

Pozaustrojowe dojrzewanie komórek jajowych

Zwiększanie szans u niepłodnych pacjentów

AYSE SEYHAN, MD, BARIS ATA, MD, SEANG LIN TAN, MD

Kobiety z upośledzoną płodnością, u których zapłodnienie pozaustrojowe z kontrolowaną hiperstymulacją jajników okazało się nieskuteczne lub trudne do zastosowania, mają do dyspozycji inną metodę uzyskania ciąży: pozaustrojowe dojrzewanie komórek jajowych.

Zapłodnienie pozaustrojowe (*in vitro* fertilization, IVF) stanowi obecnie najskuteczniejszą metodę leczenia zaburzeń płodności. Postęp, który doprowadził do zwiększenia wskaźników ciąży, obejmował wprowadzenie kontrolowanej hiperstymulacji jajników (controlled ovarian hyperstimulation, COH) stosowanej w celu indukcji rozwoju wielu pęcherzyków oraz wykonywany w kolejnym etapie transfer kilku zarodków do jamy macicy. Niestety, ze względu na finansowe i psychologiczne obciążenie pacjentek oraz ryzyko zdrowotne COH pociąga za sobą znaczne koszty. Główne ograniczenia COH stanowią bezpośredni koszt leków oraz koszty pośrednie wynikające między innymi z konieczności zaangażowania w leczenie oraz niedogodności związanych z intensywnym monitorowaniem. Najważniejszym powikłaniem COH jest zespół hiperstymulacji jajników (ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS), stan potencjalnie zagrażający życiu. Ponadto pojawiła się sugestia, że COH uszkadza rozwijające się komórki jajowe, wpływając tym samym niekorzystnie na powstające z nich zarodki.¹

Pozaustrojowe dojrzewanie komórek jajowych (*in vitro* maturation, IVM) jest uznaną metodą stanowiącą opcję terapeutyczną dla kobiet z upośledzoną płodnością, pozbawioną ryzyka i nieobciążającą kosztami związanymi z COH. IVM różni się od IVF pod dwoma względami: nie wymaga COH z zastosowaniem egzogennych gonado-

tropin, a komórki jajowe pobierane są przed osiągnięciem pełnej dojrzałości. Niedojrzałe oocyty, usunięte ze środowiska małych pęcherzyków antralnych zawierających czynniki blokujące mejozę, w warunkach laboratoryjnych mogą dokończyć podział komórkowy. Pobranie komórek i prowadzony w warunkach *in vitro* proces dojrzewania tych już istniejących, niedojrzałych oocytów dostarczą wielu dojrzałych komórek jajowych, które mogą być wykorzystane w programach IVF.

Od 1991 roku, kiedy opisano narodziny pierwszego dziecka po transferze zarodków pochodzących z niedojrzałych oocytów pobranych z jajników niestymulowanych, metoda IVM jest stale doskonalona zarówno w aspekcie klinicznym, jak i laboratoryjnym.

Nasz zespół odnotował pierwszy udany cykl IVM połączony z przezskórną aspiracją plemników z jądra oraz przedimplantacyjnym genetycznym skринingiem uzyskanych zarodków.² IVM umożliwiło skuteczne leczenie pacjentek z zespołem pustych pęcherzyków w poprzednich, stymulowanych cyklach IVF. Pacjentki mogą być wielokrotnie poddawane procedurze IVM. Nasz zespół opisał już kilka kobiet, u których tą drogą doprowadzono kolejno do kilku ciąży zakończonych narodzinami żywych noworodków.³ Co więcej, komórki jajowe poddane procedurze dojrzewania *in vitro* oraz powstałe z nich zarodki mogą być skutecznie mrożone. Obecnie we właściwie dobranych grupach pacjentek wskaźniki skuteczności IVM przekraczają 35% na cykl.^{4,5}

Dr Seyhan, dr Ata, clinical research fellows, Division of Reproductive Endocrinology and Infertility, Department of Obstetrics and Gynecology, McGill University Health Centre, Montreal.

Dr Tan, James Edmund Dodds Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, McGill University Health Centre, Medical Director, Montreal Reproductive Centre, McGill University Health Centre.

Żaden z autorów nie zgłosił konfliktu interesów w związku z powyższym artykułem.

Monitorowanie i postępowanie w cyklu IVM

W ośrodkach McGill University Health Centre oraz Montreal Reproductive Centre monitorowanie cyklu IVM rozpoczyna się od wyjściowego badania ultrasonograficznego

wykonywanego we wczesnej fazie folikularnej cyklu miesięczkowego, między 2 a 5 dniem cyklu naturalnego lub, u pacjentek z amenorrhoea, po wywołaniu krwawienia z odstawienia preparatem progesteronu. Celem tego badania jest wykluczenie obecności torbieli jajnika lub patologii macicy oraz pomiar liczby pęcherzyków antralnych.

Liczba pęcherzyków antralnych wydaje się najlepszym pojedynczym wskaźnikiem predykcynym liczby pozytywnych komórek jajowych.⁶ Następne badanie wykonywane jest między 6 a 8 dniem cyklu. W chwili, kiedy największy pęcherzyk osiąga średnicę 10-12 mm, a grubość endometrium wynosi co najmniej 6 mm, pacjentce wstrzykuje się pojedynczą dawkę 10 000 IU ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej (human chorionic gonadotropin, HCG). Pobranie komórek jajowych planowane jest 38 godzin po podaniu HCG.

Według naszych obserwacji wskaźniki implantacji i ciąży klinicznych są największe w cyklach, w których średnica pęcherzyka dominującego wynosiła 12 mm w dniu podania HCG.⁷ W cyklach, w których zastosowano HCG, liczba oocytów z rozproszonymi komórkami wzgórka jajonośnego była większa w porównaniu z cyklami bez HCG, co dawało większy wskaźnik zarodków rozwijających się do etapu blastocysty.^{5,8,9}

Jeżeli w dniu drugiego badania ultrasonograficznego grubość endometrium nie przekracza 6 mm, a pęcherzyk dominujący jest mały, odsuwamy w czasie podanie HCG/pobranie komórek jajowych. W celu stymulacji wzrostu zarówno pęcherzyków, jak i endometrium stosowany jest krótki kurs terapii gonadotropinami. Tej grupie kobiet podajemy od 150 do 300 IU ludzkiej gonadotropiny menopauzalnej na dobę. Hormon stymulujący pęcherzyki podawany jest przez 3-6 dni w zależności od reakcji pacjentki.

Kluczowe znaczenie ma osiągnięcie przez pęcherzyk średnicy 10-12 mm, co pozwala w dniu pobrania komórek jajowych uzyskać 1 lub 2 dojrzałe oocyty, dzięki czemu uzyskuje się lepsze wskaźniki ciąży.^{7,9} Z kolei w cyklu IVF w celu pozyskania jak największej liczby dojrzałych komórek jajowych wyczekuje się do momentu, w którym pęcherzyki osiągną średnicę 18 mm.

Procedura pobrania komórek jajowych

Pobranie komórek jajowych odbywa się pod kontrolą ultrasonograficzną z zastosowaniem głowicy dopochwowej i poza kilkoma modyfikacjami techniki oraz wykorzystywanego sprzętu zasady procedury nie odbiegają od standardowego programu IVF. Wykorzystuje się igły o mniejszej średnicy (19-20 G) i krótszym ścięciu końcówki. Niedojrzałe komórki jajowe wymagają utrzymania otaczających je komórek ziarnistych umożliwiających dojrzewanie jądrowe oocytów, dlatego ciśnienie aspiracji stosowane podczas punkcji obniżane jest do 75-80 mm Hg, co zmniejsza ryzyko denudacji komórek jajowych. Zwykle konieczne jest wielokrotne nakłucie jajników, gdyż mniejsze podciś-

Do zapamiętania

- Dla kobiet z upośledzoną płodnością pozaustrojowe dojrzewanie komórek jajowych stanowi tańszą i obciążoną mniejszym ryzykiem opcję w porównaniu z kontrolowaną stymulacją jajników.
- Głównymi czynnikami predykcynymi dla ciąży po IVM są wiek kobiety, liczba pobranych oocytów oraz obecność dojrzałych oocytów w momencie pobrania.

nienie i gęsta zawartość pęcherzyków mogą powodować zamknięcie światła igły o mniejszej średnicy.¹⁰

Procedury w laboratorium embriologicznym

Procedura wstępnej identyfikacji komórek jajowych jest podobna jak w przypadku klasycznego programu IVF: zaaspirowana zawartość pęcherzyków oceniana jest pod stereomikroskopem pod kątem obecności kompleksów wzgórek jajonośny-oocyt. Następnie płyn pęcherzykowy przesączany jest przez nylonowy filtr siatkowy o średnicy porów 70 μm . Po wypłukaniu aspiratu podłożem zawierającym ludzkie albuminy osoczowe, buforowanym kwasem N-(2-hydroksyetylo)piperazyno-N'-2-etanosulfonowym, jest on ponownie poddawany ocenie pod stereomikroskopem. Procedura ta ułatwia identyfikację małych, niedojrzałych komórek jajowych. Stopień dojrzałości oocytów oceniany jest bezpośrednio po ich pobraniu. Komórki jajowe, które w dniu punkcji znajdują się w stadium MII (drugiego podziału mejotycznego – przyp. tłum.), są oczyszczane z towarzyszących im komórek ziarnistych i poddawane zapłodnieniu wraz z oocytami po dojrzewaniu w warunkach laboratoryjnych, natomiast niedojrzałe komórki jajowe są hodowane w podłożu IVM i okresowo oceniane.¹¹ W cyklach IVF zwykle stosuje się procedurę docytoplazmatycznego wstrzyknięcia plemnika (intracytoplasmic sperm injection, ICSI). Wynika to z teoretycznych obaw, że osłonka przejrzysta oocytów twardnieje w okresie hodowli laboratoryjnej.⁵ Innym powodem, dla którego w cyklach IVM preferuje się ICSI zamiast klasycznego IVF, jest konieczność denudacji niedojrzałych oocytów w celu sprawdzenia obecności ciała kierunkowego. Komórki jajowe pozbawione komórek wzgórka jajonośnego cechuje mniejszy wskaźnik zapłodnień w warunkach *in vitro*, a przyczyną tego jest słabszy potencjał chemotaktyczny oocytów wobec plemników w pożywce hodowlanej.¹²

Warunki hodowli zapłodnionych komórek jajowych oraz powstałych z nich zarodków bruzdkujących są takie same jak w przypadku cykli IVF.¹¹

Przeniesienie zarodków do jamy macicy

Wybór czasu transferu oraz liczba przenoszonych zarodków zależą od jakości i liczby zarodków dostępnych w trzecim dniu hodowli oraz od wieku pacjentki.

Suplementacja fazy lutealnej

Protokół suplementacji fazy lutealnej stosowany w naszym ośrodku obejmuje podawanie 600 mg mikronizowanego progesteronu na dobę, dopochwowo oraz 6 lub 12 mg walerianianu estradiolu na dobę doustnie. Estrogen włączany jest w dniu pobrania komórek jajowych, natomiast suplementacja progesteronem rozpoczyna się w dniu zapłodnienia. W przypadku uzyskania ciąży wspomaganie fazy lutealnej kontynuowane jest do 12 tygodnia.

Wskaźniki ciąży

Najważniejszymi czynnikami pozwalającymi przewidzieć uzyskanie ciąży w cyklu IVM są: wiek kobiety, liczba pobranych komórek jajowych oraz obecność dojrzałych oocytów w dniu pobrania.^{5,7,8} Wydaje się, że najlepszymi kandydatkami do leczenia metodą IVM są młode kobiety z policystycznymi jajnikami (polycystic ovary, PCO). W tej grupie pacjentek po zastosowaniu zmodyfikowanego protokołu IVM udało się nam uzyskać ponad 50% wskaźnik ciąży klinicznych.¹³ W grupie kobiet między 35 a 40 rokiem życia wskaźniki implantacji (liczba ciąży/liczba podanych zarodków – RD) i ciąży klinicznych (liczba ciąży klinicznych/100 kobiet – RD) wyniosły w tym samym okresie odpowiednio 10,1 i 29,3%.¹¹

Straty ciąży

W ostatnim czasie wykazaliśmy, że zarodki po IVM cechuje podobny odsetek aneuploidii, jak zarodki uzyskane w zwykłym programie IVF.¹⁴ Jeśli uda się uzyskać ciążę po IVM, wyniki położnicze nie różnią się od uzyskanych po leczeniu klasycznym IVF.

W retrospektywnej analizie 1581 kobiet z dodatnim testem ciążowym leczonych w naszym ośrodku metodami rozrodu wspomaganego medycznie (assisted reproductive treatment, ART), włączając IVM, IVF i ICSI, w trakcie 5-letniej obserwacji wskaźnik straconych ciąży był podobny w grupie IVM oraz klasycznego IVF (odpowiednio 17,5 dla ciąży po IVM, 17 dla ciąży po IVF i 18% dla ciąży po ICSI; $p=0,88$).¹⁵ Wskaźnik poronień klinicznych był istotnie większy w przypadku ciąży po IVM (25,3%) w porównaniu z ciążami po IVF (15,7%) oraz po ICSI (12,6%) ($p=0,0049$), jednak różnica ta może być przypisana częstszemu występowaniu zespołu policystycznych jajników (polycystic ovary syndrome, PCOS) wśród kobiet leczonych metodą IVM. O ile PCOS występował u zaledwie 8% kobiet w grupie IVF i u mniej niż 1% w grupie ICSI, to w grupie IVM dotyczył 80%. Wskaźnik poronień klinicznych u kobiet z PCOS był statystycznie podobny po IVM i po IVF (24,5 vs 22,2%; $p=0,72$).

Wyniki położnicze i wady wrodzone

Nie stwierdzono, aby wskaźnik cięć cesarskich, urodzeniowa masa ciała, występowanie małej i bardzo małej

masy urodzeniowej oraz punktacja w skali Apgar różniły się w grupach dzieci poczętych drogą IVM i IVF. Nie wykazano wzrostu częstości występowania wad wrodzonych i zaburzeń chromosomowych wśród dzieci poczętych metodą IVM. W porównaniu z poczęciami naturalnymi obserwowany iloraz szans (odds ratio, OR) dla jakiegokolwiek wrodzonej nieprawidłowości wynosi 1,42 (95% przedział ufności [PU] 0,52-3,91) dla IVM; 1,21 (95% PU 0,63-2,32) dla IVF i 1,69 (95% PU 0,88-3,26) dla ICSI. Dane uzyskane z długoterminowych obserwacji dzieci po IVM wskazują, że ich rozwój fizyczny i neuromotoryczny nie różni się od rozwoju dzieci poczętych naturalnie.¹⁷

Potencjalne korzyści IVM w różnych grupach pacjentek

NADMIERNA ODPOWIEDŹ NA STYMULACJĘ JAJNIKÓW

Największe wskaźniki ciąży po IVM uzyskuje się u kobiet w wieku poniżej 35 roku życia z dużą liczbą pęcherzyków antralnych. Ta grupa kobiet jest jednocześnie grupą dużego ryzyka wystąpienia OHSS po COH. Kobiety z jajnikami policystycznymi (PCO) lub pełnoobjawowym zespołem policystycznych jajników (PCOS) poddawane IVM mogą odnieść korzyść z całkowitej eliminacji ryzyka OHSS, uzyskując jednocześnie wskaźniki ciąży porównywalne do konwencjonalnego programu IVF. W 2009 roku w grupie pacjentek z PCO lub PCOS ze średnią wieku $32,6 \pm 3,6$ roku uzyskaliśmy wskaźnik implantacji rzędu 19,5% oraz wskaźnik ciąży klinicznych 55,2% na transfer.¹⁸

PRAWIDŁOWA ODPOWIEDŹ NA STYMULACJĘ JAJNIKÓW

W celu uzyskania wysokich wskaźników ciąży w programach IVF w każdym cyklu przenosi się do macicy kilka zarodków, czego skutkiem jest częstsze uzyskiwanie ciąży wielopłodowych. W 2006 roku około jedna trzecia wszystkich żywych urodzeń po ART w Stanach Zjednoczonych pochodziła z ciąży wielopłodowych.¹⁹ Narastająca świadomość znacznej śmiertelności oraz dużego wskaźnika powikłań związanych z jatrogennymi ciążami wielopłodowymi doprowadziła do powstania międzynarodowego trendu zmierzającego do redukcji liczby transferowanych zarodków. Transfer pojedynczego zarodka promowany jest w wytycznych towarzystw lekarskich oraz przez restrykcje prawne.

Fakt ten kwestionuje korzyści, jakie może przynieść COH w cyklach ART. Jeżeli transfer pojedynczego zarodka zostanie wprowadzony do rutynowej praktyki, IVM będzie wykazywał podobny wskaźnik ciąży, jak po świeżym transferze w programie IVF.¹³ W znaczącej części cykli IVM uzyskuje się co najmniej jedną dojrzałą komórkę jajową. Możliwość powtórzenia leczenia w następnym cyklu miesiaczkowym w przypadku niepowodzenia leczenia może być kolejną korzyścią programu IVM.

SŁABA ODPOWIEDŹ NA STYMULACJĘ GONADOTROPINAMI

Niektóre kobiety wytwarzają niewielką liczbę pęcherzyków po COH w czasie leczenia metodą IVF. W celu poprawy wyników IVF w takich przypadkach proponowano różne strategie, włączając zastosowanie dużych dawek gonadotropin, powtórzenie programu IVF z innym protokołem stymulacji oraz dołączenie terapii adiuwantowej. Większość z tych metod ma jednak ograniczoną skuteczność. Biorąc pod uwagę działania niepożądane COH oraz fizjologię procesu rekrutacji pęcherzyków, korzyści z innego rodzaju stymulacji jajników oraz z zastosowania dużych dawek gonadotropin są wątpliwe. W takich przypadkach lepszą opcję może stanowić IVM.

IVM w cyklu niestymulowanym lub w połączeniu z IVF w cyklu naturalnym może być rozsądną opcją postępowania, ponieważ jest to procedura bardziej przyjazna kobietom i wymagająca mniejszych dawek leków. W naszym ośrodku u 8 kobiet ze słabą odpowiedzią na stymulację, definiowaną jako 4 lub mniej rosnących pęcherzyków jajnikowych lub pobranie 4 lub mniej komórek jajowych w poprzednim, stymulowanym cyklu IVF, udało się uzyskać podobną liczbę zarodków dostępnych do transferu w cyklu IVM. U sześciu kobiet doszło do transferu (75%), jedna urodziła dziecko, co dało wskaźnik urodzeń na transfer w tej małej grupie pacjentek rzeczywiście źle odpowiadających na stymulację wynoszący 16,7%.²⁰

Dawstwo komórek jajowych

Dawstwo komórek jajowych jest przydatną opcją, a wskazania kliniczne do tej procedury wciąż się poszerzają. Dawczynie komórek jajowych rutynowo poddawane są COH, co zwiększa liczbę dojrzałych oocytów, chociaż fakt, że są to młode kobiety z dużą liczbą pęcherzyków antralnych, stawia je w grupie dużego ryzyka OHSS.

Część potencjalnych dawczyń nie decyduje się na tę procedurę ze względu na niewygodę związaną z koniecznością wykonywania wielu wstrzyknięć oraz długoterminowego ryzyka związanego z lekami stosowanymi w trakcie wielokrotnych stymulacji. Ze względu na młody wiek i dużą liczbę pęcherzyków antralnych oraz dobre wskaźniki ciąży dawczynie oocytów są dobrymi kandydatkami do IVM. Pominięcie etapu stymulacji jajników zmniejsza ryzyko oraz niedogodności związane z procedurą.

U 12 dawczyń (średnia wieku 29 lat) udało się nam uzyskać średnio 12,8 niedojrzałych komórek jajowych. Sześćdziesiąt osiem procent komórek dojrzało w warunkach laboratoryjnych, uzyskano z nich 62 zarodki przeznaczone dla 12 biorczyń, których średnia wieku wynosiła 37,7 roku. Średnio do jamy macicy przenoszono 4 zarodki (od 2 do 6), wskaźnik ciąży klinicznych wyniósł 50%.²¹

Zachowanie płodności

IVF wraz z mrożeniem zarodków jest jedyną metodą zachowania płodności u kobiet aprobowaną przez American Society of Clinical Oncology oraz American Society for Reproductive Medicine.

COH w połączeniu z mrożeniem zarodków wydaje się właściwym postępowaniem u kobiet mających stałego partnera, chorujących na nowotwory niezależne od estrogenów, u których zwłoka w leczeniu konieczna na przeprowadzenie stymulacji nie pogorszy rokowania.

IVM poszerza dostępne opcje zachowania płodności u kobiet, dla których COH z różnych powodów nie jest optymalnym postępowaniem. Można od nich pobrać niedojrzałe komórki jajowe, a uzyskane z nich zarodki zamrozić. IVM jest także rozsądną opcją dla pacjentek o ograniczonych możliwościach finansowych, a dodatkowo metoda ta nie jest uciążliwa, ponieważ nie wymaga codziennych wstrzyknięć. Co więcej, IVM umożliwia pobranie komórek jajowych w dowolnym momencie cyklu miesięczkowego i ukończenie procedury zachowującej płodność w ciągu 2-10 dni, dzięki czemu można uniknąć odsunięcia w czasie leczenia choroby podstawowej.²²

Opisaliśmy trzy kobiety nieposiadające partnera, zakwalifikowane do natychmiastowego leczenia o działaniu toksycznym dla gonad, które były zainteresowane zachowaniem płodności przed rozpoczęciem chemioterapii i zgłosiły się po raz pierwszy w fazie lutealnej cyklu miesięczkowego.²³ Wykonano u nich nakłucie jajników w fazie lutealnej i uzyskano 5-7 niedojrzałych komórek jajowych. Po przeprowadzeniu procedury dojrzewania oocytów w warunkach pozaustrojowych uzyskano 3-5 dojrzałych komórek jajowych, które zamrożono. Dwie z trzech kobiet w późniejszym okresie przeszły ponownie zabieg pobrania komórek jajowych w fazie folikularnej kolejnego cyklu (jedna raz, druga dwukrotnie), co pozwoliło na pozyskanie większej liczby niedojrzałych oocytów, które po procedurze IVM zostały poddane witrifikacji.

Według ostatnich doniesień wskaźniki komórek jajowych dojrzałych po IVM oraz zapłodnień są podobne dla oocytów pobranych w fazie folikularnej oraz w fazie lutealnej cyklu miesięczkowego.²⁴

Istnieje możliwość pobrania niedojrzałych komórek jajowych z fragmentów jajnika uzyskanych w czasie biopsji. Tkanka jajnikowa zawiera pęcherzyki primordialne i pierwotne oraz niedojrzałe oocyty wewnątrz pęcherzyków antralnych, co pozwala na pozyskanie ich z fragmentów jajnika na potrzeby IVM. Komórki jajowe poddawane są procedurze IVM, a następnie witrifikacji. Połączenie mrożenia tkanki jajnikowej i IVM stwarza nową strategię zachowywania płodności, która jest szansą dla pacjentek dotychczas pozbawionych takiej możliwości i jednocześnie poprawia jakość usług świadczonych przez programy zachowania płodności.²⁵

IVM alternatywą dla stymulacji jajników gonadotropinami połączonej z inseminacją domaciczną

Leczenie obejmujące COH w połączeniu z inseminacją domaciczną (intrauterine insemination, IUI) stosowane jest empirycznie w niepłodności różnego pochodzenia. Typowo leczenie obejmuje 8-10 dni podawania gonadotropin we wstrzyknięciach, kilkukrotne badanie ultrasonograficzne oraz wykonanie zabiegu inseminacji. Wskaźnik ciąży wynosi 10-15%.

Głównym powikłaniem takiego postępowania są ciążę wielopłodowe, których częstość może sięgać 30% przypadków. Natomiast w cyklach IVF i IVM, dzięki ograniczeniu liczby transferowanych zarodków i promowaniu transferu pojedynczego zarodka w IVF, ciążę wielopłodową nie przekraczają 10%. Większość przypadków ciąży wielopłodowych po leczeniu niepłodności jest wynikiem stosowania gonadotropin w cyklach, w których wykonuje się IUI.

Dla porównania cykl leczenia metodą IVM obejmuje wykonanie dwóch badań ultrasonograficznych, zabieg pobrania komórek jajowych oraz transfer zarodka do jamy macicy ze skutecznością rzędu 30-40% ciąży klinicznych na cykl. Skumulowany odsetek ciąży będzie większy u pacjentek z nadliczbowymi zarodkami. Wskaźnik ciąży wielopłodowych przy transferowaniu pojedynczych zarodków wynosi 0-4,5%. Innymi słowy IVM z transferem pojedynczego zarodka zmniejsza prawdopodobieństwo ciąży wielopłodowej o 94%.²⁶

Istnieje wiele powodów, dla których IVM mogłoby zastąpić IUI połączoną ze stymulacją jajników. W Kanadzie koszt stymulowanego cyklu IUI wynosi obecnie 2000 dolarów, podczas gdy IVM kosztuje 4000 dolarów. Jeśli koszty IVM w ciągu kilku najbliższych lat będą się zmniejszać, metoda ta stanie się opłacalną alternatywą dla IUI, zmniejszając wskaźnik ciąży wielopłodowych i oferując pacjentkom z upośledzoną płodnością większe szanse na zajście w ciążę.

Mrożenie oocytów z przyczyn społecznych

Ze względu na gwałtownie postępujące z wiekiem zmniejszenie płodności kobiety w wieku powyżej 35 roku życia, które odłożyły w czasie decyzję o posiadaniu potomstwa, narażone są na problemy z poczęciem, zwiększone ryzyko poronienia oraz urodzenie dziecka obciążonego wadami wrodzonymi.

O ile mrożenie zarodków jest standardowym zaleceniem w przypadkach zachowania płodności u kobiet z chorobą nowotworową, o tyle mrożenie komórek jajowych pozbawione jest ograniczeń związanych z koniecznością posiadania partnera. Procedura ta pozwala kobietom w wieku poniżej 35 roku życia uniknąć przeszkód wynikających ze zmniejszenia płodności związanego z wiekiem i daje im szanse na zajście w ciążę w dogodnym dla nich czasie.

Kluczowe zagadnienia

- W czasie IVM komórki jajowe pobierane są, zanim osiągną pełną dojrzałość i mogą być zapłodnione w warunkach *in vitro*.
- Kobiety mogą być kilkakrotnie w cyklu poddawane procedurze IVM.
- Głównym czynnikiem predykcijnym liczby uzyskanych oocytów jest liczba pęcherzyków antralnych.
- W momencie, kiedy pęcherzyki osiągają średnicę 10-12 mm, można pobrać 1-2 dojrzałe komórki jajowe.
- Oocyty pozbawione komórek wzgórka jajonośnego zmniejszają prawdopodobieństwo skuteczności IVM.
- Młode kobiety z policystycznymi jajnikami są najlepszymi kandydatkami do IVM.
- Odsetki poronień klinicznych u kobiet z PCOS są podobne po IVM i IVF.
- U dzieci poczętych metodą IVM nie zaobserwowano częstszego występowania wad wrodzonych ani zaburzeń chromosomowych.
- Niedojrzałe komórki jajowe mogą być pobierane z fragmentów po biopsji jajnika, a następnie poddawane IVM i wityfikacji.
- Większość ciąży wielopłodowych po leczeniu metodami ART może być przypisana stosowaniu gonadotropin w cyklach z IUI.

Według dostępnych danych, aby uzyskać satysfakcjonujące wskaźniki ciąży klinicznych konieczne jest zamrożenie około 20 komórek jajowych.²⁷ Aby uzyskać tę liczbę oocytów, konieczne są wielokrotne cykle COH. Alternatywą, jaką można zaproponować tym pacjentkom, jest IVM, którego zalety obejmują niższy koszt, mniejszą liczbę leków, prostotę procedury oraz całkowitą eliminację ryzyka OHSS.

Podsumowanie

Chociaż IVM jest względnie nową metodą, pełni ważną rolę w przypadku pacjentek obciążonych dużym ryzykiem OHSS, kobiet z nawracającymi, niewyjaśnionymi niepowodzeniami IVF oraz słabo odpowiadających na stymulację czy też pragnących zachować płodność, ale mających w najbliższym czasie poddać się toksycznej dla gonad chemioterapii.

Przewaga IVM nad konwencjonalnym IVF obejmuje mniejsze zużycie gonadotropin, mniejsze koszty dla pacjentek oraz eliminację ryzyka hiperstymulacji jajników. Jest to też najbardziej przyjazna procedura lecznicza w medycynie rozrodu.

Zważywszy na dalszy postęp w zrozumieniu procesu dojrzewania komórek jajowych i poprawę wskaźników skuteczności, IVM stanowi obecnie atrakcyjną opcję terapeutyczną dla pacjentek z upośledzoną płodnością.

Contemporary OB/GYN, Vol. 57, No. 3, March 2012, p. 26. *In vitro* maturation of oocytes. Improving the odds in infertile patients.

Piśmiennictwo

1. Munne S, Magli C, Adler A, et al. Treatment-related chromosome abnormalities in human embryos. Hum Rep. 1997;12(4):780-784.

2. Ao A, Jin S, Rao D, Son WY, Chian RC, Tan SL. First successful pregnancy outcome after preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in embryos generated from natural-cycle in vitro fertilization combined with an in vitro maturation procedure. *Fertil Steril.* 2006;85(5):1510.e9-1510.e11.
3. Al-Sunaïdi M, Tulandi T, Holzer H, Sylvestre C, Chian RC, Tan SL. Repeated pregnancies and live births after in vitro maturation treatment. *Fertil Steril.* 2007;87(5):1212.e9-1212.e12.
4. Chian RC, Gülekli B, Buckett WM, Tan SL. Priming with human chorionic gonadotropin before retrieval of immature oocytes in women with infertility due to the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med.* 1999;341(21):1624-1626.
5. Chian RC, Buckett WM, Tulandi T, Tan SL. Prospective randomized study of human chorionic gonadotrophin priming before immature oocyte retrieval from unstimulated women with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod.* 2000;15(1):165-170.
6. Tan SL, Child TJ, Gulekli B. In vitro maturation and fertilization of oocytes from unstimulated ovaries: predicting the number of immature oocytes retrieved by early follicular phase ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;186(4):684-689.
7. Son WY, Chung JT, Herrero B, et al. Selection of the optimal day for oocyte retrieval based on the diameter of the dominant follicle in hCG-primed in vitro maturation cycles. *Hum Reprod.* 2008;23(12):2680-2685.
8. Yang SH, Son WY, Yoon SH, Ko Y, Lim JH. Correlation between in vitro maturation and expression of LH receptor in cumulus cells of the oocytes collected from PCOS patients in HCG-primed IVM cycles. *Hum Reprod.* 2005;20(8):2097-2103.
9. Son WY, Lee SY, Lim JH. Fertilization, cleavage and blastocyst development according to the maturation timing of oocytes in in vitro maturation cycles. *Hum Reprod.* 2005;20(11):3204-3207.
10. Rao GD, Tan SL. In vitro maturation of oocytes. *Semin Reprod Med.* 2005;23(3):242-247.
11. Ata B, Levin D, Holzer H, Tan SL. In vitro maturation of oocytes. In: Abo-ulghar M, Rizk B, eds. *Ovarian Stimulation.* Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press; 2011:181-195.
12. Oren-Benaroya R, Orvieto R, Gakamsky A, Pinchasov M, Eisenbach M. The sperm chemoattractant secreted from human cumulus cells in progesterone. *Human Reprod.* 2008;23(10):2339-2345.
13. Son WY, Lee SY, Yoon SH, Lim JH. Pregnancies and deliveries after transfer of human blastocysts derived from in vitro matured oocytes in in vitro maturation cycles. *Fertil Steril.* 2007;87(6):1491-1493.
14. Zhang XY, Ata B, Son WY, Buckett WM, Tan SL, Ao A. Chromosome abnormality rates in human embryos obtained from in-vitro maturation and IVF treatment cycles. *Reprod Biomed Online.* 2010;21(4):552-559.
15. Buckett WM, Chian RC, Dean NL, Sylvestre C, Holzer HE, Tan SL. Pregnancy loss in pregnancies conceived after in vitro oocyte maturation, conventional in vitro fertilization, and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2008;90(3):546-550.
16. Buckett WM, Chian RC, Holzer H, Dean N, Usher R, Tan SL. Obstetric outcomes and congenital abnormalities after in vitro maturation, in vitro fertilization, and intracytoplasmic sperm injection. *Obstet Gynecol.* 2007;110(4):885-891.
17. Soderstrom-Anttila V, Salokorpi T, Pihlaja M, Sernius-Sirve S, Suikkari AM. Obstetric and perinatal outcome and preliminary results of development of children born after in vitro maturation of oocytes. *Hum Reprod.* 2006;21(6):1508-1513.
18. Ata B, Chen HY, Seyhan A, Tan SL. Is in vitro maturation the best approach? In: Kovacs G, ed. *How to Improve Your ART Success Rates: An Evidence-Based Review of Adjuncts to IVF.* Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press; 2011:115-120.
19. Sunderam S, Chang J, Flowers L, et al; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Assisted reproductive technology surveillance—United States, 2006. *MMWR Surveill Summ.* 2009;58(5):1-25.
20. Child TJ, Gulekli B, Chian RC, Abdul-Jalil AK, Tan SL. In-vitro maturation (IVM) of oocytes from unstimulated normal ovaries of women with a previous poor response to IVF. *Fertil Steril.* 2000;74(3 Suppl 1):S45.
21. Holzer H, Scharf E, Chian RC, Demirtas E, Buckett W, Tan SL. In vitro maturation of oocytes collected from unstimulated ovaries for oocyte donation. *Fertil Steril.* 2007;88(1):62-67.
22. Rao GD, Chian RC, Son WS, Gilbert L, Tan SL. Fertility preservation in women undergoing cancer treatment. *Lancet.* 2004;363(9423):1829-1830.
23. Demirtas E, Elizur SE, Holzer H, et al. Immature oocyte retrieval in the luteal phase to preserve fertility in cancer patients. *Reprod Biomed Online.* 2008;17(4):520-523.
24. Maman E, Meirou D, Brengauz M, Raanani H, Dor J, Hourvitz A. Luteal phase oocyte retrieval and in vitro maturation is an optional procedure for urgent fertility preservation. *Fertil Steril.* 2011;95(1):64-67.
25. Huang JY, Tulandi T, Holzer H, Tan SL, Chian RC. Combining ovarian tissue cryobanking with retrieval of immature oocytes followed by in vitro maturation and vitrification: an additional strategy of fertility preservation. *Fertil Steril.* 2008;89(3):567-572.
26. Gelbaya TA, Tsoumpou I, Nardo LG. The likelihood of live birth and multiple birth after single versus double embryo transfer at the cleavage stage: a systematic review and metaanalysis. *Fertil Steril.* 2010;94(3):936-945.
27. Jain JK, Paulson RJ. Oocyte cryopreservation. *Fertil Steril.* 2006;86(4 Suppl):1037-104.

Sprawdź swoją wiedzę

Ginekologia po Dyplomie



TOM 14/NR 4 LIPIEC 2012

1. A. B. C. D. E.
2. A. B. C. D. E.
3. A. B. C. D. E.
4. A. B. C. D. E.
5. A. B. C. D. E.

6. A. B. C. D. E.
7. A. B. C. D. E.
8. A. B. C. D. E.
9. A. B. C. D. E.
10. A. B. C. D. E.

11. A. B. C. D. E.
12. A. B. C. D. E.
13. A. B. C. D. E.
14. A. B. C. D. E.
15. A. B. C. D. E.

Proszę wpisać dane albo przybić pieczętkę z adresem

Imię i nazwisko

Adres

Telefon e-mail

I specjalność stopień II specjalność stopień

Wyrażam zgodę na przetwarzanie moich danych osobowych przez Medical Tribune Polska Sp. z o.o. z siedzibą w Warszawie ul. 29 Listopada 10 dla celów marketingowych, w tym dla marketingu produktów i usług innych podmiotów. Zgadzam się na otrzymywanie informacji handlowych przesyłanych środkami komunikacji elektronicznej. Podane dane nie będą udostępniane innym podmiotom (odbiorcom). Dane zostały podane dobrowolnie. Każdej osobie, której dane dotyczą przysługuje prawo dostępu do treści swoich danych i ich poprawiania.

Odpowiedzi prosimy nadsyłać do dnia 10 września 2012 r. (decyduje data stempla pocztowego).

KOMENTARZ

Prof. dr hab. n. med. Sławomir Wołczyński
Klinika Rozrodczości i Endokrynologii Ginekologicznej
UM, Białystok

Pobranie niedojrzałych komórek jajowych i przeprowadzenie dojrzewania poza ustrojem to stosunkowo nowa, obiecująca i stwarzająca nowe możliwości metoda w leczeniu niepłodności. Zespół prezentujący pracę ma w jej stosowaniu duże doświadczenie, ale trzeba zauważyć, że w rejestrach krajowych odnotowane są w sumie nieliczne próby takiego postępowania i w kolejnych latach odsetek par leczonych z zastosowaniem IVM się nie zwiększa. Szacuje się, że po IVM na świecie urodziło się około 4000 dzieci, co w porównaniu do 4 milionów dzieci urodzonych po IVF właściwie pokazuje proporcję stosowania metod. Większość opublikowanych prac o IVM dotyczy stosunkowo niewielkich grup pacjentów.

Własne doświadczenia w stosowaniu tej metody nie są zbyt zachęcające, ale w Polsce są zespoły stosujące tę metodę. Należy zgodzić się z opinią przedstawioną przez Noqueira w *Seminars Reproductive Medicine* w 2012 roku, że w ośrodkach leczących niepłodność podchodzi się z rezerwą do stosowania metody pozaustrojowego dojrzewania komórek jajowych.

Pierwsze obserwacje dotyczące możliwości dojrzewania jądrowego *in vitro* komórek jajowych pochodzą z prac Pincusa opublikowanych w latach 30. ubiegłego wieku. Komórka jajowa pobrana z niedojrzałego pęcherzyka, pozbawiona wpływu czynników wewnątrzpęcherzykowych, spontanicznie kończy pierwszy podział redukcyjny.

Pierwszą ciążę z komórki jajowej po pozaustrojowym zapłodnieniu uzyskali Cha i wsp. w 1991 roku, pobierając komórki jajowe do dawstwa przy cięciu cesarskim. W 1994 roku Trounson i wsp. pobrali komórki jajowe z małych pęcherzyków przy użyciu sondy dopochwowej i od tego czasu rozpoczyna się kliniczne zastosowanie metody pozaustrojowego dojrzewania komórek jajowych w medycynie rozrodu.

Zasadniczy postęp, jaki wnosi metoda IVM, w porównaniu do konwencjonalnego programu IVF, to uniknięcie stymulacji mnogiego jajczkowania i, szczególnie u pacjentek z PCO i PCOS, uniknięcie zespołu hiperstymulacyjnego. Rutynowo stosowane w stymulacji mnogiego jajczkowania protokoły wykorzystują supresję przysadki i podawanie gonadotropin. W schematach postępowania przy IVM również stosuje się gonadotropiny, ale tylko do wstępnego zainicjowania rozwoju pęcherzyków.

Niewątpliwie w czasie dojrzewania *in vitro* kluczową rolę odgrywają warunki laboratoryjne, odpowiednie podłoża i doświadczenie w przeprowadzaniu procedury. Zasadniczą wątpliwością dotyczącą tej metody jest obawa o jakość komórki jajowej. W całym okresie procesu folikulogenezy komórka jajowa dojrzewa cytoplazmatycznie, błonowo, a jądrowo dopiero w ostatnim etapie. Zachodzi wtedy czasowa koordynacja między oogenezą a folikulogenezą i stale odbywa się dialog między komórkami ziarnistymi i komórką jajową. W badaniach wykazano inny profil ekspresji genów w komórkach wzgórka jajonośnego dojrzewającego *in vitro* i dojrzewającego *in vivo*. Czy skrócenie czasu dojrzewania komórki nie wpływa na jej jakość i stan funkcjonalny, a potem na stan zarodka, płodu i dziecka? Można przypuszczać, że przy dojrzewaniu *in vitro* następuje desynchronizacja między dojrzewaniem jądrowym a cytoplazmatycznym. W czasie pełnej oogenezy liczne geny w różnym czasie są aktywowane i przepisywane na białka. Translacja białek zachodzi aktywnie w czasie dojrzewania oocyty i liczne geny w różnym czasie są aktywowane i gromadzone są ich transkrypty i makromolekuły niezbędne do dalszego rozwoju. Sądząc z kilku publikacji, komórki jajowe dojrzewające *in vitro* mają zmniejszony potencjał rozwojowy, wykazują defekty w mechanizmach sygnalizacyjnych związanych z wapniem, częściej występują po zapłodnieniu w zarodkach blastomery wielojądrowe, większy odsetek zarodków wykazuje aneuploidie. Sądzę, że w większym odsetku niż przy IVF komórki jajowe są nieprawidłowe. Część komórek jajowych jest oczywiście prawidłowa i po zapłodnieniu rozwijają się prawidłowe ciąży. Skuteczność IVM w porównaniu do IVF jest według niektórych autorów porównywalna, a według niektórych mniejsza. Stale należy podkreślać, że we wszystkich publikowanych pracach badane grupy nie są zbyt liczne.

Badania dzieci urodzonych z ciąż po IVM nie wykazują, aby metoda wiązała się ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia wad wrodzonych, ale znów pojawia się zastrzeżenie: analizowane grupy nie były duże.

Podsumowując, IVM to bardzo interesująca metoda, szczególnie do zastosowania u pacjentek z PCOS, u kobiet darujących komórki jajowe, u pacjentek, u których pobieramy komórki jajowe przed wdrożeniem leczenia onkologicznego, a może również u pacjentek z małą rezerwą jajnikową. Myślę, że potrzeba jeszcze dużo badań podstawowych i zrozumienia mechanizmów kierujących dojrzewaniem komórki jajowej przed powszechnym zastosowaniem tej metody w klinikach leczenia niepłodności.