EMPOWERING CLINICAL DECISIONS™

OZNACZENIA HORMONÓW

i ich zastosowanie w Technikach Wspomaganego Rozrodu (ART.*)

* Assisted Reproductive Technologies

BIOMÉRIEUX

WSTĘP

W ciągu ostatnich 60 lat znacząco zwiększył się zasób dostępnych metod leczenia niepłodności. Rozwój leków umożliwiających regulację płodności ma bardzo istotny wpływ na społeczeństwo, a główną konsekwencją ich stosowania jest fakt, że pary mogą podjąć decyzję o odroczeniu okresu zajścia w ciążę.

W latach sześćdziesiątych dostępne stały się leki hormonalne (będące pochodnymi estrogenu) i gonadotropiny umożliwiające wspomaganie płodności. W ślad za tym, w latach siedemdziesiątych, nastąpił rozwój Technik Wspomaganego Rozrodu (Assisted Reproductive Technologies, ART), a w roku 1978 urodziło się pierwsze na świecie "dziecko z probówki" - Louise Brown. Robert Edwards, będący pionierem technik zapłodnienia *in vitro* (IVF), które umożliwiły narodziny Louise, otrzymał w 2010 roku Nagrodę Nobla w uznaniu za swoje nowatorskie prace w tej dziedzinie.

ART są obecnie powszechnie stosowane na całym świecie i stały rozwój każdego z ich aspektów znajduje odzwierciedlenie w wysokim poziomie skuteczności leczenia niepłodności.

Podstawą skutecznego leczenia jest dokładna diagnoza. Badanie przyczyny niepłodności jest skuteczne dzięki wyrafinowanemu zaawansowaniu i automatyzacji technik immunologicznych. Obecnie, możliwe jest dokładne i wiarygodne oznaczenie poziomów wszystkich podstawowych hormonów biorących udział w regulacji cyklu miesiączkowego, zapłodnieniu i występujących we wczesnym okresie ciąży. Umożliwiają to w pełni zautomatyzowane analizatory immunologiczne, które leżą u podstaw badań klinicznych i pozwalają na skuteczne, szybkie i bezpieczne leczenie pacjentów.

Celem niniejszego poradnika jest użyteczne wsparcie diagnostów i lekarzy w ich wysiłkach mających na celu pomyślne leczenie jak największej liczby pacjentów. Zawiera on praktyczne i kompleksowe podejście dedykowane tym, którzy traktują analizator immunologiczny VIDAS® jak proste rozwiązanie trudnego zagadnienia nowoczesnego leczenia niepłodności.

Smitz Johan, MD, PhD.

HORMONOLOGY LABORATORIUM
CENTER FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, UZ BRUSSEL
FREE UNIVERSITY BRUSSELS (VUB), BELGIUM

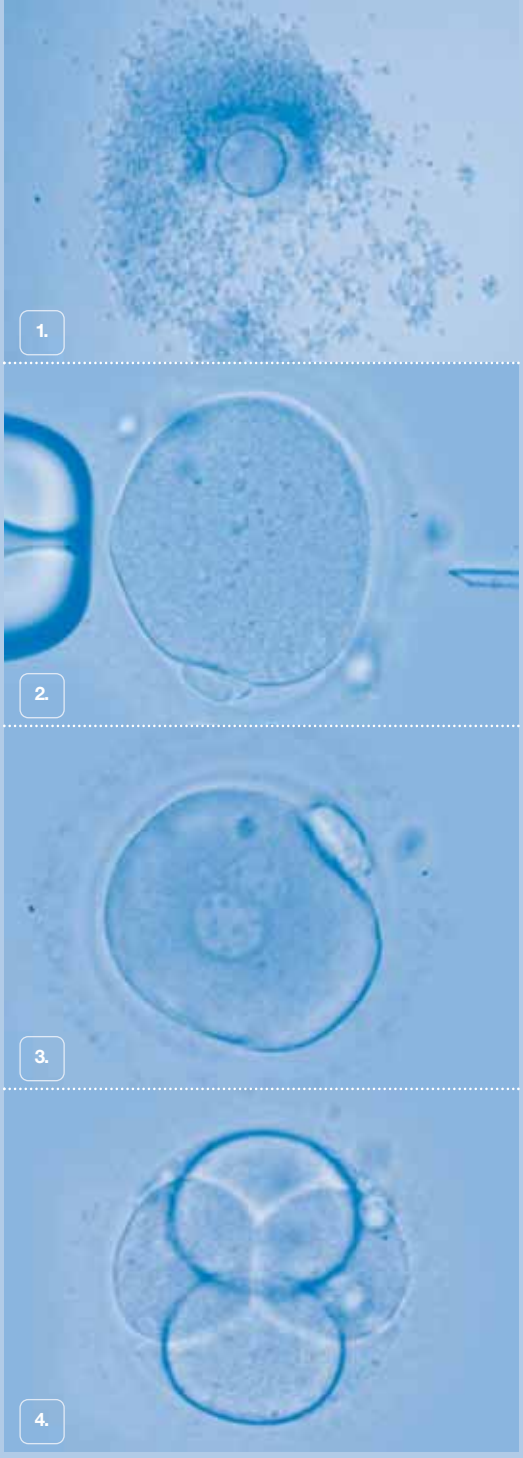
WPROWADZENIE

Połączenie wysokiej jakości odczynników i niezawodnej automatyki zwiększyło - z punktu widzenia lekarzy - dostępność oznaczeń szerokiej gamy podstawowych parametrów. Dostępność ”od ręki” pełnego panelu oznaczeń hormonów i czynników zakaźnych ma zasadnicze znaczenie, zwłaszcza dla lekarzy leczących niepłodność Technikami Wspomaganego Rozrodu (ART).

Dzięki zastosowaniu doskonałych oznaczeń ilościowych z krótkim czasem oczekiwania na wynik i potwierdzonym klinicznie zakresem wartości referencyjnych możliwe jest zindywidualizowane leczenie ukierunkowane na pacjenta. Przeprowadzanie badań serologicznych w kierunku obecności czynników zakaźnych przed rozpoczęciem leczenia i zamrożenie gamet lub zarodków w banku, także w celu zapobiegania późniejszym infekcjom w okresie ciąży zalecane jest także przez Zasady Dobrej Praktyki Klinicznej. Podane ostatnio w literaturze dane wskazują, że staranne monitorowanie hormonów regulujących procesy rozrodcze znacząco przyczynia się do wzrostu liczby żywych urodzeń *(Loumaye i inni, 1997; Smitz i inni, 2007; Fleming i inni, 2008; Bosch i inni, 2010).*

Dokonanie właściwego wyboru analizatora immunologicznego stosowanego w diagnostyce i monitorowaniu leczenia hormonalnego niepłodności ma poważne konsekwencje dla skuteczności, bezpieczeństwa i sukcesu leczenia.

Porównanie dostępnych na rynku analizatorów umożliwia metoda walidacji z wykorzystaniem znacznej ilości próbek klinicznych odzwierciedlających populację referencyjną i najważniejsze czynniki patologiczne obserwowane w populacji pacjentów (*Coucke i inni, 2007).*



Zdjęcie 1: Kompleks "wzgórek jajonośny - oocyt" (oocyte-cumulus complex , OCC)
Zdjęcie 2: Dojrzały oocyt podczas ICSI
Zdjęcie 3: Zapłodniony oocyt z 2 przedjądrzami Zdjęcie 4: Zarodek czterokomórkowy
Zdjęcia: Center for Reproductive Medicine, Free University Brussels (VUB).

SPIS TREŚCI

1 **Występowanie niepłodności w społeczeństwie** **str. 4**

2 **Rewolucja w leczeniu niepłodności - sztuczne zapłodnienie** **str. 5**

3 **Metody sztucznego zapłodnienia: IVF i ICSI** **str. 6**

4 **Stawianie prawidłowej diagnozy** **str. 8**

5 **Procedury leczenia niepłodności i dalsze leczenie hormonalne ART** **str. 14**

POZIOM 1: Monitorowanie naturalnego cyklu miesiączkowego z planowaniem współżycia płciowego i inseminacją str. 16

POZIOM 2: Łagodna stymulacja jajników (do IUI) str. 18

PROCEDURA ART str. 23

POZIOM 3: Superowulacja i IVF-ET lub ICSI str. 24

6 **Bezpieczne przechowywanie plemników, oocytów i zarodków** **str. 28**

7 **Rola oznaczania poziomu hormonów w praktyce** **str. 29**

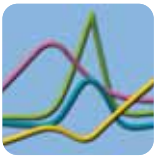
STUDIUM PRZYPADKU str. 34

8 **Najczęściej Zadawane Pytania** **str. 36**

Lista skrótów **str. 38**

Literatura **str. 38**

Na ogół parę uważa się za niepłodną (bezpłodną) jeśli do ciąży nie doszło po 1 roku regularnego współżycia bez stosowania zabezpieczeń.



1. WYSTĘPOWANIE NIEPŁODNOŚCI W SPOŁECZEŃSTWIE

Częstość występowania niepłodności jest w znaczący sposób odmienna dla różnych społeczeństw i regionów. Podczas gdy w Europie Zachodniej i Ameryce Północnej niepłodność dotyczy 10% par, to liczba ta wzrasta do 25% w Afryce Północnej, Azji Południowej i Ameryce Południowej. W Afryce Subsaharyjskiej, choć tylko częściowo zbadanej, częstość występowania niepłodności szacuje się na 35% (*Boivin i inni, 2007*). Jedną z wyraźnie postępujących tendencji w krajach rozwiniętych w ciągu ostatnich kilku dekad jest odraczanie okresu ciąży i porodu do późniejszego wieku ze względu na rozdzielenie zachowań seksualnych od posiadania potomstwa (*Te Velde i inni, 1998*).

Spadek płodności kobiet z wiekiem: miesięczny odsetek zajść w ciążę obniża się o połowę w wieku 30 - 35 lat i spada do 25% w wieku 38 lat (*van Noord-Zaadstra i inni, 1991*). Wraz z rozwojem uprzemysłowienia zjawisko to obserwowane jest na całym świecie. W wieku 41 lat większość kobiet jest już bezpłodna.

Związany z wiekiem spadek dzietności jest w dużej mierze związany ze zwiększonym ryzykiem wczesnego poronienia: 10% w wieku 25 i 50% w wieku 45 lat (*O'Connor i inni, 1998; Sauer, 1998*). Ryzyko to - związane z pogorszeniem jakości oocytów z wiekiem - obserwuje się w naturalnych cyklach miesiączkowych (*Volarcik i inni, 1998*). Tendencja ta jest również obserwowana w danych pochodzących z dużych rejestrów zapłodnień *in vitro* (IVF): prawdopodobieństwo pomyślnego IVF może wynosić 40% w wieku 20 lat i jest niestety niskie (około 5%) w wieku od 40 do 43 lat.

Spadek ilości i jakości oocytów odgrywa kluczową rolę w pogarszaniu się zdolności reprodukcyjnej wraz z wiekiem, natomiast funkcjonowanie endometrium jest mniej zależne od wieku.

Związany z wiekiem spadek płodności jest w dużej mierze determinowany genetycznie, ale znaczący wpływ mają również styl życia i czynniki środowiskowe.

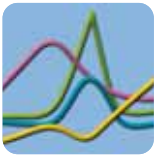
Przy niepłodności osób dorosłych bierze się również pod uwagę hipotezy dotyczące uwarunkowań prenatalnych. Poważne zakłócenia rozwoju płodu mogą wynikać z nieprawidłowości przepływu macica-łożysko i, w konsekwencji, prowadzić do zmniejszenia puli pęcherzyków w jajniku (*Cresswelli i inni, 1997*).

Inne, oczywiste przyczyny zmniejszania się puli pęcherzyków jajnikowych obejmują chemioterapię, chirurgię jajnika, radioterapię, palenie papierosów i wolne rodniki (*Gosden i Finch, 2000*).

W krajach rozwiniętych etiologia niepłodności kobiet jest często związana z rozregulowaniem gospodarki hormonalnej, natomiast w krajach rozwijających się dominującymi przyczynami są infekcje, niebezpieczne aborcje, powikłania po porodzie i gruźlica (*Ombelet i inni, 2007*). Badania epidemiologiczne dotyczące zmian w męskiej płodności w krajach rozwiniętych podają, jako przyczyny obniżenia jakości nasienia i zmniejszenia liczby plemników, czynniki toksykologiczne związane z uprzemysłowieniem. Jednak większość przypadków obniżenia jakości nasienia spowodowana jest chorobami przenoszonymi drogą płciową. Ciężkie zaburzenia gospodarki hormonalnej (które mogą być skutecznie leczone) są powodem niepłodności u mężczyzn tylko w niewielkiej liczbie przypadków.

ETIOLOGIA NIEPŁODNOŚCI
(wartości przybliżone)

- → **30% czynniki związane z niepłodnością kobiet**
- → **30% czynniki związane z niepłodnością mężczyzn**
- → **40% czynników wspólnych** (niepłodni partnerzy)



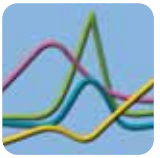
2. REWOLUCJA W LECZENIU NIEPŁODNOŚCI - SZTUCZNE ZAPŁODNIENIE

Prawie każde leczenie niepłodności (zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn) obejmuje hormonalną stymulację jajników. Celem jest zwiększenie liczby rozwijających się pęcherzyków jajnikowych, które zawierają oocyty. Dostępność więcej niż 1 oocytu (ilość obserwowana w naturalnym cyklu miesiączkowym) znacznie zwiększa szanse zajścia w ciążę.

Ostatnie dane pokazują, że dążenie uzyskania 5 do 7 oocytów w procedurze pobrania jajeczek przy IVF lub ICSI to chyba najlepszy możliwy kompromis (*Baart i inni, 2009; Heijnen i inni, 2007*), jeśli weźmie się pod uwagę ryzyko wystąpienia aneuploidii w oocytach, obniżoną jakość endometrium w cyklu stymulowanym oraz potencjalnie poważne działanie uboczne gonadotropiny i innych leków na bezpłodność (zespół hiperstymulacji jajników, OHSS).

USG stymulowanego jajnika.
Dzień 7: w jajniku widoczne są 2 średnie i 2 małe pęcherzyki

Aby zachować właściwą równowagę pomiędzy skutecznością i bezpieczeństwem, stosowane są **metody ultradźwiękowe** oraz łatwo dostępne, **zatwierdzone klinicznie oznaczenia immunologiczne**. Stały się one **podstawowymi narzędziami** stosowanymi w nowoczesnej praktyce przez lekarzy zajmujących się leczeniem niepłodności.

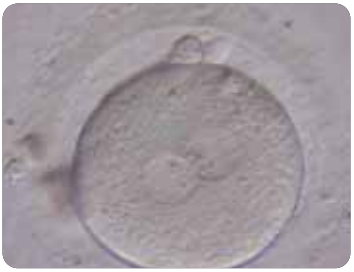


3. METODY SZTUCZNEGO ZAPŁODNIENIA: IVF I ICSI

Zapłodnienie *In Vitro* (IVF)

Wielkim krokiem umożliwiającym skuteczne leczenie niepłodności jest laparoskopowe pobieranie oocytów z poddanego stymulacji jajnika i ich zapłodnienia przez plemniki wyselekcjonowane w laboratorium. IVF jest najbardziej skuteczną metodą leczenia niepłodności (*ESHRE Capri Workshop Group, 2009*).

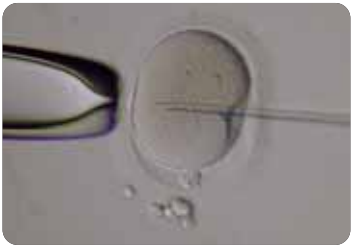
Mężczyzn z umiarkowanie obniżoną jakością nasienia można leczyć standardowymi procedurami zapłodnienia IVF, ponieważ przygotowana w laboratorium najlepsza część ich nasienia jest łączona z większą liczbą oocytów uzyskanych w wyniku stymulacji hormonalnej partnerki.



Zapłodniony oocyt z 2 ciałami kierunkowymi i 2 przedjądrzami

Zapłodnienie metodą docytoplazmatycznego wstrzykiwania plemników (*Intra-Cytoplasmic Sperm Injection,* ICSI)

Wykazano, że skuteczne zapłodnienie metodą *in vitro* możliwe jest w przypadku niepłodnych mężczyzn, którzy mają co najmniej 5 milionów plemników w ejakulacie. Jednak mężczyźni mający zaledwie kilka normalnych komórek plemników nadal nie mieli szans na posiadanie potomstwa, nawet przy IVF. Zastosowanie metody ICSI u ludzi - wstrzyknięcie pojedynczego plemnika bezpośrednio do komórki jajowej - stanowi rozwiązanie w niemal wszystkich przypadkach ciężkiej niepłodności męskiej (*Van Steirteghem i inni, 1993*).



Mikroiniekcja pojedynczego plemnika do dojrzałego oocytu

Dojrzewanie komórek *in Vitro* (*In Vitro* Maturation, IVM)

Nową, obiecującą metodą jest dojrzewanie oocytów *in vitro*. Pozwala ona pobrać niedojrzałe oocyty z małych pęcherzyków < 10 mm, umieścić je w podłożu hodowlanym i uzyskać dojrzałe komórki w czasie 30 do 40 godzin. Oocyty znajdujące się w stadium metafazy II mogą zostać zapłodnione przez ICSI.

Diagnostyka genetyczna

Równolegle do technik *in vitro* zostały opracowane metody molekularne pozwalające na badanie genetyczne pojedynczych komórek. Pojedyncza komórka (z 6-8 komórek zarodka) może zostać pobrana przez otwór zrobiony laserem w osłonce przejrzystej i następnie poddana badaniu genetycznemu. Innowacyjne połączenie technik umożliwia przeprowadzenie badania genetycznego przed transferem zarodka np. w przypadku rodzinnej predyspozycji do ciężkiej choroby. Technika ta jest obecnie poddawana ocenie pod kątem wykrywania zarodków z ograniczonymi możliwościami do dalszego normalnego rozwoju. Strategia ta może poprawić o prawie 70% stosunek ilości prawidłowych ciąż do liczby prób zapłodnienia *in vitro*, w odniesieniu do nieprawidłowości chromosomalnych u zarodków ludzkich pochodzących od niepłodnych pacjentów w wieku powyżej 30 lat.

4. STAWIANIE PRAWIDŁOWEJ DIAGNOZY

Lekarze zajmujący się leczeniem niepłodności mają do dyspozycji szeroką gamę narzędzi diagnostycznych pozwalających ustalić przyczyny niepłodności. Należą do nich badanie ultrasonograficzne, tomografia komputerowa (CT), magnetyczny rezonans jądrowy (NMR), histeroskopia, histerosalpingografia, laparoskopia, kariotyp z krwi, badania histopatologiczne tkanek układu rozrodczego, badania mikrobiologiczne, serologia oraz analiza hormonalna.

➔ **W przypadku podejrzenia niepłodności męskiej**, przeprowadza się 2 lub 3 razy, w odstępach tygodniowych, analizę spermy, w czasie której brany jest pod uwagę 3-dniowy okres abstynencji przed pobraniem próbki. Najlepiej jest je pobierać w laboratorium biologicznym do sterylnego pojemnika, ponieważ mogą one być natychmiast przekazane do laboratorium andrologicznego bez ryzyka wystawienia próbki na duże wahania temperatury.

Niedawno zaktualizowane kryteria oceny próbki plemników jako "normalnych" *(Cooper i inni, 2010)* **określane są jako:**

- **minimalna objętość ejakulatu wynosi 1,5 ml,**
- **stężenie plemników > 15.000.000 plemników/ml,**
- **ruchliwość (A + B) > 34%,**
- **morfologia, przy > 4% normalnych plemników.**

Inne (bardziej specjalistyczne) analizy ejakulatu obejmują:

- oznaczanie przeciwciał skierowanych przeciwko plemnikom,
- ocenę reakcji akrosomalnej,
- badanie ultrastruktury wici plemników.

Bardziej obiektywne metody analizy wykorzystują narzędzia informatyczne, takie jak komputerowa ocena obrazu (np. CASA [komputerowa ocena nasienia]), biorące pod uwagę wiele parametrów przy ocenie nasienia. Jednak żadna z dostępnych obecnie metod nie jest w stanie przewidzieć ze 100% pewnością, czy próbka spermy jest zdolna do zapłodnienia. Dlatego też, przy obniżonej jakości nasienia, procedury IVF/ICSI mają w tym samym stopniu znaczenie diagnostyczne, co terapeutyczne.

➔ **Przy badaniu niepłodności u kobiet** stosowanie wyżej wymienionych nieinwazyjnych metod zależne jest od historii choroby pacjentki oraz tego, czy niepłodność jest pierwotna, czy wtórna. Niepłodność uważana jest za **pierwotną**, jeśli pacjentka nigdy nie była w ciąży.

Niepłodność **wtórna** dotyka pacjentki, które były już w ciąży, ale potem utraciły zdolność do zajścia w następną ciążę. Oczywiście problem może być spowodowany przez jednego z partnerów lub mieć bardziej złożony charakter.

Płodność nie zależy wyłącznie od właściwego funkcjonowania przysadki mózgowej, czy układu rozrodczego i jego gruczołów. Do właściwego funkcjonowania organizmu, pozwalającego na poczęcie dziecka, przyczyniają się także inne organy odpowiedzialne za produkcję hormonów, takie jak: tarczyca, nadnercza, wątroba oraz ogólna budowa ciała. Z tego względu lekarz zajmujący się leczeniem niepłodności musi mieć podejście holistyczne i skontrolować prawidłowość kilku parametrów endokrynologicznych. System endokrynologiczny ulega czasami rozregulowaniu bez wyraźnych objawów fenotypowych. Mogą one zostać wykryte dzięki stwierdzeniu braku równowagi parametrów hormonalnych oznaczanych w krwi. Rozregulowanie działania układu reprodukcyjnego może być również spowodowane przez stres będący wynikiem długotrwałej choroby psychosomatycznej (np. depresji).

Łatwy dostęp do bardzo czułych i specyficznych, zautomatyzowanych testów immunologicznych o krótkim czasie oczekiwania na wynik pomaga lekarzom w stawianiu diagnozy różnicowej **w ciągu jednego dnia.**

Kolejne badania diagnostyczne można zaplanować w ten sposób, że większość przyczyn niepłodności może zostać ustalona **w czasie krótszym niż tydzień.**

PRAWIDŁOWE ROZPOZNANIE JEST WARUNKIEM POMYŚLNEGO LECZENIA

BADANIE NIEPŁODNOŚCI

NAJCZĘŚCIEJ WYSTĘPUJĄCE PRZYCZYNY NIEPŁODNOŚCI U KOBIET MOŻNA OKREŚLIĆ NA PODSTAWIE ANALIZY HORMONALNEJ.

Ustalanie przyczyny braku miesiączki i klasyfikowanie braku owulacji zgodnie z kryteriami WHO.

Między 2 i 5 dniem należy oznaczyć:

- **"Parametry podstawowe":** hCG, FSH, LH, prolaktynę, estradiol (E_2), TSH
- **"Parametry dodatkowe":** Progesteron (P) (w połowie fazy lutealnej), testosteron, SHBG, progesteron 17OH, DHEA-S.

Czy pacjentka jest w ciąży?

- Czasami zdarza się, że pacjentka jest w ciąży pomimo miesiączki.
- Należy oznaczyć poziom hCG. Jeśli wynik oznaczenia hCG jest dodatni, należy wykonać domaciczne badanie USG w celu potwierdzenia obecności pęcherzyka ciążowego w 6 tygodniu (od ostatniej miesiączki).

Czy pacjentka ma owulację?

- Należy oznaczyć poziom progesteronu we krwi.
- Należy wykonać domaciczne badanie USG jajników.

Czy jakieś inne zaburzenie endokrynologiczne nie zakłóca procesu rozrodczego?

- Przede wszystkim należy oznaczyć poziom TSH. Diagnozę należy doprecyzować oznaczając FT4, FT3, anty-TPO.
- Badanie dobowego profilu kortyzolu.
- Oznaczenie wolnego kortyzolu w moczu dobowym.
- Oznaczenie DHEA-S, 17-OH progesteronu, androstendionu (A4) i SHBG w celu wykluczenia hiperandrogenizmu pochodzenia nadnerczowego lub późno ujawniającego się wrodzonego przerostu nadnerczy.

Czy patologia związana jest z ośrodkowym układem nerwowym? (np. gruczolakiem przysadki)

- Należy oznaczyć poziom LH, FSH, PRL, ACTH, TSH, GH, IGF-1.
- Wykonanie badań dynamicznych wydzielania hormonów w celu wykrycia reakcji paradoksalnej.
- Zlecenie CT lub MRI *sella turcica* i jego okolic.
- Sprawdzenie, czy nie uległo zakłóceniu pole widzenia pacjenta.

Czy jest to niewydolność ciałka żółtego?

- Zastosuj USG do monitorowania przebiegu wzrostu pęcherzyka i pomiaru maksymalnej średnicy pęcherzyka.
- Kontrola poziomu LH pod kątem pojawienia się szczytu w połowie cyklu.
- Oznaczenie poziomu progesteronu po siedmiu dniach od szczytu LH.
- Obliczanie liczby dni pomiędzy szczytem LH i wystąpieniem miesiączki.

Czy endometrium jest zdrowe i gotowe na przyjęcie zarodka?

- Kontrola poziomu LH i wzrostu pęcherzyka w badaniu ultrasonograficznym.
- Oznaczenie poziomu progesteronu po siedmiu dniach od szczytu LH.
- Wykonanie biopsji przy użyciu kaniuli Pipelle po siedmiu dniach od szczytu LH.
- Patolog powinien wykonać histologiczne datowanie endometrium, zgodnie z kryteriami Noyes, jak również wykluczyć przewlekłe bezobjawowe zapalenie błony śluzowej macicy (*Noyes i inni, 1975*).

Jaka jest rezerwa jajnikowa pacjentki?

- Oznaczenie poziomu AMH w surowicy lub alternatywnie poziomu FSH w surowicy w dniach 3-5, w połączeniu z oznaczeniem E_2 w surowicy. Wynik FSH < 12 IU/l przy E_2 > 60 pg/ml nie jest wartością prognostyczną. Równie wysoką wartość predykcyjną jak AMH ma określenie liczby pęcherzyków antralnych w badaniu USG.

Czy można przewidzieć reakcję jajników na leczenie gonadotropiną?

- Najnowsze badania pokazują, że badanie USG obecności pęcherzyków w jajniku w początkowej fazie cyklu (tj. "liczby pęcherzyków antralnych") i oznaczenie AMH w krwi mają takie same wartości predykcyjne.

Czy można przewidzieć wystąpienie ciężkiego zespołu hiperstymulacji jajników przed rozpoczęciem leczenia pacjentki gonadotropiną?

- Pacjentki z wysoką wartością podstawową LH, wysoką wartością AMH, podwyższonym stężeniem hormonów androgennych w surowicy (testosteronu, androstendionu, DHEA-S) lub obniżonym stężeniem SHBG w 3 dniu cyklu charakteryzują się wyższym ryzykiem nadmiernej reakcji na leczenie gonadotropiną (*Nelson i inni, 2008*).
- Pacjentki te mają zwykle długie cykle lub cykle bezowulacyjne. Badanie USG pokazuje jajniki o powiększonej objętości z wieloma torbielami.

Czy biopsja endometrium może wykazać, czy niepłodność jest wynikiem zaburzeń zmian błony śluzowej macicy?

- Stwierdzono, że wysoką czułość diagnostyczną uzyskuje się, gdy biopsja przeprowadzana jest dokładnie dzień po wyrzucie LH (zazwyczaj po 7 dniach od szczytu LH). Z tego względu dobrą praktyką jest monitorowanie naturalnego cyklu miesiączkowego przez codzienne oznaczanie wartości LH, E_2 i P począwszy od 8 dnia cyklu i śledzenie LH aż do osiągnięcia wartości P ≥ 2 ng/ml (owulacja).

Lista skrótów znajduje się na stronie 35

ROZWIĄZANIA W ZAKRESIE LECZENIA NIEPŁODNOŚCI PACJENTÓW

Po postawieniu diagnozy można zaproponować szczegółowy program leczenia uwzględniający podstawowy profil hormonalny pacjentki, jej wiek, rezerwę jajnikową oraz przewidywaną reakcję na leczenie gonadotropiną.

Aktualnie obowiązującą polityką jest branie pod uwagę kilku parametrów specyficznych dla pacjenta w celu zastosowania najmniej inwazyjnego i najbardziej ekonomicznego sposobu leczenia.

Ten proces leczenia uwzględnia także płodność partnera płci męskiej i zobowiązania zawodowe pacjenta.

W celu zmniejszenia obaw i uzyskania akceptacji sposobu leczenia, należy dokładnie wyjaśnić parze plan uwzględniający stopniowy rozwój terapii, a także możliwe alternatywy. Dobre zrozumienie i akceptacja planu przez pacjenta znacząco przyczynia się do przestrzegania zaleceń oraz pozwala uniknąć kosztownych i niepotrzebnych procedur leczenia.

INFORMACJE DOTYCZĄCE HORMONALNYCH OZNACZEŃ IMMUNOLOGICZNYCH

Nie można ekstrapolować wartości referencyjnych dla różnych metod oznaczeń immunologicznych. Z tego względu wartości podane w tej broszurze są ważne tylko w odniesieniu do systemów bioMerieux VIDAS® (*Coucke i inni, 2007*). Wartości referencyjne dla wszystkich parametrów dostępne są w ulotkach technicznych dołączonych do testów.

Dalsze informacje dotyczące systemów i oznaczeń VIDAS®/mini VIDAS podane zostały na stronie 40.

PRZED ROZPOCZĘCIEM PROCEDURY LECZENIA NIEPŁODNOŚCI i dalszego leczenia hormonalnego ART, należy wykonać następujące oznaczenia w celu określenia profilu hormonalnego i serologicznego pacjenta:

OZNACZENIA PODSTAWOWYCH HORMONÓW W SUROWICY

OZNACZENIA PODSTAWOWE (DZIEŃ 2-5):

♀

- hCG • LH • FSH • Prolaktyna • Estradiol
- TSH • AMH

OZNACZENIA DODATKOWE (DZIEŃ 2-5):

♀

- Progesteron • SHBG • Testosteron
- 17-OH Progesteron • DHEA-S • FT4 • anty-TPO

OZNACZENIA SEROLOGICZNE

(badania przesiewowe partnerów muszą zostać przeprowadzone przed rozpoczęciem leczenia, jeśli rozważane jest bezpieczne przechowywanie gamet)

BADANIA OBOWIĄZKOWE (Dyrektywa Europejska 2004/23/WE):

⚥

- **HIV**
- **Wirusowe zapalenie wątroby typu B** (HBV)
- **Wirusowe zapalenie wątroby typu C** (HCV)
- **Kiła** (tylko gdy rozważane jest udostępnianie gamet innym parom)
- **W przypadku historii narażenia na infekcję lub podróży:** HTLV-1, malaria, choroba Chagasa
- **W przypadku dawcy spermy lub komórki jajowej należy** wykonać badania kwasu nukleinowego (testy NAT) w kierunku HIV, HBV, HCV, chlamydii, jeśli gamety przeznaczone są do bezpośredniego wykorzystania. Jeśli testy NAT nie zostały przeprowadzone, należy przechowywać zamrożone gamety w kwarantannie przez okres 180 dni i potwierdzić ujemny wynik badań serologicznych przed użyciem komórek dawcy.

W przypadku pacjentów seronegatywnych (obu partnerów), którzy NIE chcą zostać zaszczepieni przeciwko WZW typu B, należy dokonywać kontroli w każdym cyklu leczenia, przed potencjalnym przechowywaniem gamet lub zarodków.

Dobra Praktyka Kliniczna zaleca wykonanie przed zapłodnieniem oznaczeń w kierunku:

♀

- **Toksoplazmozy • Różyczki**
- **Wirusa cytomegalii** (CMV)

5. PROCEDURY LECZENIA NIEPŁODNOŚCI I DALSZE LECZENIE HORMONALNE ART

W zależności od diagnozy stosowane są procedury leczenia o różnych poziomach złożoności:

POZIOM 1: MONITOROWANIE NATURALNEGO CYKLU MIESIĄCZKOWEGO Z:

- Planowaniem współżycia płciowego
- Inseminacją domaciczną (IUI) lub do szyjki macicy

POZIOM 2: ŁAGODNA STYMULACJA JAJNIKÓW (DO IUI)

Zabieg ten łączy planowanie naturalnego pożycia płciowego z inseminacją domaciczną.

Stosowane leki hormonalne:

a/ Cytrynian klomifenu (CC)

b/ Gonadotropiny: wysoko oczyszczone produkty uzyskiwane z moczu lub rekombinowane. Wykorzystywane są: FSH (uFSH, rFSH); HMG (uFSH + ULH + uhCG); LH (RLH), hCG (uhCG, rhCG).

POZIOM 3: STYMULACJA SUPEROWULACJI PRZY POMOCY WYSOKICH DAWEK GONADOTROPIN (IVF LUB ICSI)

Celem jest uzyskanie wielu oocytów do zapłodnienia *in vitro* i transfer 1 lub 2 zarodków w tym samym cyklu leczenia.

Nadliczbowe zarodki mogą zostać zamrożone.

Standardowe procedury i dalsze leczenie

a/ Agoniści GnRH: stosowane przed stymulacją, do ograniczenia wytwarzania hormonów LH/FSH przez pacjentkę

b/ Antagoniści GnRH: stosowane w celu uniknięcia spontanicznego wzrostu LH.

c/ Gonadotropiny: wysoko oczyszczone produkty uzyskiwane z moczu lub rekombinowane. Wykorzystywane są: FSH (uFSH, rFSH); HMG (uFSH + ULH + uhCG); LH (RLH); hCG (uhCG, rhCG).

Uwaga: : produkty uzyskiwane z moczu (np. uFSH lub HMG) i rekombinowane (np. rFSH) są dostępne na rynku i mają podobną skuteczność, jak wykazano w prospektywnych badaniach klinicznych i analizach (*Platteau i inni, 2008; Coomarasamy i inni 2008*)

ZALECENIA DOTYCZĄCE STOSOWANIA GONADOTROPIN W CELU WYWOŁANIA OWULACJI

Zgodnie z zasadami dobrej praktyki klinicznej należy monitorować poziom hormonów steroidowych i wzrost pęcherzyków w **celu zmniejszenia ryzyka wystąpienia ciąży mnogiej oraz zespołu hiperstymulacji jajników (OHSS).**

Minimalne wspomaganie rozrodu (poziomy 1 i 2):

W przypadku par z normalnym cyklem miesiączkowym, u których nie obserwuje się chorób szyjki macicy i macicy, obustronnej niedrożności jajowodów i znacznie obniżonej liczby plemników (< 10 mln/ml), w pierwszym rzędzie pomaga się parze zoptymalizować ich szanse na poczęcie przez planowanie pożycia płciowego z lub bez łagodnej stymulacji jajników (np. przez podanie cytrynianu klomifenu lub małych dawek gonadotropiny w zastrzykach). "Monitorowanie" cyklu miesiączkowego oznacza regularne kontrolowanie wzrostu i owulacji pęcherzyka(ów), wytwarzania E_2 i progesteronu oraz początek spontanicznego wzrostu poziomu LH (LH > 15 IU/l) w celu podjęcia decyzji o naturalnym pożyciu seksualnym albo o sztucznej inseminacji.

Głównym celem jest zapewnienie, że plemniki znajdą się w najbardziej płodnym okresie, czyli w czasie owulacji oocytu(ów), w jego(ich) pobliżu.

PROCES PODEJMOWANIA DECYZJI DOTYCZĄCEJ WYBORU SPOSOBU LECZENIA OPARTY JEST NA HISTORII KLINICZNEJ

Wskazanie do rozpoczęcia przez parę jednego z 3 rodzajów leczenia zależy od początkowego wykrycia niedrożności jajowodów, poważnych stanów chorobowych macicy, poważnych zmian w spermie, wysokiego poziomu przeciwciał skierowanych przeciwko plemnikom, zakłócenia procesu jajeczkowania, zaawansowanego wieku partnerki (> 35 lat). W przypadku stwierdzenia jednego z powyższych, z reguły z góry podejmuje się decyzję o IVF/ICSI. Procedura ICSI jest lepsza niż IVF w przypadku par z poważną niepłodności męską.

Jeśli jakość spermy jest dobra, co oznacza na ogół od 5 do 10 milionów ruchliwych plemników w ewentualnej próbce spermy wykorzystywanej do inseminacji (*ESHRE Capri Workshop Group, 2009*), można przedyskutować z parą ewentualne rozpoczęcie leczenia od poziomu 1 lub 2, biorąc pod uwagę niezbędne do tego wysiłki i koszty oraz prawdopodobieństwo zajścia w ciążę w cyklu leczenia. Ostatnie publikacje dotyczące zapłodnienia pozwalają na poniższe stwierdzenia, które mogą pomóc parze w podjęciu decyzji:

1. **W cyklach stymulowanych (cytrynian klomifenu lub niskie dawki gonadotropiny) maksymalne prawdopodobieństwo zajścia w ciążę w cyklu leczenia nie przekracza 12%.**
2. **Należy wziąć pod uwagę ryzyko ciąży mnogiej, której prawdopodobieństwo może wynosić nawet 30-40%.**
3. **Inseminacja domaciczna jest tańsza i związana z mniejszymi wymaganiami niż procedury IVF/ICSI.**

POZIOM 1

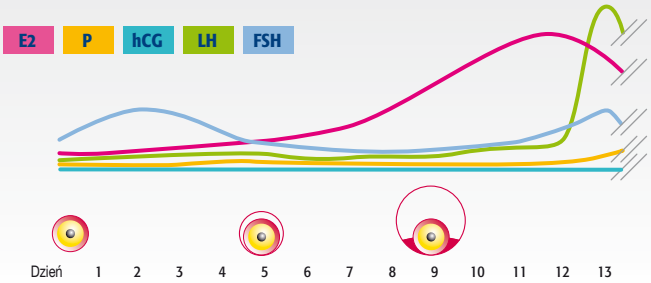
MONITOROWANIE NATURALNEGO CYKLU MIESIĄCZKOWEGO Z PLANOWANIEM WSPÓŁŻYCIA PŁCIOWEGO I INSEMINACJĄ

PROCEDURA LECZENIA (patrz rys. 1)

W pierwszej kolejności lekarz ginekolog może zdecydować o zaleceniu **regularnego planowania współżycia płciowego**, ponieważ jeśli istnieje, na przykład, czynnik nieznacznej niepłodności męskiej, współżycie płciowe należy zaplanować na najbardziej płodny moment cyklu. Najbardziej płodnym okresem cyklu jest moment jajeczkowania. Może on być łatwo śledzony dzięki regularnemu oznaczaniu próbek krwi (oznaczenie podstawowych parametrów w 2 dniu cyklu, a następnie częściej od dnia 8, gdy poziom estrogenów zaczyna wzrastać). Próbki krwi należy oznaczyć w kierunku hormonów E_2 i LH. Kiedy wartość LH wzrasta do 15 IU/l przy podwyższonym poziomie $E_2 > 150$ pg/ml, i jeżeli pęcherzyk na obrazie USG jest większy niż 17 mm, para powinna współżyć seksualnie. Spermy o optymalnej jakości można spodziewać się po okresie abstynencji wynoszącym 3 dni.

Rysunek 1: Planowanie współżycia płciowego i inseminacji w naturalnym cyklu miesiączkowym

Dzień	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Próbka krwi		X						X		X	X	X	
USG (1)								X		X			
Hormony (2)		E_2						E_2		E_2	E_2	E_2	
		P										P	
		hCG											
										LH	LH	LH	



1) USG: powstaje duży pęcherzyk o wielkości 12 mm

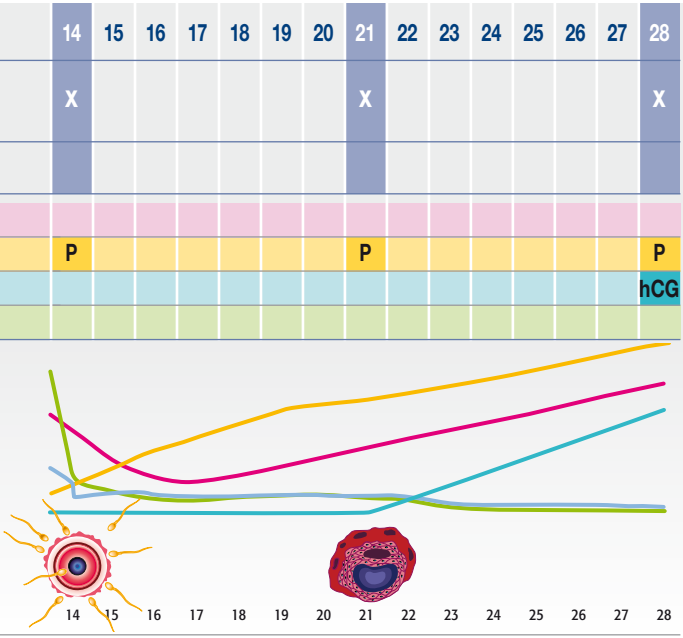
2) Jak tylko E2 ≥ 150 pg/ml, LH ≥ 15 IU/l, P < 1,0 ng/ml, należy zalecić parze współżycie tego samego dnia wieczorem i w dniu następnym.

Jeżeli liczba plemników jest zbyt niska, pacjentka może zostać **zapłodniona** wyselekcjonowaną wcześniej frakcją nasienia jej partnera, gdy poziom jej E_2 nadal jest wysoki. W momencie zapłodnienia u ujścia szyjki macicy można obserwować płynną wydzielinę. Jest to oznaka wysokiego nasycenia estrogenem, korzystnego dla migracji plemników. Poziom progesteronu jest w tym czasie niski (< 1,5 ng/ml). Wzrost poziomu progesteronu sprawia, że śluz pacjentki staje się nieprzenikalny dla plemników. Z tego względu właściwe monitorowanie poziomu hormonów może przyczynić się do szybszego zajścia w ciążę.

Dzień po zaplanowanym zapłodnieniu poziom LH powinien być nadal wysoki (zwykle ≥ 10 IU/l), a poziom progesteronu powinien wzrastać.

KONTYNUACJA LECZENIA (patrz rysunek 1)

Jeśli nie jest obserwowany stopniowy wzrost poziomu hormonów (↗ LH, ↗ progesteron, ↗ E_2), to tego samego dnia, wieczorem można przeprowadzić **inseminację do szyjki macicy** (pojemniczek spermy), a procedurę można powtórzyć czasami następnego dnia wieczorem). **Inseminacja domaciczna** może zostać zaplanowana (tylko raz) ± 30 godzin po pierwszym spontanicznym wzroście LH (ogólnie LH > 15 IU/l wskazuje na śródcyklowy wzrost LH) lub 32-36 godzin po podaniu hCG w zastrzyku (*ESHRE Capri Workshop Group, 2009*).



* W przypadku tego rodzaju profilu hormonalnego, można zlecić zastrzyki z hCG (5000 IU) oraz dopochwowe podawanie progesteronu (w tym przypadku nie ma potrzeby dokonywania pomiaru progesteronu w fazie lutealnej).

POZIOM 2
ŁAGODNA STYMULACJA JAJNIKÓW (do IUI)

Głównym celem łagodnej stymulacji jajników jest uzyskanie owulacji maksymalnie 2 do 3 możliwych do zapłodnienia oocytów przy jednoczesnym uniknięciu ciąży mnogiej.

Głównymi wskazaniami do leczenia na POZIOMIE 2 są:

1. **Niepłodność idiopatyczna** (tj. nie ma wyraźnych przyczyn bezpłodności)
2. **Zespół policystycznych jajników** (powiększone jajniki, liczne torbiele na obrzeżach, gęsty zrąb jajnika)
3. **Łagodna niepłodność męska** Po płukaniu, przeprowadzanym w celu selekcji plemników, w preparacie powinno znajdować się co najmniej 1.000.000 bardzo ruchliwych plemników klasy A, by partnerzy mieli szanse na powodzenie przy inseminacji domacicznej (IUI) (*Ombelet i inni, 1995).*

POZIOM 2.A.

LECZENIE: cytrynian klomifenu (CC) (dzienna dawka od 50 mg do maksymalnie 150 mg/dobę, doustnie): od D2 - D7

Łagodną stymulację jajników można przeprowadzić za pomocą blokera receptora estrogenowego (cytrynian klomifenu, CC). Preparat ten może być przyjmowany doustnie i wymaga tylko minimalnej kontroli, jeśli pacjent dobrze reaguje (80%). Anty-estrogeny są tanie i wymagają nielicznych kontroli, ale mogą być skuteczne tylko wtedy, gdy podwzgórze i przysadka mózgowa pracują normalnie (normalne wytwarzanie LHRH, prawidłowa reakcja FSH/LH na LHRH).

Pacjenci z ciężkim hipogonadyzmem hipogonadotropowym (typ I wg WHO) nie mogą korzystać z leczenia cytrynianem klomifenu (CC), a 20-30% pacjentów z rozregulowanym mechanizmem produkcji hormonów gonadotropowych (typ II wg WHO) jest opornych na ten lek.

Ogólnie rzecz biorąc, poziom estrogenów zaczyna wykładniczo wzrastać od dnia 7 lub 8, a po stopniowym wzroście w dniach 5-6 poziom E_2 może osiągnąć 500 do 1200 pg/ml. Dla każdego pęcherzyka o średnicy większej niż 15 mm wartość E_2 może wahać się w zakresie od 150 do 300 pg/ml, a mniejsze pęcherzyki, o wielkości od 8 do 14 mm, również nieznacznie przyczyniają się do ogólnego poziomu E_2 w surowicy (*Anckaert i inni, 2002*).

WAŻNA UWAGA

Po podaniu klomifenu wzrasta podstawowy poziom LH i jego wartości między 12 a 20 IU/l w trakcie i po przyjęciu klomifenu nie są niczym niezwykłym. Wzrost podstawowego poziomu LH nie powinien być interpretowany jako początek szczytu LH. Monitorowanie terapii klomifenem zaczyna się na ogół 10 dnia cyklu. Kolejne kontrole należy przeprowadzać co 2 dni w celu oszacowania liczby rosnących pęcherzyków oraz ich średnicy. Po zaprzestaniu leczenia klomifenem, spontaniczny szczyt LH występuje prawie zawsze, ale dość często z lekkim opóźnieniem, w 13-14 dniu cyklu.

Inseminacja pacjentki powinna odbyć się, gdy:

LH wzrasta, poziom E_2 jest wysoki: > 500 pg/ml (200 pg/ml na pęcherzyk > 15 mm), a progesteronu jest niski (≤ 1,5 ng/ml), tj., gdy śluz w żeńskich narządach rozrodczych będzie umożliwiać dobrą penetrację i migrację plemników. Nie zawsze łatwo jest spełnić te kryteria, ale gdy uda się, tylko < 10% ciąż jest ciążami bliźniaczymi i prawie nie występuje OHSS (syndrom hiperstymulacji jajników). Leczenie przy pomocy sztucznego zapłodnienia po podaniu klomifenu daje prawie 7% prawdopodobieństwo zajścia w ciążę w cyklu (*ESHRECapri Workshop Group, 2009*). Jeśli pacjentka nie zachodzi w ciążę po 4 do 6 cyklach leczenia klomifenem i monitorowania, powinna zostać podjęta decyzja o stymulacji jajników gonadotropiną (patrz Poziom 2.B.).

KONTYNUACJA LECZENIA (patrz rysunek 2)

W czasie leczenia cytrynianem klomifenu (CC), stężenie LH wzrasta od dnia 8 (co jest bezpośrednio związane z działaniem CC na LHRH i gonadotropy). W związku z tym, wzrost wartości LH (od 10 do 20 IU/l) w 8 dniu cyklu nie powinien być mylnie interpretowany jako początek wzrostu LH w środku cyklu. Podczas leczenia CC minimalny poziom LH niezbędny do określenia szczytu LH wynosi ≥ 20 IU/l.

Prawie wszystkie cykle pacjentek leczonych CC, u których obserwowany jest wzrost stężenia E_2 w dniu 10, będą charakteryzować się spontanicznym wzrostem LH (który czasami występuje tylko wtedy, gdy pęcherzyk osiągnął dość dużą średnicę (≥ 20 mm)). Ogólnie rzecz biorąc, w przypadku cykli stymulowanych CC rozwijają się 2-3 pęcherzyki owulacyjne (a poziom E_2 osiąga 600-1,200 pg/ml). Z chwilą, gdy wartość E_2 osiągnie 500 pg/ml, w połączeniu z co najmniej 1 pęcherzykiem o średnicy co najmniej 17 mm, niektórzy lekarze podają 5000 IU hCG w zastrzyku w celu zmniejszenia ryzyka wystąpienia ciąży mnogiej, będącej wynikiem jednoczesnego rozwoju niektórych mniejszych pęcherzyków.

Rysunek 2: Kontrolowanie fazy rozwoju pęcherzyka

Dzień	m	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Próbka krwi		X								X	X	X
USG		X								X		
Hormony		E_2								E_2	E_2	E_2
		P								P	P	P
		hCG										
										LH	LH	LH

2 dzień cyklu: hormony powinny być na poziomach podstawowych.
10 dzień cyklu: oznaczenie P w celu oceny przedwczesnego wzrostu poziomu progesteronu (P > 1,5 ng/ml) i kontroli LH w celu monitorowania spontanicznego wzrostu poziomu LH

POZIOM 2.B.

LECZENIE: podawanie małych dawek gonadotropiny

Na ogół przeprowadzana diagnostyka daje wskazania co do rodzaju leczenia i podawanych dawek:

- Wysoka wartość FSH, niska AMH: wskazuje na niski poziom rezerwy jajnikowej (typ III wg WHO)
- Wysoka wartość AMH, wysoki poziom androgenów, zwiększenie podstawowej wartości LH: wskazuje na jajniki policystyczne (PCO) (typ III wg WHO)

Jeżeli pacjentka nie owuluje:

Pięć dni terapii zastępczej progesteronem pozwoli lekarzowi ginekologowi ustalić, czy pacjentka ma:

1. Hipogonadyzm hipogonadotropowy (typ I wg WHO I, rzadki): w tym przypadku po odstawieniu progesteronu nie wystąpi krwawienie,
2. Często występujący obraz jajników podobny do zespołu jajników policystycznych (WHO II): w tym przypadku miesiączka rozpocznie się dzień po odstawieniu progesteronu. U tych pacjentek często występuje brak równowagi gonadotropinowej (podstawowa wartość LH > FSH).

Test **"progesteronowego wywołania krwawienia"** jest użytecznym wskaźnikiem dawki początkowej:

- W przypadku braku krwawienia miesiączkowego uważa się, że pacjentka ma impregnację tkanek estrogenami wywołaną hypogonadotropizmem. Leczenie będzie wówczas rozpoczynać się od dawki HMG wynoszącej 150 IU (podawanej raz dziennie).

- Jeśli pacjentka miesiączkuje, prawdopodobnie obserwuje się u niej pewną impregnację tkanek estrogenami oraz endogenne funkcje przysadki. Generalnie, w takich wypadkach leczenie rozpoczyna się ostrożnie podając dawkę FSH lub HMG wynoszącą 75 IU (podawaną raz dziennie).

Zasadą ogólną jest rozpoczęcie leczenia, gdy podstawowy profil pacjentki to: hCG negatywne; $E_2 \leq 50$ pg/ml, $P < 1$ ng/ml.

Gdy pacjentka zgłasza pojawienie się miesiączek, zaleca się dokonanie oznaczeń próbki krwi następnego dnia w celu skontrolowania, czy poziom hCG jest niemierzalnie niski (brak ciąży) oraz czy $P < 1$ ng/ml (brak ciałka żółtego z poprzedniego cyklu).

Jak to pokazano na rysunku 2, wykonuje się oznaczenia hormonów w surowicy oraz badanie USG. Dla każdego pęcherzyka o średnicy ponad 15 mm za normalne należy uznać stężenie E_2 wynoszące ± 150-300 pg/ml.

W leczeniu gonadotropiną do pęknięcia pęcherzyka podczas owulacji potrzebna jest zawsze dawka hCG wynosząca 5000 IU. hCG podawana jest zwykle, gdy największy z 3 pęcherzyków osiąga średnicę 17 mm.

GONADOTROPINY

Gonadotropiny są bardzo silnymi lekami, które bezpośrednio wpływają na funkcje jajników. Są one odpowiedzialne za wzrost pęcherzyka, gdy stężenie FSH u pacjentki osiąga wartość progową. Im dłużej stężenie FSH pozostaje powyżej wartości progowej, tym większa liczba pęcherzyków będzie znajdować się końcowej fazie wzrostu i nie będzie podlegać atrezji. Konieczne jest kontrolowanie poziomu hormonów w surowicy (E_2/LH), ponieważ u 30% leczonych kobiet występuje przedwczesne wytwarzanie hormonu LH (*Lambalk i inni, 2006*).

Stosowanie gonadotropin wymaga ścisłego monitorowania parametrów krwi i wykonywania badań USG. Progresywne dostosowanie dawek dobowych gonadotropiny pozwala uniknąć ciężkich powikłań. W ramach przygotowań do zapłodnienia zaleca się podawanie małych dawek gonadotropiny, co może zwiększyć prawdopodobieństwo zajścia w ciążę w cyklu leczenia do ± 12%. Jednak do 20% ciąż będzie ciążami bliźniaczymi, a od czasu do czasu (mniej niż 3% przypadków), wystąpią duże ciąże wielopłodowe (*ESHRE Capri Workshop Group, 2009*).

DALSZE LECZENIE
Kontrolowanie wywołania owulacji za pomocą gonadotropin przy inseminacji domacicznej (patrz rys. 2 i 5)

Decyzja o podaniu hCG w zastrzyku (5000 IU) wynika z pomiaru średnicy pęcherzyka (USG) oraz liczby pęcherzyków w obu jajnikach. Największy pęcherzyk o średnicy 17 mm jest uzasadnieniem podania hCG. Wartość E_2 powinna wynosić pomiędzy 150 i 300 pg/ml dla każdego pęcherzyka o średnicy większej niż 15 mm. Progesteron powinien nadal pozostawać na poziomie < 1,5 ng/ml.

Monitorowanie tego typu leczenia jest bardzo trudne, ponieważ większość dużych ciąż mnogich spowodowane jest właśnie tego typu stymulacją (nie dotyczy to procedur IVF/ICSI).

Jeśli wartość LH jest większa niż 15 IU/l i E_2 przekracza 150-300 pg/ml na pęcherzyk o średnicy > 15 mm, a P nadal wynosi < 1,5 ng/ml, oznacza to, że inseminację należy przeprowadzić następnego dnia.

Jeśli wartość LH jest podwyższona (> 15 IU/l), P ≥ 3 pg/ml, a E_2 maleje: pominięty został szczyt LH i pacjentka miała już owulację. Inseminacja pacjentki w tym cyklu nie ma zatem sensu. Na następnym cykl leczenia gonadotropinami pacjentka powinna zostać poproszona o oddanie próbki krwi 2 dni wcześniej.

WSPARCIE FAZY LUTEALNEJ
przy użyciu naturalnego mikronizowanego progesteronu

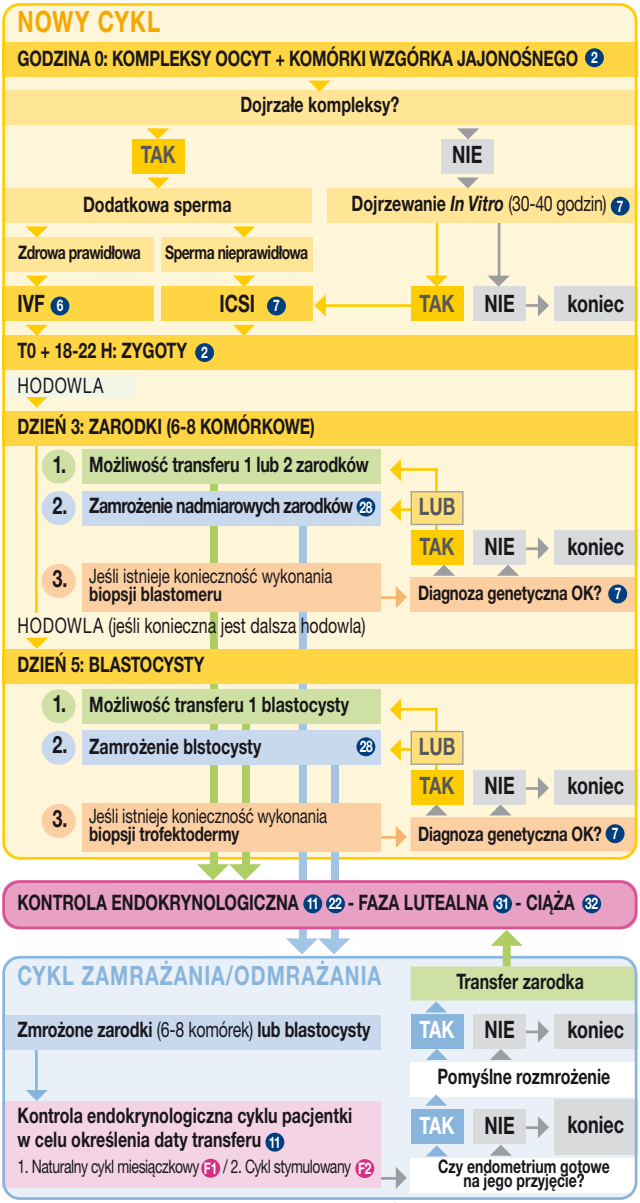
Podczas podawania gonadotropin hamowane jest wydzielanie endogennych gonadotropin pacjentów. Prowadzi to do niewystarczającej stymulacji ciałka żółtego z powodu braku LH. W związku z tym poziom progesteronu w połowie fazy lutealnej może stać się zbyt niski i/lub wydzielanie progesteronu zostanie przedwcześnie zahamowane w drugiej połowie fazy lutealnej, co spowoduje wcześniejsze krwawienie miesiączkowe. Są to zaburzenia fazy lutealnej wywołane częściowo wysokim poziomem steroidów wynikającym z podawania gonadotropiny.

Badania prospektywne wykazały znaczny wzrost liczby ciąż po podaniu pacjentkom stymulowanym gonadotropiną progesteronu egzogennego (*Posaci i inni, 2000; Tavaniotou i inni, 2001; Fatemi i inni, 2007*).

Rysunek 3: Procedura ART (przykład typowej procedury)

PODSTAWOWA OCENA:
Badanie endokrynologiczne 10 41 **oraz profil zakaźny** 13 41

STYMULACJA JAJNIKÓW:
endokrynologiczne monitorowanie leczenia hormonalnego w celu wywołania superowulacji 26 27 29 31 34 35 F5



x numery w granatowych kropkach odnoszą się do stron Fx w różowych kropkach odnoszą się do danych

POZIOM 3
SUPEROWULACJA I IVF-ET LUB ICSI

LECZENIE

Procedura wywoływania superowulacji polega na wywołaniu rozwoju wielu pęcherzyków w celu pozyskania oocytów i późniejszego transferu pojedynczego lub dwóch zarodków.
Stymulacja jajników w procedurach IVF i ICSI jest dziś przeprowadzana niemal wyłącznie przy użyciu gonadotropin. Aktywność biologiczna tych preparatów wyrażana jest ciągle w Międzynarodowych Jednostkach (IU) aktywności biologicznej. Przyjmuje się powszechnie, że jednostki stosowane w odniesieniu do różnych preparatów są równoważne biologicznie. Dlatego, dla jasności, określenie "IU" stosowane w dalszej części tej broszury odnosi się do wszystkich preparatów dostępnych na rynku.
Prawdopodobieństwo zajścia w ciążę dzięki procedurom IVF i ICSI w Europie wynosi między 25 a 30% na cykl leczenia.
Kliniki leczenia niepłodności mogą przyjąć jedną z dwóch strategii przy rozpoczynaniu procedury stymulacji:

1. Stymulacja oparta na rygorystycznym planowaniu
2. Stymulacja oparta na wynikach z 1 dnia cyklu pacjentki.

PLANOWANIE (patrz rys. 4)

Jeśli preferowane jest planowanie, można je zrealizować na 2 sposoby:

1. Podawanie pacjentce środków antykoncepcyjnych przez kilka dni lub tygodni. Zatrzymanie ich przyjmowania powoduje wystąpienie miesiączki = 1 dzień.
2. Podawania agonisty GnRH przez co najmniej 12 dni (na ogół jego podawanie rozpoczyna się w 21 dniu cyklu), co pozwala wyregulować cykl pacjentki w dół. Stymulacja może być potem rozpoczęta w dowolnym, wybranym dniu.

Jeśli nie jest wymagane planowanie, pacjentka może rozpocząć leczenie gonadotropiną w 2 dniu cyklu.

DALSZE LECZENIE
(Patrz schemat kontrolowania przedstawiony na rys 5 str. 26)

WSPARCIE FAZY LUTEALNEJ

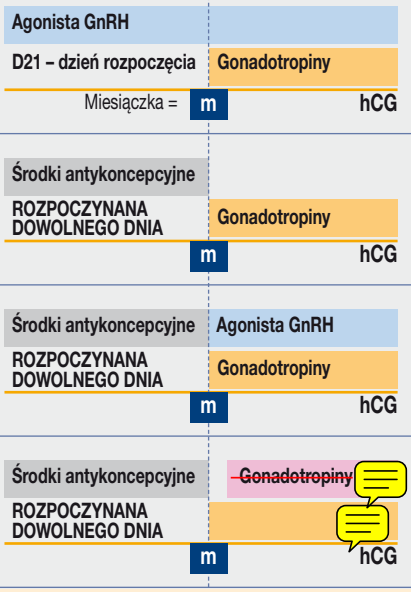
Po uzyskaniu oocytu wywoływana jest faza lutealna przez podanie naturalnego, mikronizowanego progesteronu (patrz strona 22).

Rysunek 4: Przegląd najczęściej stosowanych procedur stymulacji

I. Z PLANOWANIEM:

Czas trwania leczenia do momentu pobrania komórki jajowej przekracza zazwyczaj 3 tygodnie.

→ LECZENIE WSTĘPNE | → STYMULACJA



Protokół długi z agonistą GnRH

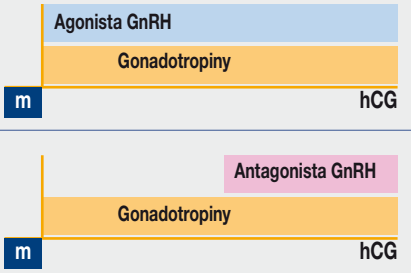
Środki antykoncepcyjne, po których następuje stymulacja gonadotropiną

Środki antykoncepcyjne, po których przez krótki czas podawany jest agonista GnRH

Środki antykoncepcyjne, po których przez krótki czas podawany jest antagonista GnRH

II. BEZ PLANOWANIA:

Czas trwania leczenia do momentu pobrania komórki jajowej nie przekracza 2 tygodni.



Protokół krótki z agonistą GnRH

Protokół krótki z antagonistą GnRH

DALSZE LECZENIE
Procedura kontroli (hormony i badanie USG) (patrz rysunek 5)

Pełen panel hormonalny (hCG, LH, FSH, E_2, P):

- W momencie rozpoczynania leczenia
- Powtórzyć na dzień przed rozpoczęciem podawania gonadotropiny: w tym czasie wyniki powinny mieć wartości podstawowe, a oznaczenie hCG powinno mieć wynik ujemny.

Ograniczony panel hormonalny (hCG, E_2, P):

- Powtórzyć 7 dnia od rozpoczęcia podawania gonadotropiny, by dostosować dobową dawkę
- Powtarzać codziennie począwszy od 10 dnia (E_2, P)
- W dniu 13 należy oznaczyć hCG w surowicy, w celu podjęcia decyzji dotyczących podania zastrzyków (6-12 godzin po zastrzyku hCG)

Badanie USG:

- Dzień 2 = rozpoczęcie podawania gonadotropiny
- Dzień 7, dzień 10 i począwszy od dnia 10 co 2 dni, aż średnica pęcherzyków > 17 mm

Rysunek 5: Procedura kontroli dla POZIOMU 2B i POZIOMU 3

POCZĄTKOWE DAWKI GONADOTROPINY (ZE WZGLĘDU NA PIERWSZE 5 DNI):

- **hipogonadyzm:** **150 IU/dzień**
- **zdrowy pacjent:** **150 IU/dzień**
- **pacjentka z obrazem jajników podobnym do zespołu policystycznych jajników** **75 IU/dobę**

KONTROLA POZIOMU HORMONÓW W SUROWICY

Dzień (próbki z rana)	2	7	10
	↓	↓	↓
	E_2 < 50 pg/mL	E_2 > 150 pg/mL	E_2
	P < 1.0 ng/mL		P
	hCG < 5 IU/L		
	Podawać dobową dawkę gonadotropiny przez 5 dni	Jeśli E_2 < 150 pg/ml: dodaj 1 ampułkę do dobowej dawki, przy stopniowym wzroście przez 3 dni Jeśli E_2 > 150 pg/ml: należy pozostać przy starej dawce	
USG	X		X
	- Skontrolować liczbę pęcherzyków i ich wielkość małe - średnie - duże) - Skontrolować grubość endometrium (≤ 5 mm)		

WAŻNE

→ ROZPOCZĘCIE PODAWANIA HORMONÓW

- **jeśli E_2 > 50 pg/mi oraz P > 1 ng/ml:**
  → poczekać, aktywne jest ciągle obecne ciałko żółte
  →torbiel do usunięcia
- **jeśli hCG > 5 IU/l:** nie należy rozpoczynać leczenia, ale oznaczać dalej hCG aż do uzyskania wyniku ujemnego
- ewentualna wczesna ciąża i należy podać mikronizowany progesteron

KRYTERIA DOTYCZĄCE PODAWANEJ DAWKI OWULACYJNEJ HCG (5000 IU LUB 10.000 IU):

1) **3 pęcherzyki ≥ 17 mm w obu jajnikach**
2) **Wartość E2: 150-300 pg/ml x liczba pęcherzyków ≥ 15 mm**
3) **Wartość progesteronu powinna pozostać na poziomie ≤ 1,5 ng/ml**

Kluczowy zastrzyk hCG jest kontrolowany w ciągu 24 godzin po podaniu ze względów bezpieczeństwa. Jeśli w surowicy nie można wykryć hCG, podawany jest kolejny zastrzyk, a procedura pobrania jajeczka jest przekładana. Krok ten zmniejsza prawdopodobieństwo wystąpienia tzw. "zespołu pustego jaja płodowego".

ZWIĘKSZYĆ DAWKI CO 3 DNI O:

75 IU
75 IU
37.5 IU

W przypadku zespołu policystycznych jajników dawka zmieniana jest co 5 do 7 dni, z maksymalnym zwiększeniem dawki o 37,5 IU na dobę w dniach 5 do 7.

	12	13	21	28
	↓	↓	↓	↓
	E_2			
	P		P	P
		hCG		hCG
	LH			
	E_2: należy liczyć 150-300 pg/ml na pęcherzyk > 15 mm P: jeśli P > 1.5 ng/ml LH: jeśli LH > 15 IU/l hCG: oznaczyć poziom w surowicy			P: jeśli P > 5 ng/ml oraz hCG > 10 IU/l należy kontrolować co 3 dni
	X			
	- Skontrolować grubość endometrium (> 8 mm)			
	→ **DECYZJA O PODANIU ZASTRZYKU Z HCG (5,000 LUB 10,000 IU):**			
	• w przypadku 2-3 pęcherzyków i największego pęcherzyka o średnicy 17 mm • jeśli P > 1.5 ng/ml: oznacza początek fazy lutealnej • jeśli P > 3 ng/ml: zbyt późno, pacjentka już miała owulację • jeśli LH > 15 IU/l: początek szczytu LH			• jeśli hCG > 10 IU/l: podać jeden co każde 3 dni • jeśli P < 5 ng/ml: podać jeden co każde 3 dni **Podejrzenie samoistnego wczesnego poronienia lub ciąży pozamacicznej**

6. BEZPIECZNE PRZECHOWYWANIE PLEMNIKÓW, OOCYTÓW I ZARODKÓW

Bezpieczne przechowywanie wymaga, by status serologiczny każdego pacjenta seronegatywnego został ponownie zbadany w każdym cyklu leczenia.

Przechowywanie zarodków podczas cyklu IVF lub ICSI wymagane jest przez większość Europejskich Agencji Zdrowia w celu ograniczenia liczby zarodków przeznaczonych do transferu do 1 lub 2. Nadliczbowe zarodki powinny zostać zamrożone w celu dalszego ich wykorzystania przez parę w kolejnych cyklach transferu.

Obowiązujące obecnie regulacje europejskie określają, że przed zamrożeniem zarodków (lub gamet) w banku, konieczne jest określenie profilu serologicznego pary w kierunku HIV oraz wirusowego zapalenia wątroby typu B i C w celu uniknięcia skażenia banku. Dyrektywa Europejska wskazuje, że podobne środki ostrożności należy podjąć w przypadku zamrażania w banku plemników oraz oocytów.

Przyjmowanie gamet przeznaczonych do przekazania ich innym parom dotyczyć może wyłącznie świeżych tkanek, pod warunkiem że wynik oznaczenia kwasu nukleinowego (NAT) w kierunku HIV, zapalenia wątroby, chlamydii i HTLV-1 (w przypadku dawcy pochodzącego z grupy ryzyka) ma wynik ujemny.

Zasady Dobrej Praktyki Klinicznej zakładają również badanie profilu serologicznego pacjenta w kierunku kiły, toksoplazmozy, różyczki i cytomegalii, ponieważ te zakażenia wrodzone mogą powodować nieodwracalne uszkodzenia płodu. Pacjentom seronegatywnym można zaproponować szczepienie (jeśli jest dostępne) lub mogą zostać przekazane im zalecenia dotyczące szczególnych zasad higieny w okresie ciąży pozwalających uniknąć kontaktu z patogenem.

➡ Kriokonserwacja realizowana jest albo przez sterowane komputerowo zamrożenie w aparacie lub witryfikację.

7. ROLA OZNACZANIA POZIOMU HORMONÓW W PRAKTYCE

CO MOGĄ POWIEDZIEĆ NAM WYNIKI OZNACZEŃ POZIOMU HORMONÓW?

Ogólne kryteria pomyślnej stymulacji jajników, niezależnie od zastosowanej procedury

Stymulację gonadotropiną przy IVF/ICSI należy rozpocząć tylko wtedy, gdy wszystkie hormony przyjmują wartości podstawowe.

Jeżeli pacjentka została poddana leczeniu wstępnemu (agonista GnRH lub stosowanie antykoncepcji):

FSH i LH ≤ 2 IU/l, E_2 ≤ 50 pg/ml, P ≤ 1 ng/ml

Każdy wzrost wartości oznacza, że pacjentka:

- albo nie jest jeszcze w stanie podstawowym: jeśli LH > 2 IU/l, dawka agonisty GnRH była niewystarczająca
- lub utworzyła się cysta wytwarzająca sterydy: E_2 > 50 pg/ml, P > 1 ng/ml

ROZWIĄZANIE:

- Pacjentka otrzymuje odpowiednią dawkę agonisty GnRH
- Pacjentka wymaga usunięcia torbieli (procedura ambulatoryjna)

Skuteczność terapii korygujących jest kontrolowana przez oznaczenie nowej próbki krwi pobranej 3 dni później w celu potwierdzenia wartości podstawowych.

Jeżeli leczenie rozpocznie się w dniu 1 lub 2 naturalnego cyklu miesiączkowego pacjentki i jeśli E_2 > 50 pg/ml i P ≥ 1 ng/ml, oznacza to, że ciałko żółte z poprzedniego cyklu nadal nie zostało całkowicie wchłonięte.

ROZWIĄZANIE: W tym przypadku należy pobrać próbkę następnego dnia.

Jeśli E_2 i/lub wartości P pozostają wciąż wysokie, może oznaczać to przypadkową ciążę. Ciążę można stwierdzić przez dodatni wynik oznaczenia hCG.

ROZWIĄZANIE: Dalsze badanie przez pobranie próbek krwi co 3 dni w celu oznaczenia wzrostu poziomu hCG (powinien być wykładniczy) oraz wzrostu poziomu progesteronu.

UWAGA: Niektóre z tych ciąż mogą zakończyć się ciążą pozamaciczną lub wczesnym poronieniem.

Wzrost E_2 powinien odzwierciedlać wzrost liczby rosnących pęcherzyków

- Oznaczanie próbek krwi po 5 do 6 dniach ciągłego podawania gonadotropiny pokaże, jeśli osiągnięta została wartość progowa FSH dla wzrostu pęcherzyka, że wartość E_2 powinna wynosić co najmniej ≥ 150 pg/ml. W tym przypadku pacjentka może otrzymywać tę samą dawkę FSH. W przeciwnym razie należy zwiększać dawkę FSH lub HMG o 75 IU na dobę i zbadać krew 3 dni później.
- Po 8 dniu stymulacji wartość E_2 powinna podwajać się co 2 do 3 dni.
- Jeśli E_2 nie wzrasta w okresach 2-dniowych, oznacza to, że rozpoczęła się luteinizacja największych pęcherzyków. Można to także zaobserwować przez podwojenie się wartości P w ciągu 24 godzin.
- W przypadku pęcherzyka o średnicy większej niż 15 mm E_2 osiąga wartości od 150 do 300 pg/ml, co oznacza obecność pęcherzyka przedowulacyjnego

UWAGA: decyzja o podaniu hCG w zastrzyku podejmowana jest dla wartości E_2 zgodnej ze średnicą pęcherzyka zmierzoną w badaniu ultrasonograficznym.

TRZY SYTUACJE ALARMOWE WSKAZANE PRZEZ POZIOM E_2

1. Jeżeli przy rosnących pęcherzykach (potwierdzonych przez USG) praktycznie nie ma wzrostu E_2 we krwi, oznacza to, że pacjentka ma zbyt mały poziom LH.
   ROZWIĄZANIE: Podanie preparatu zawierającego bioaktywny LH jako suplementu.

2. Jeżeli po 6 do 7 dniach stymulacji obserwowany jest nagły spadek poziomu E_2 (zamiast oczekiwanego wzrostu) przy jednoczesnym wzroście P, może to oznaczać początek luteinizacji.
   ROZWIĄZANIE: Wstrzymanie podawania FSH/HMG i podanie hCG w zastrzyku, ponieważ można spodziewać się dalszego wzrostu pęcherzyka.

3. Jeśli E_2 osiągnął nagle wartości > 3000 pg/ml i na obrazie USG widocznych jest mnóstwo małych i średnich pęcherzyków w obu jajnikach, wskazuje to na zespół hiperstymulacji jajników.
   ROZWIĄZANIE: Wstrzymanie podawania FSH w zastrzykach i utrzymanie podawania pacjentce analogów GnRH, do momentu gdy pęcherzyki nie staną się artretyczne. Wymaga to ścisłego kontrolowania stanu pacjentki (co najmniej raz na 2 dni) do momentu, gdy E_2 powrócą do wartości podstawowej.

Oznaczenia progesteronu w fazie folikularnej jako istotny czynnik predykcyjny ciąży

1. Na początku cyklu (Dzień 1-3)

Wzrost poziomu progesteronu (≥ 1 ng/ml) we wczesnej fazie folikularnej wskazuje na istnienie "starych" ciałek żółtych.

ROZWIĄZANIE: Wstrzymanie wszystkich zabiegów i poczekanie na wchłonięcie ciałka żółtego.

2. Pod koniec fazy stymulacji pęcherzyka

Wzrost poziomu progesteronu pod koniec okresu stymulacji do wartości ≥ 1,5 ng/ml może wskazywać na:

- Obecność wielu pęcherzyków przy braku LH podczas stymulacji
- Początek fazy luteinizacji w największym pęcherzyku(ach) (dzieje się często tak przy braku synchronizacji: jeden duży pęcherzyk > 20 mm z kohortą mniejszych pęcherzyków)
- Zbyt długą lub nadmierną stymulację.

ROZWIĄZANIE: w kolejnym zabiegu należy stosować preparat gonadotropinowy zawierający bioaktywny LH.

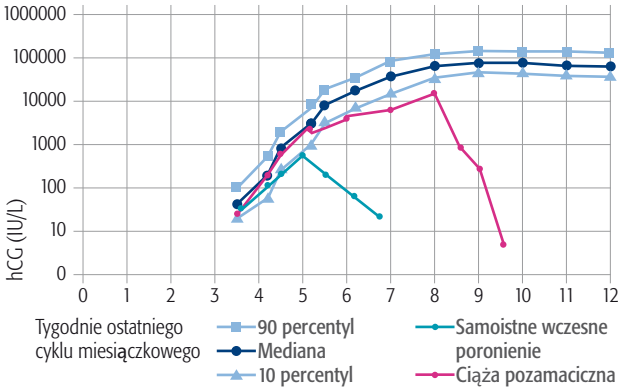
UWAGA: Wzrost poziomu progesteronu przed wstrzyknięciem hCG związany był z 50% spadkiem liczby ciąż ze względu na negatywne skutki dla komórek endometrium (*Smitz i inni, 2007; Fleming i inni, 2008; Bosch i inni, 2010*).

JAK OZNACZANIE POZIOMU HORMONÓW WPŁYWA NA WYNIK LECZENIA?

Poziom hCG w surowicy pozostaje najbardziej czułym i swoistym parametrem pozwalającym stwierdzić implantację jednego lub większej liczby zarodków.

Ogólnie, pacjenci proszeni są o dostarczenie próbki krwi w 15 dniu po stymulującym owulację zastrzyku hCG, nawet jeśli rozpoczęła się już miesiączka. Próbka ta jest wystarczająco odległa od przedowulacyjnej dawki hCG (10.000 IU), by nie miał on wpływu na wynik oznaczeń.

Rysunek 6: Dalsze badania uzyskanych wyników w przypadku procedur IVF/ICSI



Przy poprawnie zaimplantowanym zarodku wartości hCG podwajają się co 2 dni. Temu wykładniczemu wzrostowi poziomu hCG towarzyszą zwykle wartości progesteronu wyższe niż 10 ng/ml (cykl bez stymulacji w tygodniach 4 i 5 ostatniego cyklu miesiączkowego) lub 30 ng/ml (cykl stymulowany).

- Postymulacyjne wartości progesteronu są wyższe niż w normalnym cyklu miesiączkowym ze względu na wielokrotną owulację.
- Odchylenia od normy, tj. powolny wzrost wartości hCG (poniżej 10 percentyla i/lub odbiegające od poprzedniej wartości percentyla) i związane z wartością progesteronu < 5 ng/ml, wskazują na ciążę pozamaciczną lub poronienie.
- Kolejne próbki krwi (w przeciwieństwie do próbki pojedynczej, pobranej sporadycznie) mogą być wyraźnym wskazaniem, czy wartości rozwijają się bardzo dobrze lub raczej odbiegają od krzywej wartości normalnych.

Jeżeli przetransferowany został więcej niż jeden zarodek, wzrost wartości hCG może oznaczać ciążę mnogą. W przypadku implantacji podwójnej, 50 percentyl hCG będzie odpowiadać 90 percentylowi profilu hCG dla pojedynczej implantacji.

Zaleca się dalsze kontrolowanie ciąż będących wynikiem ART przez oznaczenia wartości hCG, E_2 i P. Każde odchylenie od zmian hCG wymaga pobierania próbki kontrolnej co 3 dni, aż do uzyskania pełnego obrazu przez badanie ultrasonograficzne (tydzień 6 i 7). Konieczne jest monitorowanie ciąży pozamacicznej, ciąży zaśniadowej i samoistnego wczesnego poronienia w celu uniknięcia poważnych powikłań (*Anckaert i inni, 2005*). Wczesne rozpoznanie i precyzyjne monitorowanie pozwala na podjęcie właściwej decyzji zarówno w odniesieniu do leczenia (leczenie Metothrexatem) oraz bardziej inwazyjnej interwencji laparoskopowej.

DLACZEGO TAK WAŻNE JEST OZNACZANIE WARTOŚCI HORMONÓW PODCZAS STYMULACJI W RAMACH IVF/ICSI?

W naturalnym cyklu miesiączkowym owulacja jednego dojrzałego, gotowego do zapłodnienia jajeczka jest wynikiem bardzo precyzyjnego współdziałania różnych hormonów synchronizujących istotne etapy cyklu miesiączkowego: owulacja dojrzałego oocytu, luteinizacja ciałka żółtego, okno implantacyjne endometrium.

W przypadku procedury wywoływania jajeczkowania delikatna równowaga burzona jest przez stosowanie egzogennych gonadotropin, co jest przyczyną asynchroniczności różnych etapów rozwoju biologicznego (np. dojrzałości oocytu i etapu różnicowania warstwy ziarnistej; etapu różnicowania endometrium i stadium rozwoju zarodka).

Staranne dobranie leków do innych decyzji terapeutycznych musi być oparte wyłącznie na wynikach badań, gdy poziomy podstawowych hormonów reprodukcyjnych kontrolowane są w określonych punktach czasowych w zindywidualizowanej procedurze leczenia ukierunkowanej na pacjenta.

Literatura podaje jasne i będące wynikiem badań przeprowadzanych na dużą skalę dowody, mówiące że **prawdopodobieństwo ciąży można określić na podstawie wyników oznaczeń poziomów hormonów przeprowadzonych w ściśle określonym dniu cyklu** (*Andersen i inni, 2006; Smitz i inni, 2007; Bosch i inni, 2010; Fleming i inni, 2010*).

Prowadzone bez kontroli leczenie, po którym następuje punkcja pęcherzyków jest bardzo często przyczyną uzyskania oocytów z obniżoną zdolnością do dojrzewania i rozwoju. Ponadto nie istnieją obecnie żadne dobre narzędzia pozwalające kontrolować stan podatności błony śluzowej macicy, co prowadzi do ryzyka transferu dojrzałych oocytów do niegotowego na implantację endometrium.

STUDIUM PRZYPADKU: na kolejnych stronach opisano przykład powiązań pomiędzy wartościami hormonów i wynikiem leczenia.

STUDIUM PRZYPADKU
STYMULACJA IVF Z AGONISTĄ GNRH I MAŁĄ DAWKĄ HMG

Rysunek 7: Wykres przedstawiający wartości 3 oznaczanych hormonów

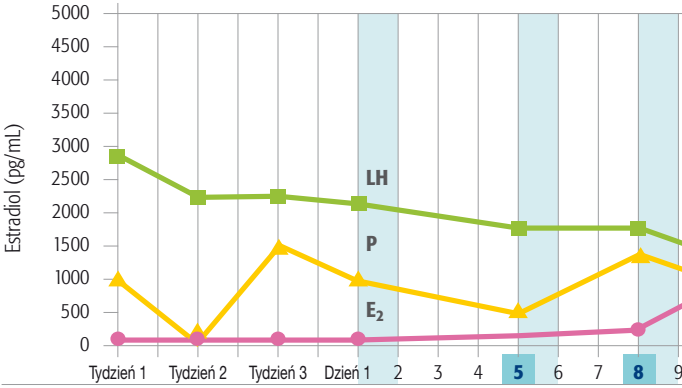


Tabela 1: procedura leczenia

GnRHa	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
hMG							1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	2
hCG														

Tabela 2: Wartości bezwzględne 5 oznaczanych hormonów

hCG IU/L														
FSH IU/L	2.9		2.4		1.8		3.5				6.2			8.1
P ng/mL	0.4		0.1		0.8		0.4				0.2			0.7
E_2 pg/mL	60		58		58		<50				146			242
LH IU/L	5.3		2.2		2.2		1.9				1.2			1.2
Dzień	T1		T2		T3		1	2	3	4	5	6	7	8

PANEL 1 ▶

Średnica	L	P
< 10		
> 10		
N° cysts	0	0

PANEL 2

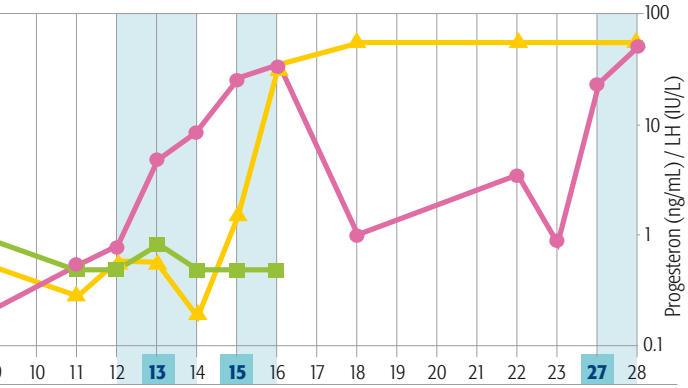
Panele 1 i 2 zawierają łączne liczby pęcherzyków w lewym (L) i prawym (P) jajniku w zależności od średnicy pęcherzyka mierzonej podczas USG.

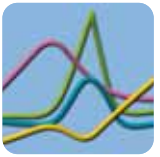
Dzień 5 i dzień 8: oznaczenie poziomu hormonów pokazujące powolny wzrost wartości E_2. Po zwiększeniu dawki do 2 ampułek. E_2 osiąga poziom 1531 pg/ml. W jajnikach znajduje się tylko kilka dużych pęcherzyków (16-19 mm), ale znajduje się tam wiele pęcherzyków średnich (10-16 mm).

Dzień 13: wartość E_2 osiąga 2800 pg/ml, co pozwala podjąć decyzję o przejściu do fazy końcowego dojrzewania przez podanie 10.000 IU hCG.

Dzień 15: wzrost E_2 do 4315 pg/ml, co jest wynikiem obecności wielu pęcherzyków. W ciągu 36 godzin po podaniu hCG wykonana została punkcja pęcherzyka i pobrano aż 30 oocytów. Po pobraniu oocytów i ich zapłodnieniu, 2 zarodki zostały przetransferowane, a 10 innych zostało zamrożonych.

AKTUALNY PRZYPADEK: pacjentka z obrazem jajników podobnym do zespołu policystycznych jajników leczona agonistą GnRH w długim protokole. Początkowo podjęto próbę desensytyzacji, która trwała kilka tygodni i obejmowała podawanie donosowego sprayu. Po 3 tygodniach (T3), wszystkie hormony miały wartości podstawowe i można było rozpocząć stymulację podając 1,5 ampułki HMG na dobę, przy jednoczesnym kontynuowaniu podawania agonisty GnRH.





8. NAJCZĘŚCIEJ ZADAWANE PYTANIA (FAQ)

P1: Jeżeli po 10 dniach leczenia agonistą GnRH, oznaczenie próbki krwi pacjentki stale pokazuje E_2 na poziomie około 200 pg/ml i wartość P oscylującą wokół 2,5 ng/ml, jakie powinno być wstępne podejrzenie i co powinno zostać zbadane?

O1: Oznaczenie obecności hCG.

W przypadku wyniku dodatniego, oznacza to początkową fazę ciąży. Należy podać progesteron i przeprowadzić badanie USG.

Jeżeli jest to kontynuacja leczenia, a hCG wzrasta w granicach normy, to "przypadkowa" ciąża może być uratowana przez podanie P. Jeśli poziom hCG nie zwiększy się wystarczająco, należy podejrzewać samoistne wczesne poronienie lub ciążę pozamaciczną.

P2: Dlaczego należy oznaczyć poziom progesteronu także przed owulacją?

O2: Progesteron oddziałuje na estrogenizowane endometrium, które otwiera i zamyka ”okno impnatacyjne”. Gdy P > 1 ng/ml w 2 dniu cyklu, oznacza to, że nie zostało wchłonięte ciałko żółte z poprzedniego cyklu.

Gdy P > 1,5 ng/ml pod koniec stymulacji gonadotropiną, oznacza to brak równowagi spowodowany brakiem aktywności biologicznej LH w obecności zbyt dużych dawek FSH. W przypadku tych pacjentów szanse na ciążę maleją o 50% (*Platteau i inni; 2008*). Kolejny etap leczenia musi zostać odpowiednio dostosowany.

P3: Dlaczego testosteron we krwi niepłodnych kobiet zgłaszających się na leczenie jest przydatnym parametrem?

O3: Może on wskazywać na hiperandrogenizm wywołany zespołem policystycznych jajników. U tych pacjentek istnieje ryzyko hiperstymulacji i w ich przepadku leczenie musi być przeprowadzane bardzo ostrożnie przez podawanie małych dawek gonadotropin oraz przy bardzo powolnym wzroście dawki.

P4: Czy podczas leczenia ważne jest oznaczanie poziomu LH/FSH?

O4: Jeżeli pacjentka jest regulowana "w dół" przez podawanie analogu GnRH, gwałtowny wzrost LH może spowodować owulację. Dlatego też konieczne jest kontrolowanie poziomu LH wraz z E_2 (i P na początku i na końcu cyklu stymulacji). Ponadto, jeśli po upływie 10 dni regulacji "w dół", poziom LH i FSH nie maleje, może to wskazywać na złą reakcję pacjentki na leczenie.

P5: Czy wzrost LH może być precyzyjnie kontrolowany przez oznaczenie jednej próbki krwi na dobę?

O5: Nie, postępowanie takie nie zapewnia wystarczającej precyzji, ponieważ dokładnie w ciągu 36 godzin od chwili wykrycia LH przez jajnik następuje owulacja pęcherzyka.

W przypadku IVF ICSI pobieranie krwi co 4 godziny pozwala precyzyjnie określić czas rozpoczęcia wydzielania LH, co z kolei pozwala zaplanować pobieranie oocytów na 30 godzin później (przed samoistnym pęknięciem pęcherzyka.

Lista skrótów

ACTH	Hormon adrenokortykotropowy, kortykotropina
AMH	anty-Mülerowski, hormon AMH
Anti-TPO	Przeciwciała przeciwtarczycowe
ART	Techniki Wspomaganego Rozrodu
CASA	Komputerowa analiza nasienia
CC	Cytrynian klomifenu
CNS	Ośrodkowy układ nerwowy
CT-scan	Skan tomografii komputerowej
DHEA-S	Siarczan dehydroepiandrosteronu
E2	Estradiol
FSH	Hormon folikulotropowy, folitropina (folikulostymulina)
FT3 / FT4	Wolne hormony tarczycy FT3/FT4 wolna trójjodotyronina/wolna tyroksyna (wyniki badań czynności tarczycy)
GH	Hormon wzrostu
HCG	Gonadotropina kosmówkowa
HMG	Gonadotropina menopauzalna
ICSI	Mikroiniekcja plemnika do komórki jajowej
IGF-1	Insulinopodobny czynnik wzrostu 1
IU	Jednostki międzynarodowe
IUI	Inseminacja domaciczna
IVF	Zapłodnienie *in vitro*
IVF-ET	Zapłodnienie *in vitro* z transferem zarodków
LH	Hormon luteinizujący
LMP	Ostatni cykl miesiączkowy
M	Miesiączka
MRI	Rezonans magnetyczny
nRH	Gonadoliberyna, hormon uwalniający gonadotropinę
OHSS	Zespół hiperstymulacji jajników
OPU	Procedura pobierania oocytów
P	Progesteron
PCOS	Zespół policystycznych jajników
PRL	Prolaktyna
SHBG	Białko wiążące hormony płciowe
TSH	Hormon tyreotropowy, Tyreotropina

Literatura

■ Anckaert E, Mees M, Schiettecatte J et al. Clinical validation of a fully automated 17beta-estradiol and progesterone assay (VIDAS) for use in monitoring assisted reproduction treatment. Clin Chem Lab Med 2002; 40: 824-831.

■ Anckaert E, Nanos N, Schiettecatte J et al. Serum hormones for predicting pregnancy outcome after assisted reproductive technology. Reprod Biomed Online 2005; 11:183-188.

■ Andersen AN, Devroey P, Arce JC for the MERIT Group. Clinical outcome following stimulation with highly purified hMG or recombinant FSH in patients undergoing IVF: a randomized assessor-blind controlled trial. Hum Reprod. 2006; 21:3217-3227.

■ Baart EB, Macklon NS, Fauser BJ. Ovarian stimulation and embryo quality. Reprod Biomed Online 2009; 18 (Suppl. 2):45-50.

■ Boivin J, Buntin L, Collins JA, et al. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking : potential need and demand for infertility medical care. 2007; 22:1506-1512.

■ Bosch E, Valenci I, Escudero E, et al. Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with *in vitro* fertilization outcome. Fertil Steril. 2003; 80:1444-1449.

■ Bosch E, Labarta E, Crespo J, et al. Circulating progesterone levels an ongoing pregnancy rates in controlled ovarian hyperstimulation cycles for *in vitro* fertilisation: analysis of over 4000 cycles. Human Reprod. June 10, 2010 ; 25:2090-2100.

■ Coomarasamy A, Afnan M, Cheema D, et al. Urinary hMG *versus* recombinant FSH for controlled ovarian hyperstimulation following an agonist long down-regulation protocol in IVF or ICSI treatment: a

systematic review and meta-analysis. Hum Reprod. 2008; 23:310-315.
■ Cooper TG, Noonan E, von Eckardstein S, et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. Hum Reprod Update 2009; 16:231-245.
■ Coucke W, Devleeschouwer N, Libeer JC, et al. Accuracy and reproducibility of automated estradiol-17beta and progesterone assays using native serum samples: results obtained in the Belgian external assessment scheme. Hum Reprod. 2007; 22: 3204-3209.
■ European Directive for Tissue Banking and Reproductive Cells: DIRECTIVE 2004/23/EC, on setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. http://europa.eu/legislation_summaries/public_health/threats_to_health/c11573_en.htm.
■ Cresswell JL, Egger P, Fall CHD, et al. Is the age of menopause determined in-utero? Early Hum Dev. 1997; 49:143-148.
■ Fatemi HM, Popovic-Todorovic B, Papanikolaou E, et al. An update of luteal phase support in stimulated IVF cycles. Hum Reprod Update 2007; 13:581-590.
■ Fleming R. Progesterone elevation on the day of hCG: methodological issues. Hum Reprod Update. 2008; 14:391-392.
■ Fleming R, Jenkins J, et al. The source and implications of progesterone rise during the follicular phase of ART cycles. Reprod BioMed Online 2010; doi:10.1016/j.rbmo.2010.05.018.
■ Gosden RG and Finch CE. Definition and character of reproductive ageing and senescence. In: te Velde ER, Pearson PL, Broekmans FJ (eds); Female reproductive ageing. Parthenon Publishing Group; New York 2000; pp. 11-26.
■ Heijnen EM, Eijkemans MJ, De Klerk C, et al. A mild treatment strategy for in-vitro fertilisation: a randomised non-inferiority trial. Lancet 2007; 369: 743-749.
■ Lambalk C, Leader A, Olivennes F, et al. Treatment with the GNRH antagonist ganirelix prevents premature LH rises and luteinisation in stimulated intrauterine insemination: results of a double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. Hum Reprod. 2006; 21: 632-639.
■ Loumaye E, Engrand P, Howles CM, et al. Assessment of the role of serum luteinizing hormone and estradiol response to follicle-stimulating hormone on *in vitro* fertilization treatment outcome. Fertil Steril. 1997; 67:889-899.
■ Noyes RW, Hertig AT, Rock J Dating the endometrial biopsy. Am J Obstet Gynecol 1975; 122:262-263.
■ O'Connor KA, Holman DJ, Wood JW. Declining fecundity and ovarian ageing in natural fertility populations. Maturitas 1998; 30: 127-136.
■ Ombelet W, Puttemans P, Bosmans E. Intrauterine insemination: a first-step procedure in the algorithm of male subfertility treatment. In: Ombelet W and Vereecken A (eds); Modern Andrology. Oxford University Press; Oxford, UK. Hum Reprod. 1995; 10 (Suppl. 1): 90-102.
■ Ombelet W and Campo R. Affordable IVF for developing countries. Reprod Biomed Online. 2007; 15:257-265.
■ Platteau P, Nyboe Andersen A, Loft A, et al. Highly purified HMG *versus* recombinant FSH for ovarian stimulation in IVF cycles. Reprod Biomed Online 2008; 17: 190-198.
■ Posaci C, Smitz J, Camus M, et al. Progesterone for the luteal support of assisted reproductive technologies: clinical options. Hum Reprod. 2000; 15(Suppl. 1): 129-148.
■ Sauer MV. The impact of age on reproductive potential: lessons learned from oocyte donation. Maturitas 1998; 30:221-225.
■ Smitz J, Andersen AN, Devroey P for the MERIT Group. Endocrine profile in serum and follicular fluid differs after ovarian stimulation with HP-hMG or recombinant FSH in IVF patients. Hum Reprod. 2007; 3:676-687.
■ Tavaniotou A, Smitz J, Bourgain C, et al. Ovulation induction disrupts luteal phase function. Ann NY Acad Sci. 2001; 943:55-63.
■ te Velde ER, Dorland M, Broekmans FJ. Age at menopause as a marker for reproductive ageing. Maturitas 1998; 30:119-125.
■ The ESHRE Capri Workshop Group,. Intrauterine Insemination. Hum Reprod Update 2009; 15: 265-277.
■ van Noord-Zaadstra BM, Looman CWN, Alsbach H, et al. Delaying childbearing: effect of age on fecundity and outcome of pregnancy. Br Med J 1991; 302:1361-1365.
■ van Steirteghem AC, Nagy Z, Joris H, et al. High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod. 1993; 7:1061-1066.
■ Volarcik K, Sheean L, Goldfarb J, et al. The meiotic competence of in-vitro matured human oocytes is influenced by donor age: evidence that folliculogenesis is compromised in the reproductively aged ovary. Hum Reprod. 1998; 13:154-160.

VIDAS

Zaprojektowany na przyszłość

- **Średni czas oczekiwania na wynik: 60 minut**
- **Niezawodność** (MTBF* > l00 dni)
- **Łatwy w obsłudze: system nanotestów**
- **Gotowe do użycia odczynniki** (1 pacjent = 1 test)
- **Szerokie menu** (> 100 testów)

* *Mean Time Between Failure* - średni czas pomiędzy usterkami

VIDAS

mini VIDAS

Zautomatyzowane wieloparametrowe analizatory immunologiczne

Firma bioMérieux ma ponad trzydziestoletnie doświadczenie w dziedzinie badań immunologicznych.

Nasza rozległa wiedza znajduje odzwierciedlenie w wiodącej pozycji systemu VIDAS® - ponad 23.000 zainstalowanych systemów na całym świecie.

VIDAS® i mini VIDAS®

Zautomatyzowane, wieloparametrowe analizatory immunologiczne VIDAS uznawane są na całym świecie za rozwiązania **wiarygodne, precyzyjne** i posiadające **obszerne menu testów** (możliwość oznaczania ponad 100 parametrów).

Systemy VIDAS są w pełni dostosowane do wymogów małych i średnich laboratoriów i są **szeroko stosowane w ośrodkach leczenia niepłodności**.

Każde oznaczenie hormonów przy pomocy testu VIDAS jest podstawowym narzędziem diagnostyki i kontroli przebiegu leczenia dla specjalistów zajmujących się leczeniem niepłodności przy badaniu dysfunkcji hormonów reprodukcyjnych oraz wdrażaniu procedur ART.

Oznaczenia HORMONÓW: mają znaczący wkład w diagnostykę niepłodności i monitorowanie leczenia Technikami Wspomaganego Rozrodu (ART)

OZNACZENIA HORMONALNE VIDAS

- Estradiol
- LH
- FSH
- Prolaktyna
- Progesteron
- Testosteron
- hCG
- TSH
- FT4

PODSTAWOWE PANELE SEROLOGICZNE VIDAS

- HIV
- Zapalenie wątroby typu B
- Toksoplazmoza
- Różyczka
- Wirus Cytomegalii (CMV)

Inne broszury edukacyjne:

- Diagnostyka i monitorowanie wybranych zakażeń matka - dziecko

Inne broszury dostępne są na stronie:
www.biomerieux.pl

Informacje zawarte w tej publikacji są jedynie wskazówkami diagnostycznymi i z założenia nie są wyczerpujące.
bioMérieux nie ponosi odpowiedzialności za stawiane diagnozy i leczenie zalecane przez lekarzy.

bioMeriéux Polska Sp. z o.o.
ul. Żeromskiego 17
01-882 Warszawa
Tel. (48) 22 569 85 00
Fax. (48) 22 569 85 54
www.biomerieux.pl

www.biomerieux.com

BIOMÉRIEUX

07-11/ 9301329/0100/PL/A / Dokument ten nie ma mocy prawnej. bioMerieux zastrzega prawo do jego modyfikacji bez powiadomienia/BIOMERIEUX i jego niebieskie logo, sformułowanie: Empowering Clinical Decisions oraz VIDAS są zarejestrowanymi (lub w takcie rejestracji) ichronionymi znakami towarowymi należącymi do bioMerieux S.A. lub jednej z jej spółek zależnych./bioMérieux S.A. RCS Lyon 673 620 399/Zdjęcia: N. Bouchut - Jupiterimages - Center for Reproductive Medicine, Free University Brussels (VUB)/Wydrukowano we Francji / **THERA Conseil** / RCS Lyon B 398 160 242.