свидетельствуют о том, что качество овариального ответа не зависит от схемы применяемой стимуляции у женщин старше 35 лет, а определяется состоянием овариального резерва пациенток.

Состояние овариального резерва полностью отражает прогноз для формирования НОЯ при КОС. Прогностическими критериями НОЯ являются: укорочение менструального цикла, эпизоды повышения уровня ФСГ более 15 МЕ/л, объем яичников менее 5 см<sup>3</sup>, число антральных фолликулов менее 5 в каждом яичнике, дистрофически-атрофическая перестройка фолликулярного аппарата, кистозная атрезия созревающих форм в патоморфологических образцах.

#### ВЫВОДЫ

1. Состояние овариального резерва коррелирует с возрастом пациенток. У женщин до 34 лет нормальный овариальный резерв имел место в 76%, в возрасте от 34 до 38 лет – только в 30% случаев, а у всех пациенток старше 38 лет был обнаружен сниженный или крайне низкий овариальный резерв.

2. При нормальном овариальном резерве, независимо от возраста, пациенток можно рассматривать как перспективных для реализации репродуктивной функции в программах ВРТ и использовать стимуляцию функции яичников по длинному протоколу или протоколу с антагонистами ГнРГ. При сниженном овариальном резерве и признаках дистрофически-атрофической перестройки фолликулярного аппарата в патоморфологических образцах целесообразно предупредить пациентку о чрезвычайно высокой вероятности развития НОЯ, низкой эффективности

программ ВРТ и возможной необходимости использовании ооцитов доноров.

3. При крайне низком овариальном резерве, который характеризуется стойкими нарушениями менструального цикла, стойким повышением уровня ФСГ более 15 МЕ/л и объемом яичников менее 3 см<sup>3</sup>, числом антральных фолликулов не более двух, получение собственного ооцита невозможно, и пациентка должна быть ориентирована на использование ооцитов доноров.

4. Эффективность лечения достоверно не различается при применении различных схем стимуляции функции яичников.

5. Патоморфологическая оценка состояния овариального резерва является наиболее точным прогностическим критерием НОЯ, ее проведение является целесообразным у женщин с длительным бесплодием, старше 35 лет, которым в комплексе лечебно-диагностических мероприятий показано оперативное вмешательство.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Боярский К. Ю. Клиническое значение тестов определения овариального резерва в лечении бесплодия : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Боярский К. Ю. – Санкт-Петербург, 2000. – 26 с.
2. Боярский К. Ю. Овариальная стимуляция и фолликулогенез в конце 90-х: на пороге будущего / К. Ю. Боярский // Проблемы репродукции. – 1997. – № 4. – С. 61–68.
3. Боярский К. Ю. Фолликулогенез и современная овариальная стимуляция (обзор литературы) / К. Ю. Боярский // Проблемы репродукции. – 2002. – № 1. – С. 36–43.
4. Боярский К. Ю. Функциональные тесты, определяющие овариальный резерв / К. Ю. Боярский // Проблемы репродукции. – 1998. – № 3. – С. 3.
5. Воробьева О. А. Особенности оплодотворения ооцитов и развития эмбрионов в культуре у женщин с недостаточностью яичников / О. А. Воробьева, А. А. Кирсанов, В. В. Потин // Проблемы репродукции. – 1999. – № 4. – С. 17–21.
6. Грищенко В. И. Эндоскопия в диагностике и лечении женского бесплодия / В. И. Грищенко, Н. И. Козуб. – Харьков : Основа, 1998. – 216 с.
7. Калинина Е. А. Резервы повышения эффективности экстракорпорального оплодотворения при лечении бесплодия у женщин с гинекологическими заболеваниями : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.01 / Калинина Е. А.; Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН. – М., 2005. – 32 с.
8. Кулаков В. И. Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского и мужского бесплодия / Под ред. В. И. Кулакова. – М. : МИА, 2000. – 336 с.
9. Кустаров В. Н. Влияние возраста на частоту наступления беременности в программе

ЭКО / В. Н. Кустаров, К. Ю. Боярский // Проблемы репродукции. – 1999. – Т. 5., № 1. – С. 46–49.

10. Мишиева Н. Г. Бесплодие у женщин позднего репродуктивного возраста: принципы диагностики и лечения в зависимости от овариального резерва : автореф. дис...д-ра мед. наук : 14.00.01 / Мишиева Н. Г. ; ФГУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В. И. Кулакова Росмедтехнологий». – М., 2008. – 36 с.

11. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome / F. J. Broekmans, J. Kwee, D. J. Hendriks [et al.] // Hum. Reprod. Update. – 2006. – Vol. 12. – P. 685–718.

12. An initial low response predicts poor outcome in vitro fertilization/ intracytoplasmic sperm injection despite improved ovarian response in consecutive cycles

/ Z. Veleva, Ilkka Y. Järvelä, Sinikka Nuojua-Huttunen [et al.] // Fertil. Steril. – 2005. – Vol. 83. – P. 1384–1390.

13. Evaluation of the ovarian reserve in young low responders with normal basal levels of follicle-stimulating hormone using three-dimensional ultrasonography / A. Pellicer, G. Ardiles, F. Neuspiller [et al.] // Fertil. Steril. – 1998. – Vol. 70, № 4. – P. 671–675.

14. Muttukrishna S. Markers of Ovarian Reserve / S. Muttukrishna // BJOG. – 2004. – Vol. 111. – P. 1248–1253.

15. Outcome of in vitro fertilization/ embryo transfer according to age in poor responders with elevated baseline serum follicle stimulation hormone using minimal or no gonadotropin stimulation / M. L. Check, J. H. Check, C. Wilson [et al.] // Clin. Exp. Obstet. Gynecol. – 2004. – Vol. 31 (3). – P. 183–184.