

ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЕ ОПЛОДОТВОРЕНИЕ

Под редакцией
члена-корреспондента РАН
И.Ю. Когана

ПРАКТИЧЕСКОЕ РУКОВОДСТВО
ДЛЯ ВРАЧЕЙ



Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

Авторский коллектив	7
Предисловие	9
Список сокращений и условных обозначений	10
Глава 1. Основные сведения о фолликулогенезе и оогенезе в яичниках (<i>И.Ю. Коган, Е.А. Лесик</i>)	13
Представление о наличии нескольких волн роста когорты фолликулов	29
Глава 2. Структура, регуляторные свойства и мишени действия гонадотропинов (<i>А.О. Шпаков</i>)	34
Гонадотропины и их сигнальные каскады	34
Взаимосвязь между N-гликозилированием и активностью гонадотропинов	40
Глава 3. Морфологические особенности эндометрия в стимулированном цикле (<i>Г.Х. Толибова, Т.Г. Траль, И.Ю. Коган</i>)	44
Основные сведения о гистологических преобразованиях эндометрия на протяжении нормального овуляторного менструального цикла	44
Особенности гистологического строения эндометрия в стимулированном цикле	46
Экспрессия эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии в течение овуляторного менструального цикла	49
Экспрессия эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии стимулированного цикла	50
Глава 4. Основные сведения о сигнальных каскадах эстрогенов и прогестерона в эндометрии (<i>И.Ю. Коган, А.О. Шпаков, О.В. Малышева, Г.Х. Толибова</i>)	57
Глава 5. Омиксные технологии — новая стратегия оценки функции эндометрия (<i>И.Ю. Коган, А.С. Глотов, О.В. Малышева, А.М. Гзгзян, Н.И. Тапильская</i>)	68
Глава 6. Мужской фактор бесплодия (<i>А.М. Гзгзян</i>)	77
Методы оценки репродуктивной функции мужчин	81
Терапия пациентов с мужским фактором бесплодия	85
Претестикулярные нарушения	86
Посттестикулярные нарушения	87
Тестикулярные нарушения	88
Глава 7. Спермограмма (спермиологический анализ) (<i>Е.М. Комарова</i>)	98
Макроскопическая оценка эякулята	98
Микроскопическая оценка эякулята	99
Концентрация сперматозоидов	101
Подвижность сперматозоидов	101
Морфология сперматозоида	102
Оценка лейкоцитов в образце эякулята	105
Оценка незрелых половых клеток в эякуляте	105
Определение антиспермальных антител	105
Оценка жизнеспособности сперматозоидов	106
Глава 8. Фрагментация ДНК в сперматозоидах (<i>М.А. Ищук</i>)	108
Глава 9. Стимуляция яичников (<i>И.Ю. Коган</i>)	115
Препараты для стимуляции яичников	123
Основные (базовые) протоколы стимуляции яичников	125

Особенности применения протоколов с антагонистами и агонистами гонадотропин-рилизинг-гормона	129
Выбор протокола стимуляции яичников	132
Выбор стартовой дозы гонадотропина	133
Выбор препарата для стимуляции яичников	135
Ультразвуковой мониторинг стимуляции яичников	137
Триггеры финального созревания ооцитов	139
Глава 10. Стратегии при «бедном» (недостаточном) ответе яичников (<i>И.Ю. Коган, А.М. Гзгзян, К.В. Объедкова</i>)	144
Глава 11. Пункция яичников (<i>Л.Х. Джемлиханова</i>)	162
Глава 12. Особенности анестезиологического пособия при пункции яичников (<i>И.В. Вартанова</i>)	169
Осмотр анестезиологом	169
Боль во время пункции яичников	172
Влияние анестетиков на экстракорпоральное оплодотворение	172
Методы анестезии при экстракорпоральном оплодотворении	173
Пробуждение	179
Глава 13. Крайне неблагоприятные результаты стимуляции яичников (<i>И.Ю. Коган, В.С. Мюллер</i>)	183
Синдром пустых фолликулов	183
Этиология синдрома пустых фолликулов	183
Прогнозирование синдрома пустых фолликулов	185
Диагностика синдрома пустых фолликулов	186
Профилактика синдрома пустых фолликулов	186
Стимуляция при синдроме резистентных яичников	186
Глава 14. Качество ооцитов в программах экстракорпорального оплодотворения (<i>Е.А. Лесик, И.Ю. Коган</i>)	191
Глава 15. Основные сведения об организации работы эмбриологической лаборатории (<i>И.Д. Мекина</i>)	204
Глава 16. Микроманипуляционные техники (<i>И.Д. Мекина</i>)	212
Внутрицитоплазматическая инъекция сперматозоида в ооцит	214
Основные этапы инъекции сперматозоида в цитоплазму яйцеклетки	215
Модификация ICSI: IMSI	220
Модификация ICSI: PCSI	221
Показания для проведения оплодотворения методом ICSI	222
Мужской фактор	222
Женский фактор	224
Применение специальных методик	225
Проблемы метода оплодотворения ICSI. Причины, пути решения	226
Вспомогательный хэтчинг	228
Биопсия эмбриона	230
Глава 17. Культуральные среды и системы культивирования эмбрионов человека (<i>И.Д. Мекина</i>)	236
Модельные объекты в развитии сред и эмбриологии	237
Состав культуральных сред	238
Групповое и индивидуальное культивирование	245

Снижение уровня кислорода	246
Совместное культивирование	246
Системы микроциркуляции	247
Эпигенетические эффекты	247
Глава 18. Оценка качества доимплантационных эмбрионов человека	
(И.Д. Мекина)	249
Параметры для оценки качества эмбриона	250
Количество клеток	250
Фрагментация	251
Размер бластомеров	253
Количество ядер	254
Аномалии цитоплазмы	254
Ориентация бластомеров	255
Глава 19. Перенос эмбрионов в полость матки	
(И.Д. Мекина, Л.Х. Джемлиханова)	261
Основные причины отмены переноса эмбриона	261
Выбор количества эмбрионов на перенос	264
Глава 20. Синдром гиперстимуляции яичников	
(И.О. Крихели, В.С. Мюллер, Н.И. Тапильская, И.В. Вартанова)	268
Патофизиологические аспекты синдрома гиперстимуляции яичников	269
Классификация и клиническая картина синдрома гиперстимуляции яичников	272
Осложнения синдрома гиперстимуляции яичников	279
Диагностика синдрома гиперстимуляции яичников	282
Дифференциальная диагностика синдрома гиперстимуляции яичников	286
Прогноз и профилактика синдрома гиперстимуляции яичников	286
Лечение синдрома гиперстимуляции яичников	292
Медикаментозная терапия синдрома гиперстимуляции яичников	294
Хирургическое лечение синдрома гиперстимуляции яичников	299
Техника измерения внутрибрюшного давления	300
Глава 21. Криоконсервация гамет и эмбрионов (М.А. Богданова, М.А. Ишук)	307
Процессы, происходящие при криоконсервации. Криопротекторы	308
Две стратегии заморозки	310
Комплексные программы для сохранения фертильности, или что можно криоконсервировать во вспомогательных репродуктивных технологиях	312
Криоконсервационные программы по сохранению мужской фертильности	312
Программы криоконсервации для сохранения фертильности женщин	314
Криоконсервация овариальной ткани	315
Криоконсервация гамет, эмбрионов и тканей репродуктивных органов	318
Устройство криохранилища	319
Банк донорских гамет и эмбрионов	320
Банк доноров спермы. Создание и ведение банка доноров спермы	321

Банк доноров ооцитов. Создание и ведение банка доноров ооцитов	324
Банк донорских эмбрионов. Создание и ведение банка донорских эмбрионов	326
Глава 22. Гормональная поддержка в посттрансферном периоде (И.Ю. Коган)	333
Коррекция дисфункции эндотелия	350
Глава 23. Предимплантационное генетическое тестирование (О.В. Малышева, А.А. Пендина, О.А. Ефимова, О.Г. Чиряева)	357
Цели предимплантационного генетического тестирования	357
Показания для предимплантационного генетического тестирования на моногенные заболевания и у носителей структурных перестроек	359
Показания для предимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии и оценка эффективности	360
Материал для предимплантационного генетического тестирования	362
Методы предимплантационного генетического тестирования	364

ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ О Фолликулогенезе И Оогенезе В Яичниках

Физиологические механизмы регуляции функции яичников достаточно полно изложены в различных отечественных учебных изданиях. Именно поэтому в данном руководстве мы кратко остановимся только на тех аспектах фолликулогенеза и оогенеза, которые имеют наибольшее клиническое значение в работе репродуктолога. Понимание ряда положений этого раздела, безусловно, потребует наличия базовых знаний биологии и генетики, без которых практическая работа в настоящее время не может быть эффективной.

Хорошо известно, что яичники покрыты эпителием, образованным одним слоем кубических клеток (мезотелием). Под ним находится белочная оболочка (*tunica albuginea*), состоящая из плотной соединительной ткани. Под белочной оболочкой располагается корковый слой, в глубине — мозговое вещество яичника. Фолликулы разной степени зрелости присутствуют в основном в корковой зоне. Между фолликулами располагается строма яичника, представленная клетками соединительной ткани (фибробластами, фиброцитами), а также соединительнотканными волокнами. Соединительная ткань (строма) составляет также основу центральной, мозговой зоны яичника, в которой находятся кровеносные, лимфатические сосуды и нервы.

Стадии развития фолликула имеют несколько классификаций (Pedersen T., Peters H., 1968; Gougeon A., 1996; McNatty K.P. et al., 1983; Edson M.A. et al., 2009; Emori C., Sugiura K., 2014). Однако ни одна из них не является общепринятой, поскольку каждая имеет свои особенности, недостатки и преимущества. Одной из наиболее известных является классификация, основанная на размерах фолликулов и количестве клеток, которые входят в его состав (Pedersen T., Peters H., 1968). Она насчитывает 8 типов фолликулов (от I до VIII типа, полостного, в состав которого входит более 600 клеток). Классификация С. Emori и К. Sugiura (2014) учитывает размер фолликулов и наличие в них полости (5 типов фолликулов, от примордиального до антрального, граафова). В классификациях Т. Pedersen и Н. Peters (1968) и С. Emori и К. Sugiura (2014) не учитывается форма клеток и не определены гормонально зависимые этапы развития фолликула.

Gougeon A. (1996) выделил гормонезависимый (вступивший в рост фолликул, вторичный фолликул) и гормонезависимый периоды фолликулогенеза. Причем последний период развития включает 8 стадий развития фолликула, представленных в табл. 1.1.

М.А. Edson и соавт. (2009) также учитывали не только особенности строения фолликула, его роста, но и зависимость роста от гипофизарных гормонов (гормонезависимый и гормонезависимый периоды развития).

Таблица 1.1

Классификация стадий развития фолликулов в гормонозависимом периоде фолликулогенеза

Стадия	Название фолликула	Размер фолликула, мм	Количество клеток гранулезы, $\times 10^3$
I	Преантральный	0,1–0,2	0,6–3,5
II	Ранний антральный	0,2–0,4	3,5–15
III	Малый антральный	0,4–0,9	15–75
IV	Антральный	0,9–2	75–375
V	Рекрутированный	2–5	375–1870
VI	Ранний доминантный	5–10	1870–9400
VII	Ранний преовуляторный	10–16	9400–47 000
VIII	Преовуляторный	16–20	–

Таким образом, в соответствии с особенностями строения практически в любой классификации различают следующие типы овариальных фолликулов (они же являются последовательными стадиями их развития):

- примордиальные;
- первичные;
- вторичные;
- третичные.

Примордиальные фолликулы образуются с 11–12-й недели внутриутробного развития плода и состоят из ооцита 1-го порядка, окруженного одним слоем плоских клеток прегранулезы и низкоорганизованного мезенхимального слоя текальных клеток (25–30 мкм) (рис. 1.1, см. цв. вклейку).

В процессе организации примордиального фолликула оогонии теряют способность к митотическому делению и вступают в профазу первого деления мейоза. Формируется ооцит 1-го порядка (Cohen P.E., Holloway J.K., 2010). На этом этапе происходят важные биологические явления, специфические для половых клеток, — конъюгация гомологических хромосом и кроссинговер — обмен участками между ними, что обеспечивает сбалансированную сегрегацию (расхождение) гомологических хромосом при завершении метафазы I (Ottolini S. et al., 2015). В ооцитах 1-го порядка формируются характерные крупные ядра — герминальные пузырьки (GV, от англ. germinal vesicle). Подобно соматическим клеткам, ооцит 1-го порядка содержит диплоидный набор хромосом (2n4c). Развитие примордиальных фолликулов приостановлено, и ооцит «арестован» в фазе покоя — диктиотене профазы первого деления мейоза вплоть до периода полового созревания, когда инициируется фаза роста примордиального фолликула (Repling M.E., 2006, 2012). К моменту формирования первичного яичника закладывается около 200–300 тыс. первичных фолликулов. Во время первого деления мейоза ооцитов число примордиальных фолликулов резко уменьшается на 90% (Pangas S.A., Rajkovic A., 2006). К моменту рождения у девочки в яичнике остается около 400 фолликулов.

Овариальный резерв определяется пулом жизнеспособных гамет, произведенных задолго до того, как они вступят в фазу финального созревания и будут востребованы. Следовательно, точность и стабильность каждого этапа образования примордиального фолликула необходимы для правильного завершения оогенеза и потенциала развития будущего эмбриона, который формируется из этого ооцита.

В первичных фолликулах ооцит 1-го порядка остается в стадии диктиотены и вступает в фазу малого роста. Он окружен одним слоем клеток гранулы уже кубической формы (рис. 1.2, см. цв. вклейку). Размер ооцита в первичных фолликулах увеличивается, возрастают объем его цитоплазмы и содержание органелл. При этом ядерно-цитоплазматическое соотношение не нарушается. На этой стадии в ооците происходит активный синтез всех видов рибонуклеиновой кислоты (РНК) — рибосомальных, транспортных и матричных. Все эти типы РНК синтезируются преимущественно впрок, то есть для использования уже оплодотворенной яйцеклеткой.

Вокруг ооцита формируется прозрачная оболочка — блестящая зона (*zona pellucida*), состоящая из четырех типов гликопротеинов (ZP1–ZP4), синтезируемая ооцитом (Gupta S.K., 2018). Блестящая оболочка имеет особое функциональное значение в оплодотворении: отвечает за связывание сперматозоидов с ооцитом, индукцию акросомальной реакции, препятствует полиспермии, а также выполняет защитную функцию ооцита и раннего эмбриона в процессе развития до стадии бластоцисты. Разрыв ее (хэтчинг) происходит только на 5-е сутки развития эмбриона перед имплантацией.

В цитоплазме гранулезных клеток на стороне, обращенной к ооциту, хорошо развиты аппарат Гольджи с секреторными включениями, рибосомы и полирибосомы. На поверхности клеток видны два вида микроворсинок: одни проникают в блестящую зону, а другие обеспечивают контакт гранулезных клеток друг с другом. Подобные микроворсинки имеются и на мембране ооцита. Эти межклеточные контакты, так называемые щелевые контакты, позволяют производить обмен субстратом и сигнальными молекулами между ооцитом и клетками гранулы. Формируется гранулезно-ооцитарная связь. Фолликулярные клетки секретируют факторы роста и дифференцировки: трансформирующий фактор роста β_2 (TGF β_2), сосудисто-эндотелиальный фактор роста (СЭФР, VEGF), лептин, фактор роста фибробластов-2 [ФРФ-2 (от англ. fibroblast growth factor, FGF2)], которые позволяют ооциту расти. Ооцит, в свою очередь, играет также важную роль в развитии фолликула: он выделяет паракринные факторы [фактор роста и дифференцировки 9 (от англ. growth differentiation factor 9, GDF9), факторы роста семейства TGF β], способные стимулировать пролиферацию и дифференцировку окружающих соматических (гранулезных) клеток.

Строение **вторичных фолликулов** характеризуется наличием ооцита 1-го порядка, окруженного уже несколькими слоями (до 8) клеток гранулы (рис. 1.3, см. цв. вклейку).

На данной стадии развития формируется соединительнотканная оболочка фолликула — *тека*, которая разделяется на два слоя — внутренний и наружный. Во внутреннем слое располагается обширная капиллярная сеть. Клетки внутренней теки, как и клетки гранулы, после овуляции превращаются в клетки желтого тела. Наружный слой теки содержит гладкомышечные клетки,

активность которых регулируется циклическим аденозин-3',5'-монофосфатом (цАМФ) и прогестероном. После созревания фолликула гладкомышечные клетки наружного слоя теки участвуют в овуляции. В частности, за счет их сокращения повышается давление в овулирующем фолликуле. Клетки гранулезы от клеток текальных оболочек отделяет базальная мембрана фолликула, состоящая в основном из коллагена IV типа и ламинина.

Постепенно в связи с усилением секреторной активности гранулезных клеток между ними формируются пространства (*лакуны*), где начинает скапливаться фолликулярная жидкость. Блестящая оболочка утолщается, в нее проникают микроворсинки ооцита, которые обеспечивают его тесный контакт с клетками гранулезы. При этом ооцит с окружающими его фолликулярными клетками в виде яйценосного бугорка (*cumulus oophorus*) смещается к одному полюсу фолликула.

Вторичный фолликул в функциональном отношении принципиально отличается от предыдущих стадий развития. Во-первых, меняется система кровоснабжения фолликула. Формирование капиллярной сети в тека-оболочке обеспечивает тесный обмен между фолликулом и общей системой гемодинамики. Во-вторых, в связи с усилением экспрессии рецепторов к гонадотропинам (ГТ) в гранулезных клетках фолликул становится чувствительным к их влиянию. В-третьих, постепенно начинает функционировать система синтеза половых стероидных гормонов («две клетки — два гонадотропина»). Так, в тека-клетках под действием лютеинизирующего гормона (ЛГ) происходит выработка андрогенов, а в клетках гранулезы под действием фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) — конверсия их в эстрогены.

Третичные фолликулы формируются из вторичных. Их отличительной чертой является наличие полости (*antrum folliculare*, антрум) с фолликулярной жидкостью. В образовании фолликулярной жидкости принимает участие сосудистое окружение текального слоя. Кровеносно-фолликулярный барьер определяет состав фолликулярной жидкости. Содержание низкомолекулярных компонентов аналогично содержанию в плазме, концентрация компонентов >100 кДа, и это ниже, чем в плазме. Глюкозаминогликаны и протеогликаны способствуют осмотическому потенциалу жидкости. ГТ, стероидные гормоны, факторы роста, ферменты и липопротеины также присутствуют в фолликулярной жидкости. При увеличении антрума ооцит располагается эксцентрично в составе так называемого яйценосного бугорка. Удлиненные отростки гранулезных клеток, окружающих ооцит в составе яйценосного бугорка, связанные с блестящей оболочкой, хорошо развиты и образуют лучистый венец (*corona radiata*). Гранулезные клетки яйценосного бугорка и блестящей оболочки составляют единый ооцит-кумулясный комплекс (ОКК), который сопровождает ооцит во время овуляции. Во время пункции яичников получают ооцит в составе ОКК. Размер предовуляторного фолликула 17–22 мм (рис. 1.4).

Под воздействием значительно повышающихся концентраций ГТ, факторов роста, эстрогенов ооцит 1-го порядка вступает в третью, финальную фазу оогенеза — созревание. Процесс созревания включает координацию интегрированных, но независимых друг от друга событий, происходящих в ооците. Ядерное созревание связано с возобновлением процесса деления первого мейоза (М1).

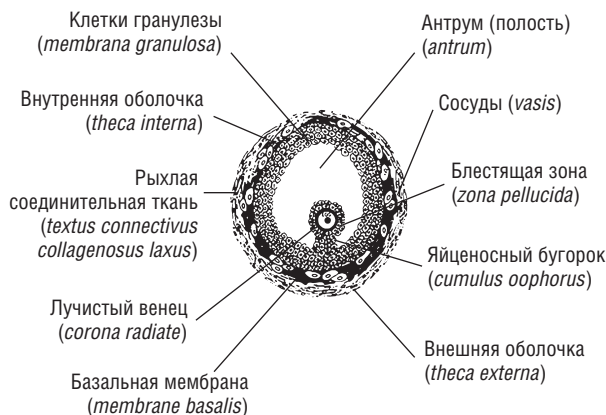


Рис. 1.4. Строение третичного фолликула

Ядерная оболочка герминального пузырька разрушается, происходит смешение нуклеоплазмы с цитоплазмой, формируется веретено деления, завершается рекомбинация, и происходит сегрегация гомологичных хромосом. Первое мейотическое деление завершается с уменьшением числа хромосом ($1n2c$) и образованием первого полярного тельца. Цитогенетические исследования показали, что преобладающее большинство нарушений хромосомной сегрегации в ооците у женщин старшего репродуктивного возраста происходят в процессе разделения и расхождения сестринских хроматид в первом мейозе (MI) (Ottolini S. et al., 2015). Созревание цитоплазмы протекает с изменениями локализации органелл и установлением полярности ооцита. Увеличивается число митохондрий и рибосом. Происходит изменение мембранных транспортных систем, развивающийся аппарат Гольджи расширяется и мигрирует к периферии. В цитоплазме появляются органеллы, отвечающие за запасание и экспорт материалов: мембраносвязанные пузырьки, мультивезикулярные и кристаллиновые тельца, жировые включения и гликогеновые гранулы. Все процессы клеточного цикла контролируются ключевыми факторами и происходят строго последовательно.

Сразу после завершения первого мейотического деления запускается второе мейотическое деление с остановкой цикла в метафазе II, образуется ооцит 2-го порядка (MII), готовый к овуляции. Возобновление второго мейотического деления ($1n1c$) наступает после оплодотворения и называется *активацией ооцита*.

Схема стадий последовательного развития фолликула представлена на рис. 1.5.

Развитие фолликула от примордиального до зрелого третичного, предовуляторного составляет, по разным оценкам, несколько месяцев (120–300 сут). Весь этот длительный период подразделяют на следующие этапы:

- 1) первичное рекрутирование примордиальных фолликулов, или прегонадотрофная стадия (рост примордиальных до стадии первичных);
- 2) развитие вторичных и так называемых малых антральных фолликулов (2–5 мм) (гонадотропинчувствительная стадия);
- 3) циклическое рекрутирование когорты антральных фолликулов с последующей селекцией одного доминантного фолликула (гонадотропинзависимая стадия).

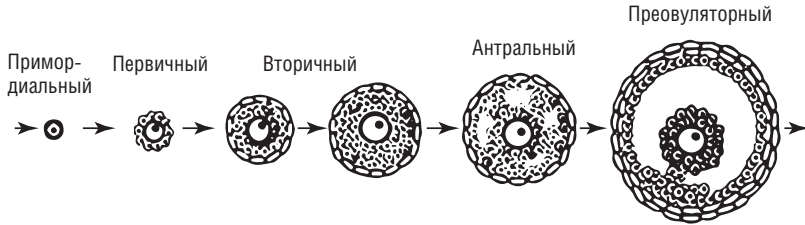


Рис. 1.5. Стадии последовательного развития фолликула

Совершенно очевидно, что подобное разделение фолликулогенеза позволяет выделить этапы данного процесса, которые зависят от ГТ. Кратко изложим ключевые моменты каждого этапа.

Первичное рекрутирование фолликулов (прегонадотрофная стадия) представляет собой преобразование примордиального фолликула в первичный. Считается, что этот процесс не зависит от эндогенной гонадотропной стимуляции, а определяется только тесным функциональным взаимодействием ооцита, гранулезных клеток и стромы яичника. Так, например, в эксперименте доказано, что первичное рекрутирование фолликулов возможно при удалении гипофиза, а также у животных, нокаутных по гену, кодирующему β -субъединицу ФСГ (Дыбан А.П. и др., 1977). У человека первичный рекрутинг выявлен также у женщин с мутациями гена FSH-рецептора.

Можем ли мы повлиять на данный этап? К сожалению, в настоящее время ответ на этот вопрос отрицательный. Первичное рекрутирование фолликулов полностью определяется внутриовариальными факторами и не зависит от действия ГТ. Сегодня даже наши знания о физиологии данного этапа остаются неполными. Представленная далее информация о механизмах первичного рекрутинга пока имеет относительное клиническое значение.

Обнаружены факторы, которые могут способствовать росту примордиального фолликула. К ним относят: костный морфогенетический протеин (bone morphogenetic protein BMP4/BMP7/BMP15); лейкемия-ингибирующий фактор (от англ. leukemia inhibitory factor, LIF); фактор роста кератиноцитов (от англ. keratinocyte-growth factor, KGF); ФРФ-2, Kit-лиганд (от англ. Kit-ligand, KL).

При этом следующие факторы препятствуют росту примордиального фолликула: фактор PTEN (от англ. tumor suppressor gene, или phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10); антимюллеров гормон (АМГ) (от англ. anti-Mullerian hormone, АМН); белки семейства Foxo (forkhead box O) — Foxo3A, FoxI2; мультимолекулярный сигнальный комплекс, включающий mTOR (от англ. mammalian target of rapamycin).

Ежегодно появляются данные о новых факторах, задействованных в первичном рекрутировании, и новых точках приложения уже изученных веществ.

Гонадотропинчувствительная стадия фолликулогенеза представляет собой переход из стадии первичного фолликула к вторичному, а затем к малому антральному (2–5 мм).

На этом этапе также определяющее влияние оказывают внутрияичниковые факторы. Так, BMP4/BMP7/BMP15, GDF9, ФРФ-2, а также андрогены имеют активирующее, а АМГ — ингибирующее влияние на процесс формирования вторичных и малых антральных фолликулов.

У вторичных фолликулов появляются рецепторы к ФСГ, действие которого необходимо для продукции гранулезными клетками фолликулярной жидкости и формирования полости (Gougeon A., 1996). Тоническая стимуляция эндогенного ФСГ достаточна для развития фолликулов диаметром до 5 мм. Их наличие хорошо видно при ультразвуковом исследовании (УЗИ) у девочек в подростковом возрасте. Однако для дальнейшего роста малых антральных фолликулов требуется усиление гонадотропного влияния, что обеспечивается только после формирования овариального цикла и включения в работу механизма положительной обратной связи между гипоталамо-гипофизарной системой и яичниками. По некоторым данным, в малых антральных фолликулах уже могут экспрессироваться рецепторы к ЛГ.

Наиболее изученными являются действия BMP4/BMP7/BMP15, GDF9, андрогенов, АМГ.

GDF9 относится к семейству β -трансформирующих факторов роста (TGF β), продуцируется ооцитом; стимулирует пролиферацию гранулезных клеток, активируя их переход из G0/G1- в S- и G2/M-фазы клеточного цикла. У подопытных животных мутации гена приводят к нарушению фолликулогенеза, дифференцировке гранулезных клеток, инфертильности. У человека мутации гена данного фактора, нарушение его экспрессии могут быть ассоциированы с развитием некоторой гинекологической патологии (синдромом преждевременного истощения яичников, синдромом поликистозных яичников). Возможно, что GDF9 стимулирует рост фолликула посредством влияния на биосинтез тека-клетками андрогенов (тестостерона). GDF9 повышает также уровень экспрессии KL в клетках гранулезы, который, в свою очередь, оказывает влияние на клетки стромы и ооцит, так как на их поверхности есть рецептор к KL — лиганд c-Kit (рецептор фактора стволовых клеток). KL стимулирует рост ооцита и поддерживает блок мейоза (Knight P.G., Glistler C., 2006).

BMP15 также имеет отношение к семейству TGF β ; продуцируется ооцитом, является индуктором KL в клетках гранулезы, который, в свою очередь взаимодействуя с рецептором фактора стволовых клеток на тека-клетках, может оказывать влияние на синтез андрогенов.

GDF9 и BMP15 обладают синергетическим действием по отношению к росту фолликула. Они влияют на клетки гранулезы через рецепторы типа I и II: GDF9 связывается с рецептором типа I (BMPRI); BMP15 — с рецептором типа II (BMPRII). При этом они регулируют продукцию друг друга с помощью локального механизма отрицательной обратной связи посредством системы c-Kit/KL. В культуре *in vitro* BMP15 и GDF9 также оказывают влияние на сам ооцит, способствуя его созреванию.

В последних исследованиях было показано, что BMP15 и GDF9 оказывают свое действие на клетки гранулезы не только на ранних этапах фолликулогенеза. Это обеспечивается изменением экспрессии внутриклеточных сигнальных белков SMAD (от англ. Similar to Mothers Against Decapentaplegic), посредством которых эти факторы действуют на гранулезу по мере развития фолликулов. Так, например, в первичных фолликулах экспрессируются SMAD2/3, в преантральных — SMAD2/3 и SMAD1/5/8, а в крупных фолликулах — SMAD1/5/8. Показано, что в фолликулах, которые впоследствии будут подвергаться атрезии, уровень экспрессии мРНК-рецепторов к BMP I и II типов выше, чем

Таблица 1.2

Полиморфные варианты аллелей генов GDF9 и BMP15

Фактор	Полиморфизмы	Краткие итоги исследований
GDF9	<ul style="list-style-type: none"> • 169G/A. • 447C/A (rs 254286). • 546G/A (rs 10491279) 	Аллель 546А ассоциирован с неблагоприятным исходом стимуляции и протокола ЭКО у женщин со сниженным резервом яичников
BMP15	<ul style="list-style-type: none"> • –673C/T (rs 58995369). • –9C/G (rs 3810682). • Asn103Ser (rs 41308602). • IVS1 + 905A/G (rs 3897937) 	Аллели –673Т, –9G и IVS1 + 905G ассоциированы с избыточным ответом яичников на стимуляцию. Гаплотипы TGGA (–673, –9, IVS1 + 905, Asn103Ser) могут служить факторами риска синдрома гиперстимуляции яичников

Примечание: сокращения, применяемые в таблицах, смотрите в списке сокращений и условных обозначений.

в фолликуле, который станет доминантным. BMP15 и GDF9 оказывают влияние на клетки фолликула, окружающие ооцит, вызывая их дифференцировку в клетки кумулюса (Emori C., Sugiura K., 2014).

Описано несколько полиморфных вариантов аллелей гена GDF9 и BMP15, которые могут быть ассоциированы с нарушением репродуктивной функции и особенностями стимуляции яичников в протоколах ЭКО (табл. 1.2).

Система c-Kit/KL. KL известен как фактор, участвующий в росте и дифференцировке стволовых клеток. Что касается системы ооцит–гранулеза–тека, то он, взаимодействуя с рецептором на ооците, индуцирует рост и выход последнего из примордиальной стадии. Кроме этого, система c-Kit/KL принимает участие в дифференцировке клеток стромы яичника в тека-клетки.

Андрогены и андрогеновые рецепторы. В настоящее время получено достаточно экспериментальных (на грызунах, жвачных, свиньях, приматах) и клинических данных у человека, для того чтобы утверждать, что андрогены и андрогеновые рецепторы имеют большое значение в фолликулогенезе. Показано, что андрогеновые рецепторы экспрессируются во всех клетках фолликула (ооците, гранулезе, теке), строме яичника. Причем экспрессия андрогеновых рецепторов в гранулезных клетках усиливается по мере роста фолликула, достигая максимальной выраженности на антральной стадии. Андрогены усиливают экспрессию ФСГ-рецепторов в гранулезных клетках, их пролиферативную, ароматазную активность, синтез эстрадиола. Не исключается негативное влияние андрогенов на активность апоптоза клеток фолликула. Например, у человека в фолликулах диаметром 3–9 мм имеется положительная взаимосвязь между содержанием в фолликулярной жидкости тестостерона и мРНК рецепторов ФСГ. По данным J.M. Young и соавт. (2010), тестостерон даже способствует первичному рекрутированию фолликулов. Возможно, это влияние опосредованное, через выработку инсулиноподобного фактора роста 1 (от англ. insulin-like growth factor 1, IGF1), поскольку андрогеновые рецепторы в примордиальном фолликуле обычно не определяются.

Инсулиноподобные факторы роста. мРНК IGF1 выявлена в клетках гранулезы, клетках теки; IGF2 — только в клетках теки. В условиях *in vitro* показано, что IGF1 активирует уровень экспрессии рецепторов к ЛГ, синтез эстрадиола, прогестерона в мелких и крупных фолликулах, а также синтез андростендиона в крупных фолликулах.

АМГ — гликопротеид, относится к семейству TGF β , продуцируется гранулезными клетками первичных, преантральных, небольших антральных фолликулов (менее 5–6 мм), а также клетками кумулюса. Можно предположить, что АМГ влияет на функцию яичников через угнетающее действие на рекрутирование примордиальных фолликулов и чувствительность к ФСГ.

Хорошо известно, что физиологическое действие того или иного фактора зависит от активации его рецептора. АМГ взаимодействует с соответствующими рецепторами 1-го и 2-го типов (АМГР 1 и АМГР 2). АМГР 2 локализован на гранулезных клетках фолликулов и является высокоспецифичным. Роль АМГР 1 пока не ясна. У плода человека АМГ начинает синтезироваться с 36-й недели гестации, что обеспечивает развитие из мюллеровых протоков матки, маточных труб и верхней трети влагалища и способствует деградации мюллерова протока в эмбрионах мужского пола.

Предполагается, что АМГ тормозит развитие фолликулов на прегонадотрофной и гонадотропинчувствительной стадиях развития. АМГ ингибирует ароматазу и продукцию эстрадиола в гранулезных клетках, снижает экспрессию рецепторов к ЛГ и чувствительность антральных фолликулов к ФСГ.

Нужно обратить внимание на тот факт, что по мере роста фолликулов продукция АМГ снижается вплоть до полного исчезновения в зрелом фолликуле. АМГ не продуцируется в примордиальных фолликулах, доминантном фолликуле (или ничтожно мало), атрезирующихся фолликулах, тека-клетках, клетках стромы, желтом теле. Концентрация АМГ в течение менструального цикла остается постоянной! Более того, содержание АМГ в крови прямо зависит от количества имеющихся в яичниках первичных, преантральных и малых антральных фолликулов. Следовательно, *уровень АМГ в крови является характеристикой овариального резерва, то есть количества фолликулов, потенциально способных к росту и развитию!*

Колокализация первичных ооцитов, синтез АМГ и его рецептора, по-видимому, свидетельствуют об аутокринном механизме действия АМГ на клетки фолликула.

Ген, кодирующий АМГ, локализуется на участке хромосомы 19p13.3, а ген рецептора АМГ 2-го типа расположен на хромосоме 12q13 (Altmäe S. et al., 2011). Есть сведения о наличии нескольких полиморфных вариантов аллелей гена АМГ и его рецептора (табл. 1.3). Предполагается, что некоторые из них могут иметь значение в генезе синдрома поликистозных яичников (СПЯ), а также избыточном ответе яичников на гонадотропную стимуляцию. Анализируя возможную клиническую значимость генетических вариаций, можно выделить группу пациентов с тем или иным типом овариального ответа еще до начала лечения.

Таблица 1.3

Полиморфные варианты аллелей гена антимюллерова гормона и рецептора 2-го типа антимюллерова гормона

Антимюллеров гормон	Рецептор 2-го типа антимюллерова гормона
<ul style="list-style-type: none"> • AMH –649T/C (rs 4807216). • AMH Ile49Ser (rs 10407022) 	<ul style="list-style-type: none"> • AMHR2 –482A/G (rs 2002555). • AMHR2 1749C/T (rs 2071558). • AMHR2 4952G/A (rs 3741664). • AMHR2 10A/G (rs 11170555)

Примечание: AMH — антимюллеров гормон (от англ. anti-Mullerian hormone).

Гонадотропинзависимая фаза фолликулогенеза (циклическое рекрутирование фолликулов). Основное значение в заключительной стадии фолликулогенеза: росте и развитии когорты антральных фолликулов (2–5 мм), селекции доминантного фолликула, его созревании — играют ГТ — ФСГ и ЛГ.

Начало роста когорты антральных фолликулов обеспечивается возрастанием содержания ФСГ с конца лютеиновой фазы цикла. Этот период связан с регрессией желтого тела (лютеолизом), снижением уровня эстрадиола и ингибина. Рекрутируемые фолликулы представляют собой такую группу фолликулов в каждом из яичников, которые покинули примордиальный пул приблизительно в один и тот же период времени несколько месяцев назад (Fauser B., Van Heusden A., 1997). Именно поэтому они находятся на сходной стадии развития. Возрастание содержания ФСГ в конце лютеиновой и начале фолликулярной фазы цикла предотвращает атрезию данных фолликулов. Начало роста когорты фолликулов начинается только тогда, когда уровень ФСГ достигнет некоторого порогового уровня.

Однако в естественном менструальном цикле фолликулы, составляющие настоящую когорту, растут неодинаково (асинхронно), поскольку каждый из когорты имеет свою, индивидуальную чувствительность к ФСГ. Считается, что она определяется экспрессией ФСГ-рецепторов на клетках гранулезы. Число фолликулов, подвергающихся циклическому рекрутированию, зависит от возраста женщины (в среднем 11 в яичнике). ФСГ стимулирует деление гранулезных клеток, продукцию ими фолликулярной жидкости, активирует ароматазу и, соответственно, конверсию андрогенов (андростендиона) в эстрадиол. Обычно у одного фолликула экспрессия ФСГ-рецепторов достаточно высока, он имеет низкий порог чувствительности к ФСГ и поэтому растет быстрее остальных. Так происходит селекция (или выбор) доминантного фолликула из когорты растущих фолликулов (McNatty K.P., 1978). Как правило, это событие происходит на 7–8-й день менструального цикла.

По мере роста фолликулов содержание эстрадиола в крови постепенно повышается. Кроме этого, доминантный фолликул интенсивно секретирует ингибин В. Синтез ингибина В происходит в гранулезных клетках фолликула и контролируется ФСГ. Согласно результатам ряда исследований ингибин В стимулирует продукцию андрогенов в фолликулах, что, в свою очередь, вызывает усиление экспрессии ФСГ- и ЛГ-рецепторов, обеспечивая высокую чувствительность клеток к ГТ. Предполагается, что это является одним из механизмов селекции доминантного фолликула в естественном менструальном цикле (Andersen C., 2017). Согласно механизму отрицательной обратной связи ингибин В наряду с эстрадиолом угнетает секрецию ФСГ в середине фолликулярной фазы цикла. Наибольшие значения концентрации ингибина В наблюдаются в середине фолликулярной фазы цикла. Снижение уровня ФСГ в середине фолликулярной фазы цикла является важным биологическим событием, обеспечивающим у женщины монофолликулярный рост в натуральном цикле. Вследствие этих причин приблизительно с 7–8-го дня цикла начинается падение уровня ФСГ в крови.

Период времени, в течение которого уровень ФСГ превышает пороговый, необходимый для селекции и роста доминантного фолликула, называется

ФСГ-окном. В естественном менструальном цикле ФСГ-окно обеспечивает селекцию одного доминантного фолликула.

Доминантный фолликул продолжает свое развитие и рост вплоть до овуляции, интенсивно продуцируя эстрадиол даже в условиях физиологического снижения уровня ФСГ. Считается, что это обеспечивается высокой чувствительностью клеток гранулезы доминантного фолликула не только к ФСГ, но также и к ЛГ. В ряде исследований было показано, что экспрессия ЛГ-рецепторов на гранулезных клетках достаточно высока, и это позволяет доминантному фолликулу продолжить развитие в среднюю и позднюю фолликулярные фазы цикла. Остальные фолликулы когорты подвергаются атрезии. Высокая чувствительность доминантного фолликула к ЛГ обеспечивается одной из важных функций ФСГ — индукцией экспрессии ЛГ-рецепторов на гранулезных клетках.

Постепенно уровень эстрадиола достигает порогового значения для включения уникального по своей природе механизма положительной обратной связи между яичниками и гипофизом — когда повышение уровня эстрогенов не «угнетает», а стимулирует секрецию ГТ гипофизом. Положительная обратная связь начинает работать при повышении уровня эстрадиола в крови до 500–800 пмоль/л обычно на 12-й день менструального цикла и функционирует в течение 2–3 дней (рис. 1.6). Реализация механизма положительной обратной связи абсолютно необходима для овуляторного пика ГТ и овуляции (рис. 1.7).

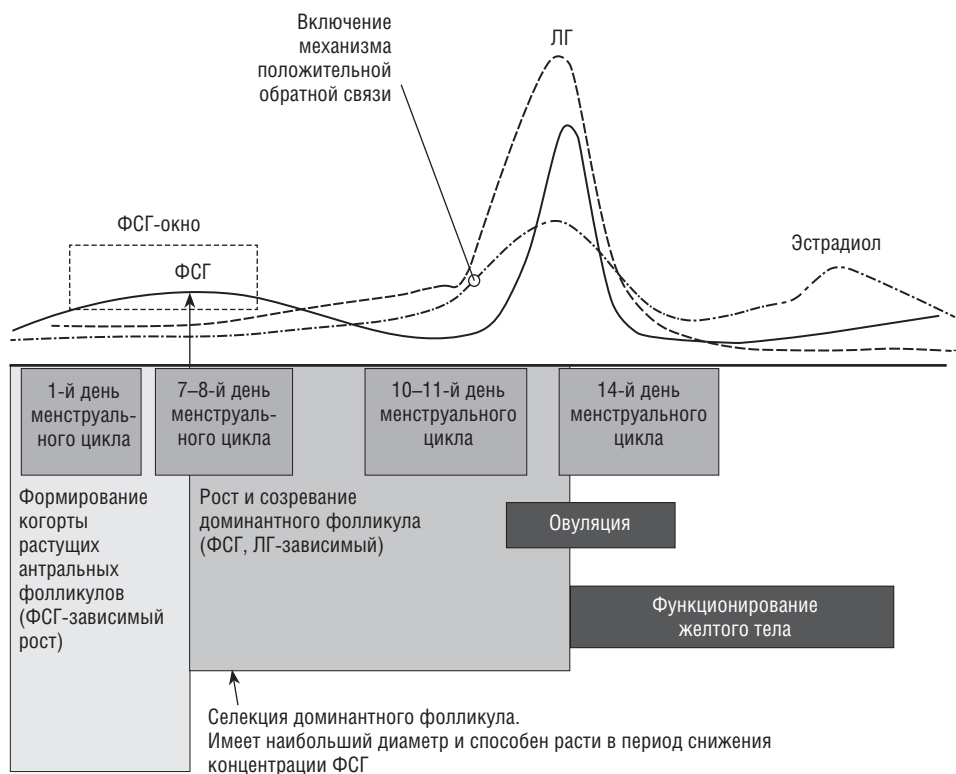


Рис. 1.6. Динамика уровня в крови фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ) и эстрадиола в течение физиологического менструального цикла

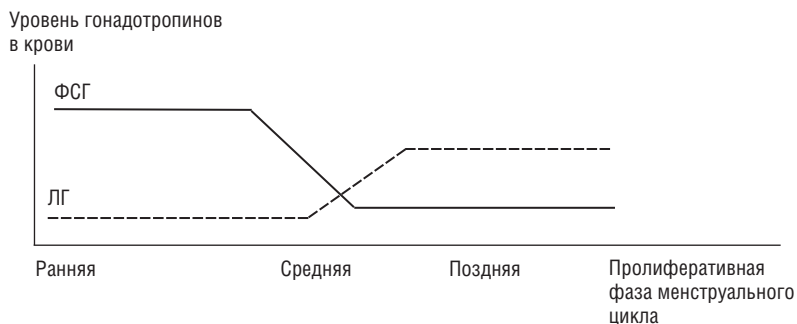


Рис. 1.7. Относительная динамика изменения уровня гонадотропинов в крови в течение пролиферативной фазы менструального цикла. ФСГ — фолликулостимулирующий гормон; ЛГ — лютеинизирующий гормон

В процессе роста доминантного фолликула играют важную роль также интраовариальные факторы. К ним относят усиление в гранулезных клетках активности ароматазы, экспрессии IGF2, а также продукцию ооцитом факторов BMP15 и GDF9, которые могут быть ответственны в том числе за экспансию кумулюсных клеток (Juengel J.L. et al., 2002; Gueripel X. et al., 2006).

Известно, что действие ФСГ на гранулезные клетки осуществляется посредством его взаимодействия с соответствующим рецептором.

Рецептор ФСГ (678 аминокислот) состоит из экстрацеллюлярного N-концевого участка, ответственного за связывание с ФСГ, трансмембранной части и внутриклеточного C-концевого региона, который обеспечивает «поступление» сигнала в клетку. Ген, кодирующий рецептор ФСГ, локализуется на участке хромосомы 2p21 и состоит из 10 экзонов.

Пожалуй, в настоящее время его полиморфизм является наиболее изученным генетическим фактором, который может оказывать влияние на продуктивность стимуляции яичников. Описано более 1000 SNP гена рецептора ФСГ. Большинство из них локализованы в интронах и не оказывают влияния на активность рецептора; пять локализованы в кодирующем регионе и один — в промоторной зоне. «Экзонные» полиморфизмы находятся в 10-м экзоне (локализации 307, 329, 524, 665 и 680).

Большинство исследований посвящены полиморфизму двух замен в экзоне 10. Первый определяет замену аспарагина (Asn) на серин (Ser) в позиции 680 во внутриклеточном домене рецептора (Asn680Ser), второй — аланина (Ala) на треонин (Thr) в позиции 307 (Ala307Thr) во внеклеточном домене белка. Данные полиморфизмы находятся в непосредственной близости на хромосоме и наследуются вместе. Именно поэтому генотипирование одного из полиморфизмов позволяет делать выводы о другом. Аллели 307Thr и 680Asn относятся к «основным» («мажорным»), а 307Ala и 680Ser — к «минорным» аллелям (рис. 1.8).

Предполагается, что вышеперечисленные «генетические варианты» рецептора ФСГ вследствие изменения ряда молекулярных механизмов (фосфорилирования, гликозилирования) могут по-разному взаимодействовать с ФСГ и, таким образом, влиять на эффективность стимуляции яичников.

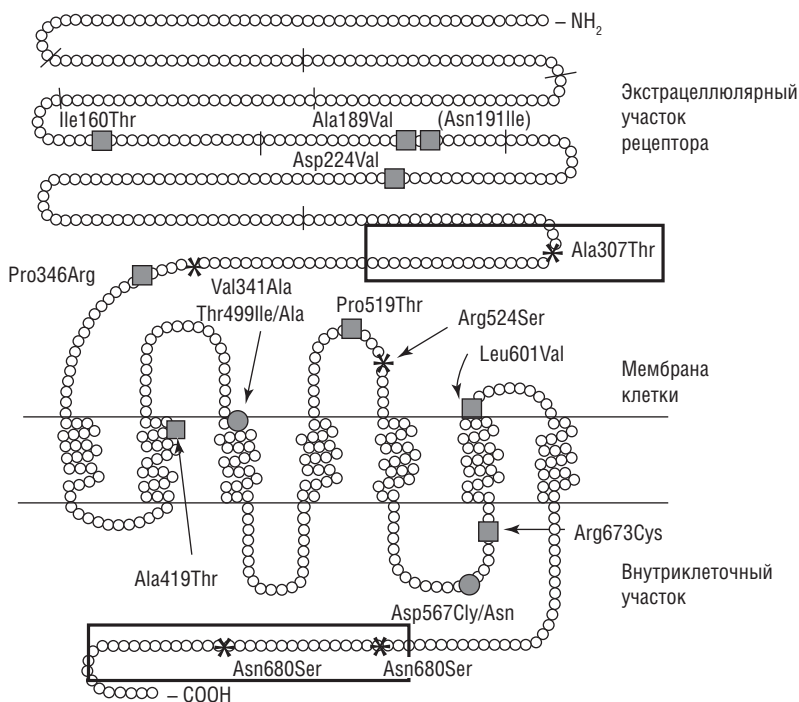


Рис. 1.8. Схематическое изображение рецептора фолликулостимулирующего гормона с известными мутациями и некоторыми аминокислотными полиморфизмами рецептора ФСГ. Кружками обозначены активирующие, квадратами — инактивирующие мутации, звездочками — полиморфные варианты; жирным прямоугольником — наиболее изученные полиморфизмы

Еще один полиморфизм G/A в позиции -29 гена *FSHR* также может модулировать ответ яичников на гонадотропную стимуляцию.

Согласно данным F.J. Moron и A Ruiz (2010) вариант Asn680Ser (rs6166) является прогностическим фактором «бедного» ответа яичников на гонадотропную стимуляцию.

В последние годы активно изучается роль ксиспептина в регуляции овуляторного цикла. Показано, что ксиспептин способствует секреции гипофизом ГТ (ФСГ и ЛГ). Выявлена экспрессия ксиспептина и его рецептора в нейронах гипоталамуса. Предполагается, что эстрогены способны связываться с α -эстрогеновыми рецепторами нейронов, экспрессирующих рецепторы ксиспептина, и вызывают усиление секреции ксиспептина и гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) (Roa J. et al., 2008).

Свое регуляторное действие на клетку ГТ осуществляют вследствие их специфического связывания с рецепторами ФСГ и ЛГ/хорионический гонадотропин человека (ХГЧ). С рецептором ЛГ связываются как ЛГ, так и ХГЧ. Связывание рецептора с ГТ приводит к активации сигнальных белков, что, в свою очередь, запускает сигнальный каскад в клетке. Функциональный ответ клетки будет определяться рядом факторов: активностью сигнальных белков, функциональным состоянием рецептора, зависящего от его модификации (фосфорилирования, гликозилирования, ацилирования), а также от модификации

самих ГТ посредством их N-гликозилирования (Шпаков А.О., 2017). Процесс N-гликозилирования катализируется ферментами (олигосахарилтрансферазой, гликозилтрансферазой). В результате данного процесса формируется олигосахаридная структура (N-гликан) ГТ с определенным типом ветвления и распределением заряда, что и обуславливает правильное сворачивание его молекулы и определяет ее специфическую биологическую активность (Thaysen-Andersen M. et al., 2016). Разные по степени гликозилирования изоформы ГТ отличаются друг от друга по своей биологической активности и физико-химическим свойствам (кислотности). К настоящему времени получены данные о том, что на протяжении менструального цикла соотношение изоформ ФСГ и ЛГ, различающихся по степени гликозилирования, варьирует. Это, в частности, определяется зависимостью экспрессии ферментов, ответственных за процесс гликозилирования (например, гликозилтрансферазы), от уровня эстрадиола. В середине цикла повышается содержание слабо гликозилированных, слабokислых изоформ ФСГ с высокой биологической активностью.

Концентрация прогестерона в фолликулярную фазу цикла является низкой. Синтез прогестерона в доминантном фолликуле и, соответственно, его уровень в крови возрастают непосредственно перед овуляцией. Считается, что прогестерон играет важную, перmissive роль в инициации позитивной обратной связи между яичниками и гипоталамусом, способствуя овуляторному пику гонадотропинов. В некоторых работах было показано, что эффект прогестерона в этом случае может быть реализован только после адекватного воздействия на центральные структуры мозга эстрогенов. Имеются также экспериментальные данные, что под воздействием эстрогенов в гипоталамусе усилен локальный синтез прогестерона («нейропрогестерона»), который необходим для включения механизма положительной обратной связи (Messinis I.E., Templeton A.A., 1990; Micevych P. et al., 2003). В последние годы появились сведения о возможном влиянии прогестерона не только на уровне центральной нервной системы, но также на «уровне» яичников. Так, в результате ряда экспериментальных работ выявлено, что гранулезные клетки фолликулов экспрессируют не прогестероновые рецепторы, а так называемый мембранный компонент-1 прогестеронового рецептора (PGRMC1, от англ. progesterone receptor membrane component-1), который способен связывать прогестерон, запуская каскад событий в клетках, влияющих на активность их пролиферации и/или апоптоза, а также стероидогенез.

Считается, что достаточное содержание ЛГ-рецепторов в гранулезных клетках имеется в фолликулах диаметром 14 мм и более. Именно поэтому данные фолликулы чувствительны к ЛГ и при наличии паразитарного (преждевременного) пика ЛГ могут овулировать преждевременно или подвергнуться преждевременной лютеинизации.

Каким образом предотвратить атрезию и «выход» в рост не одного, а нескольких фолликулов? Считается, что это достигается «расширением» ФСГ-окна. Действительно, введение препаратов, содержащих ФСГ, приводит к соответствующему увеличению концентрации последнего. Это вызывает рост и развитие не одного, а нескольких фолликулов (рис. 1.9)! Понимание теории ФСГ-окна необходимо для осуществления так называемой мягкой стимуляции — стимуляции низкими дозами ФСГ для получения небольшого количества фолликулов.

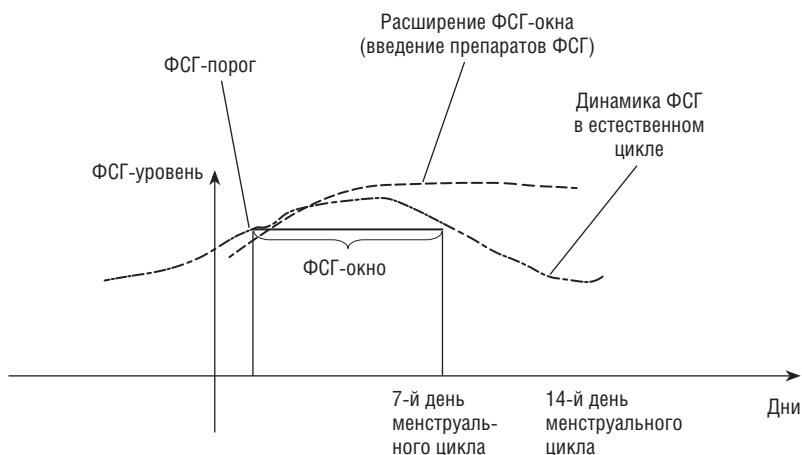


Рис. 1.9. Схематическое изображение динамики уровня в крови фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в естественном менструальном цикле и при введении ФСГ-содержащих препаратов

Важным аспектом рассматриваемой проблемы как с научной, так и с практической точки зрения является роль ЛГ в фолликулогенезе.

ЛГ имеет следующие точки приложения:

- активация синтеза андрогенов в тека-клетках с последующей их конверсией в эстрогены в гранулезе;
- стимуляция роста доминантного фолликула в среднюю и позднюю пролиферативную фазы менструального цикла (ФСГ-, ЛГ-зависимый рост), при этом влияние ЛГ на клетки гранулезы обеспечивает дополнительную активацию ароматазы и продукцию эстрадиола;
- овуляция;
- лютеинизация клеток гранулезы;
- регуляция гормонпродуцирующей функции желтого тела.

Считается, что реализация вышеперечисленных функций ЛГ возможна, когда содержание этого гормона находится в некотором оптимальном коридоре значений. Каковы границы этого коридора? До сих пор ответ на этот вопрос не получен. По данным большинства исследований, посвященных указанной проблеме, уровень ЛГ должен находиться в пределах 0,5–3 МЕ/л.

Предполагается, что для обеспечения физиологического стероидогенеза в яичниках достаточно активации <1% ЛГ-рецепторов фолликулов. Именно поэтому количество эндогенного ЛГ в период десенситизации гипофиза агонистами гонадотропин-рилизинг-гормона (а-ГнРГ) является достаточным для эффективной стимуляции препаратами ФСГ. Однако в отдельных работах было показано, что значительная супрессия синтеза ЛГ может быть ассоциирована со снижением эффективности протокола ЭКО, а также с повышением частоты невынашивания. Очень низкая концентрация ЛГ приводит к нарушению созревания и роста фолликулов, снижению синтеза в них андрогенов и эстрадиола, а высокая концентрация ЛГ — к атрезии недоминантных фолликулов, торможению пролиферации гранулезы, преждевременной лютеинизации, нарушению созревания ооцита.

В последние годы получены данные о том, что одиночные нуклеотидные полиморфизмы (инсерции либо делеции одного или нескольких оснований) в гене, кодирующем β -субъединицу ЛГ, могут иметь клиническое значение. Известно, что ЛГ является гетеродимерным полипептидом, состоящим из двух субъединиц — α и β . При этом структура первой одинаковая у ФСГ и ЛГ, а β -субъединица является гормонспецифичной, содержит рецепторсвязывающий домен. Ген β -субъединицы ЛГ локализован в хромосомном регионе 11p13 и имеет три экзона. К сегодняшнему дню идентифицировано много полиморфизмов данного гена (179 SNP; www.snpper.chip.org). При этом три из них находятся в кодирующей зоне и приводят к снижению активности эндогенного ЛГ:

- Trp8Arg;
- Ile15Thr;
- Gly102Ser.

Варианты гена β ЛГ достаточно широко распространены. Например, согласно отдельным исследованиям в Швеции частота их достигает 18%, в Финляндии — 40%.

Наличие вариантов β -субъединицы ЛГ может приводить к снижению эффективности стимуляции препаратами ФСГ, к использованию больших курсовых доз ФСГ у пациенток с нормальными показателями овариального резерва. Предполагается, что в этом случае может проявляться разная биологическая активность и/или фармакокинетика эндогенного ЛГ, обусловленная его разными генетическими вариантами. Назначение препаратов с ЛГ-активностью таким пациенткам в следующем протоколе снижает потребность в ФСГ (Alvigi C. et al., 2009).

Таким образом, фолликулогенез и оогенез представляют собой длительные, генетически детерминированные сопряженные физиологические процессы, в регуляцию которых вовлечены локальные (внутрияичниковые) и гормональные факторы.

Рост и развитие фолликулов под влиянием ГТ наблюдаются в течение заключительной, так называемой гонадотропинзависимой фазы фолликулогенеза. При этом основную роль играет ФСГ, а на последних этапах развития — ЛГ.

В обычных условиях пороговый уровень эндогенного ФСГ обеспечивает рост до стадии преовуляторного, как правило, одного фолликула.

В протоколах ЭКО для обеспечения роста нескольких фолликулов необходимо увеличение периода времени, в течение которого уровень ФСГ превышает пороговый, требуемый для селекции и роста одного доминантного фолликула. Это достигается с помощью экзогенного введения препаратов, содержащих ГТ.

Лютеиновая фаза естественного менструального цикла. Желтое тело оказывает существенное влияние на фолликулогенез.

Так, в лютеиновую фазу цикла ингибин А и эстрадиол, синтезируемые желтым телом (у человека, приматов), супрессируют синтез ФСГ и, таким образом, блокируют рост антральных фолликулов диаметром более 4 мм. Согласно результатам гистологических исследований в яичниках в данный период содержатся в основном фолликулы на стадии атрезии (McNatty K.P.

et al., 1983). Показано, что развитие фолликулов в течение лютеиновой фазы цикла возможно при энуклеации желтого тела или при введении экзогенных гонадотропинов.

Интересно, что в 7 из 9 случаев доминантный фолликул развивается в яичнике, контралатеральном по отношению к таковому, в котором в предыдущем цикле развивалось желтое тело (Chikazawa K. et al., 1986). Более того, было показано, что величина соотношения эстрадиол/андростендион в фолликулярной жидкости такого фолликула выше, чем аналогичный показатель в ипсилатеральном яичнике (Fukuda M. et al., 1996).

Функционирование желтого тела влияет также на процесс селекции фолликула в течение так называемых вторых, третьих волн роста когорты антральных фолликулов, которые будут описаны ниже. Например, при наличии второй волны роста когорты фолликулов в середине лютеиновой фазы цикла селекции фолликула не происходит.

ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О НАЛИЧИИ НЕСКОЛЬКИХ ВОЛН РОСТА КОГОРТЫ Фолликулов

Выше мы рассмотрели традиционное представление о фолликулогенезе в яичниках, основанное на мнении о формировании одной когорты растущих фолликулов в конце лютеиновой — начале фолликулярной фазы менструального цикла. Однако к настоящему времени есть научно обоснованное мнение о том, что в течение менструального цикла имеет место не одна, а несколько волн роста антральных фолликулов (Baerwald A.R. et al., 2003, 2012). Новая парадигма пришла к нам из медицинской ветеринарии (Gougeon A., 1986; Baerwald A.R. et al., 2003). Волнами роста фолликулов называют синхронный рост группы (когорты) антральных фолликулов, наблюдающийся через определенный интервал времени (Ginther O.J. et al., 2004). При этом фолликулы, составляющие такую группу, в основном гомогенны по диаметру. Некоторые исследователи выделяют два типа волн: большую и малую. Инициация роста фолликулов, составляющих эти волны, начинается в один период. Однако в когорте фолликулов, составляющих большую волну, один из них становится лидирующим (через несколько дней), растет большими темпами (феномен девиации и селекции) и, в конце концов, овулирует. При этом остальные фолликулы, составляющие большую волну, подвергаются атрезии. В течение малой волны роста не наблюдается феномена девиации, селекции, овуляции лидирующего фолликула и все фолликулы подвергаются атрезии (Ginther O.J. et al., 2004).

Наличие таких волн роста фолликулов было зафиксировано у пациенток с помощью УЗИ. 75% женщин при этом имели две волны роста фолликулов, 32% — три волны. В менструальных циклах с присутствием двух или трех волн одна из них является овуляторной (развивается в фолликулярную фазу цикла), а другие, развивающиеся в лютеиновую фазу цикла, — ановуляторными. Так, у пациенток с двумя волнами первая волна роста начинается спустя день после овуляции. Она характеризуется отсутствием селекции доминантного фолликула (в этот период наблюдаются повышение концентрации прогестерона, блокирование пульсирующего выделения ЛГ гипофизом), и все фолликулы этой малой

волны подвергаются атрезии. Вторая же волна (большая) возникает в конце лютеиновой фазы цикла или в течение первых дней цикла (период низкого содержания прогестерона и возрастания частоты и амплитуды секреции гонадотропинов) (Baerwald A.R. et al., 2003) — рис. 1.10.

Интересно, что роль желтого тела в динамике роста фолликулов в лютеиновую фазу цикла была изучена у человека и домашних животных. Нужно отметить, что, как показали исследования, ни размер, ни длительность функционирования желтого тела, ни уровень прогестерона и эстрадиола во вторую фазу цикла не отличались у пациенток с двумя, тремя волнами роста фолликулов (Baerwald A.R. et al., 2003, 2012).

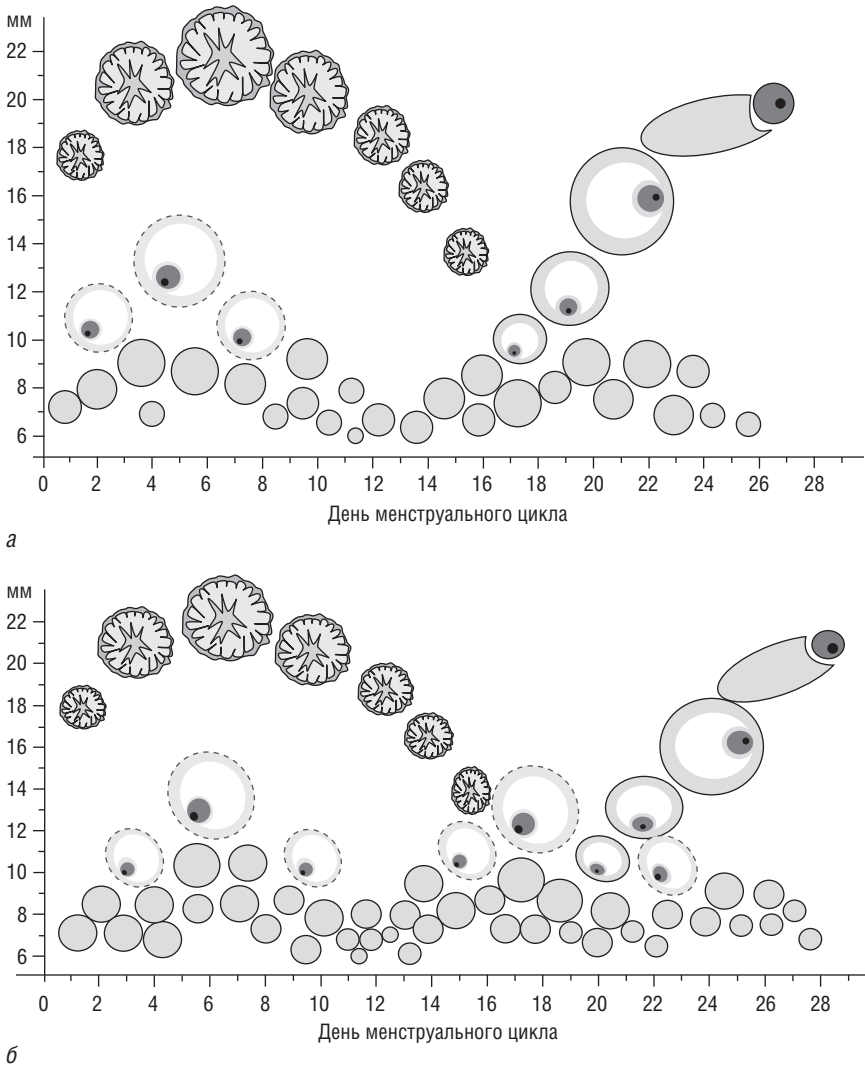


Рис. 1.10. Варианты циклов с разным количеством волн роста фолликулов: *а* — менструальный цикл с двумя волнами роста антральных фолликулов; *б* — менструальный цикл с тремя волнами роста антральных фолликулов (по Baerwald A.R. et al., 2003, 2012)