

Глава 1

Краткая история развития метода индукции овуляции

Краткое содержание

С 60-х годов прошлого века нам посчастливилось быть свидетелями стремительного развития одной из областей современной медицины — лечения бесплодия. До этого времени мы мало чем могли помочь бесплодным парам. На консультациях, как правило, врачи с умным видом лишь кивали головой и объясняли, как рассчитать оптимальную для зачатия частоту и время половых актов! Только в 1960-х годах появилась первая возможность преодоления ановуляторного бесплодия. Первым препаратом для индукции овуляции стал кломифен, затем — менопаузальные гонадотропины, а в последние годы — рекомбинантные препараты ФСГ (фолликулостимулирующий гормон) и ЛГ (лютеинизирующий гормон). В 1970-х годах был открыт гонадотропин-рилизинг-гормон (ГнРГ), что привело к широкому использованию в протоколах контролируемой стимуляции яичников его аналогов (агонистов и антагонистов ГнРГ). Огромным шагом вперед стали разработка и внедрение метода экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Бесспорно, это случилось благодаря прозорливости и упорной работе Стэптоу (Stephoe) и Эдвардса (Edwards). Важным достижением в развитии технологии ЭКО является техника внутрицитоплазматической инъекции сперматозоида в цитоплазму ооцита (ИКСИ). Таким образом, за последние 50 лет произошли революционные изменения — от состояния практически нашей

полной беспомощности до реальной возможности преодоления бесплодия. Интересно, какими событиями будут наполнены следующие 50 лет развития репродуктивной медицины?

Ключевые слова

Индукция овуляции • Бесплодие • Ановуляция • Кломифен • Антиэстроген • ФСГ • Гонадотропины • Женщины с аменореей • Стимуляция овуляции • ЭКО • ИКСИ • Внутриматочная инсеминация • ГнРГ • Пролактин • Бромокриптин • Гиперпролактинемия • МГЧ • ЛГ

Со времен моей учебы в медицинском университете в начале 60-х годов прошлого века до сегодняшнего дня мне посчастливилось наблюдать стремительное развитие одной из областей современной медицины — лечение бесплодия. Вплоть до начала 1960-х годов мы мало чем могли помочь бесплодным парам. На консультациях врачи с умным видом лишь кивали головой и объясняли, как рассчитать оптимальную для зачатия частоту и время половых актов! В 1960-х годах появилась первая реальная возможность лечения ановуляторного бесплодия.

Так, в 1961 году Гринблатт (Greenblatt) и соавт. [8] исследовали действие кломифена. Препарат был признан безопасным и эффективным для индукции овуляции. Сегодня кломифен, учитывая простоту его применения и невысокую цену, относится к первой линии выбора для лечения пациенток с ановуляторным бесплодием.

В 1958 году Гемзел (Gemzell) [6] для стимуляции овуляции применил гонадотропины гипофиза человека. В 1960 году были опубликованы данные о первой полученной таким образом беременности [7]. Классическим показанием для данного метода лече-

ния в эти годы был гипогонадотропный гипогонадизм. Впоследствии человеческие гипофизарные гонадотропины были применены и у пациенток после гипофизэктомии [1, 5]. Этот прорыв в лечении бесплодия послужил толчком для поиска промышленного источника получения человеческих гонадотропинов. Люненфельду (Lunenfeld) и коллегам впервые удалось выделить и применить в лечении бесплодия у пациенток с аменореей гонадотропины из мочи женщин, находящихся в периоде постменопаузы. Результаты своей работы Люненфельд (Lunenfeld) [15] и Инслер (Insler) [11] опубликовали в 1970 году. Я горжусь тем, что оба этих выдающихся ученых были моими учителями и вдохновили меня на работу в этой увлекательной области медицины. Менопаузальные гонадотропины человека (МГЧ) и сегодня с успехом используются в практике.

В 1970-х годах была расшифрована структура гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) [9, 16, 18]. Вскоре стал доступен синтетический ГнРГ. Его синтез был относительно простым, однако изучение его клинических эффектов потребовало некоторого времени. Дело в том, что еще в 70-х годах XX века Кнобил (Knobil) обнаружил, что ГнРГ высвобождается из гипоталамуса в импульсном режиме, и, соответственно, для эффективной заместительной терапии его необходимо вводить аналогичным образом [13]. Это послужило основой для его применения в терапии гипоталамического гипогонадотропного гипогонадизма [2, 14]. Ранее было показано, что ГнРГ при непрерывном введении подавляет секрецию гипофизарных гонадотропинов, что привело к широкому применению агонистов ГнРГ, а позднее и антагонистов ГнРГ при так называемой контролируемой стимуляции яичников в протоколах ЭКО для предотвращения преждевременной лютеинизации.

Другим аспектом развития метода индукции овуляции было выделение пролактина, выполненное Хвангом (Hwang) и соавт. [10] в начале 1970-х годов, и описание его специфического лечебного эффекта [4]. Тот факт, что высокая концентрация пролактина может привести к ановуляции, стал поводом для разработки препарата, снижающего его концентрацию. Очень эффективным средством для этой цели оказался бромокриптин [3, 12, 20]. С тех пор были разработаны и другие препараты, снижающие концентрацию пролактина. Они также приводят к уменьшению в размерах, а нередко и к устранению микро- и макроаденом гипофиза, являющихся частыми причинами гиперпролактинемии.

На сегодняшний день доступны высокоочищенные мочевые МГЧ, а также относительно регулярно используется высокоочищенный мочевой ФСГ. Технология сбора мочи и подозрения (к счастью, до сих пор необоснованные), что в препаратах, полученных из мочи, могут существовать потенциально вредные примеси, привели к разработке и широкому применению рекомбинантного ФСГ человека, полученного с помощью технологии рекомбинантной ДНК. Из-за отсутствия примесей данные препараты ФСГ пациент может самостоятельно вводить подкожно, то есть их применение, в дополнение к безопасности, стало более упрощенным. Вскоре после появления рекомбинантного ФСГ были получены рекомбинантные человеческие ЛГ и хорионический гонадотропин (ХГЧ).

Все этапы истории развития метода индукции овуляции сопровождались значительным технологическим прогрессом. Огромным шагом вперед в данной области стали разработка и внедрение метода ЭКО, а также последовавшая затем разработка техники

ИКСИ [17]. Это произошло благодаря упорной работе и прозорливости Стэптоу (Steptoe) и Эдвардса (Edwards) [19].

Список литературы

1. Bettendorf G. Human hypophyseal gonadotropins in hypophysectomized women // *Int. J. Fertil.* 1963. Vol. 8. P. 799.
2. Crowley W.F., McArthur J.W. Stimulation of the normal menstrual cycle in Kallman's syndrome by pulsatile administration of luteinizing hormone releasing hormone // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1980. Vol. 51. P. 173–177.
3. Del Pozo E., Varga L., Wyss H. et al. Clinical and hormonal response to bromocryptine (CB 154) in the galactorrhea syndromes // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1974. Vol. 39. P. 18–26.
4. Friesen H., Belanger C., Guyda H., Hwang P. The synthesis and secretion of placental lactogen and pituitary prolactin / In: Wolstenholme G.E.W., Knight J., editors. *Lactogenic hormones*. Edinburgh/London : Churchill Livingstone, 1972. P. 83–103.
5. Gemzell C.A. Treatment of infertility after partial hypophysectomy with human pituitary gonadotropins // *Lancet*. 1964. Vol. 1. P. 644–647.
6. Gemzell C.A., Diczfalusy E., Tillinger K.G. Clinical effects of human pituitary follicle stimulating hormone (FSH) // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1958. Vol. 18. P. 138–148.
7. Gemzell C.A., Diczfalusy E., Tillinger K.G. Human pituitary follicle stimulating hormone. 1. Clinical effects of partly purified preparation // *Ciba Foundation Colloquia Endocrinol.* 1960. Vol. 13. P. 191.
8. Greenblatt R.B., Barfield W.E., Jungck E.C., Ray A.W. Induction of ovulation with MRL/41 // *JAMA*. 1961. Vol. 178. P. 101–105.
9. Gullemin R. Peptides in the brain: the new endocrinology of the neuron // *Science*. 1978. Vol. 202. P. 390–402.
10. Hwang P., Guyda H., Friesen H.G. Purification of human prolactin // *J. Biol. Chem.* 1972. Vol. 247. P. 1955–1958.

11. Insler V., Rabau E., Lunenfeld B. Comparison of ovarian response to different treatment schedules of human gonadotrophins / In: Butler J.K., editor. Developments in the pharmacology and clinical uses of human gonadotrophins. High Wycombe : GD Searle, 1970. P. 87–100.
12. Jacobs H.S., Franks S., Murray M.A.F. et al. Clinical and endocrine features of hyperprolactinaemic amenorrhea // Clin. Endocrinol. (Oxford). 1976. Vol. 5. P. 439–444.
13. Knobil E. Neuroendocrine control of the menstrual cycle // Recent Prog. Horm. Res. 1980. Vol. 36. P. 53–88.
14. Leyendecker G., Wildt L., Hansmann M. Pregnancies following chronic intermittent (pulsatile) of GnRH by means of a portable pump a new approach to the treatment of infertility in hypothalamic amenorrhea // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1980. Vol. 51. P. 1214–1219.
15. Lunenfeld B., Insler V., Rabau E. Die Prinzipien der Gonadotropintherapie // Acta Endocrinol. 1970. Vol. 148. P. 52–101.
16. Matsuo H., Baba Y., Nair R.M.G. et al. Structure of the porcine LH and FSH releasing factor: 1. The proposed amino acid sequence // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1971. Vol. 43. P. 1334–1339.
17. Palermo G., Joris H., Devroey P., van Steirteghem A.C. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte // Lancet. 1992. Vol. 340. P. 17–18.
18. Schally A.V., Coy D.H., Meyers C.A. Hypothalamic regulatory hormones // Ann. Rev. Biochem. 1978. Vol. 47. P. 89–128.
19. Steptoe P.C., Edwards R.G. Birth after reimplantation of a human embryo // Lancet. 1978. Vol. 2. P. 366.
20. Thorner M.O., McNeilly A.S., Hagan C., Besser G.M. Long term treatment of galactorrhea and hypogonadism with bromocryptine // Br. Med. J. 1974. Vol. 2. P. 419–422.

Глава 2

Физиология овуляции

Краткое содержание

Высвобождение зрелой, пригодной для оплодотворения яйцеклетки из доминантного фолликула является кульминацией удивительно скоординированной и синхронизированной последовательности гормональных и морфологических изменений с участием гипоталамуса, гипофиза и яичников. Основными звеньями данной системы являются ГнРГ, ФСГ, ЛГ, эстроген и прогестерон. Однако в регуляции имеют значение и многие другие факторы. Точность в последовательности многих событий, которая требуется для овуляции, говорит о сложности данного механизма, и то, что его сбой, то есть ановуляция, происходит не так часто, немного удивляет. Нормальное функционирование данной системы зависит от синхронизации времени высвобождения и количества участвующих гормонов. Данные характеристики значительно изменяются на протяжении всего цикла в соответствии с поступлением стимулирующих или ингибирующих сигналов. Яичник является местом синтеза стероидных гормонов, а также, возможно, это наиболее динамичный и непрерывно изменяющийся орган у женщины репродуктивного периода. Из миллионов примордиальных фолликулов, которые изначально были заложены в яичнике, только около 400 созревают до стадии овуляции. Ключом к выбору доминантного фолликула является чувствительность к ФСГ, так как только наиболее чувствительный фолликул может выжить, созреть

и синтезировать в достаточном количестве эстрадиол и рецепторы к ЛГ. Остальные фолликулы, с меньшей чувствительностью к ФСГ, подвергаются атрезии. Выброс ЛГ в середине цикла является пусковым механизмом для процесса овуляции, активизируя каскад воспалительных реакций в доминантном фолликуле, что приводит к разрушению фолликулярных оболочек и высвобождению ооцита с яйценосным бугорком.

Ключевые слова

Овуляция • Индукция овуляции • Ооцит • Доминантный фолликул • Гормоны • ГнРГ • ФСГ • ЛГ • Эстроген • Прогестерон • Гиперстимуляция яичников • ЭКО • Желтое тело яичника • Антральные фолликулы • Андростендион • Тестостерон • Эстрадиол • Ингибин В • Гранулезные клетки • Разрыв созревшего фолликула • Лютеинизация • Ингибин • Активин • Фоллистатин • Инсулиноподобный фактор роста (ИФР) • Антимюллеров гормон (АМГ) • Синтез стероидов в яичнике

Для того чтобы разобраться в процессе индукции овуляции, необходимо знать базовые основы механизма овуляции. В норме в период между менархе и менопаузой овуляция происходит один раз в месяц. Высвобождение зрелого, готового к оплодотворению ооцита из доминантного фолликула является кульминацией удивительно скоординированной и синхронизированной последовательности гормональных и морфологических изменений с участием гипоталамуса, передней доли гипофиза и яичников. Основными звеньями данной системы являются ГнРГ, ФСГ, ЛГ, эстроген и прогестерон. Однако необходимая регуляция обеспечивается и многими другими факторами, в том числе ингибином, активином и факторами роста. Точность в последовательности

многих событий, которая требуется для овуляции, говорит о сложности механизма, и то, что его сбой, то есть ановуляция, происходит не так часто, немного удивляет.

2.1. Гипоталамо-гипофизарно-яичниковая система

Нормальное функционирование данной системы зависит от синхронизации времени высвобождения и количества участвующих гормонов. Данные показатели значительно изменяются в течение всего менструального цикла согласно механизмам обратной связи.

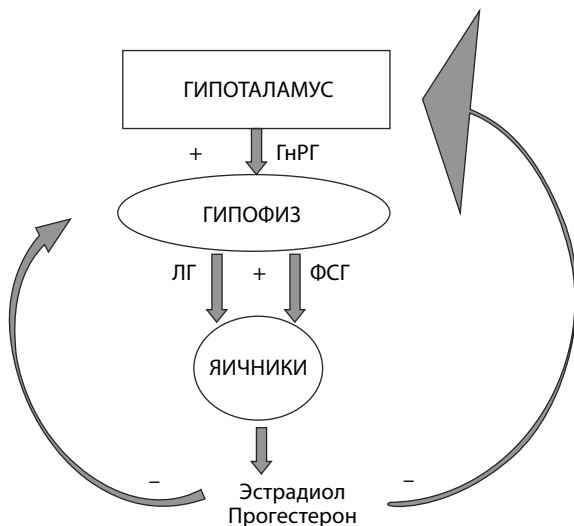


Рис. 2.1. Схематическое представление о месте синтеза, органах-мишенях и механизмах обратной связи для основных гормонов, участвующих в функционировании гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы

Чтобы осветить гормональный профиль нормального овуляторного цикла для описания механизма обратной связи, сначала рассмотрим участвующие гормоны, их функции, а также органы-мишени. На рис. 2.1 изображено очень простое представление о месте синтеза, органах-мишенях и механизмах обратной связи для основных гормонов, участвующих в функционировании данной системы.

2.1.1. Гонадотропин-рилизинг-гормон

Гонадотропин-рилизинг-гормон (ГнРГ) является декапептидом, который синтезируется и высвобождается в специфических нейрональных окончаниях в переднем и медиобазальном отделах гипоталамуса. Он секретируется в портальные сосуды, которые кратчайшим путем идут к передней доле гипофиза. Именно компактность портальной системы сосудов позволяет ГнРГ накапливаться в гипофизе в достаточном количестве, чтобы стимулировать высвобождение гонадотропина, а также объясняет тот факт, что ГнРГ не обнаруживается в периферическом кровообращении. Выделение гонадотропинов (ФСГ и ЛГ) запускает синтез эстрадиола и прогестерона в яичниках, которые, в свою очередь, через механизм обратной связи оказывают существенное влияние на высвобождение ГнРГ из гипоталамуса.

ГнРГ высвобождается в импульсном режиме, и от количества и частоты выделения, а также от чувствительности гипофизарных гонадотропоцитов зависит характер высвобождения двух гонадотропинов. На ритм высвобождения ГнРГ влияют стероиды яичников, но определенную роль играют и многие другие факторы, такие как опиаты, катехоламины и нейропептид Y. Если ГнРГ высвобождается непрерывно,

выделение гонадотропинов подавляется из-за значимой десенсибилизации гипофизарных рецепторов к ГнРГ. Высвобождение ГнРГ в импульсном режиме и изменение характеристик данного процесса, таким образом, обеспечивают слаженное и последовательное протекание овуляторного цикла.

Поскольку в периферическом кровотоке обнаружить ГнРГ невозможно, при исследовании ритма высвобождения данного гормона в течение нормального овуляторного цикла и при патологических состояниях мы основывались на корреляции данного процесса с ритмом выделения ЛГ. Ритм выделения ФСГ определить гораздо труднее из-за более длительного периода полувыведения данного гормона. В фолликулярной фазе нормального цикла выделение порции ЛГ (что отражает высвобождение ГнРГ) определяется каждые 60–90 мин.

Непосредственно до предовуляторного выброса ЛГ в огромных количествах высвобождается ГнРГ, а после овуляции, под влиянием возрастающей концентрации прогестерона, интервалы высвобождения данного гормона постепенно увеличиваются от 2–4 ч в начале лютеиновой фазы до 8–12 ч ближе к концу цикла. Количество выделяемого ЛГ в лютеиновую фазу значительно выше, чем в фолликулярную. Изменение количества ГнРГ и частоты его высвобождения является основным фактором, влияющим на секрецию ФСГ и ЛГ, что, в свою очередь, регулирует процесс овуляции и выработку гормонов яичниками.

Изучение физиологии высвобождения и действия ГнРГ имело большое практическое значение. Индукция овуляции у женщин с гипоталамическим гипогонадотропным гипогонадизмом проходит успешно, если вводить ГнРГ в импульсном режиме каждые 60–90 мин. Такой метод — идеальный пример полной

заместительной терапии. Попытки найти агонисты для усиления действия ГнРГ имели точно противоположный конечный эффект за счет десенсибилизации рецепторов к ГнРГ. В настоящее время эти соединения широко используются до и во время контролируемой стимуляции яичников в протоколах ЭКО, чтобы предотвратить преждевременный выброс ЛГ. Применение антагонистов ГнРГ постепенно вытесняет использование агонистов в протоколах ЭКО, поскольку они не вызывают кратковременного повышения выделения гонадотропинов, как это делают агонисты, а сразу снижают их концентрацию. Подробное сравнение свойств и клинического использования агонистов и антагонистов ГнРГ приведено в одной из последующих глав.

2.1.2. Фолликулостимулирующий гормон

Количество вырабатываемого в передней доле гипофиза фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) варьирует в течение овуляторного цикла, как и частота его выделения. Данный механизм зависит от многих факторов. При гибели желтого тела, которая непосредственно предшествует менструации, эффекты отрицательной обратной связи эстрадиола, прогестерона и ингибина А на секрецию ФСГ резко прекращаются, поэтому во время самой менструации ФСГ выделяется в относительно больших количествах. Такое повышение концентрации ФСГ стимулирует рост антральных фолликулов, пролиферацию и дифференцировку гранулезных клеток. Данный гормон также обеспечивает действие фермента ароматазы, который участвует в превращении основных андрогенов, андростендиона и тестостерона, в эстрогены. В результате концентрации эстрадиола

и ингибина В увеличиваются, в игру вступают механизмы отрицательной обратной связи, и, как следствие, концентрация ФСГ снижается. В середине цикла вместе с выбросом ЛГ происходит временное увеличение секреции ФСГ, небольшой всплеск, значение которого до сих пор не выяснено. Это может оказаться побочным эффектом высвобождения порции ГнРГ или может быть необходимо для подготовки антральных фолликулов для следующего цикла. По мере образования желтого тела и выделения как эстрадиола, так и прогестерона развивается механизм отрицательной обратной связи, что подавляет высвобождение ФСГ вплоть до начала следующей менструации.

ФСГ выполняет множество функций. Он является стимулирующим фактором для следующих процессов:

- 1) пролиферации и дифференцировки гранулезных клеток;
- 2) развития антральных фолликулов;
- 3) синтеза эстрадиола;
- 4) продукции рецепторов к ЛГ в доминантном фолликуле;
- 5) синтеза ингибина.

В дополнение к этим функциям снижение концентрации ФСГ с параллельным ростом концентрации эстрогена, как полагают, играет важную роль при выборе (селекции) доминантного фолликула. Снижение секреции ФСГ предотвращает созревание большого количества фолликулов, так как только самый крупный из развивающихся фолликулов остается выше порога чувствительности к ФСГ, имеет наибольшее количество рецепторов к ФСГ и производит большее количество эстрадиола. При снижении концентрации ФСГ этот фолликул страдает меньше всех и может продолжать развиваться, в то

время как другие подвергаются атрезии из-за отсутствия достаточной стимуляции ФСГ. Индукция рецепторов к ЛГ на крупнейшем развивающемся фолликуле (фолликулах) позволяет ЛГ принять участие в развитии доминантного фолликула в конце фолликулярной фазы и подготовить его к предстоящему выбросу ЛГ.

Такие базовые знания о механизме действия ФСГ, особенно относительно порога чувствительности к ФСГ и фолликулярного роста, повлияли на изменение режимов индукции яичников, а именно на разработку низкодозового режима в течение длительного периода времени для индукции монофолликулярной овуляции, предотвращения многоплодной беременности и предупреждения развития синдрома гиперстимуляции яичников.

2.1.3. Лютеинизирующий гормон

В начале и середине фолликулярной фазы секреция лютеинизирующего гормона (ЛГ) относительно однообразна, с выделением гормона через каждые 60–90 мин, что приводит к довольно постоянной низкой концентрации циркулирующего ЛГ. Тем не менее это лишь «затишье перед бурей». Высшее значение концентрации ЛГ достигается при его выбросе в конце фолликулярной фазы, центрального события овуляторного цикла (рис. 2.2). Концентрация ЛГ повышается в 10–20 раз по сравнению с ее уровнем в течение остальной части цикла. Продолжительность выброса составляет 36–48 ч.

Выброс ЛГ, без которого невозможна овуляция, зависит от ряда обстоятельств. В основном это обусловлено резкой сменой механизма отрицательной обратной связи на положительную обратную связь

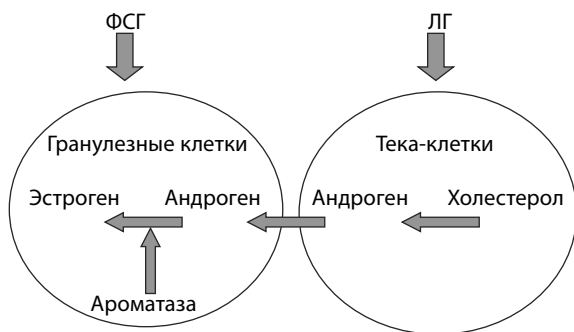


Рис. 2.2. Гипотеза «две клетки, два гонадотропина»

действия эстрадиола как на уровне гипофиза, так и на уровне гипоталамуса. Это происходит только тогда, когда постоянно возрастающая концентрация эстрадиола достигает критического уровня. При этом секретирующие ЛГ гонадотропоциты гипофиза становятся высокочувствительными к стимуляции ГнРГ, что, вероятно, вызвано увеличением количества рецепторов к ГнРГ. Кроме этого, стимулирующим фактором пика ЛГ может быть небольшое повышение уровня прогестерона в конце фолликулярной фазы.

Выброс ЛГ перед овуляцией приводит к следующим ключевым последствиям:

- 1) запуску механизма овуляции и разрыву созревшего фолликула (через 36 ч после выброса гормона);
- 2) разрушению комплекса «кумулус–ооцит»;
- 3) индукции возобновления мейотического созревания ооцита;
- 4) лютеинизации гранулезных клеток.

После формирования желтого тела повышение концентрации прогестерона приводит к увеличению интервала выделения ЛГ (ГнРГ) до 1 раза в 3 ч, а за-