

## **Рандомизированное слепое стратифицированное по антимюллерову гормону, исследование реакции на дозу у японских пациенток с экстракорпоральным оплодотворением / интрацитоплазматической инъекцией сперматозоидов, которым проводится контролируемая стимуляция яичников с помощью фоллитропина дельта**

Осаму Исихара, MD, PhD, <sup>a</sup> Бьярке М. Кляйн, PhD, <sup>b</sup> и Джоан-Карлес Арс, MD, PhD, <sup>c</sup> для японской группы исследования фоллитропина дельты фазы 2 \*

<sup>a</sup> Отделение акушерства и гинекологии, Медицинский университет Сайтамы, Морояма, Ирума-гун, Сайтама, Япония; <sup>b</sup> «Ферринг Фармасьютикалс», «Глобал Байометрикс», Копенгаген, Дания; и <sup>c</sup> «Ферринг Фармасьютикалс», Репродуктивная медицина и материнское здоровье, Копенгаген, Дания

**Цель:** установить взаимосвязь между дозами фоллитропина дельта (рекомбинантный фолликулостимулирующий гормон, продуцируемый клеточной линией человека PER.C6) и реакцией яичников у японских женщин, подвергшихся экстракорпоральному оплодотворению/ интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов, и оценить влияние начального уровня антимюллерового гормона (АМГ).

**Дизайн:** рандомизированное, контролируемое, слепое, стратифицированное по АМГ исследование реакции на дозу (низкая 5,0–14,9 пмоль / л; высокая 15,0–44,9 пмоль / л).

**Учреждение:** клиники репродуктивной медицины.

**Пациенты:** всего 158 японок (20–39 лет).

**Вмешательства:** контролируемая стимуляция яичников с помощью 6, 9 или 12 мг / сут фоллитропина дельта или 150 МЕ / сут фоллитропина бета в качестве контрольной группы в цикле антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона.

**Основные показатели результата:** количество извлеченных ооцитов.

**Результат:** Среди всех женщин, которые начали стимуляцию, среднее количество (стандартное отклонение) ооцитов, извлеченных в группах с дельта фоллитропина 6 мг / сут, 9 мг / сут и 12 мг / сут, составило 7,0 4,1, 9,1 5,6 и 11,6 5,6, соответственно, и была установлена значимая зависимость от дозы, которая также оставалась значимой для каждой страты АМГ. В конце стимуляции фоллитропином дельта наблюдались также существенные дозозависимые эффекты для сывороточного эстрадиола, ингибина А и прогестерона. Частота жизнеспособной беременности на начатый цикл с дельта фоллитропином составляла 19% при 6 мг / сут, 20% при 9 мг / сут и 25% при 12 мг / сут. Частота раннего умеренного / тяжелого синдрома гиперстимуляции яичников с дельта фоллитропином составляла 8% при 6 мг / день, 8% при 9 мг / день и 13% при 12 мг / день, причем 82% случаев приходились на страту с высокой дозой АМГ.

**Выводы:** это исследование устанавливает зависимость между дозой дельта фоллитропина и ответом яичников у японских женщин.

**Регистрационный номер клинического исследования:** NCT02309671. (Fertil Steril 2020; -: ---. 2020 Американское общество репродуктивной медицины.)

**Ключевые слова:** антимюллеров гормон (АМГ), доза-реакция, дельта фоллитропин, экстракорпоральное оплодотворение, реакция яичников.

**Обсуждение:** можно обсудить эту статью с ее авторами и другими читателями на сайте: <https://www.fertstertdialog.com/posts/31067>

Поступило 22 июля 2020 г.; отредактировано 29 сентября 2020 г.; принято 20 октября 2020 г.

\* Японские центры и исследователи, участвующие в группе исследования фоллитропина дельта фазы 2: Фукуока, Такеши Курамото, Женская клиника Курамото; Гунма, Есимаса Экота, родильный дом Экота; Хиросима, Тецунори Мукайда, Хиросима, клиника HART; Хиого, Сёдзи Кокегучи, Центральная клиника репродуктивной медицины Ханабуса; Осака, Мотохару Исикава, Женская клиника Исикава; Хироцугу Оку, Женская клиника Китахама; Сайтама, Наоки Хаяси, женская клиника Muse; Нобору Инагаки, клиника «Сейнт Уименс»; Осаму Исихара, Медицинский университет Сайтамы; Токусима, Акира Кувахара, университетская больница Токусима; и Токио, Тосихиро Фудзивара, больница Санно.

О.И. получает гонорары от «Ферринг Фармасьютикалс», «Мерк» и «ОбсЭва СА» в качестве консультанта. В.М.К. является сотрудником компании «Ферринг Фармасьютикалс». J.-С.А. является сотрудником компании «Ферринг Фармасьютикалс» и имеет патентные заявки на дельта фоллитропин, утвержденные и ожидающие рассмотрения.

При поддержке «Ферринг Фармасьютикалс». Исследование было разработано спонсором в сотрудничестве с академическими исследователями. Центры сбора данных и исследований контролировались независимой клинической исследовательской организацией. Данные были собраны спонсором и проанализированы в соответствии с заранее определенным планом статистического анализа.

Частично представлено на 33-м ежегодном собрании Европейского общества репродукции человека и эмбриологии, Женева, Швейцария, 2–5 июля 2017 г.

Запросы на перепечатку: Жоан-Карлес Арс, MD, «Ферринг Фармасьютикалс», Репродуктивная медицина и материнское здоровье, Кей Фискерс Пладс 11, DK-2300 Копенгаген, Дания (электронная почта: [jca@ferring.com](mailto:jca@ferring.com)).

Препараты рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), полученные из линий клеток яичника китайского хомячка (СНО), для контролируемой стимуляции яичников с помощью вспомогательных репродуктивных технологий стали доступны в Японии в 2005 году. Внедрение рекомбинантного ФСГ в Японии не предшествовало исследованиям профилей зависимости реакции от дозы у японских женщин, подвергающихся экстракорпоральному оплодотворению (ЭКО) или интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов (ИЦИС). Таким образом, дозы рекомбинантного ФСГ, используемые для японских женщин, получены из клинического опыта с введением ФСГ, выделенного из мочи, и по данным неапонской популяции.

Разработка фоллитропина дельта, нового рекомбинантного человеческого ФСГ, экспрессированного в линии клеток-хозяев человеческого происхождения (PER.C6; Crucell), включала оценку зависимости доза-ответ в популяции ЭКО / ИЦИС (1). Для этого рекомбинантного человеческого ФСГ требовалась специальная оценка реакции на дозу, поскольку его профиль гликозилирования показывает более высокое общее содержание сиаловой кислоты, чем полученный из клеток СНО рекомбинантный ФСГ (2), что приводит к более низкому клиренсу и более длительному периоду полувыведения (3). Это также приводит к значительно более высокому фолликулярному и гормональному ответу яичников, чем препараты рекомбинантного ФСГ, полученные из клеток СНО, при введении в той же суточной дозе, выраженной в международных единицах (3). О значимой взаимосвязи между дозами фоллитропина дельта и параметрами ответа яичников сообщалось в предыдущем исследовании доза-реакция (1, 4), но 98% женщин были белой расы. Хотя не наблюдалось различий между белыми и японскими женщинами в отношении фармакокинетических свойств фоллитропина дельта (5), было бы полезно оценить конкретно у азиатских пациентов с ЭКО / ИЦИС влияние нескольких доз фоллитропина дельта на фармакодинамические параметры действия ФСГ, чтобы рекомендовать соответствующие дозы для этой популяции.

Целью этого исследования было установить зависимость ответа яичников от дозы фоллитропина дельта-дельта у японских женщин, подвергающихся контролируемой стимуляции яичников. Это исследование является первым испытанием зависимости реакции от дозы, проводимым с ежедневным применением рекомбинантного препарата ФСГ у японских пациентов с ЭКО / ИЦИС. Учитывая важность овариального резерва для способности пациентки реагировать на гонадотропины, исследование было стратифицировано в соответствии с сывороточным антимюллеровым гормоном (АМГ), биомаркером функционального резерва яичников и сильным предиктором ответа яичников на стимуляцию (6-10).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Это было многоцентровое рандомизированное, контролируемое, слепое исследование фазы 2, с параллельными группами, проведенное в 10 исследовательских центрах Японии в период с 15 декабря 2014 г. по 29 декабря 2015 г., с данными последующего наблюдения за беременностью, завершенными 12 октября 2016 года. Все исследователи, эмбриологи, персонал центральной лаборатории и спонсорский персонал не знали о назначении лечения на протяжении всего исследования. Испытание проводилось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации, Руководства по гармонизации надлежащей клинической практики Международного совета по гармонизации, надлежащей клинической практики Японии и местными нормативными требованиями. Протокол исследования был доведен до сведения Агентства по фармацевтике и медицинскому оборудованию и утвержден

экспертными советами учреждений, охватывающими все участвующие центры. Все пациенты дали письменное информированное согласие. После начала набора в порядок проведения исследования изменений внесено не было.

#### Исследуемая популяция

В исследование были включены японские женщины в возрасте 20–39 лет, подходящие для лечения ЭКО / ИЦИС, у которых было диагностировано трубное бесплодие, бесплодие по необъяснимой причине или бесплодие, связанное с эндометриозом стадии I / II, или с партнерами с диагнозом бесплодие по мужскому фактору. Дополнительными основными критериями включения были индекс массы тела 17,5–32,0 кг / м<sup>2</sup>, регулярные менструальные циклы продолжительностью 24–35 дней, наличие обоих яичников, сывороточная концентрация АМГ 5,0–44,9 пмоль / л и концентрация сывороточного ФСГ в ранней фолликулярной фазе 1–12 МЕ / л. Основными критериями исключения были III / IV стадии эндометриоза, три или более контролируемых цикла стимуляции яичников для ЭКО / ИЦИС, повторный выкидыш в анамнезе и использование гормональных препаратов (за исключением препаратов для лечения щитовидной железы) во время последнего менструального цикла перед рандомизацией. Все критерии включения / исключения перечислены в Дополнительной таблице 1 (доступна онлайн).

#### Схема лечения

На 2-3 день менструального цикла пациентки были рандомизированы в соотношении 1: 1: 1 для введения ежедневных подкожных инъекций 6, 9 или 12 мг фоллитропина дельта (Рековелл, 72 мг / 2,16 мл; «Ферринг Фармасьютикалс»), или 150 МЕ / сут фоллитропина бета (Фоллистим, 900 МЕ / 1,08 мл; MSD КК). Назначенная суточная доза была фиксированной на протяжении всего периода стимуляции. В качестве контрольной группы с целью проверки ответа яичников был включен фоллитропин бета. Рандомизация была стратифицирована в соответствии с уровнями АМГ при скрининге: низкий АМГ (5,0–14,9 пмоль / л [0,7– <2,1 нг / мл]) или высокий АМГ (15,0–44,9 пмоль / л [2,1–6,3 нг / мл]). Рандомизация проводилась централизованно через электронную индивидуальную регистрационную карту, блоками по четыре в пределах исследовательских центров и согласно списку рандомизации, подготовленному независимым статистиком. Для предотвращения преждевременного выброса лютеинизирующего гормона выполнялось введение антагониста гонадотропин-рилизинг-гормона (GnRH) (Ганирест; MSD К.К.) в суточной дозе 0,25 мг на 6-й день стимуляции и поддерживалось в течение всего периода стимуляции. Когда наблюдалось  $\geq 3$  фолликулов диаметром  $\geq 17$  мм, запуск окончательного созревания фолликулов осуществляли с помощью хорионического гонадотропина человека 5000 МЕ (ХГЧ ФУДЖИ; «Фуджи Фарма»). В случае плохой реакции яичников (<3 фолликулов диаметром  $\geq 10$  мм на 10-й день стимуляции) цикл отменяли. В случае чрезмерного ответа яичников ( $\geq 25$  фолликулов диаметром  $\geq 12$  мм) пациентам с 25–35 фолликулами диаметром  $\geq 12$  мм можно было вводить агонист гонадолиберин (Супрекур, 300 мг; «Санофи»/ «Мочида Фармасьютикалс Ко., Лтд.») или отменить цикл по решению исследователя, тогда как цикл должен был быть отменен в случае наличия > 35 фолликулов диаметром  $\geq 12$  мм.

Ооциты извлекали через 36 часов ( $\pm 2$  часа) после начала окончательного созревания фолликулов и оплодотворяли с помощью ЭКО или ИЦИС. Одну бластоцисту наилучшего качества переносили на 5-й день после извлечения ооцитов, в то время как оставшиеся бластоцисты можно было заморозить. Пациентам, у которых запуск был инициирован агонистом ГнРГ, перенос не производился, и все бластоцисты были криоконсервированы.

Для поддержки лютеиновой фазы предоставлялись вагинальные таблетки прогестерона (Лютинус; «Ферринг Фармасьютикалс») по 100 мг три раза в день со дня после извлечения яйцеклеток до дня визита клинической беременности, если применимо.

#### Конечные точки исследования и оценки исследования

Первичной конечной точкой было количество извлеченных ооцитов. Вторичные критерии оценки включали количество оплодотворенных ооцитов, развитие фолликулов, уровни некоторых гормонов яичников в сыворотке крови, продолжительность стимуляции, а также количество беременностей и случаев рождения живого ребенка. Оценка безопасности включала нежелательные явления, синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ), антитела к ФСГ, вызванные лечением, и реакции в месте инъекции.

Образцы крови отбирали во время испытания для оценки уровня АМГ, эстрадиола, ингибина В, ингибина А, прогестерона и антител против ФСГ. Сывороточный АМГ (1 нг / мл соответствует 7,143 пмоль / л) измеряли при скрининге для оценки пригодности и определения уровней рандомизации. Он был измерен в центральной лаборатории с помощью иммуноанализа Elecsys АМГ от «Рош Диагностикс». Образцы сыворотки для оценки гормонов яичников (эстрадиола, ингибина В, ингибина А и прогестерона) собирали в начале стимуляции, на 6-й день стимуляции и в конце стимуляции и анализировали в центральных лабораториях. Чувствительность и точность утвержденных тестов на гормоны представлены в дополнительной таблице 2 (доступна онлайн). Образцы сыворотки для оценки антител к ФСГ собирали в 1-й день стимуляции (перед дозированием) и через 8-10 дней и 21-28 дней (первый и второй периоды после введения) после последней дозы фоллитропина дельта или фоллитропина бета и анализировали в центральной лаборатории. Тест на  $\beta$ ХГЧ проводился через 13-15 дней после переноса бластоцисты с последующим трансвагинальным ультразвуковым исследованием через 5-6 недель после переноса для оценки клинической беременности (определяемой как минимум один внутриматочный или внутриматочный гестационный мешок через 5-6 недель после переноса) и жизнеспособной беременности (определяемой как по крайней мере один внутриматочный гестационный мешок с сердцебиением плода через 5-6 недель после переноса). Все беременности наблюдались в течение 4 недель после рождения живого ребенка.

Нежелательные явления регистрировались с момента подписанного информированного согласия до визита в конце испытания (т. е. визита при клинической беременности или, в случае отсутствия беременности, второго визита для введения анти-ФСГ после приема препарата через 21–28 дней после приема последней дозы гонадотропина). Все случаи СГЯ регистрировались как нежелательные явления и классифицировались по степени (1, 2, 3, 4 или 5) и уровню (легкий, умеренный или тяжелый СГЯ) в соответствии с системой классификации Голана (11). Ранний СГЯ определялся как СГЯ с началом  $\leq 9$  дней после запуска окончательного созревания фолликулов, а поздний СГЯ определялся как СГЯ с началом  $> 9$  дней после запуска окончательного созревания фолликулов. Пациент оценивал местную переносимость фоллитропина дельта и фоллитропина бета после подкожного введения три раза в день в течение периода стимуляции: сразу, через 30 минут и через 24 часа после инъекции.

#### Размер выборки и статистический анализ

Предполагая увеличение ооцитов на 5,0 при удвоении дозы и стандартное отклонение на 6,0 ооцитов на основании данных предыдущего европейского исследования зависимости реакции от дозы, проведенного в основном у женщин белой расы (1), размер выборки

составил 144 женщины, с 36 в каждой экспериментальной группе, включая контрольную группу, что дает не менее 90% мощности при демонстрации зависимости доза-ответ на дельта фоллитропин по отношению к ооцитам, полученной при двустороннем уровне значимости 5%.

Все сводные данные и анализы основаны на совокупности полной анализируемой популяции (т.е. всех рандомизированных и пролеченных пациентов), при этом пациенты анализируются в соответствии с фактическим полученным лечением (N = 158). Первичная конечная точка оценивалась на основе групп введения дельта фоллитропина с использованием анализа ковариации (ANCOVA) с количеством извлеченных ооцитов в качестве независимой (исходной) переменной, центром и стратой АМГ в качестве факторов и логарифмом (доза) в качестве коварианты. В соответствии с заранее определенными правилами вменения, восемь пациентов, которым отменили цикл из-за плохой реакции, были вменены при моделировании доза-реакция как имеющие один извлеченный ооцит, а один пациент, который прекратил участие в исследовании по личным причинам, был исключен из моделирования доза-реакция. Робастность была подтверждена повторением анализа для наблюдаемых данных и для популяции по протоколу (т.е. всех рандомизированных и пролеченных пациентов, кроме тех, которые были исключены в результате серьезных отклонений от протокола; N = 154 пациента). Анализ также был повторен в пределах каждой страты АМГ. Для оплодотворенных ооцитов и продолжительности стимуляции зависимость доза-ответ оценивалась с использованием модели ANCOVA, аналогичной таковой для первичной конечной точки. Развитие фолликулов оценивали с использованием аналогичной модели с добавлением исходного уровня, полученного в день стимуляции 1, в качестве коварианты. Параметры ответа яичников на гормон были преобразованы в логарифмической шкале, и зависимость доза-ответ оценивалась с использованием моделей ANCOVA с уровнем АМГ в качестве фактора и исходным уровнем, полученным в день стимуляции 1, и log (доза) в качестве ковариант. Зависимость доза-ответ для параметров оплодотворенных ооцитов не входила в рамки исследования из-за размера выборки. Для вторичных конечных точек корректировок на множественность не производилось. Все статистические анализы выполнялись в программе SAS версии 9.4. Контрольная группа (150 МЕ / сут фоллитропина бета) была включена для внешней проверки, статистических сравнений не предполагалось.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Исследуемая популяция

Всего было рандомизировано 159 женщин, из которых 158 получали лечение: 117 в группах фоллитропина дельта (37 в дозе 6 мг / день, 40 в дозе 9 мг / день и 40 в дозе 12 мг / день) и 41 в группе фоллитропина бета в дозе 150 МЕ / день. Распределение пациентов в двух группах АМГ составляло 65% (n = 102) в страте с высоким АМГ (15,0–44,9 пмоль / л) и 35% (n = 56) в страте с низким АМГ (5,0–14,9 пмоль / л). Распределение участников показано на дополнительном рисунке 1 (доступен онлайн). Демографические и исходные характеристики были сбалансированы между группами лечения в отношении веса, индекса массы тела, ФСГ, АМГ и количества антральных фолликулов (дополнительная таблица 3, доступна онлайн). В группе, получавшей дельта фоллитропин 12 мг / сут, наблюдалась тенденция к большему числу женщин старшего возраста и более высокой средней продолжительности бесплодия по сравнению с другими группами лечения.

### Информация «доза-ответ» по ответу яичников

Ответ яичников в виде развития фолликулов, уровня гормонов яичников и полученных ооцитов, представлены в таблице 1. Данные для контрольной группы (150 МЕ / сут фоллитропина бета) представлены в таблицах и на рисунках. Средняя продолжительность стимуляции значительно уменьшалась ( $P < 0,002$ ) с увеличением дозы фоллитропина дельта (таблица 1). На каждом уровне дозы средняя продолжительность стимуляции была короче в страте с высоким АМГ по сравнению со стратой с низким АМГ. Между дозой фоллитропина дельта и общим объемом фолликулов в конце периода лечения наблюдалась значительная реакция на дозу ( $P < 0,001$ ), обусловленная зависимостью от дозы, наблюдаемой в страте с высоким АМГ ( $P < 0,001$ ; Таблица 1). Значительные ( $P < 0,001$ ) дозозависимые эффекты наблюдались также для эстрадиола, ингибина А и прогестерона в конце стимуляции фоллитропином дельта (таблица 1).

ТАБЛИЦА 1					
Извлеченные ооциты, оплодотворенные ооциты, развитие фолликулов и ответ на различные гормоны в зависимости от группы лечения и уровня АМГ.					
	Группа лечения			Значение $P^a$	Фоллитропин бета 150 МЕ / сут (N =41)
	Фоллитропин дельта				
Переменная результата	6 мг / сут (N =37)	9 мг / сут (N =40)	12 мг / сут (N =40)		
Продолжительность стимуляции (д)					
Все пациенты	9,8 ±2,2	8,9± 1,8	8,7 ±1,4	0,002	8,9± 1,8
Страта низкого АМГ <sup>b</sup>	10,9 ±2,4	9,6± 2,2	9,1± 1,9	0,195	9,3± 1,9
Страта высокого АМГ <sup>c</sup>	9,3± 2,0	8,4 ±1,3	8,4 ±1,0	0,005	8,7± 1,8
Извлечено ооцитов (n)					
Все пациенты	7,0 ±4,1	9,1± 5,6	11,6 ±5,6	<0,001	11,0 ±4,7
Страта низкого АМГ	5,3± 3,7	5,6± 3,5	9,5± 3,0	0,004	9,3± 4,3
Страта высокого АМГ	7,9± 4,1	11,2± 5,6	12,9± 6,4	<0,001	11,8± 4,7
Оплодотворенные ооциты (n)					
Все пациенты	3,2 ±2,2	4,4 ±3,1	5,9± 3,6	<0,001	5,7± 3,8
Страта низкого АМГ	2,5 ±2,2	2,9± 2,3	3,9± 2,3	0,145	5,4± 3,2
Страта высокого АМГ	3,5 ±2,2	5,3± 3,2	7,0± 3,7	<0,001	5,9 ±4,1
Общий объем фолликулов (см <sup>3</sup> ) <sup>d, e</sup>					
Все пациенты	21,4± 8,5	23,6 ±9,5	28,5± 10,2	<0,001	27,9 ±10,0
Страта низкого АМГ	19,9± 8,4	18,9± 6,7	23,2± 6,3	0,193	24,7± 9,1
Страта высокого АМГ	22,1± 8,6	26,4 ±10,0	31,7 ±10,7	<0,001	29,6 ±10,2
Эстрадиол (пмоль / л) <sup>d</sup>					
Все пациенты	5521,0	6178,1	7573,0	<0,001	7624,6
Страта низкого АМГ	6484,4	6136,8	7 051,6	0,058	6707,8
Страта высокого АМГ	5428,2	6284,8	7842,5	0,003	7884,8
Ингибин В (пг / мл) <sup>d</sup>					

Все пациенты	794,0	815,0	794,0	0,352	910,0
Страта низкого АМГ	684,0	454,0	713,0	0,811	611,5
Страта высокого АМГ	830,5	1162,0	1030,0	0,086	1151,0
Ингибин А (пг / мл) <sup>d</sup>					
Все пациенты	286,0	367,1	405,2	<0,001	398,2
Страта низкого АМГ	298,8	283,6	387,3	0,019	360,6
Страта высокого АМГ	275,3	434,8	475,6	0,001	398,2
Прогестерон (нмоль / л) <sup>d</sup>					
Все пациенты	2,1	2,2	3,1	<0,001	2,7
Страта низкого АМГ	1,9	2,3	3,2	0,004	3,0
Страта высокого АМГ	2,1	2,1	2,9	0,048	2,7

Примечание. Значения представляют собой среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение или медианное значение. АМГ = антимюллеров гормон; ANCOVA = ковариационный анализ; N = общее количество пациентов; n= количество извлеченных ооцитов или количество оплодотворенных ооцитов; CO = стандартное отклонение.

<sup>a</sup> Для продолжительности стимуляции, извлеченных ооцитов и оплодотворенных ооцитов зависимость доза-ответ была смоделирована с использованием моделей ANCOVA с центром и стратой АМГ в качестве факторов и log (доза) в качестве ковариаты. Для общего объема фолликулов зависимость доза-ответ моделировалась с использованием модели ANCOVA с центром и стратой АМГ в качестве факторов, а также log (доза) и исходным уровнем, полученными в день стимуляции 1, в качестве ковариат. Для уровня гормонов яичников зависимость доза-ответ оценивалась в логарифмической шкале с использованием моделей ANCOVA со стратой АМГ в качестве фактора и log (доза) и исходным уровнем, полученным в день стимуляции 1 в качестве ковариат. Значения P соответствуют тесту, в котором наклон кривой доза-реакция равен нулю.

<sup>b</sup> Страта с низким уровнем АМГ - это концентрация АМГ в сыворотке в диапазоне 5,0–14,9 пмоль / л (0,7– <2,1 нг / мл).

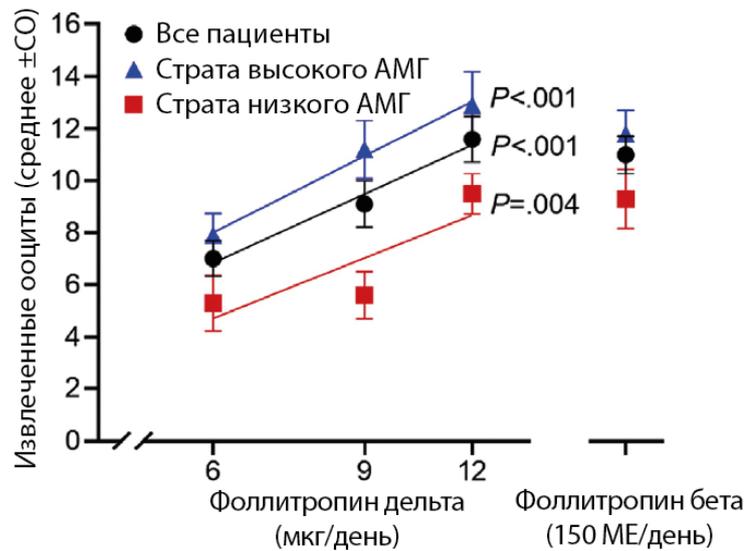
<sup>c</sup> Страта с высоким уровнем АМГ - это концентрация АМГ в сыворотке в диапазоне 15,0–44,9 пмоль / л (2,1–6,3 нг / мл).

<sup>d</sup> В конце стимуляции.

<sup>e</sup> Сумма объема всех фолликулов, рассчитанная на основе измерения диаметра (предполагая сферическую форму, объем каждого фолликула был рассчитан как  $\frac{4}{3} * \pi * \text{радиус}^3$ ).

*Исихара. Дозозависимый эффект фоллитропина дельта в Японии. Fertil Steril 2020.*

Рисунок 1



Результаты ответа яичников. Среднее количество ооцитов, извлеченных у пациентов в трех группах дозировки фоллитропина дельта (6, 9 и 12 мг / сут; логарифмическая шкала) и в группе 150 МЕ / сут бета-фоллитропина, в целом и по страте АМГ. Значения представлены в виде средних  $\pm$  СО. Значения Р отражают зависимость "доза-ответ". АМГ = антимюллеровый гормон; СО стандартная ошибка.

*Исихара. Дозозависимый эффект фоллитропина дельта в Японии. Fertil Steril 2020.*

Среди всех женщин, которые начали проходить стимуляцию, среднее количество ( $\pm$ стандартное отклонение) ооцитов в группах дельта фоллитропина 6 мг / сут, 9 мг / сут и 12 мг / сут составило 7,0 4,1, 9,1 5,6 и 11,6 5,6, соответственно. Как показано на Рисунке 1, для дельта фоллитропина была установлена статистически значимая ( $P < 0,001$ ) зависимость доза-ответ, которая также оставалась значимой в обеих стратах АМГ (высокий уровень АМГ  $P < 0,001$ ; низкий уровень АМГ  $P < 0,004$ ). Модель «доза-ответ» предсказывала, что удвоение дозы фоллитропина дельта приведет к увеличению количества ооцитов на 4,7 (95% доверительный интервал 2,6–6,8). В разных группах дельта-фоллитропина у пациентов с высоким уровнем АМГ было извлечено на 36–100% больше ооцитов (средняя разница 3,4 ооцита) по сравнению с пациентами с низким уровнем АМГ при введении той же дозы. Распределение пациенток по категориям ответа яичников было различным в группах лечения (дополнительные рисунки 2А и 2В, доступны онлайн). Что касается оплодотворенных ооцитов, наблюдалась значимая зависимость доза-ответ для всей исследуемой популяции ( $P < 0,001$ ), обусловленная реакцией, наблюдаемой для страты с высоким АМГ ( $P < 0,001$ ; Таблица 1). Уровень оплодотворения находился в диапазоне от 50% до 54% в группах дельта-фоллитропина во всей популяции.

#### Результат лечения

Развитие до бластоцист было достигнуто для 38%, 33% и 32% ооцитов в группах фоллитропина дельта 6 мг / сут, 9 мг / сут и 12 мг / сут соответственно, а перенос одиночной бластоцисты был выполнен в 70%, 78% и 80% случаев, соответственно.

Частота жизнеспособных беременностей на начатый цикл для дельта фоллитропина составила 19% в группе 6 мг / сут, 20% в группе 9 мг / сут и 25% в группе 12 мг / сут (рис. 2А), тогда как частота наступления жизнеспособной беременности на цикл с переносом составила 27%, 26% и 31% соответственно (рис. 2В). Коэффициент живорождения на начальный цикл для дельта фоллитропина составлял 16% в группе 6 мг / сут, 18% в группе

9 мг / сут и 23% в группе 12 мг / сут (таблица 2). Потеря беременности между жизнеспособной беременностью и рождением живого ребенка произошла у одной пациентки в каждой группе дельта фоллитропина, и не отмечалось неонатальной смертности от рождения до конца 4-недельного неонатального периода наблюдения.

Доля пациентов с нежелательными реакциями на фоллитропин дельта составляла 16% в группе 6 мг / день, 15% в группе 9 мг / день, 35% в группе 12 мг / день и 34% в группе фоллитропина бета 150 МЕ / день. Профиль нежелательных явлений соответствовал применению гонадотропинов, и наиболее частой нежелательной реакцией на препараты был СГЯ. Ранний СГЯ наблюдался у 23 пациентов, из которых 19 испытывали СГЯ средней / тяжелой степени, и четверо - СГЯ легкой степени. Частота СГЯ по группам лечения показана на Рисунках 2С и 2D. Частота раннего СГЯ средней степени тяжести для фоллитропина дельта составила 8% при 6 мг / сут, 8% при 9 мг / сут и 13% при 12 мг / сут (рис. 2D), причем в большинстве случаев (82%) в страте с высоким уровнем АМГ. Ни один из ранних случаев СГЯ не был классифицирован как тяжелый. Один поздний СГЯ наблюдался у беременной женщины в группе дельта фоллитропина 6 мг / сут, которая находилась в страте с высоким уровнем АМГ.

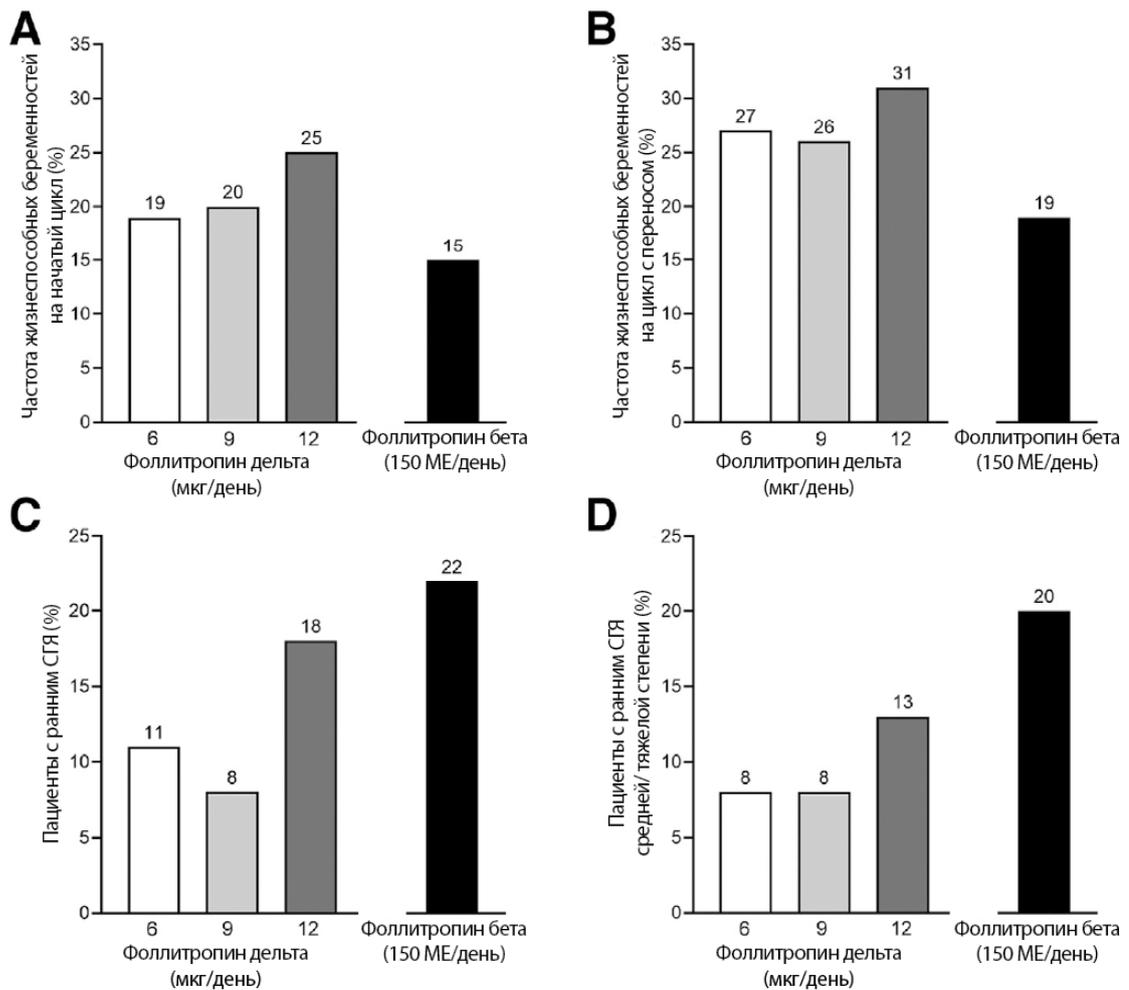
Зарегистрирована низкая частота реакций в месте инъекции после введения фоллитропина дельта: <0,04% оценивалась как умеренная, ни одна из них не оценивалась как тяжелая, и без видимых различий между уровнями доз. Ранее существовавшие антитела против ФСГ были обнаружены у 2 из 158 пациентов (1%) до воздействия в ходе исследования, а антитела против ФСГ, вызванные лечением, были обнаружены у 1 из 117 пациентов (1%), подвергшихся воздействию дельта фоллитропина у пациента в группе 12 мг / сут. У этой пациентки уровень анти-ФСГ антител быстро снизился до исходного, и пациентка родила живого ребенка. Ни одно из антител против ФСГ не обладало нейтрализующей способностью.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Это исследование было первым рандомизированным контролируемым испытанием, в котором изучалась зависимость доза-ответ для рекомбинантного ФСГ у японских пациентов с ЭКО / ИЦИС. Оно продемонстрировало значительную положительную зависимость доза-ответ между введением дельта фоллитропина и параметрами ответа яичников, включая количество извлеченных ооцитов, оплодотворенных ооцитов и сывороточные концентрации эстрадиола, ингибина А и прогестерона в конце стимуляции, при этом продолжительность стимуляции была обратно пропорциональна суточной дозе гонадотропина.

Контрольная группа, принимавшая фоллитропин бета 150 МЕ / сут, облегчила интерпретацию ответа яичников, полученного при различных дозах фоллитропина дельта. У пациентов контрольной группы в среднем было получено 11 ооцитов, что было аналогично ответу, наблюдаемому при использовании дельта фоллитропина в диапазоне доз 9–12 мг / сут. У пациенток с нормальным или высоким овариальным резервом контрольная группа достигла ответа яичников, аналогичного тому, который можно было бы оценить при введении 10 мг фоллитропина дельта. Кроме того, дизайн со стратификацией пациентов позволил наблюдать, что при всех дозах дельта фоллитропина у пациентов с высоким уровнем АМГ было получено от трех до шести дополнительных ооцитов по сравнению с низким уровнем АМГ, когда вводились те же дозы дельта фоллитропина, что подчеркивает влияние овариального резерва пациентки.

Рисунок 2



Результат лечения в трех группах, принимавших дельта-фоллитропин (6, 9 и 12 мг / сут), и в группе, принимавшей фоллитропин бета 150 МЕ / сут. Частота жизнеспособных беременностей на начатый цикл (А); частота жизнеспособных беременностей на цикл с переносом (В); частота раннего СГЯ любой степени (С); частота раннего СГЯ средней / тяжелой степени (D). СГЯ =синдром гиперстимуляции яичников. Исихара. Дозозависимый эффект фоллитропина дельта в Японии. *Fertil Steril* 2020.

Результаты исследования реакции яичников соответствуют результатам, полученным в исследовании доза-реакции, проведенном у пациенток с ЭКО / ИЦИС не японского происхождения, в котором задокументирована взаимосвязь между дозой дельта фоллитропина и ответом яичников с точки зрения развития фолликулов, гормонов яичников и извлеченных ооцитов (1, 4). Количественные эффекты дозы фоллитропина дельта на количество извлеченных ооцитов также были сопоставимы между японскими и неапонскими пациентами, о чем свидетельствует увеличение ооцитов на 4,7 и 5,5 соответственно при удвоении дозы. Исходя из этого, введение дельта фоллитропина японским и неапонским пациентам приводит к соответствующему выходу ооцитов и продолжительности стимуляции и считается приемлемым для клинического использования.

Это исследование также предоставляет первую информацию о результатах лечения дельта фоллитропина у японских пациентов. Частота жизнеспособной беременности на начатый цикл находилась в диапазоне от 19% до 25% для дельта фоллитропина и 15% для фоллитропина бета, а при ограничении циклами с переносом одной бластоцисты

показатели составляли 26–31% для дельта фоллитропина и 19% для фоллитропина бета. В целом, частота наступления беременности при всех дозах фоллитропина дельта была выше средней частоты в данных реестра в Японии, согласно которой частота клинических беременностей составляла около 22% в свежих циклах с переносом одного эмбриона (12).

Одной из основных проблем безопасности, связанных с применением препаратов гонадотропина, является риск СГЯ. В предыдущем клиническом исследовании сообщалось, что частота СГЯ составляет около 20% у японских пациентов с ЭКО / ИЦИС (13), что, скорее всего, отражает очень тщательный и систематический сбор данных в клинических испытаниях. В настоящем исследовании уровень раннего СГЯ равный 22% наблюдался в контрольной группе, тогда как он был ниже 20% при введении всех доз фоллитропина дельта, хотя на это влияли дозы и уровень АМГ. Во всех группах лечения подавляющее большинство явлений раннего СГЯ произошло в страте с высоким уровнем АМГ, включая те, которые были оценены как умеренные, о которых сообщалось в 26% случаев в группе фоллитропина бета. Эти наблюдения показывают, что статус яичников в сочетании с дозой гонадотропина влияет на риск СГЯ. Хотя частота СГЯ была ниже в европейском исследовании «доза-ответ» (1), чем в настоящем исследовании, там наблюдалась аналогичная картина, поскольку все явления умеренного раннего СГЯ наблюдались у пациентов с высоким уровнем АМГ, получавших самые высокие дозы гонадотропина.

В настоящем исследовании лечение фоллитропином дельта было связано с низким риском иммуногенности, что также наблюдалось в отношении дельта фоллитропина за пределами Японии (1, 3, 5, 14, 15). Ни в одном из клинических испытаний, проведенных во всем мире, не сообщалось об индуцированных лечением антителах к ФСГ с нейтрализующей способностью в отношении дельта фоллитропина.

ТАБЛИЦА 2				
Результат лечения				
Результат в свежем цикле	Группа лечения			
	Фоллитропин дельта			Фоллитропин бета
	6 мг / сут (N =37)	9 мг / сут (N =40)	12 мг / сут (N =40)	150 МЕ / сут (N =41)
Положительный βХГЧ <sup>a</sup>				
На начальный цикл	10/37 (27)	10/40 (25)	14/40 (35)	9/41 (22)
На цикл с переносом	10/26 (38)	10/31 (32)	14/32 (44)	9/31 (29)
Клиническая беременность <sup>b</sup>				
На начальный цикл	9/37 (24)	8/40 (20)	13/40 (33)	8/41 (20)
На цикл с переносом	9/26 (35)	8/31 (26)	13/32 (41)	8/31 (26)
Жизнеспособная беременность <sup>c</sup>				
На начальный цикл	7/37 (19)	8/40 (20)	10/40 (25)	6/41 (15)
На цикл с переносом	7/26 (27)	8/31 (26)	10/32 (31)	6/31 (19)
Продолжающаяся беременность <sup>d</sup>				
На начальный цикл	6/37 (16)	7/40 (18)	10/40 (25)	6/41 (15)

На цикл с переносом	6/26 (23)	7/31 (23)	10/32 (31)	6/31 (19)
Живорождение <sup>e</sup>				
На начальный цикл	6/37 (16)	7/40 (18)	9/40 (23)	6/41 (15)
На цикл с переносом	6/26 (23)	7/31 (23)	9/32 (28)	6/31 (19)
Живой новорожденный через 4 недели после рождения <sup>f</sup>				
На начальный цикл	6/37 (16)	7/40 (18)	9/40 (23)	6/41 (15)
На цикл с переносом	6/26 (23)	7/31 (23)	9/32 (28)	6/31 (19)
Ранний СГЯ <sup>g</sup>				
Любая степень	4/37 (11)	3/40 (8)	7/40 (18)	9/41 (22)
Умеренная / тяжелая степень	3/37 (8)	3/40 (8)	5/40 (13)	8/41 (20)
Поздний СГЯ <sup>h</sup>				
Любая степень	1/37 (3)	0	0	0
Умеренная / тяжелая степень	1/37 (3)	0	0	0
Примечание. Значения представлены как n/N(%). $\beta$ ХГЧ = единица бета хорионического гонадотропина человека; N= общее количество пациентов с начатым циклом или общее количество пациентов с переносом; n=количество пациентов под наблюдением; СГЯ =синдром гиперстимуляции яичников. <sup>a</sup> Положительный результат теста на содержание $\beta$ ХГЧ в сыворотке крови через 13–15 дней после переноса в соответствии с контрольными диапазонами центральной лаборатории. <sup>b</sup> По крайней мере, 1 внутриматочный или внематочный гестационный мешок через 5–6 недель после переноса. <sup>c</sup> По крайней мере, 1 внутриматочный гестационный мешок с сердцебиением плода через 5–6 недель после переноса. <sup>d</sup> По крайней мере, 1 внутриутробный жизнеспособный плод через 10–11 недель после переноса. <sup>e</sup> Рождение по крайней мере 1 живого новорожденного. <sup>f</sup> По крайней мере, 1 живой новорожденный через 4 недели после рождения. <sup>g</sup> Начало через $\leq 9$ дней после начала окончательного созревания фолликулов. <sup>h</sup> Начало через $> 9$ дней после начала окончательного созревания фолликулов. Исихара. Дозозависимый эффект фоллитропина дельта в Японии. <i>Fertil Steril</i> 2020.				

Для установления соответствующей дозы гонадотропина для контролируемой стимуляции яичников необходимо учитывать несколько факторов. Это исследование реакции на дозу у японских пациентов ясно показало, что выход ооцитов сильно различается у женщин с низким и высоким овариальным резервом, получавших ту же дозу фоллитропина дельта, что уже наблюдалось у неазиатских пациентов (1). Для японских женщин с низким овариальным резервом и, следовательно, с низким риском СГЯ, доза 12 мг / сут дельта фоллитропина, по-видимому, максимизировала ответ яичников и была связана с хорошими показателями беременности. Следует признать, что дальнейшее увеличение дозы гонадотропина у пациентов с низким овариальным резервом не всегда может преодолеть риск плохого ответа или повысить вероятность беременности и рождения живого ребенка (16). Основным риском у женщин с нормальным или высоким овариальным резервом

является СГЯ, и, следовательно, более детальный подход к выбору дозы дельта фоллитропина в диапазоне от 6 до 12 мг / день может быть актуальным для минимизации риска СГЯ, с сохранением хорошей вероятности наступления беременности. У этих пациентов индивидуальный подход, основанный на начальных уровнях АМГ и / или других параметрах, влияющих на воздействие лекарств, позволит разработать стратегию лечения, направленную на минимизацию риска СГЯ, при этом не ставя под угрозу цель эффективности беременности.

Ограничением этого исследования является то, что, хотя размер выборки был подходящим для оценки параметров ответа яичников, он позволяет более осторожно сравнивать результаты лечения, такие как беременность и показатели СГЯ, между фоллитропином дельта и фоллитропином бета.

В заключение, это исследование установило взаимосвязь между дозой фоллитропина дельта и ответом яичников у японских пациенток с ЭКО / ИЦИС и, кроме того, показало, что ответ на каждую дозу зависит от исходного уровня АМГ в сыворотке. Следовательно, при выборе доз гонадотропина для японских пациенток с ЭКО / ИЦИС, подвергающихся контролируемой стимуляции яичников, следует учитывать уровни АМГ в сыворотке, как это уже было введено для дельта фоллитропина с индивидуальным режимом дозирования за пределами Японии (14). Все дозы фоллитропина дельта в диапазоне 6–12 мг / сут были безопасными и хорошо переносились.

Благодарности: мы благодарим исследователей участвующих центров за их усилия и поддержку; и Лисбет Хельмгаард, магистр наук, Мария Гуллберг, доктор философии, и Анка Лимперопулу, магистр наук, «Глобал Медикал Райтинг», «Ферринг Фармасьютикалс», Дания, за помощь в написании рукописи.