



**H.M. Fatemi,
C. Bourgain,
P. Donoso,
C. Blockeel,
E.G. Papanikolaou,
B. Popovic-Todorovic,
P. Devroey**

Центр репродуктивной медицины и отделение патологии, Нидерландскоговорящий свободный Брюссельский университет

Авторы выражают благодарность **Mrs Marie Jose Janssens** за помощь в проведении исследования

Преждевременное истощение функции яичников: оптимальное воздействие

Целью этого исследования было изучение гистологической структуры эндометрия и особенностей гормонального профиля на 21-й день индуцированного (лечебного) цикла у пациенток с преждевременным истощением функции яичников на фоне приема дидрогестерона (ДГ) перорально и микронизированного прогестерона вагинально.

Исследование имело дизайн проспективного пилотного и проводилось в отделении репродуктивной медицины университетской клиники. В нем участвовали шесть женщин, случайным образом разделенные на две группы для лечения дидрогестероном или микронизированным прогестероном. Во втором цикле производили смену препарата. У всех пациенток ЗГТ в

исследуемом цикле начинали с подготовки эндометрия эстрогенами. Оценивали гистологическую структуру эндометрия и характеристики гормонального профиля на 21-й день цикла.

Структура желез эндометрия соответствовала ранней секреторной фазе на фоне перорального приема ДГ у пяти из шести пациенток (асинхронное развитие). Напротив, при назначении вагинального микронизированного прогестерона у пяти из шести пациенток структура эндометрия соответствовала середине лютеиновой фазы цикла (синхронное развитие) ($p = 0,021$ по сравнению с ДГ). Средние концентрации прогестерона, ЛГ и ФСГ на 21-й день цикла на фоне применения микронизированного прогестерона вагинально и ДГ перораль-



В репродуктологии пациентки в менопаузе, вступающие в циклы ВРТ с использованием ооцитов донора, – наилучшая модель для изучения рецептивности эндометрия



но достоверно различались (8,6 и 0,3 мкг/л ($p = 0,013$); 12,9 и 22,5 МЕ/л ($p = 0,049$); 13,0 и 23,9 МЕ/л ($p = 0,047$) соответственно).

После предварительной подготовки эндометрия эстрогенами у пациенток с преждевременным угасанием функции яичников применение вагинального микронизированного прогестерона к 21-му дню индуцированного (лечебного) цикла позволяет добиться более синхронного развития эндометрия и достижения более высоких концентраций прогестерона и более низких концентраций ЛГ и ФСГ в сыворотке крови, чем применение перорального ДГ.

Введение

Сегодня гормональная поддержка лютеиновой фазы является неотъемлемым компонентом программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), включающих этапы забора ооцитов и переноса эмбрионов в полость матки (Albano et al., 1999). На рынке широко представлены различные формы выпуска натурального прогестерона, в том числе для перорального, вагинального и внутримышечного введения. В недав-

нем метаанализе, проведенном Nosarka et al. (2005), было ясно продемонстрировано, что частота имплантации и клинической беременности на фоне применения вагинального и внутримышечного прогестерона сопоставима.

При пероральном приеме прогестерон подвергается первичному прохождению через печень и под действием печеночных ферментных систем превращается в 5α - и 5β -метаболиты (Penzias, 2002).

Дидрогестерон – ретропрогестерон с хорошей биодоступностью, при приеме внутрь, представляет собой биологически активное производное прогестерона, оказывающее антиэстрогенное влияние на эндометрий и вызывающее его секреторную трансформацию (Whitehead et al., 1980; Chakravarty et al., 2005). В недавно проведенном проспективном рандомизированном исследовании Chakravarty et al. (2005) сравнивали эффективность, безопасность и переносимость вагинального микронизированного прогестерона и перорального дидрогестерона при их использовании для поддержки лютеиновой фазы в циклах ЭКО. Авторы отметили, что частота наступления беременности при использовании обоих препаратов была сопоставима (24,1% и 22,8% в группе ДГ и микронизированного прогестерона соответственно, $p = 0,81$).

До начала крупных рандомизированных контролируемых исследований для сравнения двух этих схем поддержки лютеиновой фазы в циклах ЭКО мы решили провести предварительное исследование у женщин с преждевременным истощением функции яичников, находящихся в листе ожидания на использование донорских ооцитов (Beck-Peccoz and Persani, 2006). После подготовки эндометрия эстрадиолом (E2) пациенткам назначали пероральный дидрогестерон или микронизированный прогестерон вагинально.

С точки зрения исследований в репродуктологии, пациентки в менопаузе, вступающие в циклы ВРТ с использованием ооцитов донора, – наилучшая модель для изучения рецептивности эндометрия (De Ziegler and Fanchin, 2000). В условиях полного отсутствия эндогенного прогестерона сравнение



биодоступности и эффективности экзогенного прогестерона при его различных путях введения существенно упрощается.

Целью данного исследования стало изучение гистологической структуры эндометрия на 21-й день индуцированного (лечебного) цикла у пациенток с преждевременным истощением функции яичников на фоне приема ДГ перорально и прогестерона вагинально после предварительной подготовки эндометрия эстрадиолом. Кроме того, на 21-й день цикла у пациенток обеих групп производили оценку гормонального профиля.

Материалы и методы

Исследуемая группа и протокол исследования

В исследовании участвовали шесть пациенток с преждевременным истощением функции яичников после получения добровольного информированного согласия. Патология эндометрия и полости матки у всех женщин была исключена по данным гистероскопии. ЗГТ была прекращена за 8 недель до начала исследования.

Прогестерон (Утрожестан) назначали в дозе 100 мг 3 раза в день вагинально (утром, днем и вечером), начиная с 15-го дня цикла



Исследование имело дизайн проспективного пилотного и проводилось с января по июль 2006 года. Оценивали два цикла на фоне ЗГТ. Пациентки были разделены на группы случайным образом с использованием компьютерной рандомизации. В группах в течение лютеиновой фазы использовали различные препараты с различным путем введения. В обеих группах проводили первоначальную подготовку эндометрия эстрадиола валератом (Zumepop®, Solvay Brussels, Бельгия) по схеме: 2 мг 2 раза в день (утром и вечером) внутрь в течение 7 дней, а затем 2 мг 3 раза в день внутрь в течение 6 дней (с 8-го по 15-й день). ДГ и микронизированный про-

гестерон использовали в качестве гестагенного компонента ЗГТ. Три пациентки в первом цикле получали ДГ, а во втором – микронизированный прогестерон. Три другие – в первом цикле – микронизированный прогестерон, во втором – ДГ. Дидрогестерон (Дюфастон®, Solvay Pharma, Брюссель, Бельгия) применяли в дозе 10 мг 2 раза в день внутрь (утром и вечером), начиная с 15-го дня цикла. Прогестерон (Утрожестан®, Besins Healthcare, Дрогенбос, Бельгия) назначали в дозе 100 мг 3 раза в день вагинально (утром, днем и вечером), также начиная с 15-го дня цикла. Дозу эстрадиола валерата с 15-го дня цикла снижали до 2 мг 2 раза в день (утром и вечером). Прием препаратов продолжали до 26-го дня цикла. Интервал между индуцированными циклами, во время которого ЗГТ у пациенток полностью прекращали, составлял 8 недель. В период исследования перенос эмбрионов в полость матки ни у одной женщины не производили.

Оценка гормонального профиля

Забор крови производили в 1-й и 21-й дни индуцированного (лечебного) цикла. Оценку концентрации ЛГ, ФСГ, Е2 и прогестерона в сыворотке крови проводили на автоматическом иммуноанализаторе Elecsys (Roche Diagnostics, Маннгейм, Германия). Коэффициенты вариации внутри пробы и между пробами для ЛГ составляли <3% и <4%, для ФСГ – <3% и <6%, для Е2 – <5% и <10%, для Р – <3% и <5% соответственно.

Биопсия эндометрия и подготовка микропрепаратов

Биопсию эндометрия у всех пациенток проводили с помощью кюретки Новака в 12:00 на 21-й день индуцированного цикла (его считали условно соответствующим 7-му дню лютеиновой фазы). Для фиксации ткани эндометрия использовали 10% нейтральный формалиновый буферный раствор, микропрепараты окрашивали стандартно гематоксилином-эозином. Образцы оценивали двумя патоморфологами,



Таблица 1. Концентрации гормонов в сыворотке крови на 21-й день индуцированного цикла у пациенток с преждевременным истощением функции яичников на фоне приема эстрогенов с 1-го по 21-й день цикла и прогестинив с 15-го по 21-й день цикла

	Дидрогестерон перорально (n=6)	Натуральный микронизированный прогестерон вагинально (n=6)	Значение p
Прогестерон, мкг/л	0,3±0,05	8,6±2,20	0,013*
Эстрадиол, нг/л	201,7±26,7	190,0±21,46	Недостоверно
ФСГ, МЕ/л	23,9±6,14	13,0±3,35	0,047*
ЛГ, МЕ/л	22,5±4,16	12,9 ±3,10	0,049*

Данные представлены в виде среднее ± стандартная ошибка среднего.

* Различия достоверны.

Развитие эндометрия считали синхронным в тех случаях, когда его гистологическая структура соответствовала хронологическому возрасту ± 2 дня, и асинхронным, когда она опережала или отставала от хронологического возраста более чем на 2 дня



Датирование эндометрия проводили на основании критериев Noyes et al. (1950). Развитие эндометрия считали синхронным в тех случаях, когда его гистологическая структура соответствовала хронологическому возрасту ± 2 дня, и асинхронным в тех случаях, когда она опережала или отставала от хронологического возраста более чем на 2 дня (Bourgain et al., 1990). Во всех образцах датирование эндометрия производили только исходя из структуры функционального слоя.

Статистический анализ

Данные представлены в виде: среднее ± стандартная ошибка среднего. Для статистического сравнения внутри групп ис-

пользовали t-тест для парных выборок и χ²-тест. Различия считали достоверными при значении p<0,05.

Результаты

Возраст пациенток, участвовавших в исследовании, варьировал от 29 до 40 лет (средний возраст составил 37,2±4,2 года). Среднее значение ИМТ достигало 22,6(±3,4) кг/м².

Проведено гистологическое исследование образцов эндометрия (рис. 1 и рис. 2). На рисунке 3 представлены результаты гистологического исследования эндометрия у каждой пациентки на фоне применения каждой из изучавшихся схем гормональной поддержки.

Структура желез эндометрия соответствовала ранней секреторной фазе на фоне перорального приема ДГ у пяти из шести пациенток (асинхронное развитие). В противоположность этому при назначении микронизированного прогестерона вагинально у пяти из шести женщин структура эндометрия соответствовала середине лютеиновой фазы цикла (синхронное развитие) (p = 0,021 по сравнению с ДГ).

Вариация результатов одного исследователя (intra-observer variation) при оценке 12 биоптатов старшим патоморфологом составила 0%, при оценке вторым патоморфологом – 8,3% (1 из 12 биоптатов). Вариация результатов исследователей (inter-observer variation) составила 8,3% (1 из 12 биоптатов), однако расхождение гистологического возраста по заключению двух разных пато-

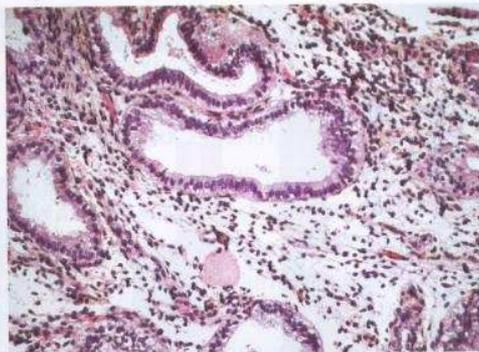


Рис. 1

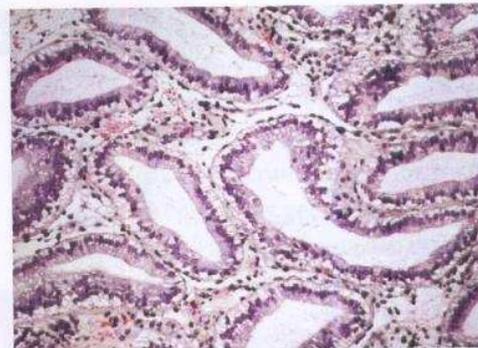


Рис. 2

Рис 1. Биоптат эндометрия, полученный на 21-й день индуцированного цикла с микронизированным прогестероном. Пациенткам с преждевременным истощением функции яичников с 1-го по 21-й день индуцированного (лечебного) цикла назначали эстрогены, с 15-го до 21-й день цикла к терапии эстрогенами добавляли прогестерон вагинально. (Извитые железы с активной секрецией и минимальными остаточными вакуолями. Отек стромы.) Отсутствие митотической активности. Структура эндометрия соответствует 6-му дню лютеиновой фазы (окраска гематоксилином-эозином, $\times 200$)

Рис 2. Биоптат эндометрия, полученный на 21-й день индуцированного (лечебного) цикла с ДГ перорально. Мелкие слабоизвитые железы с персистирующими гомогенными субнуклеарными вакуолями и псевдоисчерченностью ядер (Отсутствие отека стромы. Фокальная митотическая активность.) Структура эндометрия соответствует 2–3-му дню лютеиновой фазы (окраска гематоксилином-эозином, $\times 200$)

морфологов составило лишь день и не оказало влияния на конечный результат.

Характеристики гормонального профиля пациенток на 21-й день индуцированного цикла (средние значения концентраций прогестерона, E2, ЛГ и ФСГ) представлены в таблице 1. Отмечено, что средние концентрации прогестерона, ЛГ и ФСГ на фоне применения микронизированного прогестерона вагинально и ДГ перорально достоверно различались (8,6 и 0,3 мкг/л ($p = 0,013$); 12,9 и 22,5 МЕ/л ($p = 0,049$); 13,0 и 23,9 МЕ/л ($p = 0,047$) соответственно).

Обсуждение

Результаты проведенного исследования демонстрируют, что применение микронизированного прогестерона вагинально у пациенток с преждевременным истощением функции яичников позволяет обеспечить достоверно более синхронное развитие эндометрия, чем при назначении ДГ перорально ($p = 0,021$). Кроме того, концентрация прогестерона в сыворотке крови на 21-й день индуцированного цикла на фоне изучавшихся схем ЗГТ, как и ожидалось, достоверно различалась ($p = 0,013$). При сопоставлении концентраций ЛГ и ФСГ

на 21-й день цикла по группам также были выявлены достоверные различия ($p = 0,049$ и $0,047$ соответственно).

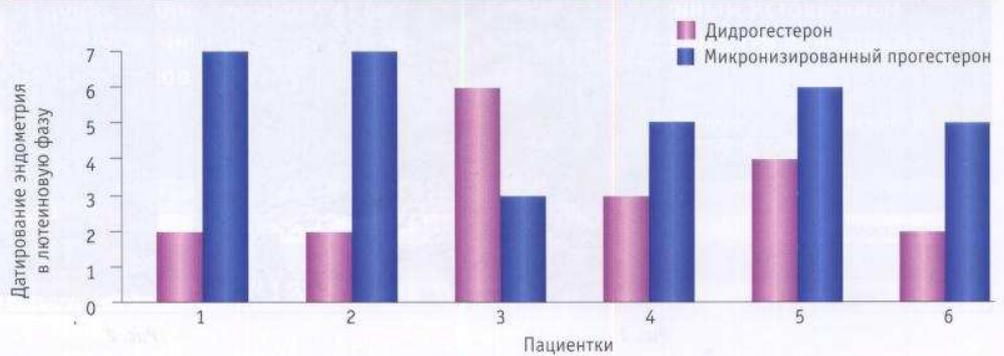
Причиной выбора конкретной дозы ДГ послужили результаты исследований, описывавших оптимальную секреторную трансформацию эндометрия на фоне применения именно этой дозы препарата (King and Whitehead, 1986), а также тот факт, что именно она использовалась в работе Chakravarty et al. (2005).

В более ранних работах авторов из нашего коллектива (Bourgain et al. (1990) и Devroey et al. (1989)) сообщалось об отсутствии изменений при секреторной трансформации эндометрия на фоне приема прогестерона перорально, в отличие от вагинального или внутримышечного введения, что побудило авторов сделать вывод о низкой биодоступности прогестерона при приеме внутрь. Наиболее важные метаболиты прогестерона, образующиеся при его пероральном приеме, – прегнандиол-3 α -глюкуронид, 17-гидроксипрогестерон и 20- α -дигидропрогестерон (Whitehead et al., 1980). 20- α -дигидропрогестерон представляет собой биологически активный метаболит прогестерона (Whitehead et al., 1980).



Рис. 3. Результаты гистологического датирования эндометрия у каждой пациентки на фоне приема ДГ перорально и микронизированного прогестерона вагинально.

Результаты гистологического исследования эндометрия



Дидрогестерон (ретропрогестерон) – стереоизомер прогестерона, в котором метильная группа, связанная с 10-ым атомом углерода, находится в α -, а не в β -положении, как в микронизированном прогестероне. Атом водорода, связанный с 9-ым атомом углерода, находится в β -, а не в α -положении, как в микронизированном прогестероне. 6-ой и 7-ой атомы углерода связаны между собой двойной связью. Из-за этих отличий в строении молекулы, дидрогестерон не образует метаболитов и эффективен при приеме внутрь (Chakravarty et al., 2005).

пероральном приеме ДГ, что позволяет усомниться в эффективности этого препарата. Относительно асинхронное развитие эндометрия в индуцированных циклах на фоне перорального приема ДГ отмечалось и в более ранних исследованиях (Pellicer et al., 1989; Li et al., 1994).

В лютеиновую фазу цикла высокие уровни прогестерона и эстрадиола играют важную роль в поддержании синтеза ФСГ и ЛГ на низком уровне. Таким образом, подавление продукции гонадотропинов по механизму отрицательной обратной связи реализуется лишь при сочетанном действии E2 и прогестерона (Messinis, в печати).

По-видимому, комбинированное применение прогестерона и E2 в лютеиновую фазу способно подавить синтез ЛГ и ФСГ лучше, чем монотерапия E2. Способность прогестерона самостоятельно сходно влиять не изучалась, хотя в экспериментальных исследованиях было отмечено, что прогестерон оказывает отрицательный обратный эффект в присутствии эстрогенов (Soules et al., 1984).

Влияние прогестерона на эндометрий оценивали на 21-й день индуцированного цикла, поскольку именно в эти сроки (на 20–24-й дни «идеального» 28-дневного цикла) у человека происходит открытие так называемого «окна имплантации» – периода наибольшего потенциала эндометрия к взаимодействию с трофобластом (Coutifaris et al., 2004).

Вызывает сомнение, что крайне низкие концентрации прогестерона, отмечавшиеся на 21-й день индуцированного цикла на фоне лечения ДГ перорально, способны

Влияние прогестерона на эндометрий оценивали на 21-й день индуцированного цикла, поскольку именно в эти сроки (на 20–24-й дни «идеального» 28-дневного цикла) у человека происходит открытие так называемого окна имплантации – периода наибольшей готовности эндометрия к взаимодействию с трофобластом



Описана способность ДГ при пероральном приеме вызывать секреторную трансформацию нормального эндометрия у пациенток с бесплодием (Balasch et al., 1982) и у женщин в постменопаузе (King and Whitehead, 1986). В противоположность данным литературы, результаты этого исследования продемонстрировали неполную секреторную трансформацию эндометрия на 21-й день индуцированного цикла при



были вызвать наблюдавшиеся начальные признаки секреторной трансформации эндометрия. Кроме того, ранняя секреторная трансформация эндометрия, вызванная ДГ, по-видимому, не в полной мере адекватна. **Предположения, что прогестерон-дефицитные** состояния могут приводить к нарушению созревания эндометрия, высказывались неоднократно (Dallenbach-Hellweg, 1984). Результаты гистологического исследования в сочетании с данными гормонального профиля указывают, что при использовании ДГ для поддержки лютеиновой фазы перорально не удается добиться создания оптимальных условий для имплантации эмбриона в том виде, в котором они соответствовали бы современным критериям оценки эндометрия. Возможность улучшить результат при повышении дозы ДГ требует дополнительного изучения. Однако сделать окончательные выводы не представляется возможным в связи с тем, что в данном исследовании не производили перенос эмбрионов в полость матки, а сами результаты нельзя распространять на циклы в программах ЭКО. Возможно, пероральный ДГ способен обеспечить поддержку лютеиновой фазы в циклах ЭКО, однако для того чтобы сделать окончательный вывод, необходимо проведение рандомизи-

рованных контролируемых исследований с большим объемом выборки.

Целью настоящего экспериментально-го исследования стала оценка способности различных прогестинов участвовать в установлении состояния рецептивности эндометрия, а также их влияния на параметры гормонального профиля в цикле лечения (21 день).

Таким образом, после достаточной предварительной подготовки эндометрия эстрогенами у пациенток с преждевременным угасанием функции яичников применение микронизированного прогестерона вагинально к 21-му дню индуцированного цикла позволяет добиться более синхронного развития эндометрия и достижения более высоких концентраций прогестерона и более низких концентраций ЛГ и ФСГ в сыворотке крови, чем применение перорального ДГ.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Mrs Marie Jose' Janssens за помощь в проведении исследования.

Источник: Human Reproduction. Vol. 22, №5, 2007.

ЛИТЕРАТУРА

1. Albano C, Smitz J, Tournaye H, Riethmuller-Winzen H, Van Steirteghem A and Devroey P (1999) Luteal phase and clinical outcome after human menopausal gonadotrophin/gonadotrophin releasing hormone antagonist treatment for ovarian stimulation in in-vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles. *Hum Reprod* 14, 1426–1430.
2. Balasch J, Vanrell JA, Marquez M, Burzaco I and Gonzalez-Merlo J (1982) Dehydrogesterone versus vaginal progesterone in the treatment of the endometrial Luteal phase deficiency. *Fertil Steril* 37, 751–754.
3. Beck-Peccoz P and Persani L (2006) Premature ovarian failure. *Orphanet J Rare Dis* 6, 1–9.
4. Bourgain C, Devroey P, Van Waesberghe L, Smits J and Van Steirteghem AC (1990) Effects of natural progesterone on the morphology of the endometrium in patients with primary ovarian failure. *Hum Reprod* 5, 537–543.
5. Chakravarty BN, Shirazee HH, Dam P, Goswami SK, Chatterjee R and Gosh S (2005) Oral dydrogesterone versus intravaginal micronised progesterone as luteal phase support in assisted reproductive technology (ART) cycles: results of a randomised study. *J Steroid Biochem Mol Biol* 97, 416–420.
6. Coutifaris C, Myers ER, Guzick DS, Diamond MP, Carson SA, Legro RS, Mc Govern PG, Schlaff WD, Carr BR, Steinkampf MP, et al. (2004) Histological dating of timed endometrial biopsy tissue is not related to fertility status. *Fertil Steril* 82, 1264–1272.
7. Dallenbach-Hellweg G (1984) The endometrium of infertility. A review. *Pathol Res Pract* 178, 527–537.
8. De Ziegler D and Fanchin R (2000) Progesterone and progestins: applications in gynecology. *Steroids* 65, 671–679.
9. Devroey P, Palermo G, Bourgain C, Van Waesberghe Smits J and Van Steirteghem AC (1989) Progesterone administration in patients with absent ovaries. *Int J Fertil* 34, 188–193.
10. King RJB and Whitehead MI (1986) Assessment of the potency of orally administered progestins in women. *Fertil Steril* 46, 1062–1066.
11. Li TC, Warren MA and Cookie ID (1994) The artificial cycle as an effective treatment of persistently retarded endometrium in the luteal phase. *Hum Reprod* 9, 409–412.
12. Messinis IE (2006) Ovarian feedback, mechanism of action and possible clinical implications. *Hum Reprod Update*, 557–571.
13. Nosarka S, Kruger T, Siebert I and Grove D (2005) Luteal phase support in in-vitro fertilization: a meta-analysis of randomized trials. *Gynecol Obstet Invest* 60, 67–74.
14. Noyes RW, Hertig AJ and Rock J (1950) Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril* 1, 3–25.
15. Pellicer A, Matallin P, Miro F, Rivera J and Bonilla-Musoles FM (1989) Progesterone versus dehydrogesterone as replacement therapy in women with premature ovarian failure. *Hum Reprod* 4, 777–781.
16. Penzias AS (2002) Luteal phase support. *Fertil Steril* 77, 318–323.
17. Soules MR, Steiner RA, Clifton DK, Cohen NL, Aksel S and Bremmer WJ (1984) Progesterone modulation of pulsatile luteinizing hormone secretion in normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 58, 378–383.
18. Whitehead MI, Townsend PT, Gill DK, Collins WP and Campbell S (1980) Absorption and metabolism of oral progesterone. *Br Med J* 22, 825–827.