

МИХАЙЛОВА

Нина Дмитриевна

**ОПТИМИЗАЦИЯ ЛЕЧЕНИЯ БЕСПЛОДИЯ У БОЛЬНЫХ С
СИНДРОМОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ ПУТЕМ
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПЕРСониФИЦИРОВАННЫХ
ПРОГРАММ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ
ТЕХНОЛОГИЙ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

Автореферат

Диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва - 2023

Диссертация выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Гависова Алла Анатольевна

Официальные оппоненты:

Краснопольская Ксения Владиславовна - член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии», руководитель отделения репродуктологии.

Ярмолинская Мария Игоревна - доктор медицинских наук, профессор, профессор РАН, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта» Минобрнауки России, заведующий отделом гинекологии и эндокринологии.

Ведущая организация:

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И.П. Павлова» Минздрава России.

Защита диссертации состоится 30 января 2024 г. на заседании диссертационного совета 21.1.022.01 на базе ФГБУ НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России по адресу 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д.4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России

<https://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/Mikhailova%20ND-disser..pdf?721632991>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2023 г.



Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Калинина Елена Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) является одним из наиболее распространенных гинекологических заболеваний эндокринного генеза среди женщин [Lizneva et al., 2016]. Отличительной чертой данной патологии является крайняя вариативность клинических проявлений. Вопрос о патогенезе СПКЯ до сих пор остается дискуссионным и четкого ответа о происхождении этого заболевания нет.

Согласно Роттердамским критериям [ASRM/ESHRE (Роттердам, 2003)] необходимо наличие минимум 2 из 3 признаков для верификации СПКЯ: 1) клинические или биохимические признаки гиперандрогении 2) олиго- или ановуляция 3) эхо-структура поликистозных яичников по данным УЗИ.

Позднее была предложена классификация согласно фенотипам СПКЯ [NIH, 2012], которая включает: 1) фенотип А СПКЯ - сочетание гиперандрогении, овуляторной дисфункции и наличия эхо-структуры поликистозных яичников по данным УЗИ, 2) фенотип В СПКЯ - сочетание гиперандрогении и овуляторной дисфункции, 3) фенотип С СПКЯ - сочетание гиперандрогении и наличия эхо-структуры поликистозных яичников по данным УЗИ, 4) фенотип D СПКЯ - сочетание овуляторной дисфункции и наличия эхо-структуры поликистозных яичников по данным УЗИ.

В настоящее время большинство исследователей сходятся во мнении о гетерогенной природе СПКЯ и признают необходимость комплексного подхода к изучению данного синдрома с дифференциацией по фенотипам [Papadakis et al., 2021].

По результатам различных исследований, для пациенток при СПКЯ в программах ВРТ характерно большее количество ооцитов по сравнению с пациентками с нормальным овариальным резервом, однако большая часть полученных ооцитов характеризуются как незрелые [Qiao, 2011]. Вопрос о необходимости проведения ПГТ-а при СПКЯ до сих пор обсуждается. В связи

с этим, требуется оценка эффективности программ ВРТ с ПГТ-а у пациенток с дифференциацией по фенотипам.

Важнейшей средой для развития ооцитов является фолликулярная жидкость, которая имеет свое происхождение преимущественно из плазмы крови [Edwards, 1974], в связи с чем ее метаболизм может влиять на качество ооцитов – метаболиты могут иметь ключевое значение в фолликулогенезе – росте фолликула и развитии ооцитов, а также предоставляют важную информацию о росте и дифференцировке [Hood et al, 2022].

Более того, известно, что во внутриклеточный метаболизм вовлечены аминокислоты, поэтому, принимая во внимание ухудшение качества ооцитов при СПКЯ, оценка аминокислотного профиля в фолликулярной жидкости и плазме крови представляется перспективным направлением для решения вопросов патогенеза СПКЯ и оо-эмбриогенеза у пациенток с данным заболеванием [Kurdi et al, 2023; Sanei et al, 2023].

Вопрос эффективности программ ВРТ у пациенток с СПКЯ в позднем репродуктивном возрасте также представляет научный интерес, поскольку характерны более высокие показатели овариального резерва по сравнению с женщинами с нормальным овариальным резервом такого же возраста, однако, является ли этот факт значимым при проведении программ ВРТ - до конца не выяснено.

Цель исследования

Повысить эффективность лечения бесплодия у пациенток с СПКЯ путем разработки дифференцированных программ ВРТ в зависимости от фенотипа заболевания.

Задачи исследования

1. Изучить клинико-anamnestические, лабораторные характеристики пациенток с СПКЯ в программах ВРТ и представить сравнительный анализ симптомов, характеризующих фенотипы заболевания.

2. Провести сравнительный анализ параметров фолликуло-оо-эмбриогенеза, а также исходов программ ВРТ в зависимости от выделенных фенотипов СПКЯ.
3. Определить уровни аминокислот в плазме крови и фолликулярной жидкости и установить наличие корреляций с эмбриологическим этапом.
4. Сравнить исходы программ ВРТ с переносом криоконсервированного/размороженного эмбриона с ПГТ-а и без ПГТ-а в зависимости от фенотипа СПКЯ.
5. Провести сравнительную оценку состояния овариального резерва и исходов программ ВРТ у пациенток с СПКЯ позднего репродуктивного возраста.
6. Разработать персонифицированные алгоритмы проведения программ ВРТ (ЭКО/ИКСИ) у пациенток с СПКЯ в зависимости от фенотипа.

Научная новизна

Результаты исследования позволили определить фенотип А СПКЯ как наиболее тяжелый в клиническом проявлении, наиболее сложный в лечении и наименее результативный на всех этапах программ ВРТ. Выявлены особенности исходов программ ВРТ и овариальной стимуляции у женщин с бесплодием и СПКЯ в зависимости от фенотипа синдрома. Определены особенности репродуктивных потерь первого триместра беременности в зависимости от фенотипа СПКЯ. Обоснована целесообразность применения ПГТ-а при фенотипе А СПКЯ, что позволяет снизить репродуктивные потери в первом триместре беременности. Показано, что, несмотря на более высокие показатели овариального резерва у пациенток позднего репродуктивного возраста при СПКЯ по сравнению с женщинами с нормальным овариальным резервом, сопоставимых по возрасту, частота анеуплоидных эмбрионов не различалась, что делает необходимым проведение ПГТ-а вне зависимости от состояния овариального резерва.

Анализ аминокислотного профиля позволил зафиксировать изменения аминокислотного состава в фолликулярной жидкости у пациенток с СПКЯ по сравнению с пациентками с нормальным овариальным резервом, а также рассчитать корреляционные связи с результатами овариальной стимуляции. Полученные данные позволили сделать вывод о вовлеченности аминокислот в патогенез СПКЯ и фолликуло-оо-эмбриогенез и построить диагностические модели.

Практическая значимость

Доказана необходимость определения фенотипа СПКЯ на этапе подготовки пациенток к проведению программ ВРТ. Показано, что результаты лечения коррелируют с фенотипом заболевания, что обуславливает индивидуальный подход к проведению овариальной стимуляции у этого контингента пациенток. Продемонстрирована необходимость проведения ПГТ-а эмбрионов у пациенток, имеющих фенотип А СПКЯ, что в два раза снижает репродуктивные потери в первом триместре беременности. Установлено, что пациентки с СПКЯ старшей возрастной группы имеют более высокие показатели овариального резерва, большее количество ооцитов и эмбрионов в программах ВРТ по сравнению с женщинами с нормальным овариальным резервом, сопоставимых по возрасту, но частота анеуплоидных эмбрионов не различалась, что обуславливает необходимость проведения ПГТ-а эмбрионов у пациенток старшего возраста.

Был предложен алгоритм персонализированного ведения пациенток с СПКЯ в зависимости от фенотипа и возраста для оптимизации и повышения эффективности программ ВРТ.

Положения, выносимые на защиту

1. Фенотип А СПКЯ статистически значимо отличается от других фенотипов по основным клиническим характеристикам – более высокий ИМТ, более высокие уровни АМГ и андростендиона, большее КАФ. В программах ВРТ при большей длительности стимуляции и более высоких дозах гонадотропинов получается меньшее количество blastocysts хорошего качества по сравнению с другими фенотипами СПКЯ.
2. Изменения уровня глутамина и пролина в фолликулярной жидкости и плазме крови коррелируют с показателями эмбриологического этапа программ ВРТ и могут рассматриваться как эпигенетический фактор риска развития нарушений раннего эмбриогенеза.
3. При переносе криоконсервированных/размороженных эмбрионов с подтвержденной эуплоидностью и не прошедших генетическое тестирование, частота наступления беременности на перенос эмбриона статистически значимо не различается, однако частота репродуктивных потерь у пациенток фенотипа А СПКЯ статистически значимо снижается (с 31,7% до 13,4%).
4. В позднем репродуктивном возрасте у пациенток с СПКЯ вне зависимости от фенотипа заболевания исходы программ ВРТ обуславливают качество получаемых эмбрионов, а не состояние овариального резерва и количество полученных ооцитов, что ассоциировано с возрастом пациентки и диктует необходимость проведения ПГТ-а у этого контингента женщин.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное личное участие в выборе темы научной работы, разработке цели и задач исследования. Автором самостоятельно осуществлялись отбор пациенток в исследование и их ведение на всех этапах лечения в программах ВРТ, а также проведение сбора и интерпретации данных и их последующая статистическая обработка.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 3, 4 и 5 паспорта специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология.

Апробация работы

Работа обсуждена на межклинической конференции сотрудников 1-го гинекологического отделения ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России 24 июля 2023 г. и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России 30 октября 2023 г.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты данной работы были внедрены в практическую деятельность 1-го гинекологического отделения ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

По теме диссертации опубликовано 4 научных труда, из которых 4 статьи – в научных журналах, рецензируемых ВАК.

Степень достоверности полученных результатов

Достоверность выполненного исследования определяется достаточным количеством пациенток, включенных в исследование, применением современных методов обследования и статистической обработки данных.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 130 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, списка

сокращений и списка литературы, содержит 13 рисунков, 25 таблиц. Список литературы включает 101 источник, среди них 7 отечественных и 94 работы зарубежных авторов.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на базе 1-го гинекологического отделения (руководитель - д.м.н. А.А. Гависова) института репродуктивной медицины (руководитель д.м.н., профессор Т.А. Назаренко), отдела клинической и молекулярной генетики (руководитель - д.м.н., профессор Д. Ю. Трофимов) лаборатории молекулярно-генетических методов (руководитель - к.м.н. Донников А.Е.), отдела системной биологии в репродукции (руководитель - д.ф-м.н. В.Е. Франкевич) лаборатории протеомики и метаболомики репродукции человека (руководитель - к.м.н. Н.Л. Стародубцева) ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор - академик РАН, профессор Г.Т. Сухих).

В 1-м гинекологическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России в рамках исследования было проведено 266 программ ВРТ у пациенток с СПКЯ, обратившихся для лечения бесплодия. Перед началом программы были подписаны информированные добровольные согласия на участие в исследовании. Критерии включения: возраст женщин от 18 до 43 лет; СПКЯ; нормозооспермия у партнера или мужской фактор бесплодия без выраженной патозооспермии; отсутствие противопоказаний к лечению бесплодия методами ВРТ. Все пациенты прошли полное клинико-лабораторное и инструментальное обследование в соответствии с действующими клиническими рекомендациями «Женское бесплодие» (2021) и Приказом Минздрава России от 31.07.2020 №803н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению».

Для решения задач 1,2,4 было включено 233 пациентки с СПКЯ репродуктивного возраста от 18 до 37 лет, которые были стратифицированы

по группам согласно фенотипу СПКЯ. Были сформированы 4 группы в соответствии фенотипами СПКЯ – А (n=112), В (n=44), С (n=22), D (n=55).

Для решения задачи № 1 были проанализированы (проспективно и ретроспективно) клинико-anamнестические и клинико-лабораторные характеристики пациенток с СПКЯ, проходящих лечение бесплодия методами ВРТ. Для решения задачи №2 была проведена овариальная стимуляция, результаты были проанализированы (в том числе ретроспективно). Всем пациенткам была произведена ТВП, осуществлялась оценка качества аспирированных ооцитов. Было произведено оплодотворение методом ЭКО/ИКСИ. Качество blastоцист оценивалось на 5-6е сутки культивирования согласно морфологической классификации Гарднера.

Дизайн исследования для решения задач № 1-2 представлен на рис. 1.

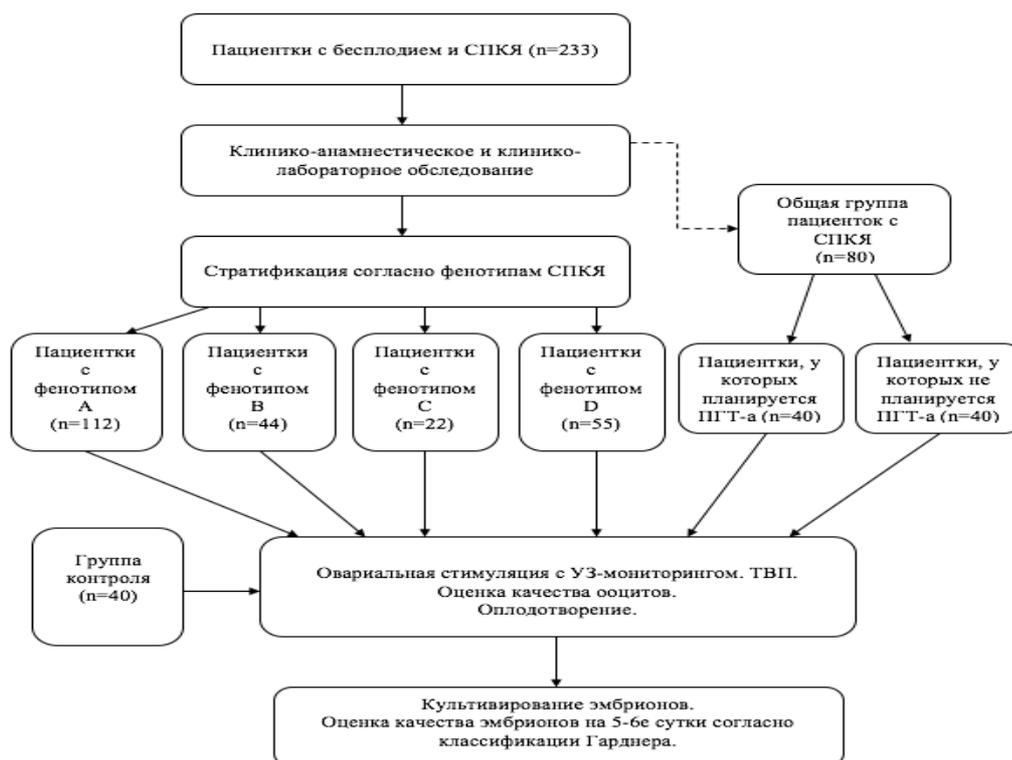


Рис. 1. Схема дизайна исследования для оценки параметров фолликуло-оо-эмбриогенеза и результатов овариальной стимуляции у пациенток в зависимости от фенотипа СПКЯ.

Для решения задачи № 3 производился забор крови и фолликулярной жидкости в день ТВП. Была выделена группа женщин с СПКЯ без дифференциации по фенотипам (n=19), у которых определялся аминокислотный профиль в плазме крови и фолликулярной жидкости. Была сформирована группа контроля, в которую вошли женщины с бесплодием и нормальным овариальным резервом (n=19).

Дизайн для решения задачи №4 - сравнить исходы программ ВРТ с переносом криоконсервированного/размороженного эмбриона, прошедшего ПГТ-а и без ПГТ-а в зависимости от фенотипа СПКЯ - представлен на рис. 2. Пациентки в исследуемых группах фенотипов СПКЯ были стратифицированы по подгруппам в зависимости от того, проводилось ли ПГТ-а : фенотип А без ПГТ-а (n= 60), фенотип А после ПГТ-а (n=52), фенотип В без ПГТ-а (n=24), фенотип В после ПГТ-а (=20), фенотип С без ПГТ-а (n=10), фенотип С после ПГТ-а (n=12), фенотип D без ПГТ-а (n=27), фенотип D после ПГТ-а (n=28).

На первом этапе было проведено сравнение результатов программ переноса эмбриона в криоцикле между фенотипами СПКЯ и группой контроля, состоящей из женщин с бесплодием репродуктивного возраста с нормальным овариальным резервом(n=20), без ПГТ-а. На втором этапе группы каждого фенотипа СПКЯ без ПГТ-а и после ПГТ-а сравнивались попарно с целью оценки влияния ПГТ-а на эффективность программ ВРТ.

Отдельно были выделены 2 группы пациенток с СПКЯ без дифференциации по фенотипам СПКЯ на основании того, проводилось ли ПГТ-а – группа СПКЯ без ПГТ-а (n=40) и группа СПКЯ (n=40), с целью оценки эффективности проведения ПГТ-а у пациенток с СПКЯ вне зависимости от фенотипа СПКЯ.

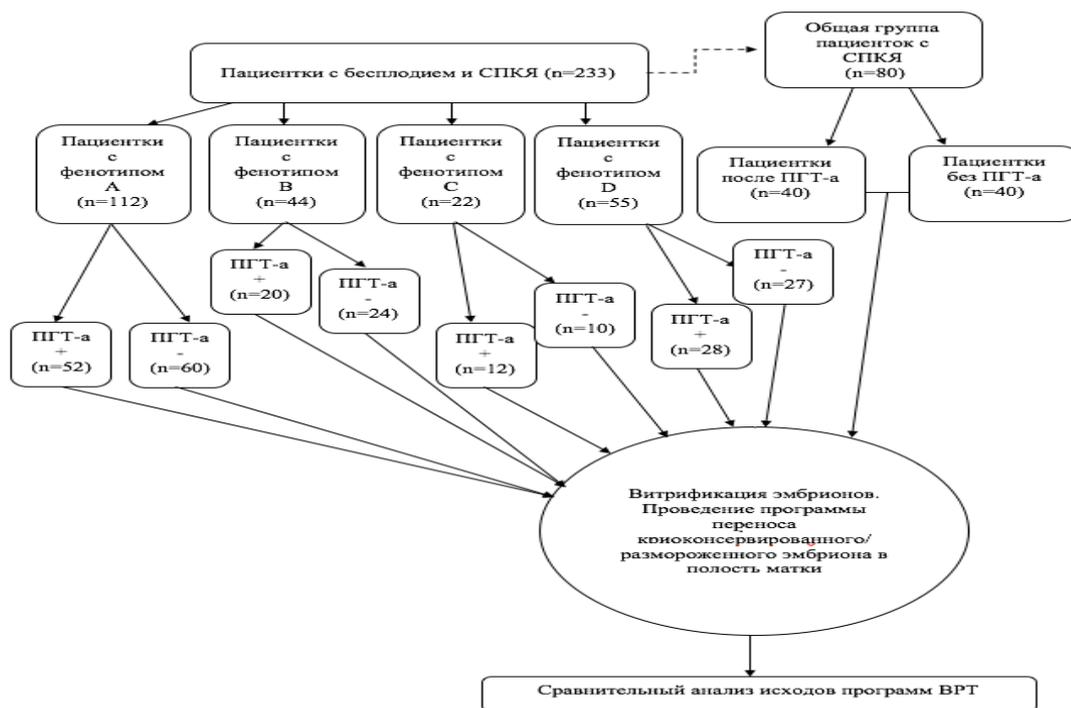


Рис. 2. Схема дизайна исследования для сравнительной оценки эффективности программ переноса криоконсервированного/размороженного эмбриона в зависимости от фенотипа СПКЯ без проведения ПГТ-а и после ПГТ-а.

Для решения задачи 5 - провести сравнительную оценку состояния овариального резерва и исходов программ ВРТ у пациенток позднего репродуктивного возраста с СПКЯ и женщин, репрезентативных по возрасту, с трубно-перитонеальным генезом бесплодия - была сформирована группа позднего репродуктивного возраста, в которую были включены пациентки с СПКЯ от 38 до 43 лет (n=33). Дифференциация по фенотипам СПКЯ не производилась. Группу контроля составили женщины позднего репродуктивного возраста от 38 до 43 лет с трубно-перитонеальным фактором бесплодия (n=30).

Была проведена оценка исходов программ овариальной стимуляции и переноса криоконсервированного/размороженного эмбриона после ПГТ-а. 100% пациенток данной возрастной категории в обеих группах проводилось ПГТ-а. Дизайн исследования для задачи следования для задачи 4 представлен на рисунке 3.



Рис. 3. Схема дизайна исследования для сравнительной оценки эффективности программ оариальной стимуляции и переноса криоконсервированного/размороженного эмбриона в зависимости от фенотипа СПКЯ без проведения ПГТ-а и после ПГТ-а.

Всем пациенткам проводилась овариальная стимуляция в протоколе с антагонистами ГнРГ и оплодотворение методом ЭКО/ИКСИ. Учитывая наличие СПКЯ и высокий риск СГЯ, во всех циклах производилась замена триггера. Культивирование во всех группах проводилось в одинаковых сертифицированных средах. ПГТ-а проводилось методом секвенирования следующего поколения NGS. Программа переноса криоконсервированного/размороженного эмбриона в 100% проводилась на фоне ЗГТ со стандартными дозами.

Эффективность программ переноса криоконсервированных/размороженных эмбрионов в полость матки оценивали по частоте биохимических беременностей, частоте клинических беременностей, частоте эктопических беременностей, частоте репродуктивных потерь первого триместра, показателям живорождения.

Анализ аминокислотного профиля проводили посредством ВЭЖХ-МС/МС анализа на системе, состоящей из тройного квадрупольного масс-спектрометрического детектора Agilent 6460 (Agilent), оснащенного источником электрораспылительной ионизации и жидкостного хроматографа Agilent 1260 II (Agilent), оснащенного бинарным насосом высокого давления, термостатом колонок и автосамплером на 122 виалы.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программ Microsoft Office Excel, Statistica (версии 8.0, StatSoft Inc., США) и IBM SPSS.

При нормальном распределении данных для сравнения групп пациенток для числовых показателей использовался t-критерий Стьюдента для двух независимых выборок. В случае распределения, отличного от нормального, для сравнения количественных данных использовался непараметрический U-критерий Манна–Уитни для несвязанных совокупностей. Для описания категориальных бинарных данных использовали абсолютные значения и процентные доли от общего числа в группе. Сравнение качественных признаков проводили с помощью критерия χ^2 Пирсона. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05. Для бинарных исходов размер эффекта был рассчитан как отношение рисков и абсолютное снижение риска (95%ДИ).

Модели логистической регрессии разрабатывали с использованием программы RStudio путем перебора всех возможных комбинаций от 1-ой до 4-х аминокислот. Прогностическую способность модели оценивали методом ROC анализа (Receiver operating characteristic) по величине AUC (Area Under Curve), статистической значимости, уровню специфичности и чувствительности.

Исследование одобрено комиссией по этике биомедицинских исследований ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (протокол № 14 от 24.12.2020 г.).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе фенотипической вариативности в структуре СПКЯ в рамках нашего исследования (рис. 3) было выявлено, что ожидаемо преобладал классический фенотип А - 48,7% от общего числа пациенток с СПКЯ. Фенотип В определялся у 19,1% пациенток с СПКЯ, фенотип С встречался реже всего – зафиксирован у 9,6% женщин с СПКЯ. Фенотип D был отмечен у 22,6% пациенток с СПКЯ.

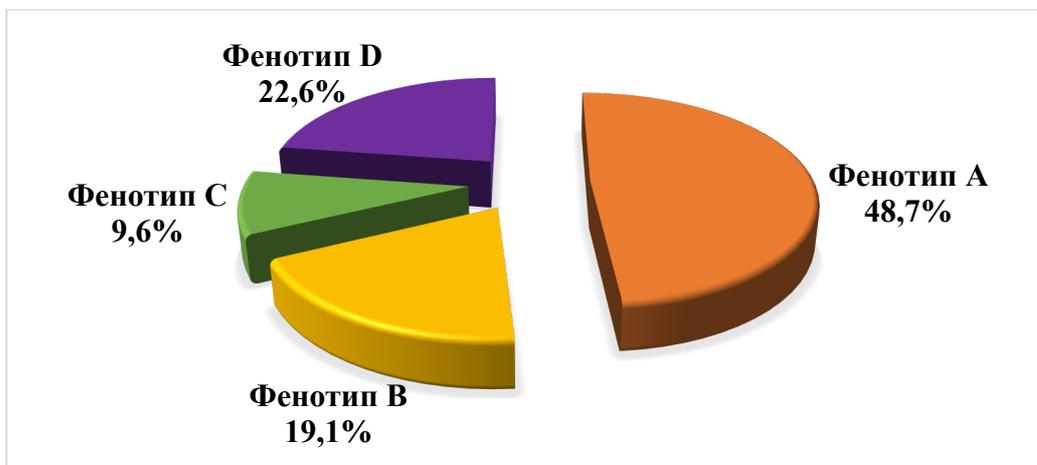


Рис. 4. Распределение фенотипов СПКЯ

Пациентки были сопоставимы по возрасту. Для женщин с фенотипами А и D были зафиксированы статистически значимо более высокие показатели массы тела ($69,38 \pm 11,52$ и $69,73 \pm 8,65$ соответственно), ИМТ ($25,37 \pm 4,54$ и $24,28 \pm 2,91$) и частоты избыточной массы тела (57 (50,9%) и 22 (50%)) по сравнению с пациентками с фенотипами С и D СПКЯ и группой контроля, $p < 0,05$.

Данные гормонального обследования представлены в таблице 1. Были выявлены статистически значимые различия по уровню ЛГ между всеми фенотипами СПКЯ и группой контроля (5,7 (3,1;7,9)), $p < 0,05$.

Наиболее высокий уровень был зафиксирован в группе фенотипа А СПКЯ (13,32 (9,82;16,5)), самый низкий – в группе фенотипа В СПКЯ (7,8 (5,3; 9,5)). Уровни АМГ у всех фенотипов СПКЯ имели достоверные различия с группой контроля (3,7 (2,5;4,8)), $p < 0,05$.

Были выявлены статистически значимые различия по уровню андростендиона между фенотипами А (15,1(11,5;17,6) В (13,8(8,1;16,1) и С (13,2 (7,5;15,8) СПКЯ и группой контроля (6,8 (2,7;8,9)), $p < 0,05$.

Таблица 1. Сравнительная характеристика гормональных показателей различных фенотипов СПКЯ.

Параметры	Фенотип А (n=112)	Фенотип В (n=44)	Фенотип С (n=22)	Фенотип D (n=55)	Контроль (n=40)
ЛГ*	11,2 (9,82;16,5)	9,9 (7,2;11,3)	8,62 (6,8;10,4)	8,9 (7,1;9,9)	5,7 (3,1;7,9)
	P A-B =0,339 P A-C = 0,113 P A-D = 0,072 P A-K < 0,001	P B-A =0,339 P B-C =0,711 P B-D =0,606 P B-K=0,022	P C-A =0,113 P C-B =0,711 P C-D =0,834 P C-K =0,062	P D-A =0,072 P D-B =0,606 P D-C =0,834 P D-K=0,041	P K- A < 0,001 P K B =0,022 P K -C = 0,062 P K -D =0,041
АМГ*	13,32 (9,82;16,5)	7,8 (5,3; 9,5)	9,3 (6,7;10,2)	8,2 (5,5; 9,8)	3,7 (2,5;4,8)
	P A-B =0,008 P A-C = 0,115 P A-D = 0,002 P A-K < 0,001	P B-A =0,008 P B-C =0,405 P B-D =0,768 P B-K< 0,001	P C-A =0,115 P C-B =0,405 P C-D =0,640 P C-K < 0,001	P D-A =0,002 P D-B =0,768 P D-C =0,640 P D-K< 0,001	P K- A < 0,001 P K B < 0,001 P K -C < 0,001 P K -D < 0,001
Андростендион*	15,1 (11,5;17,6)	13,8 (8,1;16,1)	13,2 (7,5;15,8)	11,3 (8,4;13,1)	6,8 (2,7;8,9)
	P A-B =0,442 P A-C = 0,375 P A-D = 0,116 P A-K < 0,001	P B-A =0,442 P B-C =0,844 P B-D =0,587 P B-K=0,013	P C-A =0,375 P C-B =0,844 P C-D =0,360 P C-K =0,019	P D-A =0,116 P D-B =0,587 P D-C =0,360 P D-K=0,045	P K- A < 0,001 P K B =0,013 P K -C = 0,019 P K -D =0,045

* Me (Q1; Q3), критерий Манна-Уитни

При оценке данных УЗИ для фенотипа В СПКЯ закономерно были отмечены статистически значимо меньшие объемы правого яичника (7,1 (6,1;7,9)) и левого яичника (7,4 (5,5; 8,1)) по сравнению фенотипами А, С, D СПКЯ. Самый высокий показатель КАФ наблюдался у фенотипа А СПКЯ (27(22;35), а фенотипы С СПКЯ (23 (22;28)) и D СПКЯ (23,5 (21; 27)) имели статистически значимые различия с фенотипом В СПКЯ (13 (12;17), $p < 0,001$) и группой контроля (15 (12;18), $p < 0,001$) (таблица 2).

Таблица 2. УЗ - параметры различных фенотипов СПКЯ

Параметры	Фенотип А (n=112)	Фенотип В (n=44)	Фенотип С (n=22)	Фенотип D (n=55)	Группа контроля (n=40)
Объем ПЯ, см ³ *	15,7 (13,1;17,3)	7,1 (6,1;7,9)	13,1 (12,5;15,1)	13,2 (12,5; 14,7)	6,1 (5,5; 7,3)
	P A-B < 0,001 P A-C =0,140 P A-D =0,081 P A-K < 0,001	P B-A < 0,001 P B-C < 0,001 P B-D < 0,001 P B-K=0,094	P C-A =0,140 P C-B < 0,001 P C-D =0,846 P C-K < 0,001	P D-A =0,081 P D-B < 0,001 P D-C =0,846 P D-K < 0,001	P K-A < 0,001 P K-B =0,094 P K-C < 0,001 P K-D < 0,001
Объем ЛЯ, см ³ *	14,8 (13,4;17,1)	7,4 (5,5;8,1)	13,3 (12,5; 14,1)	12,8 (11,5; 14,3)	7,8 (5,9; 8,4)
	P A-B < 0,001 P A-C =0,112 P A-D =0,027 P A-K < 0,001	P B-A < 0,001 P B-C < 0,001 P B-D < 0,001 P B-K=0,730	P C-A =0,112 P C-B < 0,001 P C-D =0,655 P C-K < 0,001	P D-A =0,027 P D-B < 0,001 P D-C =0,655 P D-K < 0,001	P K-A < 0,001 P K-B =0,730 P K-C < 0,001 P K-D < 0,001
КАФ*	27 (22;35)	13 (12;17)	23 (22;28)	23,5 (21;27)	15 (12;18)
	P A-B < 0,001 P A-C =0,216 P A-D =0,041 P A-K < 0,001	P B-A < 0,001 P B-C < 0,001 P B-D < 0,001 P B-K=0,904	P C-A =0,216 P C-B < 0,001 P C-D =0,822 P C-K < 0,001	P D-A =0,041 P D-B < 0,001 P D-C =0,822 P D-K < 0,001	P K-A < 0,001 P K-B =0,904 P K-C < 0,001 P K-D < 0,001

* Me (Q1; Q3), критерий Манна-Уитни

На втором этапе исследования были проанализированы особенности овариальной стимуляции фенотипов СПКЯ (таблица 3).

Для женщин с фенотипом А требовалась более длительная стимуляция (11 (8;11)) по сравнению с фенотипами С СПКЯ и D СПКЯ и группой контроля, $p < 0,05$ (таблица 8). Для женщин с фенотипами А СПКЯ и В СПКЯ требовались большие стартовые дозы гонадотропинов - 225 (150;300) и 225 (150;300) по сравнению с фенотипами С СПКЯ и D СПКЯ и группой контроля, $p < 0,05$.

Как следствие, у женщин с фенотипами А СПКЯ и В СПКЯ были зафиксированы большие общие дозы гонадотропинов - $2533,35 \pm 556,1$ и $2415,91 \pm 623,4$ соответственно, по сравнению с фенотипами С СПКЯ и D СПКЯ и группой контроля, $p < 0,05$.

Таблица 3. Особенности овариальной стимуляции различных фенотипов СПКЯ

Параметры	Фенотип А (n=112)	Фенотип В (n=44)	Фенотип С (n=22)	Фенотип D (n=55)	Группа контроля (n=40)
Длительность стимуляции, дни*	11 (8;11)	10 (8;10)	8 (8;9)	9 (8;10)	8 (8;9)
	P A-B=0,226 P A-C=0,016 P A-D=0,072 P A-K=0,008	P B-A=0,226 P B-C=0,114 P B-D=0,437 P B-K=0,128	P C-A=0,016 P C-B=0,114 P C-D=0,691 P C-K=0,807	P D-A=0,072 P D-B=0,437 P D-C=0,691 P D-K=0,344	P K-A=0,008 P K-B=0,128 P K-C=0,807 P K-D=0,344
Стартовая доза гонадотропинов, МЕ*	225 (150;300)	225 (150;300)	150 (150;225)	150 (150;300)	150 (150;225)
	P A-B=0,922 P A-C=0,006 P A-D=0,009 P A-K=0,007	P B-A=0,922 P B-C=0,005 P B-D=0,034 P B-K=0,010	P C-A=0,006 P C-B=0,005 P C-D=0,837 P C-K=0,924	P D-A=0,009 P D-B=0,034 P D-C=0,837 P D-K=0,780	P K-A=0,007 P K-B=0,010 P K-C=0,924 P K-D=0,780
Общая доза гонадотропинов, МЕ*	2533,35± 556,1	2415,91± 623,4	1775,0 ± 402,9	1870,9 ± 409,3	1888,1 ± 448,6
	P A-B=0,277 P A-C<0,001 P A-D=0,009 P A-K=0,011	P B-A=0,277 P B-C<0,001 P B-D<0,001 P B-K<0,001	P C-A<0,001 P C-B<0,001 P C-D=0,354 P C-K=0,313	P D-A=0,009 P D-B<0,001 P D-C=0,354 P D-K=0,841	P K-A=0,011 P K-B<0,001 P K-C=0,313 P K-D=0,841

* Ме (Q1; Q3), критерий Манна-Уитни

Группа фенотипа А СПКЯ характеризовалась наибольшим числом преовуляторных фолликулов в день введения триггера - 22 (17; 24), различия с группами других фенотипов СПКЯ и группой контроля статистически значимы, $p < 0,05$ (таблица 4). В группе фенотипа А ожидаемо было зафиксировано наибольшее количество аспирированных фолликулов по сравнению с другими фенотипами, группой контроля, различия статистически значимы, $p < 0,05$.

Группа фенотипа А характеризовалась меньшим количеством зрелых ооцитов (7 (6;9), различия статистически значимы по сравнению с группой фенотипа D СПКЯ) и меньшим количеством полученных бластоцист, еще меньшим количеством бластоцист, пригодных для криоконсервации - 5 (3;7) и 4 (3;7) соответственно, различия статистически значимы с группами других фенотипов СПКЯ и группой контроля, $p < 0,05$).

Таблица 4. Результаты овариальной стимуляции различных фенотипов СПКЯ

Параметры	Фенотип А (n=112)	Фенотип В (n=44)	Фенотип С (n=22)	Фенотип D (n=55)	Группа контроля (n=40)
Кол-во преовуляторных фолликулов в день введения триггера	22 (17; 24)	14 (12;15)	18 (16; 21)	16 (15;20)	12 (10;13)
	P A-B <0,001 P A-C = 0,002 P A-D = <0,001 P A-K<0,001	P B-A <0,001 P B-C =0,004 P B-D =0,054 P B-K=0,075	P C-A =0,002 P C-B =0,004 P C-D =0,123 P C-K <0,001	P D-A <0,001 P D-B =0,054 P D-C =0,123 P D-K<0,001	P K- A <0,001 P K B =0,075 P K -C <0,001 P K -D <0,001
Кол-во аспирированных ооцитов	17 (15; 20)	13 (12;14)	14 (14; 16)	14 (13;17)	10 (10;12)
	P A-B <0,001 P A-C = 0,014 P A-D =0,003 P A-K <0,001	P B-A <0,001 P B-C =0,477 P B-D =0,412 P B-K=0,039	P C-A =0,014 P C-B =0,477 P C-D =0,925 P C-K =0,012	P D-A =0,003 P D-B =0,412 P D-C =0,925 P D-K=0,004	P K- A <0,001 P K B =0,039 P K -C =0,012 P K -D =0,004
Кол-во зрелых ооцитов	7 (6;9)	7 (7; 8)	8 (7;9)	8 (7;9)	8 (7;9)
	P A-B =0,907 P A-C = 0,924 P A-D = 0,040 P A-K =0,081	P B-A =0,907 P B-C =0,107 P B-D =0,046 P B-K=0,086	P C-A =0,924 P C-B =0,107 P C-D =0,861 P C-K =0,780	P D-A =0,040 P D-B =0,046 P D-C =0,861 P D-K=0,905	P K- A =0,081 P K B =0,086 P K -C = 0,780 P K -D =0,905
Кол-во бластоцист	5 (3;7)	7 (5;9)	8 (6;9)	6 (4;8)	8 (8;10)
	P A-B <0,001 P A-C <0,001 P A-D = 0,004 P A-K <0,001	P B-A <0,001 P B-C =0,107 P B-D =0,015 P B-K=0,059	P C-A <0,001 P C-B =0,107 P C-D =0,001 P C-K =0,845	P D-A =0,004 P D-B =0,015 P D-C =0,001 P D-K=0,003	P K- A <0,001 P K B =0,059 P K -C = 0,845 P K -D =0,003
Кол-во бластоцист, пригодных для криоконсервации	4 (3;7)	6 (5; 8)	6 (6,7)	5 (5;8)	6 (4;8)
	P A-B <0,001 P A-C = 0,002 P A-D = 0,004 P A-K <0,001	P B-A <0,001 P B-C =0,907 P B-D =0,021 P B-K=0,966	P C-A =0,002 P C-B =0,907 P C-D =0,098 P C-K =0,942	P D-A =0,004 P D-B =0,021 P D-C =0,098 P D-K=0,051	P K- A <0,001 P K B =0,966 P K -C = 0,942 P K -D =0,051

* Me (Q1; Q3), критерий Манна-Уитни

В группе исследования аминокислотного профиля у пациенток с СПКЯ (n=19) в сравнении с женщинами с бесплодием и нормальным овариальным резервом были выявлены статистически значимые различия по проценту фертилизации (62.5 (50; 72.73) и 79.93 (69.38; 89.12) соответственно, p=0.0076) и отношению бластоцисты/ооциты (27.27 (20.83; 42.11) и 56.25 (47.9; 69.29)

соответственно, $p = 0.0002$). Полученные результаты подтверждают гипотезу о том, что при СПКЯ страдает качество ооцитов.

В плазме у пациенток с СПКЯ было зафиксировано статистически значимое снижение уровней аргинина -0.58 ($-0.88; 0.13$), $p = 0.0493$, саркозина -0.61 ($-0.71; -0.35$), $p = 0.0053$ и повышение уровня аспарагиновой кислоты 0.39 ($-0.68; 0.97$), $p = 0.0504$ по сравнению с нормальным овариальным резервом.

Были рассчитаны корреляционные связи между уровнями аминокислот и параметрами фолликуло-оо-эмбриогенеза.

В плазме крови (рисунок 5) были зафиксированы обратные корреляции между КАФ, общим количеством ооцитов, зрелых ооцитов и зигот, общим количеством бластоцист, хорошего и удовлетворительного качества и концентрацией лизина, аспарагиновой кислоты, глутамина, валина, метионина, изолейцина, триптофана, глутаминовой кислоты и аспарагина. Были выявлены обратные корреляции между КАФ ($-0,29$), общим количеством ооцитов ($-0,32$), зрелых ооцитов ($r = -0,61$) и зигот ($r = -0,57$) и концентрацией фенилаланина; и прямая корреляционная связь между КАФ ($r = 0,63$), общим количеством ооцитов ($r = 0,45$), зрелых ооцитов ($r = 0,37$), зигот ($r = 0,35$), общим числом бластоцист ($r = 0,41$), числом бластоцист хорошего ($r = 0,45$) и удовлетворительного качества ($r = 0,57$) с концентрацией пролина.

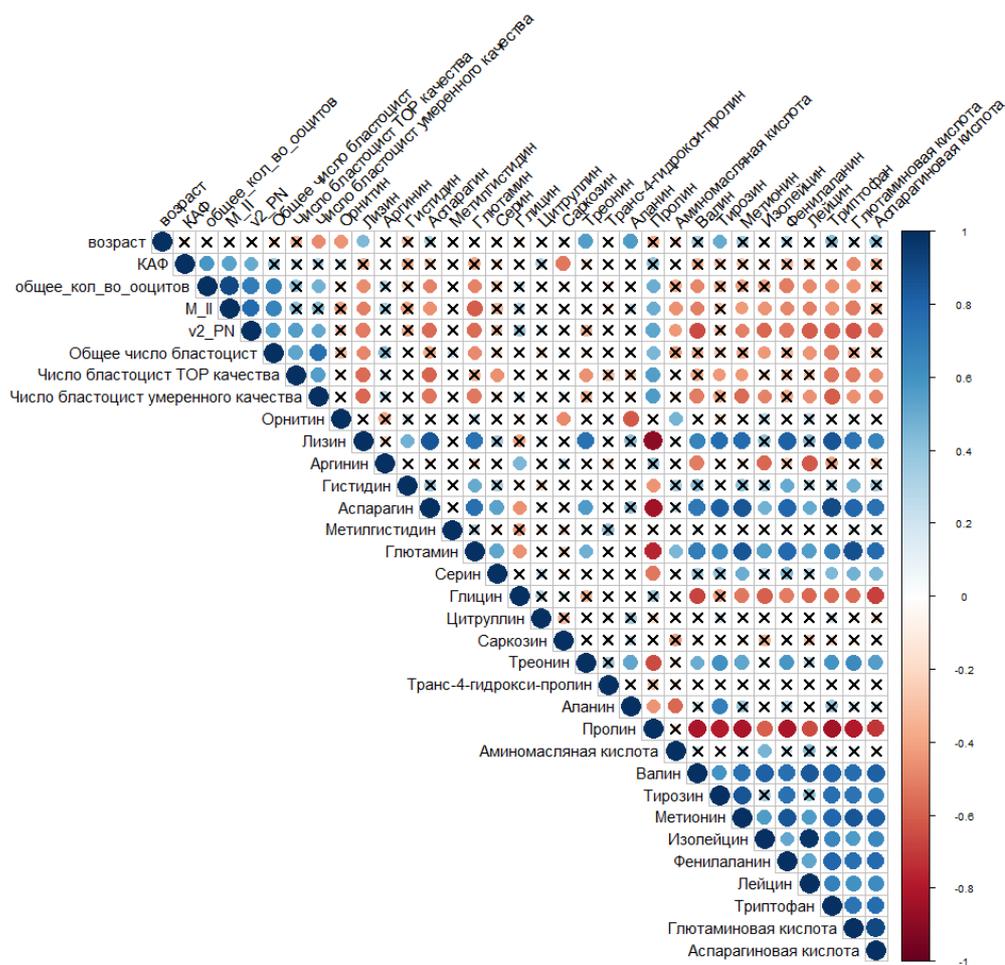


Рис. 5. Корреляции клинических параметров и уровней аминокислот в плазме крови в группе СПКЯ

В фолликулярной жидкости (рисунок 6) наблюдалась выраженная обратная корреляция между количеством антральных фолликулов и концентрацией глутамина ($r=-0,64$) и умеренная корреляция с количеством ооцитов ($r=-0,59$) и зрелых ооцитов ($r=-0,56$), обратная корреляция между количеством зрелых ооцитов и зигот и концентрацией аминокислоты. Была отмечена прямая корреляционная связь между КАФ и концентрацией пролина ($r=0,63$).

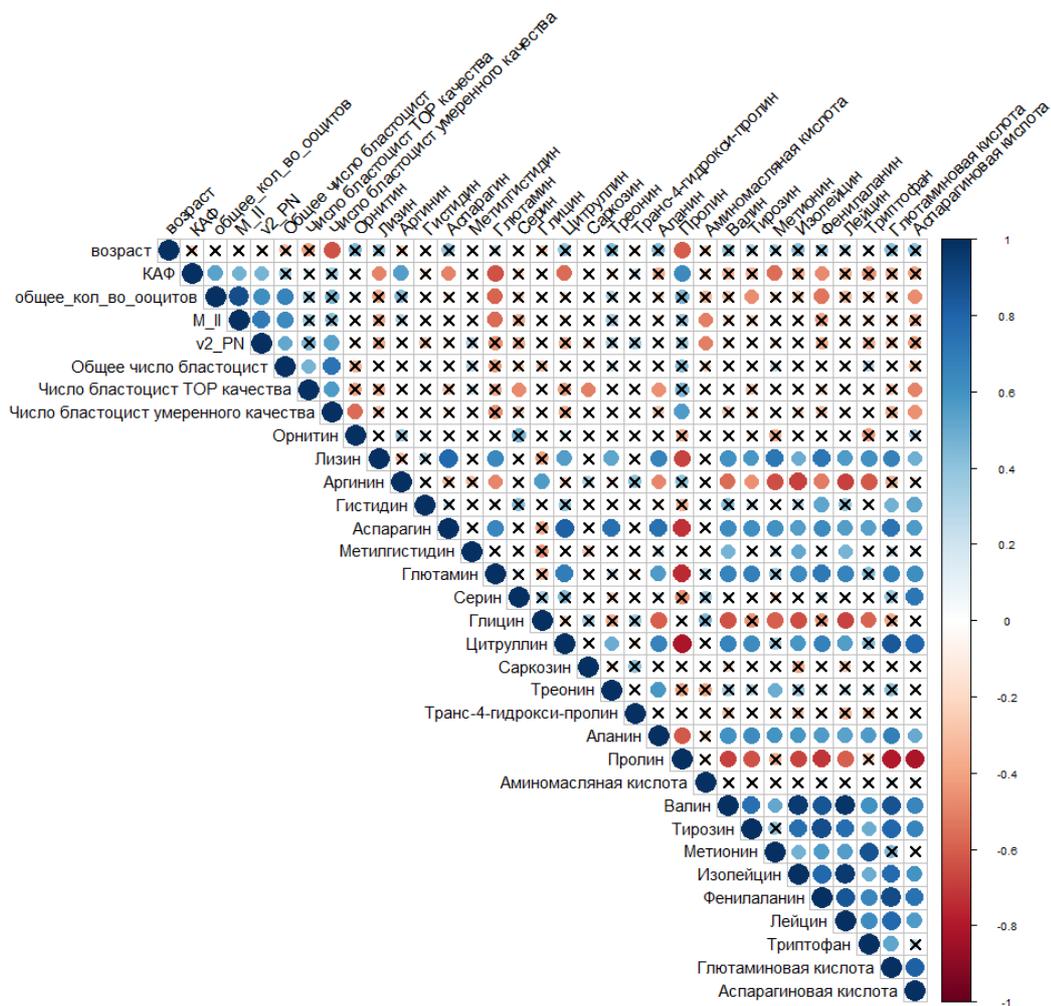


Рис. 6. Корреляции клинических параметров и уровней аминокислот в фолликулярной жидкости в группе СПКЯ

На основании полученных данных были построены прогностические модели. Модели логистической регрессии по уровням аминокислот в плазме крови имели одинаковую площадь под кривой ($AUC = 0,87$). Однако модели на основании комбинаций саркозин, тирозин, лейцин, триптофан и аспарагин, саркозин, аминомасляная кислота, тирозин обладали большей специфичностью (1 (0.84; 1) и 1 (0.68; 1) (рисунок 7).

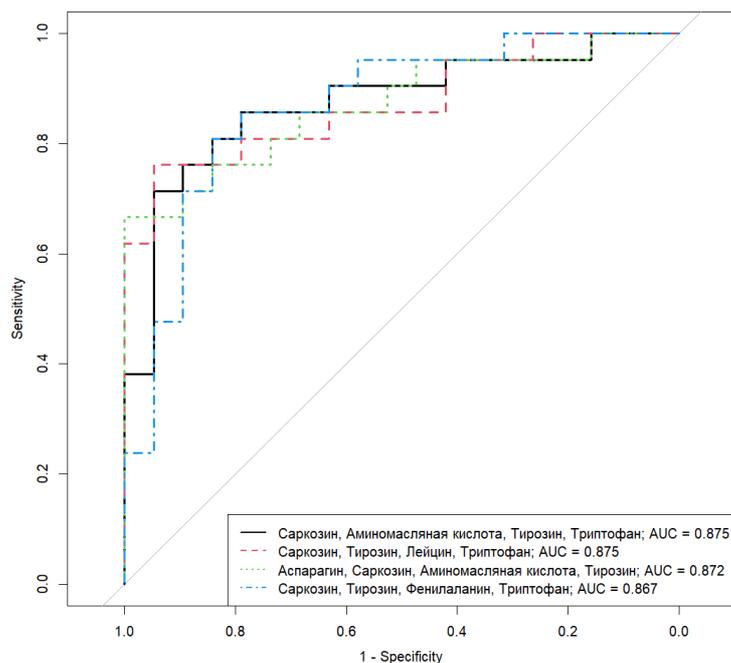


Рис.7. ROC-кривые, построенные для моделей логистической регрессии по уровням аминокислот в плазме крови

Модель логистической регрессии по уровням аминокислот в фолликулярной жидкости на основании комбинации - глутамин, цитруллин, пролин, валин – имела наибольшую площадь под кривой (AUC = 0,89) (рисунок 8).

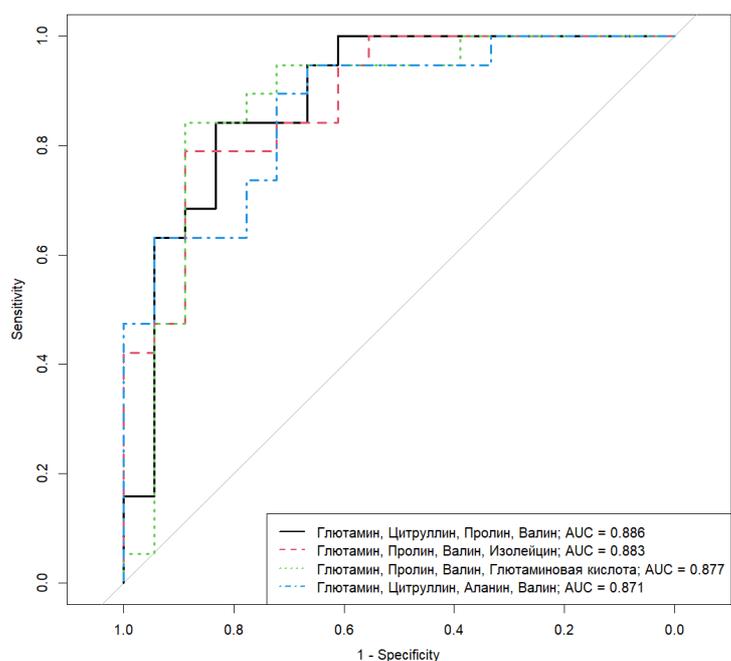


Рис.8. ROC-кривые, построенные для моделей логистической регрессии по уровням аминокислот в фолликулярной жидкости

На третьем этапе работы были проанализированы результаты программ ВРТ переноса криоконсервированного/размороженного эмбриона в полость матки без ПГТ для каждого фенотипа СПКЯ. Была зафиксирована статистически значимая разница по частоте репродуктивных потерь между фенотипом А (19 (31,7%)) и группой контроля (2 (10%)), $p=0,0185$. Не было выявлено статистически значимой разницы по остальным исходам между группами.

После проведения ПГТ-а группы сравнивались попарно. Была зафиксирована тенденция к повышению частоты живорождений в группе фенотипа А после ПГТ-а, однако разница не была статистически значима (таблица 7). Однако статистически значимо снизилась частота репродуктивных потерь первого триместра ($p=0,0229$, ОР = 2,35 (1,075 – 5,147)).

Таблица 7. Фенотип А без ПГТ-а и после ПГТ-а

	Фенотип А без ПГТ-а (n=60)	Фенотип А после ПГТ-а (n=52)	p	Абсолютное снижение риска (95% ДИ)	ОР (95% ДИ)
Частота биохимических беременностей*	37 (61,7%)	29 (55,8%)	0,526	-5,90 (-23,41; 11,98)	1,106 (0,808-1,513)
Частота клинических беременностей*	28 (46,7%)	22 (42,3%)	0,6435	-4,36 (-21,95; 13,73)	1,103 (0,727 -1,674)
Частота эктопических беременностей*	0	0		-	-
Частота репродуктивных потерь 1-го триместра*	19 (31,7%)	7 (13,4%)	0,0229	-18,21 (-32,49; 2,49)	2,35 (1,075 – 5,147)
Частота Живорождений*	9 (15%)	15 (28,8%)	0,0749	-13,85 (-1,45; 28,24)	0,520 (0,248 – 1,088)

*абс, хи-квадрат

В остальных группах не было зафиксировано статистически значимых различий между группами без ПГТ-а и после ПГТ-а.

При сравнении групп позднего репродуктивного возраста по основным клиническим характеристикам были зафиксированы статистически значимо большие показатели массы тела (75 (65; 89), $p=0,034$), ИМТ (31 (21,4; 33,8), $p=0,002$), объема правого и левого яичника (10,1 (7,9;14,3)), $p<0,001$ и 10,3 (8,1; 15,4), $p<0,001$ соответственно), АМГ (4,5 (6;17,2), $p<0,001$) и Т общ (1,8 (0,9;2,3) $p<0,001$).

В группе СПКЯ наблюдали статистически значимо ($<0,001$) большее количество преовуляторных фолликулов (10 (6;12)) и получали большее количество зрелых ооцитов (8 (6;10)), бластоцист (5 (4;8)) и бластоцист, пригодных к криоконсервации 4 (3;6), по сравнению с группой пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия.

Не было выявлено статистически значимых различий по частоте эуплоидных эмбрионов, мозаичных эмбрионов, анеуплоидных эмбрионов в исследуемых группах.

Полученные результаты не показали статистически значимых различий в эффективности программ ВРТ между группой СПКЯ и группой ТПФ (частота выкидышей 4 (16%) и 6 (22,7%) соответственно, $p=0,569$; частота живорождения 4 (16%) и 5 (18,5%) соответственно, $p=0,811$) пациенток, несмотря на более высокие показатели в группе пациенток с СПКЯ на эмбриологическом этапе.

ВЫВОДЫ

1. Фенотипы СПКЯ характеризуются широкой вариабельностью клинических и лабораторных характеристик, при этом при с «классическим» фенотипом А СПКЯ, составившем 48,7% всех женщин с СПКЯ, отмечены статистически значимые различия по ИМТ ($25,37 \pm 4,54$), уровню АМГ (13,32 (9,82;16,5)), андростендиона (15,1 (11,5;17,6)) объему яичников (15,7 (13,1;17,3) и 14,8 (13,4;17,1)), КАФ (27 (22;35)) частоте гиперпластических процессов эндометрия в анамнезе (полипы эндометрия в анамнезе - 41 (36,6%), простая железистая гиперплазия в анамнезе - 37 (33%)) по сравнению с другими фенотипами СПКЯ и группой женщин нормального овариального резерва.

2. Пациенткам с фенотипами А и В СПКЯ необходимы более высокие дозы гонадотропинов 225 (150;300) и более длительная стимуляция (11 (8;11)). У пациенток с фенотипом А СПКЯ частота получения зрелых ооцитов, бластоцист и бластоцист хорошего качества статистически значимо ниже по сравнению с фенотипами В, С, D СПКЯ и группой нормального овариального резерва.

3. Модели логистической регрессии по уровням аминокислот в плазме крови на основании комбинаций - саркозин, тирозин, лейцин, триптофан и аспарагин, саркозин, аминomásляная кислота, тирозин, со специфичностью 1 (0,84; 1) и 1 (0,68; 1), (AUC = 0,89) и модель логистической регрессии по уровням аминокислот в фолликулярной жидкости на основании комбинации - глютамин, цитруллин, пролин, валин с чувствительностью 0.89 (0.63; 1), (AUC = 0,89) сопряжены с клинико-лабораторными характеристиками СПКЯ.

4. СПКЯ характеризуется повышением уровня аргинина, саркозина и снижением уровня аспарагиновой кислоты в плазме крови. Концентрации глютамина и пролина коррелируют с результатами эмбриологического этапа программ ВРТ (общим количеством ооцитов, зрелых ооцитов, зигот, общим количеством бластоцист удовлетворительного и хорошего качества) как в фолликулярной жидкости, так и в плазме крови.

5. При переносе криоконсервированных/размороженных эмбрионов после ПГТ-а отмечена тенденция к увеличению частоты наступления беременности и частоты живорождения для всех фенотипов, особенно в группах фенотипов А и D СПКЯ.

Для пациенток с фенотипом А СПКЯ отмечена самая высокая частота репродуктивных потерь первого триместра (31,7%) по сравнению с другими фенотипами и группой нормального овариального резерва. После проведения ПГТ-а у пациенток с фенотипом А СПКЯ частота репродуктивных потерь первого триместра была снижена на 18,3%.

6. Пациентки с СПКЯ в позднем репродуктивном возрасте характеризуются более высокими показателями овариального резерва по сравнению с пациентками нормального овариального резерва того же возраста (уровень АМГ, объем яичников, КАФ на начало цикла), что способствует получению большего количества зрелых ооцитов и бластоцист, однако частота зуплоидных эмбрионов и частота наступления беременности не различаются.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациенткам с СПКЯ необходимо проводить углубленное клинико-лабораторное обследование с целью определения фенотипа заболевания, особенно пациенткам с фенотипом А – как наиболее тяжелой форме с выраженными эндокринно-метаболическим нарушениями.

2. Овариальную стимуляцию в программах ВРТ пациенткам с СПКЯ рекомендовано проводить в протоколе с антагонистами ГнРГ, но пациенткам с СПКЯ фенотипами А и В необходимы более высокие дозы гонадотропинов и более длительная стимуляция.

4. Женщинам с фенотипом А СПКЯ целесообразно проводить сегментацию цикла ВРТ с последующим (ПГТ-а) с целью снижения числа репродуктивных потерь первого триместра беременности.

5. Перенос криоконсервированных/размороженных эмбрионов у пациенток с СПКЯ целесообразно проводить на фоне проведения

заместительной гормональной терапии эстроген-гестагенами, вследствие наличия у них олиго-ановуляции.

6. Учитывая низкий процент эуплоидных бластоцист у пациенток с СПКЯ позднего репродуктивного возраста, целесообразно проведение ПГТ-а у данной категории больных.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Современные методы лечения бесплодия у пациенток с синдромом поликистозных яичников. / **Михайлова Н.Д.**, Мишиева Н.Г., Кириллова А.О., Джинчарадзе Л.Г. // **Акушерство и гинекология.** – 2021; - №7. – С. 37 - 44.
2. Дозревание ооцитов in vitro. / **Михайлова Н.Д.**, Мишиева Н.Г., Кириллова А.О., Мартазанова Б.А., Джинчарадзе Л.Г. // **Акушерство и гинекология.** - 2021; - № 11. – С. 64 – 70.
3. Эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий с проведением преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии у женщин с синдромом поликистозных яичников / **Михайлова Н.Д.**, Аксененко А.А., Ибрагимова М.Х., Екимов А.Н., Гависова А.А. // **Акушерство и гинекология.** – 2022. - №7. – С. 60 - 67.
4. Особенности программ вспомогательных репродуктивных технологий у женщин позднего репродуктивного возраста с синдромом поликистозных яичников / **Михайлова Н.Д.**, Аксененко А.А., Дуринян Э.Р., Гависова А.А. // **Акушерство и гинекология.** – 2022; - №9. – С. 87-93

Приложение 1.

Алгоритм ведения пациенток с СПКЯ

