

Wpływ stanu czynnościowego jajników na wyniki kliniczne leczenia niepłodności

*Cezary Grygoruk, Grzegorz Mrugacz, Mirosław Grusza, Karol Ratomski, Beata Stasiewicz-Jarocka, Piotr Pietrewicz

Centrum Położniczo-Ginekologiczne „Bocian”, Białystok
Kierownik Centrum: dr n. med. Grzegorz Mrugacz

CORRELATIONS BETWEEN FUNCTIONAL STATUS OF OVARIES AND CLINICAL RESULTS OF INFERTILITY TREATMENT

Summary

Introduction. A main objective of the controlled ovarian hyperstimulation is to obtain oocytes with a highest developmental potential. Despite many years of its use, some aspects of controlled ovarian stimulation has not yet been clarified, especially the role of the functional status of ovaries before hormonal stimulation.

Aim. The aim of the study was to assess the influence of the functional status of ovaries on the clinical outcome of infertility treatment.

Material and methods. The retrospective study included female patients suffering from infertility. The patients were divided into two groups depending on ultrasonographic appearance of ovaries before controlled ovarian hyperstimulation. The patients with small antral follicles < 6 mm in diameter were included into group I. The patients with five or more antral follicles \geq 8 mm in diameter in each ovary were included into group II. The patients from both groups underwent similar treatment process. The major area of interest were the clinical results of infertility treatment.

Results. A retrospective study was conducted on 635 infertile patients (group I – 382, group II – 253). The pregnancy rate was significantly higher in group I than II (41.4 vs 26.5%), $p < 0.05$. The miscarriage rate was 8.4% in group I and 12.3% in group II, $p < 0.05$. Altogether, there were 140 deliveries in group I resulting in birth of 168 children and 57 deliveries in group II resulting in birth of 68 children.

Conclusions. The results of the present study indicates that the functional status of ovaries before controlled ovarian hyperstimulation plays pivotal role for the infertility treatment outcome.

Key words: controlled ovarian hyperstimulation, infertility, polycystic ovaries, pregnancy

WSTĘP

Kontrolowana hiperstymulacja jajników (COH) stanowi integralny i najważniejszy element leczenia techniki wspomaganego rozrodu (ART). Jej głównym celem jest uzyskanie oocytów o jak najwyższym potencjale rozwojowym. Pomimo 25-letniego doświadczenia w tym zakresie efektywność COH jest stosunkowo niska, co uwidacznia się w niezadowolających, embriologicznych i klinicznych wynikach leczenia (1). Wśród wielu sposobów COH protokoły z użyciem agonistów gonadoliberyny oraz egzogennych gonadotropin zyskały największe uznanie kliniczne (2). Pomimo wielu lat ich stosowania, niektóre aspekty – zarówno podstawowe, jak i kliniczne – nie zostały do tej pory wyjaśnione. W szczególności mało uwagi poświęcono ocenie stanu czynnościowego jajników na początku stymulacji gonadotropinami. W świetle danych z za-

kresu fizjopatologii cyklu płciowego kobiety wydaje się, że problem ten może mieć istotne znaczenie, bowiem jakość komórek jajowych na początku fazy gonadotropinowozależnej determinuje ich późniejszy potencjał rozwojowy, a w konsekwencji wyniki embriologiczne i kliniczne.

CEL PRACY

Celem pracy jest próba oceny wpływu stanu czynnościowego jajników przed przystąpieniem do kontrolowanej stymulacji hormonalnej na wyniki kliniczne leczenia niepłodności metodami wspomaganego rozrodu.

MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto bezdzietne pary małżeńskie, leczone w latach 2009-2011 z powodu niepłodności mę-

skiej przy pomocy zapłodnienia pozaustrojowego (IVF) metodą mikroiniekcji plemnika do cytoplazmy oocytów (ICSI). W retrospektywnej analizie wykorzystano dane zawarte w historiach chorób oraz komputerowych bazach danych. Do badań zakwalifikowano pary, w których u pacjentów zdiagnozowano oligoastenoteratozoospermie, a pacjentki spełniały następujące kryteria: wiek 25-35 lat, regularne cykle miesięczne trwające 21-35 dni, normogonadotropizm, stosunek LH do FSH poniżej 1, policystyczna struktura jajników w obrazie USG (12 lub więcej pęcherzyków o średnicy od 2 do 9 mm lub powiększona objętość jajnika $> 10 \text{ mm}^3$), indeks masy ciała (BMI) pomiędzy 18-30 kg/m^2 .

Wszystkie zakwalifikowane pacjentki poddane były jednolitej strategii terapeutycznej. W poprzedzającym cyklu miesięcznym pacjentki przyjmowały monofazowy lek antykoncepcyjny (Marvelon, Organon) od 5 do 25 dnia cyklu. W 21 dniu tego cyklu wykonywano jednorazową iniekcję domięśniową długo działającego preparatu aGnRH (Diphereline SR 3,75 mg, Beaufour Ipsen). Po 21 dniach działania aGnRH oceniano stopień desensybilizacji przysadki mózgowej poprzez pomiar stężeń FSH, LH, E_2 w surowicy krwi pacjentek. Jako kryteria osiągnięcia desensybilizacji przyjęto stężenia $E_2 < 40 \text{ pg/ml}$ (3) oraz brak torbieli o średnicy przekraczającej 15 mm (4). Stężenia hormonów oznaczano metodą immunoenzymatyczną (Mini Vidas, BioMerieux, Francja).

W dniu potwierdzenia desensybilizacji przysadki mózgowej wykonywano ocenę ultrasonograficzną narządu rodowego za pomocą ultrasonografii przezpochwowej (Voluson GE, 730 E, sonda dopochwowa 7,5 MHz). Oceniano wielkość, kształt, echogeniczność macicy, zarys jamy macicy, grubość endometrium, a także przebieg kanału szyjki macicy. Szczegółowej ocenie poddawano strukturę jajników, opisując obecność, liczbę oraz wielkość pęcherzyków w jajnikach, co było podstawą podziału pacjentek na dwie grupy.

Do grupy I zakwalifikowano pacjentki, u których w obrazie ultrasonograficznym jajników stwierdzono jedynie małe pęcherzyki antralne o średnicy nieprzekraczającej 6 mm. Stan taki określano mianem wyciszenia jajników. Do grupy II zaliczono pacjentki, u których, obok małych pęcherzyków antralnych, stwierdzono również obecność co najmniej 5 pęcherzyków w każdym z jajników o średnicy równej lub przekraczającej 8 mm.

Pacjentki z obu grup poddawano kontrolowanej hiperstymulacji hormonalnej jajników, zachowując jednolity standard postępowania. Przez pierwsze 7 dni pacjentkom podawano gonadotropiny menopauzalne (Metrodin, Serono) oraz rekombinowane (Gonal-F, Serono, Puregon, Organon) w dawce 150-225 IU FSH/dzień. Dawkę dobierano indywidualnie w zależności od wyjściowych stężeń gonadotropin, obrazu ultrasonograficznego jajników oraz uprzednich doświadczeń klinicznych. Od 8 dnia COH pacjentki monitorowano, a dawki gonadotropin były modyfikowane w zależności od stężenia estradiolu, wielkości

pęcherzyków wzrastających w jajnikach oraz grubości endometrium. Gdy większość przedowulacyjnych pęcherzyków osiągnęła średnicę $\geq 19 \text{ mm}$, podawano choriogonadotropinę alfa w dawce 250 mikrogramów (Ovitrelle, Sereono). Pobranie komórek jajowych przeprowadzano 36 godzin po iniekcji hCG.

Dojrzałe komórki jajowe poddawano zabiegowi zapłodnienia przy pomocy docytoplazmatycznej iniekcji plemnika (ICSI) (75).

Po 18-21 godzinach od ICSI oceniano przebieg zapłodnienia na podstawie obecności przedjądrzy (PN) w oocytach. Obecność dwóch przedjądrzy (2PN) świadczyła o prawidłowym zapłodnieniu. Nieprawidłowo zapłodnione oocyty (3PN) były eliminowane z hodowli. Oocyty z jednym przedjądrzem (1PN) pozostawiano do dalszej hodowli. Po 24 i 48 h od mikroiniekcji poddawano ocenie przebieg wczesnego rozwoju zarodkowego oraz jakość uzyskanych zarodków. Zarodki klasyfikowano jako „A”, gdy stwierdzano obecność równych blastomerów bez cech fragmentacji, jako „B” – gdy stopień fragmentacji zarodka nie przekraczał 20% powierzchni. Ocenę „C” uzyskiwały zarodki o odsetku fragmentacji w przedziale 21-50%, natomiast „D”, gdy stwierdzano $> 50\%$ fragmentacji. Po około 48 godzinach hodowli zarodki przenoszono do macicy leczonych kobiet. W większości przypadków transferowano dwa embriony. Jedynie w przypadku kobiet, u których dwie poprzednie próby leczenia zakończyły się niepowodzeniem, dopuszczano transfer trzech zarodków. Zabieg wykonywano przy użyciu kateterów Frydmana (Laboratoires CCD, Paris, France) oraz Labotec (Labotec, GmnBH, Germany).

Fazę lutealną wspomagano przy pomocy mikroinizowanego progesteronu (Utrogestane, Pieta, Belgium). Od dnia punkcji lek podawano przez 3 dni doustnie (300 mg/dobę), a następnie dopochwowo (600 mg/dobę) przez 14 dni, do wykonania testu ciążowego. W przypadku dodatniego wyniku terapia była kontynuowana w dawce 600 mg/dobę przez następne 2 miesiące.

Pozytywny wynik testu ciążowego (z moczu) lub aktywność βhCG ($> 50 \text{ IU/l}$) traktowano jako potwierdzenie ciąży biochemicznej i powtarzano dwukrotnie. Obecność pęcherzyka ciążowego i stwierdzenie czynności serca płodu podczas badania ultrasonograficznego w 7 tygodniu ciąży potwierdzało ciążę kliniczną. Wskaźnik implantacji obliczano na podstawie stosunku liczby rozwijających się płodów (potwierdzona czynność serca zarodków) do liczby transferowanych zarodków.

Wyniki badań opracowano statystycznie przy wykorzystaniu elementów statystyki opisowej, testu t-Studenta lub testu Manna-Whitneya (w zależności od rozkładu zmiennej) oraz testu dla wskaźników struktury. Za poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0,05$.

WYNIKI

Do badań zakwalifikowano ogółem 635 małżeństw leczonych przy pomocy ICSI ze względu na krytycznie

niskie parametry nasienia. Do grupy I włączono 382 pacjentki, u których po 21-dniowym okresie desensybilizacji przysadki mózgowej za pomocą aGnRH stwierdzono w jajnikach jedynie małe pęcherzyki antralne o średnicy nieprzekraczającej 6 mm. Grupę II stanowiły 253 pacjentki, u których, pomimo desensybilizacji przysadki mózgowej, jajniki wykazywały obecność licznych pęcherzyków > 8 mm średnicy.

Średnia wieku pacjentek w grupie I wynosiła 30,7 lat (21-38 lat, SD 3,9) i nie różniła się istotnie w porównaniu do grupy II, gdzie wynosiła 31,2 lat (20-38 lat, SD 3,9). Wszystkie pacjentki zakwalifikowane do badań miesięczkowały regularnie. Średnia długość trwania cyklu miesięcznego w grupie I wynosiła 29 dni (21-34 dni, SD 3,1) i była dłuższa w stosunku do grupy II – 28 dni (23-32 dni, SD 2,9); $p < 0,05$. Średnie wartości indeksu masy ciała pacjentek (BMI) w obu grupach nie różniły się znacząco i wynosiły w grupie I – 21,7 kg/m² (18,9-24,9 kg/m², SD 3), w grupie II – 22,1 kg/m² (18,6-24,6 kg/m², SD 3,1); $p > 0,05$. Wszystkie pacjentki wykazywały normogonadotropizm oraz prawidłowy stosunek wartości LH do FSH (LH/FSH < 1).

Ocena ultrasonograficzna sondą przezpochwową, przeprowadzona w 21 dniu od podania aGnRH, wykazała istotne różnice w obrazie jajników, co było podstawą zakwalifikowania do jednej z dwóch grup. U pacjentek przyporządkowanych do grupy II stwierdzono obecność od 5 do 11 pęcherzyków > 8 mm w każdym z jajników (średnio 7,8; SD 2,6). U pacjentek przyporządkowanych do grupy I nie stwierdzano pęcherzyków > 8 mm. Średnia liczba pęcherzyków o średnicy od 3 do 6 mm w grupie I wynosiła 5,5 (2-11 pęcherzyków, SD 4,7), natomiast w grupie II 4,9 (3-9 pęcherzyków, SD 4,2); $p > 0,05$.

Średni czas trwania COH w grupie I wynosił 13,1 dnia i był znacząco dłuższy w stosunku do grupy II – 11,6 dnia; $p < 0,05$. W trakcie COH zużycie gonadotropin było istotnie większe w grupie I, średnio 2340 IU (SD 923) na pacjentkę, w stosunku do grupy II, średnio 2115 (SD 885) ampułki na pacjentkę; $p < 0,05$.

Średnie stężenie E₂ w surowicy krwi pacjentek w dniu podania hCG było znacząco wyższe w grupie II (2320 pg/ml, SD 670) w porównaniu z grupą I (2118 pg/ml, SD 811); $p < 0,05$. Średnia liczba pęcherzyków przedowulacyjnych o średnicy przekraczającej 18 mm w dniu podania hCG w grupie I wynosiła 15 i była znacząco większa w porównaniu z grupą II, gdzie wynosiła 13; $p < 0,05$. Średnia grubość endometrium na koniec COH była porównywalna między grupami, grupa I – 11,9 (SD 2,2) vs 12,2 (SD 2,4); $p > 0,05$.

Średnia liczba dojrzałych oocytów M II uzyskanych w wyniku punkcji jajników pacjentek grupy I wynosiła 9,2 (SD 3,1) i była znacząco większa w porównaniu z grupą II, gdzie uzyskano średnio 8,7 (SD 3) oocytów M II; $p < 0,05$.

Analiza rozwoju zarodkowego w drugiej dobie po zapłodnieniu nie wykazała istotnych różnic pomiędzy grupami w średniej liczbie zarodków 2bl (0,8 vs 0,9) oraz 3bl (0,5 vs 0,6). W odniesieniu do zarodków 4bl w

grupie I uzyskano średnio 4,2 zarodki, natomiast w grupie II 3,6, co stanowiło różnicę znamioną statystycznie; $p < 0,05$.

W grupie I wykonano łącznie 382 transfery zarodków do macicy, w trakcie których przeniesiono 779 zarodków. W grupie II transfer wykonano u 253 pacjentek, którym przeniesiono 521 zarodków. U zdecydowanej większości pacjentek transferowano dwa zarodki. Dotyczyło to 96% pacjentek w grupie I oraz 94% pacjentek w grupie II. U pozostałych 4% pacjentek w grupie I oraz 6% w grupie II drugiej transferowano trzy zarodki. Nie obserwowano różnicy istotnej statystycznie w średniej liczbie transferowanych zarodków pomiędzy grupą I (2,04) a II (2,05); $p > 0,05$. Odsetek transferów, w których przenoszone zarodki były sklasyfikowane w najwyższych klasach jakości A i B, był porównywalny – w grupie I wynosił 97%, a w grupie II – 98%.

Szczegółowe dane opisujące częstość i rodzaj uzyskanych ciąż przedstawia tabela 1. W 13 dniu po transferze na podstawie dodatknych testów ciążowych z moczu lub oceny gonadotropiny kosmówkowej w surowicy krwi pacjentek (> 50 IU/l) rozpoznano 158 ciąż w grupie I oraz 67 ciąż w grupie II. Wskaźnik ciąż na cykl leczniczy w grupie I wynosił 41,4% i był znacząco większy w porównaniu z grupą II, gdzie wynosił 26,5%; $p < 0,05$.

Tabela 1. Liczba uzyskanych ciąż oraz wskaźnik implantacyjności zarodków.

Wyniki kliniczne	Grupa I (n = 382)	Grupa II (n = 253)	p
Całkowita liczba ciąż (%)	158 (41%)	67 (27%)	< 0,05
Ciąże biochemiczne (%)	5 (3%)	2 (3%)	> 0,05
Ciąże pojedyncze (%)	120 (76%)	52 (78%)	> 0,05
Ciąże bliźniacze (%)	33 (21%)	13 (19%)	> 0,05
Wskaźnik implantacyjności zarodków	24,5%	15,4%	< 0,05

Przyjęto kryteria podziału wczesnych strat ciąż. Stratę ciąży biochemicznej zdefiniowano jako samoistne krwawienie, najpóźniej do 28 dnia od transferu, przy pozytywnym teście ciążowym, wykonanym w 14 dobie od transferu oraz braku uwidocznienia pęcherzyka ciążowego w badaniu ultrasonograficznym. Poronienie kliniczne to pozytywny test ciążowy w 14 dobie od transferu, stwierdzenie pęcherzyka ciążowego w jamie macicy w badaniu USG w 24-28 dniu od transferu oraz samoistne poronienie w ciągu pierwszych 12 tygodni ciąży. Do tej kategorii zaliczono również przypadki pustego jaja płodowego. Stratami ciąż w drugim i trzecim trymestrze nie zajmowano się w niniejszej pracy.

Ocena ultrasonograficzna przeprowadzona 4 tygodnie po transferze wykazała obecność co najmniej jednego pęcherzyka ciążowego u 153 pacjentek w grupie I oraz 65 w grupie II. W przypadku 5 pacjentek

w grupie I oraz 2 pacjentek w grupie II nie potwierdzono obecności pęcherzyka ciążowego, pomimo dodatnich testów ciążowych, co określano mianem ciąży biochemicznej. Odsetek ciąży biochemicznych w grupach I i II kształtował się więc na poziomie 3%. U wszystkich pacjentek z rozpoznaną ciążą biochemiczną doszło do samoistnego krwawienia z dróg rodnych w czasie następnych 7 dni po odstawieniu progesteronu. Ciężę pojedyncze stwierdzono u 76% pacjentek w grupie I oraz 78% pacjentek w grupie II; $p > 0,05$. Ciężę bliźniacze stwierdzono u 21% pacjentek w grupie I i 19% pacjentek w grupie II; $p > 0,05$. Ciężę trojacznych nie stwierdzono (tab. 1). Implantacyjność zarodków w grupie I wynosiła 24,5%, natomiast w grupie II – 15,4%; $p < 0,05$.

Spośród 153 ciąży klinicznych uzyskanych w grupie I, 13 (8,4%) zakończyło się poronieniem w pierwszym tryestrze. W grupie II poronienia wystąpiły u 8 z 65 ciężarnych, co stanowiło 12,3%. Różnica w częstości poronień w poszczególnych grupach była znamienna statystycznie; $p < 0,05$. W grupie I w wyniku 140 porodów urodziło się 168 noworodków. Odsetek żywych urodzeń na jeden cykl w grupie I wyniósł 44%. W grupie II w wyniku 57 porodów urodziło się 68 noworodków. Średni odsetek żywych urodzeń na jeden cykl wyniósł 27% w grupie II. Różnica pomiędzy wskaźnikami urodzeń w obu grupach była istotna statystycznie; $p < 0,05$.

DYSKUSJA

Integralnym elementem leczenia niepłodności przy użyciu technik wspomaganego rozrodu jest COH. Głównym celem stosowania COH jest uzyskanie oocytów o potencjale rozwojowym dającym największe szanse na uzyskanie ciąży i urodzenie zdrowego dziecka. We współczesnej klinice leczenia niepłodności dostępnych jest wiele modyfikacji COH, które potocznie nazywa się „protokołami”. Z przeprowadzonych analiz wynika, że najbardziej skuteczny jest tzw. „długi protokół” (5). W protokole tym wykorzystuje się aGnRH do uzyskania desensybilizacji przysadki mózgowej, a następnie stosuje się egzogenne gonadotropiny dla uzyskania jednoczesnego wzrostu kilku, kilkunastu komórek jajowych. Trwająca przez cały okres COH ekspozycja na aGnRH pozwala zapobiec pikowi LH, przez co możliwe jest zaplanowanie czasu wystąpienia owulacji. W praktyce umożliwia to pobranie komórek jajowych z jajników i zapłodnienie ich poza ustrojem.

Pomimo szerokiego wykorzystania długiego protokołu w leczeniu niepłodności, niektóre jego aspekty pozostają nadal nie do końca wyjaśnione. W szczególności mało poznany jest wpływ tego sposobu leczenia na mechanizmy związane z rekrutacją oraz selekcją pęcherzyków antralnych, z których po okresie stymulacji uzyskane zostaną komórki jajowe. W praktyce problem ten odnosi się do wstępnego etapu leczenia aGnRH i wyznaczenia kryteriów włączenia pacjentek do stymulacji egzogennymi gonadotropinami. W tym aspekcie szczególnego

znaczenia nabiera problem stanu czynnościowego jajników po wstępnej ekspozycji na aGnRH i jego wpływ na przebieg COH, wyniki kliniczne leczenia. Należy podkreślić, że temat ten nie został do tej pory zbadany, a dostępna literatura odnosi się do niego w sposób fragmentaryczny.

Protokoły stymulacji jajników, w tym długi protokół, omijają naturalne etapy selekcji pęcherzyków jajnikowych zależne od gonadotropin. Podawane w trakcie COH egzogenne gonadotropiny znoszą naturalne mechanizmy selekcji i prowadzą do jednoczesowego wzrostu wielu pęcherzyków antralnych, których próg wrażliwości na gonadotropiny odpowiada zastosowanej dawce FSH. Jest to istotny problem w przypadku pacjentek z PCO. Z obserwacji naukowych oraz klinicznych wynika, że jedynie pęcherzyki antralne < 6 mm zawierają komórki jajowe o zachowanym potencjale rozrodczym (6). W przypadku pęcherzyków antralnych o średnicy > 8 mm badacze wykazali różnego stopnia zmiany atretyczne zarówno w komórkach ziarnistych, jak też w oocytach (6). Początkowe zmiany atretyczne mają zazwyczaj naturę funkcjonalną i mogą być bardzo trudne do uchwycenia w ocenie mikroskopowej. Ujawniają się dopiero na późniejszych etapach jako niepowodzenie zapłodnienia, zatrzymanie rozwoju zarodkowego, brak implantacji lub poronienie. Zatem, rozpoczynając indukcję mnogiej owulacji w jajnikach, które zawierają wyjściowo wiele pęcherzyków o różnym stopniu rozwoju, należy liczyć się z możliwością otrzymania puli oocytów z mniej lub bardziej nasilonymi zmianami atretycznymi.

Pacjentki z obu grup poddawano COH, zachowując jednolity standard postępowania. Czas trwania COH w grupie I był dłuższy o około dwa dni. Biorąc pod uwagę różnicę średnich wymiarów pęcherzyków pomiędzy grupami na początku stymulacji oraz fakt, iż tempo przyrostu pęcherzyków jest w miarę stałe i wynosi średnio 1-2 mm na dobę, różnica w czasie trwania COH wydaje się zrozumiała. W konsekwencji wydłużenia czasu trwania COH zużycie gonadotropin na cykl w grupie I było znamienne większe.

W wyniku stymulacji jajników w grupie I uzyskano znamienne więcej pęcherzyków przedowulacyjnych o średnicy ≥ 19 mm w porównaniu z grupą II przy podobnej liczbie pęcherzyków, obecnych w jajnikach na początku stymulacji. Końcowa różnica może więc wynikać z większej efektywności indukcji jajczkowania w odniesieniu do puli młodych pęcherzyków antralnych < 6 mm lub też ze zwiększonego stopnia atrezji w pęcherzykach, które zaczynają być stymulowane od wymiaru > 8 mm. W ujęciu klinicznym wydaje się więc, że obecność jednorodnej puli małych pęcherzyków na początku COH ma istotne znaczenie z punktu widzenia optymalnego przebiegu COH. Potwierdza to również fakt, że w grupie II notowano większą asynchronię rozwojową i obok pęcherzyków przedowulacyjnych notowano również liczne pęcherzyki wzrastające < 18 mm w dniu podania hCG. Dlatego też w grupie II odnotowano w dniu zakończenia COH znamienne większe średnie

stężenie estradiolu, jak też większe średnie stężenie E_2 na pęcherzyk przedowulacyjny.

W wyniku punkcji pęcherzyków jajnikowych w grupie I uzyskiwano znamienne więcej dojrzałych oocytów M II w porównaniu z grupą II. Podobną tendencję zauważono w odniesieniu do oocytów M I. Wydaje się, że wyższa średnia liczba oocytów M II i M I w grupie I jest rezultatem większej liczby przedowulacyjnych pęcherzyków jajnikowych > 18 mm w dniu podania hCG oraz większego stopnia ich synchronizacji rozwojowej. W grupie II, pomimo większej całkowitej liczby pęcherzyków, odzysk komórek jajowych był niższy. Sugeruje to, że część pęcherzyków w tej grupie kobiet nie zawierała komórek jajowych.

Z punktu widzenia wyników badań własnych ważną jest analiza jakości zarodków transferowanych do macicy. Odsetek transferów, w których przenoszono jedynie zarodki o najwyższych klasach jakości (A i B), był porównywalny pomiędzy grupami, w związku z czym wpływ jakości transferowanych zarodków na różnice w wynikach leczenia był minimalny.

W grupie I odnotowano znamienne mniej poronień w porównaniu z grupą II. Jak wiadomo, najczęstszą przyczyną poronień są wady genetyczne płodu. Badania cytogenetyczne wykazały, iż nieprawidłowości chromosomowe towarzyszą 50-85% poronień samodzielnym (7). W ciążach rozwijających się prawidłowo pod względem klinicznym częstość wad genetycznych jest zdecydowanie mniejsza i sięga 2,7% (8). Spośród defektów genetycznych najczęściej stwierdzane są zaburzenia dotyczące liczby chromosomów. Wynikać one mogą z: nieprawidłowego przebiegu oogenezy (nierozdzielenie się chromosomów podczas mejozy), zapłodnienia (digynia lub dispermia) lub nieprawidłowych pierwszych podziałów mitotycznych blastomerów (mozaicyzm). Biorąc pod uwagę fakt, że w badaniach własnych wykorzystywano ICSI celem zapłodnienia komórek jajowych, przypadki dispermii należy wykluczyć spośród potencjalnych przyczyn strat ciąż. Podobnie zaburzenia pierwszych cykli podziałowych, gdyż najczęściej zarodki takie rozwijają się nieprawidłowo i nie są transferowane do macicy. Tak więc wydaje się, że zaburzenia rozwojowe oocytów powinny być dominującą przyczyną strat ciąż w grupie badanej. W aspekcie badań własnych próba interpretacji różnej częstości poronień w grupach I i II wydaje się możliwa jedynie w odniesieniu do stanu czynnościowego jajników przed rozpoczęciem COH. Możliwe jest, że oocyty pochodzące z dużych pęcherzyków antralnych (> 8 mm) częściej wykazują dyskretne zmiany atretyczne, co prowadzi do zaburzeń w dojrzewaniu cytoplazmy oocytów, a w rezultacie do zaburzeń funkcji wrzeczona w trakcie I i II podziału mejotycznego. W konsekwencji może dochodzić do aneuploidii i strat ciąż. Hipoteza ta, jakkolwiek bardzo prawdopodobna, wymaga udokumentowania badaniami cytogenetycznymi oocytów i zarodków.

Spośród wszystkich parametrów oceny przebiegu leczenia niepłodności metodą zapłodnienia pozaustrojowego

najważniejszy jest wskaźnik żywo urodzonych dzieci. W grupie I wskaźnik ten był blisko dwukrotnie większy niż w grupie II. W świetle przeprowadzonych badań, lepsza skuteczność zastosowanego leczenia w grupie I jest wynikiem dokładniejszego wyciszenia czynności jajników przed COH, gdyż był to zasadniczy parametr różniący obie badane grupy. Wyciszenie czynności jajników udało się osiągnąć dzięki zastosowaniu aGnRH, który działając proapoptotycznie na komórki ziarniste, w szczególności dużych pęcherzyków, doprowadził do ich eliminacji (9, 10). Pozostała w jajnikach pula małych, „zdrowych” pęcherzyków antralnych, poddana działaniu gonadotropin, dała oocyty o dużym potencjale rozwojowym, co przełożyło się na wyniki kliniczne. W grupie II czas ekspozycji na aGnRH był niewystarczający dla osiągnięcia wyciszenia czynności jajników, dlatego też w momencie rozpoczęcia COH, w jajnikach obok małych pęcherzyków antralnych znajdowały się pęcherzyki o średnicach przekraczających 8 mm. Oocyty uzyskane z takich pęcherzyków po zastosowaniu COH wykazywały słabszy potencjał rozwojowy, co doprowadziło do uzyskania gorszych wyników klinicznych.

Wyniki badań własnych uprawniają do stwierdzenia, że uzyskanie odpowiedniego poziomu wyciszenia jajników w momencie rozpoczęcia stymulacji jest istotnym warunkiem osiągnięcia optymalnych wyników leczenia niepłodności metodą zapłodnienia pozaustrojowego. □

Piśmiennictwo

1. Ferraretti A, Goossens V, de Mouzon J et al.: Assisted reproductive technology in Europe, 2008: results generated from European registers by ESHRE. *Human Reproduction* 2012; 27: 2571-2584.
2. Al-Inany H, Abou-Setta A, Aboulghar M: Gonadotropin-releasing hormone antagonists for assisted conception: a Cochrane review. *Reproductive Biomedicine* 2007; 14: 640-649, online.
3. Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K et al.: The effect of the duration of GnRH-agonist down regulation before ovarian stimulation on the biological and clinical outcome after intracytoplasmic sperm injection. *European Journal of Obstetrics and Gynecology* 1998; 80: 251-255.
4. Ron-El R, Herman A, Golan A et al.: Follicle cyst formation following long-acting gonadotropin-releasing hormone analog administration. *Fertility and Sterility* 1989; 52: 1063-1066.
5. Daya S: Gonadotropin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in *in vitro* fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles. *Cochrane Database Systemic Review* 2000; 1: CD001299.
6. Takahashi K, Eda Y, Abu-Musa A et al.: Transvaginal ultrasound imaging, histopathology and endocrinopathy in patients with polycystic ovarian syndrome. *Human Reproduction* 1994; 9: 1231-1236.
7. Chandley A: Infertility and chromosome abnormality. *Oxford Review of Reproductive Biology* 1984; 6: 1-46.
8. Los F, Van Opstal D, van den Berg C: The development of cytogenetically normal, abnormal and mosaic embryos: a theoretical model. *Human Reproduction Update* 2004; 10: 79-94.
9. Billig H, Furuta I, Hsueh A: Gonadotropin-releasing hormone directly induces apoptotic cell death in the rat ovary: biochemical and *in situ* detection of deoxyribonucleic acid fragmentation in granulosa cells. *Endocrinology* 1994; 134: 245-252.
10. Lin Y, Kahn J, Hillensjo T: Is there

a difference in the function of granulosa-luteal cells in patients undergoing *in vitro* fertilization either with gonadotrophin-releasing hormone agonist or gonadotrophin-releasing hormone antagonist? Human Reproduction 1999; 14: 885-888.

nadesłano: 21.02.2013
zaakceptowano do druku: 28.03.2013

Adres do korespondencji:
*Cezary Grygoruk
Centrum Ginekologiczno-Położnicze „Bocian”
ul. Akademicka 23, 15-267 Białystok
tel.: +48 (85) 744-77-00
e-mail: cezary.grygoruk@gmail.com