



УКРАЇНА

(19) UA (11) 55394 (13) U
(51) МПК (2009)
A61B 17/42

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПІДГОТОВКИ ЕНДОМЕТРІЯ ДО ІМПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ У ЖІНОК ІЗ ГІПОПЛАЗОВАНИМ ЕНДОМЕТРІЄМ, ВКЛЮЧЕНИХ ДО ПРОГРАМИ ЗІВ-ПЕ

1

2

(21) u201007478

(22) 15.06.2010

(24) 10.12.2010

(46) 10.12.2010, Бюл.№ 23, 2010 р.

(72) ІЛЬІН ІГОР ЄВГЕНІЙОВИЧ, КАМІНСЬКИЙ В'ЯЧЕСЛАВ ВОЛОДИМИРОВИЧ, ГЮЛЬМАМЕДОВА ІРИНА ДМИТРІВНА, ІЛЬІНА ОЛЬГА ІГОРІВНА
(73) ІЛЬІН ІГОР ЄВГЕНІЙОВИЧ, КАМІНСЬКИЙ В'ЯЧЕСЛАВ ВОЛОДИМИРОВИЧ, ГЮЛЬМАМЕДОВА ІРИНА ДМИТРІВНА, ІЛЬІНА ОЛЬГА ІГОРІВНА

(57) Спосіб підготовки ендометрія до імплантації ембріонів у жінок із гіпоплазованим ендометрієм, включених до програми ЗІВ-ПЕ, шляхом внутрішньом'язової ін'єкції 3,75 мг агоніста гонадотропін-релізіг-гормону на 18-21 день попереднього менструального циклу, курсу ін'єкцій препарату гонадо-

тропного гормону, початкова доза якого складає 150-300 МО/добу перші п'ять днів і залежить від віку й яєчникового резерву пацієнтки з наступною зміною дозування відповідно до індивідуальних особливостей росту фолікулів, призначення ін'єкції препарату хоріонічного гонадотропіну людини в дозі 10000 МО, перорального прийому естрадіолу валеріату в дозі 2-12 мг/добу, курс якого продовжують до дня аспірації фолікулів, який **відрізняється** тим, що пероральний прийом естрадіолу валеріату починають з 2-3-го дня менструально-подібної кровотечі та продовжують до досягнення ендометрієм товщини 5-6 мм, після чого призначають курс ін'єкцій препарату гонадотропного гормону.

Корисна модель належить до медицини, точніше - до репродуктології, і може бути використана для оптимізації імплантаційного потенціалу гіпоплазованого ендометрія у пацієнток, включених до програми ЗІВ-ПЕ.

За даними ВООЗ частота безплідного шлюбу складає 10-15 % і не має тенденції до зниження. Частота безплідних шлюбів на території України коливається від 15 до 20 % всіх подружніх пар, що перевищує критичний рівень 15 %, вказаний групою експертів ВООЗ (1993), коли безпліддя виступає як фактор, що значно впливає на демографічні показники в країні та представляє собою державну проблему (Л. І. Іванюта, 2004). Допоміжні репродуктивні технології і, зокрема, запліднення ін вітро (ЗІВ) та перенесення ембріона (ПЕ) відіграють провідну роль у лікуванні безпліддя. Проблема підвищення ефективності ЗІВ вирішується в різних напрямках: розвиваються нові й удосконалюються наявні мікротехнологічні процеси, змінюються методи культивування, модифікуються протоколи підготовки до ЗІВ-ПЕ й ін. Одним з важливих факторів, що визначають ефективність ЗІВ-ПЕ, є рецептивний потенціал ендометрія: його зрілість і готовність до імплантації ембріона. Особливої уваги заслуговує підготовка ендометрія у пацієнток із гіпоплазією ендометрія (ГЕ), яка часто супроводжується невідповідністю структури ендометрія

дню менструального циклу (МЦ) (на відміну від фізіологічно функціонального ендометрія). Невідповідність структури ендометрія дню МЦ за класифікацією Noys 1958 р. спостерігалася у $24,39 \pm 0,07$ % з першим циклом ЗІВ й у $36,54 \pm 0,05$ % пацієнток з неефективними циклами в анамнезі. За результатами дослідження авторів корисної моделі, ехо-ознаки ГЕ виявлені у 19,3 % пацієнток з першим циклом ЗІВ і у 29,5 % пацієнток з неефективними циклами в анамнезі. При морфологічному дослідженні ці цифри склали 19,2 % і 26,23 % відповідно.

Відомий спосіб підготовки ендометрія до імплантації ембріонів у жінок із ГЕ, включених до програми ЗІВ-ПЕ (Edgar D.H. Oestrogen and human implantation /Hum. Reprod. -1995. -V.10, № 2-3. -P.2276), який передбачає призначення низькодозованого препарату естрадіолу (E2) в циклах замісної гормональної терапії з перенесенням донорських або кріоембріонів.

Однак клінічний досвід показує, що підготовка ендометрія до імплантації ембріонів у жінок із ГЕ, включених до програми ЗІВ-ПЕ, за відомим способом супроводжується низькою здатністю ендометрія до імплантації ембріонів і високою частотою самовільних абортів.

Причина недоліку відомого способу в недостатній проліферації ендометрія, недостатній кілько-

(19) UA (11) 55394 (13) U

сті прогестеронових рецепторів в гіпоплазованому ендометрії, неповноцінній трансформації ендометрія для імплантації ембріона.

Відомий спосіб підготовки ендометрія до імплантації ембріонів у жінок із ГЕ, включених до програми ЗІВ-ПЕ (Baird D.D., Weinberg C.R., Shou H. et al. Preimplantation urinary hormone profiles and the probability of conception in healthy women /Fertil Steril. -1999. -V. 71. -P.40-9), який включає призначення високих доз Е2 і відповідне досягнення високих рівнів цього гормону в преімплантаційний період.

Недоліком відомого способу є низька ефективність оптимізації імплантаційного потенціалу ГЕ у пацієнток, включених до програми ЗІВ-ПЕ.

Причина недоліку відомого способу в тому, що високі дози Е2 в преімплантаційний період погіршують рецептивність ендометрія. Частина дослідників підтверджують це, спостерігаючи значне зниження імплантаційної частоти у пацієнток з високою відповіддю на гонадотропну стимуляцію.

Відомий обраний за найближчий аналог спосіб підготовки ендометрія до імплантації ембріонів у жінок із ГЕ, включених до програми ЗІВ-ПЕ (М.А. Релина, Н.В. Корнилов, Е.Г. Крапивина и др. Место препаратов натуральных эстрогенов в протоколе ЭКО /Проблемы репродукции.- 1999.- №5), який включає внутрішньом'язову ін'єкцію 3,75 мг агоніста гонадотропін-рилізінг-гормону (аг-ГнРГ) на 18-21 день (середина лютеїнової фази) попереднього МЦ. Досягнення десенситизації гіпофіза підтверджують даними ультразвукового дослідження (УЗД) та розвитком менструальноподібної кровотечі. Для контрольованої оваріальної гіперстимуляції (КОГ) на 3-й день стимульованого МЦ застосовують препарат гонадотропного гормону (ГТГ), початкова доза якого складає 150-300 МО/добу перші п'ять днів і залежить від віку й яєчникового резерву пацієнтки. Зміну дозування ГТГ проводять відповідно до індивідуальних особливостей росту фолікулів за даними УЗД. При досягненні, як мінімум, трьома фолікулами розмірів більше 17 мм (або одним більше 20 мм) призначають ін'єкцію хоріонічного гонадотропіну людини (ХГЛ) в дозі 10000 МО. Пероральний прийом Е2-валеріату за відомим способом-найближчим аналогом призначають з 7-8-го дня стимульованого МЦ в дозі 2-12 мг/добу. Далі виконують аспірацію фолікулів, культивування ооцитів і ПЕ.

Недоліком відомого способу-найближчого аналога є низька ефективність оптимізації імплантаційного потенціалу ГЕ у пацієнток, включених до програми ЗІВ-ПЕ.

Причина недоліку відомого способу-найближчого аналога в недосягненні повноцінної якості проліферативної фази розвитку ендометрія з утворенням достатньої кількості рецепторів до Е2 та прогестерону.

В основу корисної моделі поставлено задачу в способі підготовки ендометрія до імплантації ембріонів у жінок із ГЕ, включених до програми ЗІВ-ПЕ, шляхом зміни порядку та продовження терміну прийому Е2-валеріату забезпечити утворення достатньої кількості рецепторів до Е2 та прогестерону, що сприяє досягненню повноцінної якості

проліферативної фази розвитку ендометрія. При цьому ефективність імплантації ембріона в ендометрій підвищується, оскільки збільшується порівняно з відомим способом-найближчим аналогом число клінічних вагітностей в 1,3 разу, а доношених вагітностей - в 3,26 рази.

Поставлена задача вирішується тим, що створено спосіб підготовки ендометрія до імплантації ембріонів у жінок із ГЕ, включених до програми ЗІВ-ПЕ, який передбачає проведення внутрішньом'язової ін'єкції 3,75 мг аг-ГнРГ на 18-21 день попереднього МЦ, курс ін'єкцій препарату ГТГ, початкова доза якого складає 150-300 МО/добу перші п'ять днів і залежить від віку й яєчникового резерву пацієнтки з наступною зміною дозування відповідно до індивідуальних особливостей росту фолікулів, призначення ін'єкції препарату ХГЛ в дозі 10000 МО, пероральний прийом Е2-валеріату в дозі 2-12 мг/добу, курс якого продовжують до дня аспірації фолікулів.

Новим у створеному способі є те, що пероральний прийом Е2-валеріату починають з 2-3-го дня менструальноподібної кровотечі та продовжують до досягнення ендометрієм товщини 5-6 мм, після чого призначають курс ін'єкцій препарату ГТГ.

Між сукупністю ознак корисної моделі та технічним результатом, якого можна досягти при її реалізації, існує причинно-наслідковий зв'язок.

Якість ооцита - головний фактор, що обмежує частоту його імплантації в ендометрій. Але існують також й інші, неембріональні причини невдач ЗІВ-ПЕ, на які в більшості випадків можна впливати. Таким чинником є рецептивність ендометрія, його зрілість і готовність до імплантації ембріона. Підтримка процесів дозрівання структур ендометрія є одним із важливих факторів для успішного кінцевого результату ЗІВ-ПЕ. Нормальний секреторний розвиток і дозрівання ендометрія залежать від комбінованої дії Е2 і прогестерону. Дефіцит, надлишок або тимчасовий дисбаланс кожного з гормонів може порушувати морфологію ендометрія. Саме дефіцит Е2 в процедурі ЗІВ-ПЕ, за способом-найближчим аналогом, сприяє недосягненню повноцінної якості проліферативної фази розвитку ендометрія, а значить і зниженню ефективності імплантації ембріона в ендометрій.

Почес підготовки ендометрія до імплантації ембріонів у жінок із ГЕ за способом-найближчим аналогом складається з таких етапів:

1) на 18-21 день (середина лютеїнової фази) попереднього МЦ за допомогою аг-ГнРГ виконують десенситизацію гонадотропної функції гіпофіза.

Досягнення десенситизації гіпофіза підтверджують даними УЗД та розвитком менструальноподібної кровотечі;

2) на 2-3-й день менструальноподібної кровотечі для КОГ застосовують препарат ГТГ за схемою дозування, яка залежить від віку й яєчникового резерву пацієнтки;

3) пероральний прийом Е2-валеріату призначають в дозі 2-12 мг/добу з 7-8-го дня стимульованого МЦ до дня аспірації фолікулів;

4) при досягненні, як мінімум, трьома фолікулами розмірів більше 18 мм (або одним більше

20 мм) призначають ін'єкцію ХГЛ.

На цьому підготовку ендометрія закінчують, далі (як і за заявленим способом) виконують аспірацію фолікулів, культивування ооцитів і ПЕ.

Недолік наведеної відомої схеми підготовки ендометрія до імплантації ембріонів у жінок із ГЕ в програмі ЗІВ-ПЕ полягає в наступному. Після ін'єкції препарату аг-ГнРГ (у вигляді «депо» ін'єкційна доза 3,75 мг діє 28 діб) через 7-8 діб починається менструальноподібна кровотеча. На 2-3 день менструальноподібної кровотечі проводять стимулювання фолікулів (КОГ). І все це виконують в умовах ГЕ, коли через недостатність ендогенних (власних) естрогенів відсутня повноцінна проліферативна фаза ендометрія: не відновлюється рецептивність ендометрія, його зрілість і готовність до імплантації ембріона. За способом-найближчим аналогом, при підготовці ендометрія до імплантації орієнтуються на ендогенні естрогени, які виробляють власні фолікули в процесі зростання під впливом стимулювання ГТГ. За процесом стимулювання фолікулів і відновлення шару ендометрія спостерігають шляхом постійного УЗД-моніторингу, в результаті якого встановлюють відставання зростання ендометрія від фізіологічних норм. В нормі на 5-й день МЦ ендометрій повинен бути товщий за 4-5 мм, на 8-й день - за 7-8 мм, на 10-11-й - за 10-11 мм. При відставанні зростання ендометрія від фізіологічної норми на 7-8-й день стимульованого МЦ, за відомим способом-найближчим аналогом, призначають пероральний прийом екзогенного естрогену - Е2-валеріату. Проте введення естрогену несвоєчасне, а період його прийому закороткий (3-5 днів), і тому сумарна доза введення естрогену недостатня для відновлення рецептивності ендометрія. Недостатня підготовка ендометрія ендогенним (продукованим) та екзогенним (вжитим) Е2 і є причиною низької ефективності імплантації ембріона в ендометрій.

За способом, що заявляється, на 2-3-й день менструальноподібної кровотечі (2-й етап за найближчим аналогом) починають не КОГ, а підготовку ендометрія до запліднення - пероральний прийом Е2-валеріату (за найближчим аналогом це 3-й етап). Причому, за способом, що заявляється, прийом Е2-валеріату продовжують до досягнення ендометрієм товщини 5-6 мм, після чого призначають курс ін'єкцій препарату ГТГ (2-й етап за найближчим аналогом) на фоні продовження прийому Е2-валеріату.

Таким чином, за способом, що заявляється, прийом Е2-валеріату проводять своєчасно: перед процедурою КОГ, а період прийому та сумарна доза вжитого Е2 є достатніми для відновлення рецептивності ендометрія. За рахунок цього поліпшується фаза проліферації (наростання) в розвитку ендометрія. Без якісної фази проліферації неможлива якісна наступна фаза в розвитку ендометрія - секреторна, коли відбувається імплантація ембріона. Це призводить до підвищення ефективності імплантації ембріона в ендометрій порівняно з відомим способом-найближчим аналогом.

Порівняльну ефективність заявленого та відомого (найближчого аналога) способів підготовки

ендометрія до імплантації ембріонів було вивчено на 60 безплідних пацієнтках із ГЕ, включених до програми ЗІВ-ПЕ. Пацієнткам основної групи (31 жінка) проводили підготовку ендометрія до імплантації ембріонів за способом, що заявляється, а групи порівняння (29 жінок) - за відомим способом-найближчим аналогом. Всі цикли запліднення були проведені за «довгим» протоколом КОГ із застосуванням аг-ГнРГ (Диферелін (Ipsen Pharma)) з середини лютеїнової фази (18-21 день) попереднього МЦ. Десенсиטיзацію гіпофіза підтверджували даними УЗД і наявністю менструальноподібної кровотечі. Для КОГ застосовували ГТГ: препарати Менопур (Ferring), Гонал-Ф (Serono), Фостімон (IBSA), в якості ХГЛ - Прегніл (Organon), в якості Е2-валеріату - Прогінова (Schering AG). Запліднення ооцитів проводили за допомогою мікроін'єкції сперматозоїдів (IKCI).

У пацієнток обох груп не виявлено достовірних відмінностей за віком, показниками оваріального резерву, тривалості та причин безпліддя. Тривалість КОГ склала $11,8 \pm 1,9$ дня в основній групі й $11,1 \pm 2,2$ в групі порівняння ($p > 0,05$), кількість отриманих ооцитів $15,1 \pm 7,3$ і $14,2 \pm 5,1$ ($p > 0,05$), відповідно. Анульованих циклів не було. Перенесено, відповідно, $2,7 \pm 0,6$ і $2,5 \pm 0,4$ ембріонів, ($p > 0,05$).

У всіх пацієнток основної групи на день ПЕ товщина ендометрія становила більше 8 мм, в середньому - $11,8 \pm 1,3$ мм; у пацієнток групи порівняння - $8,9 \pm 1,7$, ($p < 0,05$), причому в 22,5 % пацієнток групи порівняння найближчого аналога вона була менше 8 мм.

Позитивний тест на вагітність зафіксовано у 21 пацієнтки ($67,74 \pm 5,94$ %) основної групи та у 15 пацієнток ($51,7 \pm 4,0$ %) групи порівняння ($p < 0,05$). Частота мимовільних абортів у пацієнток основної групи склала $21,43 \pm 6,73$ % щодо загальної кількості вагітностей, в групі порівняння - $37,5 \pm 7,1$ % ($p < 0,05$), число доношених вагітностей відповідно $46,31$ % і $14,2$ %.

Отже, призначення Е2-валеріату в програмі ЗІВ-ПЕ з використанням «довгого» протоколу КОГ після десенсиטיзації перед призначенням ГТГ у пацієнток із ГЕ дозволяє досягти оптимального стану ендометрія до дня імплантації ембріонів, що підвищує ймовірність настання вагітності та зменшує частоту мимовільних абортів.

Спосіб підготовки ендометрія до імплантації ембріонів у жінок із ГЕ, включених до програми ЗІВ-ПЕ, що заявляється, здійснюють у такий спосіб.

Безплідним пацієнткам, включеним до програми ЗІВ-ПЕ, після виявлення ГЕ проводять КОГ за «довгим» протоколом із введенням в середині лютеїнової фази (18-21 день) попереднього МЦ для десенсиטיзації гіпофіза внутрішньом'язовою ін'єкцією 3,75 мг препарату аг-ГнРГ (Диферелін (Ipsen Pharma)). Десенсиטיзацію гіпофіза підтверджують даними УЗД і наявністю менструальноподібної кровотечі. З 2-3-го дня менструальноподібної кровотечі після десенсиטיзації гіпофіза аг-ГнРГ призначають Е2-валеріат (Прогінова (Schering AG)) у добовій дозі 2-12 мг/добу (залежно від вихідної товщини ендометрія) та продовжу-

ють до досягнення ендометрієм товщини 5-6 мм. Далі для КОГ призначають курс ін'єкцій препарату ГТГ (Менопур (Ferring), Гонал-Ф (Serono) або Фос-тімон (IBSA)). Початкова доза введеного препарату ГТГ складає 150-375 МО перші п'ять днів в залежності від віку пацієнтки й яєчникового резерву. Подальшу зміну дозування проводять відповідно до індивідуальних особливостей росту фолікулів за даними УЗД. Е2-валеріат продовжують приймати до дня аспірації фолікулів. За наявності, як мінімум, 3 фолікулів діаметром ≥ 18 мм виконують ін'єкцію ХГЛ (препарат Прегніл (Organon)) в дозі 10000 МО. Запліднення ооцитів і всі подальші маніпуляції виконують згідно з відомою процедурою програми ЗІВ-ПЕ (див., наприклад, Гюльмамедова І.Д. Диференційований підхід до діагностики та лікування безплідного шлюбу із застосуванням допоміжних репродуктивних технологій /Дис. ... д. мед. н. - Донецьк, 2009).

Ефективність підготовки ендометрія до імплантації ембріонів у жінок із ГЕ, включених до програми ЗІВ-ПЕ, за запропонованим способом підтверджується клінічним прикладом.

Приклад. Хвора Р., 37 років, звернулася для лікування безпліддя в клініку репродукції з діагнозом: безпліддя вторинне, поєднане (трубний фактор, вузлувата субсерозна міома матки), ГЕ. Менархе з 13 років. Місячне через 35 по 5 днів, встановилося відразу, регулярне, виділення помірні, безболісні. Статеве життя почала з 16 років. Шлюб перший, зареєстрований. У чоловіка - нормоспермія. Інфектологічний анамнез: перенесені хламідіоз, уреоплазмоз. У 1995 р. виконано оперативну лапароскопію, двосторонню сальпінгоектомію з приводу двосторонніх сактосальпінксів. В анамнезі проведено 5 невдалих циклів ЗІВ-ПЕ.

П'ятий невдалий цикл ЗІВ-ПЕ було виконано згідно з методикою підготовки ендометрія до імплантації ембріонів за відомим способом-найближчим аналогом, коли Е2-валеріат (Прогіно-

ва) призначили з 8-го дня КОГ в дозі 4 мг/добу впродовж 4 днів. Товщина ендометрія в день ПЕ складала 7,5 мм. У даному циклі настала маткова вагітність, підтверджена даними УЗД і біохімічними показниками (b-ХГ - 1250 МО). Вагітність завмерла в терміні 5-6 тижнів.

В клініці репродукції хворій Р. провели гістероскопію з біопсією ендометрія. За даними морфологічного дослідження біоптату ендометрія підтверджено діагноз ГЕ: виявлено відставання секреторних перетворень від фізіологічних на 5 днів; фіброз строми в базальних відділах ендометрія. При УЗД на 21 день МЦ встановлено, що товщина ендометрія складає 5,5 мм. Розпочато цикл ЗІВ-ПЕ, який включав КОГ з «довгим» протоколом і підготовкою ендометрія до імплантації ембріонів у жінок із ГЕ за способом, що заявляється. На 19-й день попереднього МЦ для десенсиטיзації гіпофіза ввели 3,75 мг препарату Диферелін. На 3-й день менструальноподібної кровотечі після десенсиטיзації гіпофіза призначили Е2-валеріат (Прогінова), 6 мг/добу перорально. КОГ розпочато на 7-й день прийому Е2-валеріату при товщині ендометрія 5 мм препаратом Гонал-Ф (Serono). Початкова доза введеного препарату ГТГ в перші п'ять днів складала 200 МО/добу. Подальші 8 днів пацієнтці Р. виконували ін'єкції Гонал-Ф по 150 МО/добу, користуючись даними УЗД щодо індивідуальних особливостей росту фолікулів. Загальна тривалість КОГ склала 13 днів. За наявності 20 фолікулів діаметром ≥ 18 мм виконали ін'єкцію препарату Прегніл в дозі 10000 МО на 14 день стимуляції. Запліднення ооцитів виконали спермою чоловіка (ІКСІ). В порожнину матки перенесли 3 бластоцисти. Виконали підтримку лютеїнової фази прогестероном. Одержали біохімічне підтвердження вагітності (b-ХГ: 1280 МО). При УЗД діагностували двійню. Вагітність перебігала нормально та закінчилась в термін народженням двох живих хлопчиків масою 2000 г та 2100 г.