



The role of endocrine factors in the pathogenesis of spontaneous abortion after IVF-ET

Tomasz Paszkowski, Wojciech Wrona, Piotr Szkodziak

3rd Chair and Department of Gynecology, Medical University of Lublin, Poland

Summary

There is large body of evidence to show that the risk of early pregnancy loss is higher after IVF-ET than after natural conception. Several hypotheses have been proposed to explain this phenomenon. One of the possible etiopathogenic factors is the patient's age which is significantly higher in women undergoing IVF than in the general population of naturally conceiving women. Immunologic factors have also been suggested. It seems that procedures like ICSI do not increase the risk of spontaneous abortion (SAB) after IVF-ET. Moreover, the proportion of products of conception with chromosomal aberration in cases of SAB following ICSI procedure is not elevated. Many authors point to the problem of iatrogenic

luteal defect after IVF-ET. The use of luteal support after IVF-ET is widely recommended. Interestingly, firm evidence is lacking regarding the efficacy of progestagen or hCG supplementation on the risk of SAB after IVF-ET. However the issue of the effectiveness of progesterone support in decreasing the risk of SAB after ART procedures is far from being conclusively resolved – it deserves well planned, randomized studied to be performed.

(Pol J Endocrinol 2005; 6(56): 970-974)

Key words: *IVF-ET, spontaneous abortion, luteal defect*

Rola przyczyn endokrynych w etiopatogenezie poronienia samoistnego po IVF-ET

Tomasz Paszkowski, Wojciech Wrona, Piotr Szkodziak

III Katedra i Klinika Ginekologii Akademii Medycznej im. prof. F. Skubiszewskiego w Lublinie

Słowa kluczowe: *IVF-ET, poronienie samoistne, niedomoga lutealna*



III Katedra i Klinika Ginekologii
Akademii Medycznej im. prof. Feliksa Skubiszewskiego
w Lublinie.
20-954 Lublin,
ul. Jaczewskiego 8
tel. (0-81) 7244268, (0-81) 7244677
fax. (0-81) 7425508

Poronienia samoistne dotyczą od 12% do 22%, wszystkich potwierdzonych klinicznie ciąży [1]. Straty ciąży występujące pomiędzy implantacją, a okresem manifestacji klinicznej są znacznie częstsze. Boklage szacuje, iż od 50% do 75% wszystkich ciąży kończy się poronieniem, natomiast wyniki

publikowane przez Charda wskazują na to, że 60% ciąży kończy się tzw. poronieniem biochemicznym [2, 3]. Ponad 80% poronień samoistnych zdarza się przed 12 tygodniem trwania ciąży [1].

Spośród najczęstszych przyczyn poronień samoistnych w populacji ogólnej podawane są

aberracje chromosomalne (40% – 60%). W 13% przyczyną strat wczesnych ciąży są anatomiczne wady narządu rodno u kobiety (macica jedno-rodna, macica dwurodza, macica podwójna, przegroda w jamie macicy) oraz choroby zmniejszające jamę macicy (mięśniaki macicy) [1].

Inne przyczyny poronień obejmują niewydolność ciała żółtego, niewyrównaną cukrzycę, niedoczynność lub nadczynność gruczołu tarczowego [1, 4]. Także niewydolność cieśniowo-szyjkowa, infekcje oraz wpływ czynników środowiskowych odgrywają ważną rolę w etiopatogenezie poronień samoistnych w populacji ogólnej. Udowodniono, iż palenie tytoniu znamienne zwiększa ryzyko wystąpienia poronienia samoistnego. Odbywa się to poprzez zmniejszenie wydzielania progesteronu, niekorzystne działanie toksyn zawartych w dymie tytoniowym oraz indukowanie stresu oksydacyjnego [1].

Utrata pierwszej ciąży we wczesnym okresie jej rozwoju nie ma na ogół istotnego wpływu na dalsze losy prokreacyjne pacjentek. Wśród niekorzystnych skutków poronienia sporadycznego wymienia się natomiast konsekwencje pozasomatyczne, takie jak żal występujący u 40% pacjentek bezpośrednio po stracie ciąży, depresję (12% - 50%) utrzymującą się od 6 do 12 miesięcy po stracie ciąży oraz zespoły lękowe [1].

Zupełnie inny wymiar posiada strata wczesnej ciąży u pacjentek, u których poczęcie wiązało się z zastosowaniem technik medycznie wspomaganego rozrodu a szczególnie zapłodnienia pozaustrojowego (IVF-ET). Dotyczy to kobiet, u których czas oczekiwania na zajście w ciążę była na ogół dłuższy niż w populacji kobiet płodnych.

Problem poronienia samoistnego po IVF-ET należy rozpatrywać w następujących aspektach:

- aspekcie klinicznym, traktując utratę wczesnej ciąży jako niepowodzenie terapii zapłodnienia pozaustrojowego.
- aspekcie psychologicznym, jako dramat dla partnerów większy aniżeli brak ciąży [5].
- aspekcie finansowym, ze względu na koszty dodatkowych procedur związanych z utratą ciąży.

W dostępnej literaturze przedmiotu częstość występowania poronień samoistnych po procedurach zapłodnienia pozaustrojowego waha się pomiędzy 18,1% a 40%. Pierwsze doniesienia na ten temat pojawiły się w 1995 roku w publikacji Ezra i Schenkera, w której wykazano, iż częstość ta wynosi 30% [6]. W 1997 roku Kiefer i wsp. zaobserwowali poronienia po IVF-ET w 40% [7]. Najnowsze publikacje na ten temat powstały w latach 2003-2005: Tummers i współpracownicy (2003) stwierdzili 21,7% poronień po IVF-ET, Bahceci i Ulug (2004) – 27,8%; Ioannidis i wsp. (2005) – 18,1%; Linsten i wsp. (2005) – 19% [8, 9, 10, 11]. Po uwidocznieniu akcji serca płodu w badaniu

USG ryzyko poronienia po IVF-ET spada o połowę [8]. Odpowiedź na pytanie czy ryzyko poronienia samoistnego po IVF-ET jest wyższe niż po poczęciu naturalnym nie jest łatwa. Wpływa na to fakt, iż rozwój wczesnych ciąż po IVF-ET jest zdecydowanie bardziej intensywnie monitorowany, co skutkuje w tej grupie pacjentek bardzo precyzyjnym określeniem częstości poronień, również subklinicznych. Przeważa jednak opinia, że ryzyko względne poronienia samoistnego po IVF-ET jest znamienne większe aniżeli po poczęciu naturalnym.

Wśród czynników ryzyka poronień po procedurach zapłodnienia pozaustrojowego należy wymienić późny wiek zajścia w ciążę, powikłania indukcji mnogiego jajczkowania, ciężką patologię nasienia oraz poronienia w wywiadzie. Palenie tytoniu zwiększa ryzyko straty ciąży po IVF-ET o 25% - 50% [7, 12]. Na fakt zwiększonej częstości występowania poronienia samoistnego po zapłodnieniu pozaustrojowym wpływa między innymi to, że wiek nieplodnych pacjentek poddawanych IVF-ET jest średnio o ok. 4 lata wyższy aniżeli wiek zajścia w pierwszą ciążę w populacji płodnej. Powyżej 37-40 roku życia odsetek ciąż po IVF-ET zakończonych poronieniem samoistnym wzrasta z dużą dynamiką. Zjawisko „starzenia się oocytów” w rezultacie nieprawidłowego dojrzewania jądrowego i cytoplazmatycznego komórki jajowej ma wpływ na wystąpienie wczesnych błędów rozrodo za pośrednictwem następującej sekwencji zjawisk:

Zakłócenie dwukierunkowej komunikacji między oocytem a komórkami ziarnistymi → utrata precyzji centrosomu w wytwarzaniu wrzeciona podziałowego → przeniesienie chromosomów poza płytkę metafazalną → zaburzenia szkieletu cytoplazmatycznego komórki jajowej → błąd dysrupcji chromosomów podczas I podziału mejotycznego → aneuploidia.

Zjawiskom tym towarzyszy jednocześnie spadek proliferacji i wzmożenie apoptozy komórek ziarnistych.

Wyżej wymienionym procesom towarzyszy następujące tło endokryne charakteryzujące kobietę w zaawansowanym wieku rozrodczym:

- spadek wytwarzania bioaktywnych dimerów inhibiny (inhibina A w fazie lutealnej; inhibina B w fazie folikularnej)
- wzrost wydzielania E_2 i spadek wydzielania FSH we wczesnej fazie folikularnej
- skrócenie fazy folikularnej
- przedwczesny wzrost stężenia P i postępująca niewydolność lutealna
- wcześniejszy pik LH.

Jeden z najbardziej fascynujących fenomenów biologii rozrodo człowieka polega na tym, że dojrzewający w pęcherzyku jajnikowym oocyt nie ma bezpośredniego dostępu do łożyska naczyniowego. Ostatnią unaczynioną warstwą ściany pęcherzyka

przedowulacyjnego jest *teca interna*. Tym samym „naturalna odżywkę” dojrzałego oocyta stanowi płyn pęcherzykowy. Ostatnie lata przyniosły interesujące doniesienia na temat roli niehormonalnych składników płynu pęcherzykowego w regulacji płodności kobiety w zaawansowanym wieku rozrodczym. W procesie „porozumiewania się” oocyta z komórkami ziarnistymi istotną rolę odgrywają także między innymi cytokiny jak insuliny, czynniki wzrostu 1 i 2, epidermalny czynnik wzrostu, czynnik wzrostu guza alfa i beta, czynnik wzrostu fibroblastów, interleukina-1, czynnik martwicy guza alfa czy wreszcie naczyniowy endotelialny czynnik wzrostu (VEGF). VEGF jest angiogenną cytokiną produkowaną przez komórki ziarniste. Poziom VEGF w płynie pęcherzykowym wzrasta u kobiet w premenopauzie, co ma odzwierciedlać zmiany niedokrwienne w obrębie ściany pęcherzyka Graafa. W przebiegu prawidłowego cyklu miesięczkowego w wieku rozrodczym, po szczycie LH dochodzi do gwałtownego przemodelowania mikrokrążenia w obrębie *teca interna* zapewniającego odpowiednie dotlenienie środowiska wewnątrzpęcherzykowego zawierającego wzgórek jajonośny z oocytem przedowulacyjnym. Jeżeli mechanizm ten zawodzi, oocyt w warunkach niedotlenienia jest bardziej narażony na aberracje chromosomalne, co tłumaczy relatywnie częste występowanie u kobiet w zaawansowanym wieku rozrodczym takich niepowodzeń rozrodu jak poronienie samoistne [13].

Do ważnych przyczyn strat ciąż powstałych z udziałem procedur medycznie wspomaganego rozrodu należy sam czynnik etiologiczny niepłodności. W publikacji Kiefera i wsp. częstość poronień samoistnych w grupie par z oligoastenoospermia jest o 240% wyższa aniżeli w grupie par z normospermia [7].

Inną potencjalną przyczyną poronień w tej grupie pacjentek jest wpływ samych procedur wykorzystywanych w ramach technik medycznie wspomaganego rozrodu. Do tej grupy należy zaliczyć ICSI, sposób hodowli zarodków i embriotransfer. Orvieto i wsp. porównali częstość poronień w zależności od zastosowania ICSI. W grupie par, u których zastosowano ICSI odsetek poronień klinicznych wyniósł 11%, natomiast po tzw. „klasycznym” IVF był ponad dwukrotnie większy. Wspomniani badacze zwrócili także uwagę, iż średnia wieku matek była 2 lata mniejsza w grupie, gdzie stosowano ICSI [14]. W ocenie Causio i współpracowników różnica w częstości występowania aberracji chromosomalnych stwierdzonych w płodów po ICSI i po tzw. „zapłodnieniu w szkle” była statystycznie nieznamienna i wyniosła dla ICSI 48%, a dla IVF 43% [15].

Istnieje hipoteza sugerująca jatrogeny wpływ embriotransferu w etiopatogenezie poronień po IVF-ET. Ma to mieć związek z ryzykiem wystąpienia subklinicznej infekcji związanej z urucho-

mieniem mediatorów w postaci cytokin i chemokin, co z kolei ma indukować zjawisko apoptozy w obrębie trofoblastu [16].

Częstość strat ciąż po IVF-ET znacznie spada przy transferze dwóch zarodków. Tummers i wsp. ocenili, iż w przypadku transferu pojedynczych embrionów częstość poronień całkowitych wyniosła 21,1%, natomiast w przypadku transferu dwóch zarodków była 4-krotnie niższa i wyniosła 5,1% [8].

Istotnym powikłaniem IVF-ET jest hyperstymulacja jajników. W przypadku wystąpienia zespołu OHSS ryzyko wystąpienia poronienia samoistnego wzrasta o 60%. Przyjmuje się, iż możliwymi tego przyczynami mogą być: hemokoncentracja i uszkodzenie śródbłonna, upośledzenie reaktywności naczyniowej, zwiększone ryzyko trombofilii, wysoki poziom estrogenemii, nieprawidłowe poziomy cytokin, dysregulacja układu renina-angiotensyna oraz działanie poronne prostaglandyn [16].

Istotną rolę w przypadkach poronień samoistnych po IVF-ET odgrywają czynniki genetyczne. Najczęstsze aberracje chromosomalne w poronieniach po IVF-ET to monosomia X oraz trisomie 22, 21, 13 i 4. W przypadkach tych znamiennej częściej niż po poczęciach naturalnych występuje trisomia 4, zaś rzadziej trisomia 16. Wiek pacjentki, etiologia niepłodności, protokół stymulacji, metoda zapłodnienia wpływają na częstość aberracji chromosomalnych w produktach koncepcji poronionych po IVF-ET [17].

Kolejnym czynnikiem poronień samoistnych po IVF są przyczyny immunologiczne. Cheng i Cao w 2005 roku wykazali, że w przypadkach strat ciąż po IVF obserwuje się w porównaniu z poronieniami po poczęciu naturalnym przesunięcie w kierunku toru Th-1 odpowiedzi immunologicznej na allograft ciążowy [18]. Immunomodulacyjne działanie niektórych progestagenów polega na bezpośrednim lub pośrednim hamowaniu odpowiedzi komórkowej typu Th-1. Hamowanie bezpośrednio obejmuje: indukcję syntezy PIBF (*progesterone-induced blocking factor*) we krwi krążącej i na poziomie trofoblastu, *down-regulation* cytokin „antyciążowych”, blokowanie aktywności i proliferacji cytotoksycznych komórek T i komórek naturalnych zabójców. Hamowanie pośrednie obejmuje: indukcję syntezy białka PP14, które hamuje aktywność komórek T i NK oraz obniżenie reaktywności mitogennej limfocytów.

W ostatnich kilkunastu miesiącach pojawiły się bardzo zachęcające doniesienia dotyczące roli progesteronu i jego bliskich pochodnych w immunomodulacji zjawisk prociążowych. Kalinka i wsp. oraz Raghupathy i wsp. stwierdzili, że dydrogesteron hamuje produkcję cytokin w torze Th1 oraz wpływa na tzw. upregulację cytokin toru Th2 przyczyniając się do korzystnych kierunków zmian immunologicznych w organizmie ciężarnej, promu-

jących przyjęcie allograftu ciążowego. Kluczową rolę w tym mechanizmie odgrywa stymulowanie u pacjentek z poronieniem zagrażającym syntezie indukowanego przez progesteron czynnika blokującego (PIBF), który ma działanie przeciwporonne [19, 20].

Kolejną przyczyną, która może być powodem zwiększonej częstości poronień samoistnych po zastosowaniu technik medycznie wspomaganego rozrodu jest jatrogena niedomoga lutealna. De Jong i wsp. wskazali, że u podłoża niedomogi lutealnej w tych przypadkach znajduje się farmakologiczna hypofizektomia, szczególnie przy zastosowaniu długiego protokołu GnRH-a oraz aspiracja dużej części puli komórek ziarnistych podczas punkcji pęcherzyków [21]. Niedomoga lutealna, skutkująca nieoptymalnym poziomem progesteronu powoduje wzrost ryzyka poronienia z powodu osłabienia następujących mechanizmów prociążowego działania tego hormonu:

- ułatwienie zagnieżdżenia, działanie placentotropowe,
- działanie relaksujące na myometrium poprzez zwiększenie liczby receptorów beta-adrenergicznych oraz zmniejszenie wrażliwości myometrium na działanie oxytocyny,
- działanie kurczące na okolicę ujścia wewnętrznego szyjki macicy,
- zmniejszanie syntezy prostaglandyn,
- poprawa ukrwienia i rozpulchnienia macicy,
- działanie immunosupresyjne i immunomodulacyjne.

Zastosowanie wsparcia lutealnego we wczesnych ciążach po zapłodnieniu pozaustrojowym jest problemem budzącym wiele kontrowersji a literatura przedmiotu zawiera w tym zakresie często rozbieżne konkluzje. Większość autorów rekomenduje zastosowanie progestagenów we wczesnej ciąży po IVF-ET, Speroff proponuje wczesne rozpoczęcie progestagenoterapii (3 doba po punkcji jajników) i zaleca jej prowadzenie do 10 – 12 tygodnia ciąży [22]. Z kolei Pritts i Atwood w swojej metaanalizie wykonanej w roku 2002 nie stwierdzili skuteczności wsparcia lutealnego w redukcji ryzyka poronienia samoistnego po IVF-ET [23]. Jednoznaczna odpowiedź na pytanie czy wsparcie lutealne we wczesnej ciąży po zapłodnieniu pozaustrojowym jest konieczne, nie jest na obecnym etapie wiedzy możliwa, ponieważ w opublikowanych dotychczas na ten temat badaniach brak analiz, gdzie poronienie stanowiło podstawowy *end-point*. Ponadto liczebność badanych populacji budzi poważne zastrzeżenia, a także brak wiarygodnych porównań schematów suplementacji, dawek oraz dróg podawania gestagenów w zapobieganiu poronieniom po IVF-ET [24, 25].

W związku z powyższym do czasu opublikowania rozstrzygających tę kwestię wniosków opartych o twarde dowody medyczne, praktycy

tak jak dotychczas skazani są na działania bardziej intuicyjne niż racjonalne.

Potencjalnie istotnym czynnikiem sprawczym strat wczesnych ciąż po procedurach zapłodnienia pozaustrojowego są również przyczyny pozasomatyczne. Oceniono, iż poziom stresu u obojga partnerów w czasie leczenia niepłodności jest istotnie podwyższony. Ponadto poziom stresu u kobiet, które zaszły w ciążę po IVF-ET jest wyższy, szczególnie w pierwszym trymestrze, w porównaniu z ciążymi po poczęciu naturalnym [5, 12, 26, 27].

Nasuwa się pytanie, czy można zmniejszyć ryzyko wystąpienia poronień samoistnych u kobiet poddawanych procedurom zapłodnienia pozaustrojowego.

Najbardziej obiecujące w tym kontekście wydają się być następujące kierunki działań:

- przełożenie na praktykę kliniczną bardzo zachęcających wyników badania wpływu niektórych progestagenów na prociążowy tor aktywności cytokin,
- przeprowadzanie genetycznego skriningu przedimplantacyjnego zarodków,
- całkowita eliminacja czynników ryzyka zależnych od pacjentki (np. palenie),
- doskonalenie technik hodowli pozaustrojowej zarodków,
- wsparcie psychologiczne pary niepłodnej, a następnie pacjentki, która w rezultacie leczenia niepłodności techniką rozrodu wspomaganego zaszła w ciążę.

Piśmiennictwo

1. Baszak E, Paszkowski T, Woźniak S et al. Poronienie samoistne. W: Patologia wczesnej ciąży. Red. Paszkowski T. IZT, Lublin 2004.
2. Boklage CE. Survival probability of human conceptions from fertilization to term. *Int J Fertil* 1990; 40: 245-253.
3. Chard T. Frequency of implantation and early pregnancy losses in natural cycles. *Baillieres Clin Obstet Gynecol* 1991; 5: 179-189.
4. Czajkowski K. Progesteron i gestageny w ciąży. W: Patologia wczesnej ciąży. Red. Paszkowski T. IZT, Lublin 2004.
5. Eugster A, Vingerhoets AJ. Psychological aspects if in vitro fertilization: a review. *Soc Sci Med* 1999; 48: 575-589.
6. Ezra Y, Schenker JG. Abortion rate in assisted reproduction: true increase? *Early Pregnancy* 1995; 1: 171-175.
7. Kiefer D, Check JH, Katstoff D. Evidence that oligoasthenozoospermia may be an etiologic factor for spontaneous abortion after in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1997; 68: 545-548.
8. Tummers Ph, De Sutter P, Dhont M. Risk of spontaneous abortion in singleton and twin pregnancies after IVF/ICSI. *Human Reprod* 2003; 8: 1720-1723.
9. Bahceci M, Ulug U. Does underlying infertility etiology impact on the first trimester miscarriage rate following ICSI? A preliminary report from 1244 singleton gestations. *Hum Reprod* 2005; 20: 717-721.
10. Ioannidis G, Sacks G, Reddy N et al. Day 14 maternal serum progesterone levels predict pregnancy outcome in IVF/ICSI treatment cycles: a prospective study. *Hum Reprod* 2005; 20: 741-746.

11. Lintsen AM, Pasker de Jong PC, de Boer EJ et al. Effects of subfertility cause, smoking and body weight on the success rate of IVF. *Hum Reprod* 2005; 20: 1867-1875.
12. Hjelmsstedt A, Widstrom AM, Wramsby H et al. Personality factors and emotional responses to pregnancy among IVF couples in early pregnancy: a comparative study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003; 82: 152-161.
13. Paszkowski T. Premenopauza - okres przejścia menopauzalnego. W: Diagnostyka i terapia wieku menopauzalnego. Red. Pertyński T. Urban & Partner, Wrocław 2004.
14. Orvieto R, Ben-Rafael Z, Ashkenazi J et al. Outcome of pregnancies derived from assisted reproductive technologies: IVF versus ICSI. *J Assist Reprod Genet* 2000; 17: 385-387.
15. Causio F, Fischetto R, Sarcina E et al. Chromosome analysis of spontaneous abortions after in vitro fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002; 105: 44-48.
16. Romero R, Espinoza J, Mazor M. Can endometrial infection/inflammation explain implantation failure, spontaneous abortion and preterm birth after in vitro fertilization? *Fertil Steril* 2004; 82: 799-804.
17. Tan YQ, Hu L, Lin G et al. Genetic changes in human fetuses from spontaneous abortion after in vitro fertilization detected by comparative genomic hybridization. *Biol Reprod* 2004; 70: 495-499.
18. Cheng LH, Cao YX. Study of correlation of transforming growth factor beta1 and its receptors with spontaneous abortion after in vitro fertilization and embryo transfer. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2005; 40: 299-301.
19. Kalinka J, Szekeres-Bartho J. The impact of dydrogesterone supplementation on hormonal profile and progesterone-induced blocking factor concentrations in women with threatened abortion. *AJRI* 2005; 53: 166-171.
20. Raughupathy R, Al Mutawa E, Makhseed M et al. Modulation of cytokine production by dydrogesterone in lymphocytes from women with recurrent miscarriage. *BJOG* 2005; 112: 1096-1101.
21. de Jong D, Macklon NS, Fauser BC. A pilot study involving minimal ovarian stimulation for in vitro fertilization: extending the "follicle-stimulating hormone window" combined with the gonadotropin-releasing hormone antagonist cetrorelix. *Fertil Steril* 2000; 73: 1051-1054.
22. Speroff L, Glass RH, Kase NG. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. Lippincott Williams & Wilkins, 1999.
23. Pritts EA, Atwood AK. Luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of the randomized trials. *Hum Reprod* 2002; 17: 2287-2299.
24. Artini PG, Volpe A, Angioni S et al. A comparative, randomized study of three different progesterone support of the luteal phase following IVF/ET program. *J Endocrinol Invest* 1995; 18: 51-56.
25. Ron ER, Nachum H, Golan A et al. Binovular human ovarian follicles associated with in vitro fertilization: incidence and outcome. *Fertil Steril* 1990; 54: 869-872.
26. Csemiczky G, Landgren BM, Collins A. The influence of stress and state anxiety on the outcome of IVF-treatment: psychological and endocrinological assessment of Swedish women entering IVF-treatment. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000; 79: 113-118.
27. Smeenk JM, Verhaak CM, Vingerhoets AJ et al. Stress and outcome success in IVF: the role of self-reports and endocrine variables. *Hum Reprod* 2005; 20: 991-996.