

# Przewidywanie słabej odpowiedzi na kontrolowaną hiperstymulację jajników na podstawie polimorfizmów genu GDF-9 – opis przypadku

Prediction of poor response to controlled ovarian hyperstimulation based on GDF-9 polymorphism – case report

Monika Serdyńska-Szuster<sup>1</sup>, Katarzyna Ożegowska<sup>1</sup>, Marcin Hołysz<sup>2</sup>,  
Paweł Piotr Jagodziński<sup>2</sup>, Leszek Pawelczyk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinika Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu; Katedra Ginekologii, Potożnictwa i Onkologii Ginekologicznej; Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Polska

<sup>2</sup> Katedra i Zakład Biochemii i Biochemii Molekularnej; Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Polska

## Streszczenie

**Cel pracy:** Wraz z wiekiem obniża się rezerwa jajnikowa kobiet. Prawidłowy wzrost i dojrzewanie pęcherzyków jajnikowych jest kontrolowane m.in. przez czynniki należące do nadrodziny TGF  $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ ), w tym GDF-9 (growth and differentiation factor-9), którego genetyczne warianty mogą mieć wpływ na wczesne etapy rozwoju pęcherzyków. Celem pracy jest ocena wpływu polimorfizmu genu GDF-9 na przebieg i wynik kontrolowanej hiperstymulacji jajników w programie zapłodnienia pozaustrojowego.

**Materiał i metody:** 32-letnia kobieta leczona z powodu niepłodności pierwotnej, regularnie miesiączkująca, bez chorób przewlekłych, po laparoskopowym usunięciu obustronnych wodniaków jajowodów. Po dwukrotnym niepowodzeniu IVF zakwalifikowana do badania polimorfizmów genu dla GDF-9. Grupę kontrolną stanowiły pacjentki, które samoistnie zaszły w ciążę.

Polimorfizmy genów GDF9 poszukiwano za pomocą reakcji amplifikacji DNA w czasie rzeczywistym (Real-Time PCR) połączonej z analizą krzywych topnienia produktów amplifikacji w wysokiej rozdzielczości (High Resolution Melting, HRM).

## Adres do korespondencji:

Monika Serdyńska-Szuster  
Klinika Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu  
ul. Polna 33; 60-535 Poznań; Polska  
tel./fax: 61-8419412  
e-mail: mserdyn@o2.pl

Otrzymano: 30.03.2015  
Zaakceptowano do druku: 30.04.2015

Monika Serdyńska-Szuster et al. Przewidywanie słabej odpowiedzi na kontrolowaną hiperstymulację jajników na podstawie polimorfizmów genu GDF-9 – opis przypadku

**Wyniki:** U badanej pacjentki zidentyfikowano warianty genu GDF-9: C447T (rs 254289) z genotypem heterozygotycznym C/T oraz dodatkowo w badanym fragmencie 4 genu stwierdzono wariant G/C intr.1 (398-39) rs254285. Genotyp heterozygotyczny C/T potwierdzono u 38,7% płodnych kobiet, natomiast u 61,3% wykazano obecność genotypu homozygotycznego C/C, T/T. W grupie kontrolnej nie stwierdzono obecności wariantu genu GDF-9 #4G/C intr.1 (398-39).

**Dyskusja:** Wykazano, że polimorfizm C447T występuje również w grupie kobiet zdrowych.

**Wnioski:** Ocena polimorfizmów genu GDF-9 może być przydatna do określenia przyczyn niepowodzenia kontrolowanej hiperstymulacji jajników u kobiet z prawidłową funkcją hormonalną jajników.

Słowa kluczowe: **in vitro / polimorfizm genetyczny /  
/ kontrolowana hiperstymulacja jajnikowa /**

## Abstract

**Objectives:** With age, ovarian reserve in women decreases. Growth and maturation of the ovarian follicles is controlled by the factors belonging to the TGF $\beta$  family, including GDF-9, whose variants may affect the stages of follicular development. The aim of the study was to assess the impact of GDF-9 gene polymorphism on the outcome of controlled ovarian hyperstimulation in IVF.

**Material and methods:** a 32-year-old woman treated for primary infertility, regularly menstruating, with no diseases, who had undergone previous laparoscopic removal of the tubes. After two unsuccessful IVF cycles, the patient was deemed eligible for the evaluation of the GDF-9 gene polymorphisms. GDF-9 polymorphisms were sought by a DNA amplification reaction (real-time Real-Time PCR) connected to the melting curve analysis of the amplification products in high resolution (High Resolution Melting, HRM).

**Results:** We identified the following gene variant of GDF-9: C447T (rs 254289) with a heterozygous genotype C/T. Additionally, we found variant G / C intr.1 (398-39) rs254285 in the tested fragment of the 4th gene. Heterozygous genotype C/T was confirmed in 38.7% of the fertile women, while in 61.3% the presence of a homozygous genotype C/C, T/T occurred. In the control group, there was no presence of the GDF-9 gene variant #4/C intr.1 (398-39).

**Conclusions:** The C447T polymorphism seems to be present also in healthy women. Evaluation of the GDF-9 polymorphisms may be useful to determine the reasons for the failure of controlled ovarian hyperstimulation in women with normal ovarian hormonal functions.

Key words: **in vitro fertilization / gene polymorphism /  
/ controlled ovarian hyperstimulation /**

## Wprowadzenie

Naturalna płodność kobiet obniża się wraz z wiekiem, więc wiele z nich będąc w wieku reprodukcyjnym może doświadczyć niespodziewanych problemów z zajściem w ciążę. Udowodniono, że wraz z wiekiem obniża się rezerwa jajnikowa. Określa ona zarówno ilość, jak i jakość puli pęcherzyków zdolnych do odpowiedzi na zaproponowane leczenie hormonalne. Indywidualna odpowiedź jajników na stymulację jajczkowania z wykorzystaniem preparatów FSH (hormon folikulotropowy) znacznie się różni, dlatego jest trudna do przewidzenia. Zatem przed podjęciem decyzji o przystąpieniu do programu zapłodnienia pozaustrojowego powinna istnieć możliwość oceny zdolności jajników do odpowiedzi na proponowane leczenie i przewidywanie jego skuteczności. Istnieje potrzeba identyfikacji kobiet z wysokim ryzykiem słabej odpowiedzi na stymulację jajczkowania i/lub bardzo niskim prawdopodobieństwem uzyskania ciąży.

Prawidłowy wzrost i dojrzewanie pęcherzyków jajnikowych jest kontrolowane przez czynniki pochodzące od komórki jajowej, należące do nadrodziny TGF  $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ ,

transformujący czynnik wzrostu  $\beta$ ). Należy do nich GDF-9 (growth and differentiation factor-9, czynnik wzrostu i różnicowania -9). Udowodniono, że czynnik ten stymuluje wzrost pęcherzyków preantralnych, proliferację komórek ziarnistych, ekspansję wzgórka jajonośnego [1, 2, 3]. Odpowiednie stężenie GDF-9 jest konieczne do ekspresji receptora dla FSH i przygotowanie pęcherzyków do fazy wzrostu zależnej od gonadotropin [3].

Wykazano, że usunięcie genu dla GDF-9 skutecznie hamuje folikulogenezę u myszy [4]. Ważną rolę GDF-9 w rozrodzie podkreśla fakt, że skład aminokwasowy białka jest w dużym stopniu konserwatywny u różnych gatunków ssaków. Genetyczne warianty genu GDF-9 mogą mieć wpływ na wczesne etapy rozwoju pęcherzyków, determinując ich dalszy wzrost bądź apoptozę.

## Cel pracy

Celem badania była ocena polimorfizmów genu GDF-9 u pacjentki ze słabą odpowiedzią na dwukrotną kontrolowaną hiperstymulację jajników w programie zapłodnienia pozaustrojowego.

Monika Serdyńska-Szuster et al. Przewidywanie słabej odpowiedzi na kontrolowaną hiperstymulację jajników na podstawie polimorfizmów genu *GDF-9* – opis przypadku

## Materiał i metody

32-letnia kobieta o masie ciała 83 kg i wzroście 175 cm skierowana została do Ośrodka Diagnostyki i Leczenia Niepłodności przy Klinice Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu Katedry Ginekologii, Położnictwa i Onkologii Ginekologicznej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu z powodu niepłodności pierwotnej trwającej od 2 lat. Pacjentka miesiączkowała regularnie co 30-32 dni od 15 roku życia. W badaniu podmiotowym nie wskazywała na choroby przewlekłe oraz nie stosowała antykoncepcji hormonalnej. Wykluczono również nikotynizm. Wywiad rodzinny nie był obciążony. Pacjentka była dwukrotnie operowana metodą endoskopową. Wykonano laparoskopię z powodu podejrzenia torbieni jajnika prawego. Podczas operacji usunięto liczne zrosty w miednicy mniejszej i stwierdzono obecność obustronnych wodniaków jajowodów, które wycięto. Nie stwierdzono nieprawidłowości strukturalnych w obrębie macicy i jajników. Po okresie rekonwalescencji kobieta wraz z mężem (lat 38) podjęła decyzję o przystąpieniu do programu zapłodnienia pozaustrojowego (IVF, *in vitro fertilization*) w Ośrodku Diagnostyki i Leczenia Niepłodności przy Klinice Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu.

W 3 dniu cyklu poprzedzającego IVF wykonano ocenę rezerywy jajnikowej:

FSH – 8,66 IU/ml, AMH – 1,8ng/ml, inhibina B- 38,13 pg/ml. W badaniu ultrasonograficznym oceniono liczbę pęcherzyków antralnych (AFC- *antral follicle count*) – 7 oraz nie stwierdzono nieprawidłowości strukturalnych w obrębie macicy i jajników.

Do kontrolowanej hiperstymulacji jajników zastosowano długi protokół stymulacji z agonistą GnRH (0,1 mg octanu tryptoreliny/dobę). Desensybilizację przysadki potwierdzono w badaniach hormonalnych w surowicy krwi: LH (lutropina) – 1, 2 IU/L i E2 (estradiol)- 27 pg/ml oraz w badaniu USG: grubość endometrium 3mm oraz brak pęcherzyków jajnikowych o średnicy powyżej 10mm. Od 4 dnia cyklu podawano podskórny preparat folitropiny alfa. Odpowiedź jajników oceniano na podstawie oceny ultrasonograficznej oraz stężenia estradiolu w surowicy krwi przez 13 dni trwania stymulacji. Całkowita dawka gonadotropin wynosiła 2425 IU. W dniu podania hCG stężenie E2 wynosiło 1563 pg/ml, a stężenie progesteronu– 0,63 ng/ml, natomiast w badaniu USG potwierdzono obecność pęcherzyków o średnicy 17, 18, 18mm. Podczas punkcji jajników uzyskano 3 oocyty – wszystkie w stadium metafazy II (M2). Parametry nasienia partnera oceniono jako normozoospermie według kryteriów Światowej Organizacji Zdrowia z 2010 roku.

Do zapłodnienia komórek jajowych zastosowano procedurę ICSI (docytoplazmatyczne podanie plemnika). Po 16 h oceniano proces zapłodnienia, a jakość zarodków na etapie tworzenia przedjądrzy i w dniu transferu zarodków według konsensusu *Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology* (Istambuł, 2010). W 3 dobie hodowli uzyskano 1 zarodek 8-blastomerowy klasy A, który transferowano do jamy macicy. Wobec braku uzyskania ciąży pacjentkę zakwalifikowano do drugiego programu zapłodnienia pozaustrojowego. Przed rozpoczęciem stymulacji wykonano histeroskopię diagnostyczną, która nie wykazała nieprawidłowości w obrębie jamy macicy. Konieczne było również wykonanie punkcji obciążającej torbieni gładkościennej jajnika prawego o średnicy 40mm. W kolejnym cyklu zastosowano protokół stymulacji z an-

tagonistą GnRH (octan cetroreliksu). Od 2 dnia cyklu podawano podskórnie preparaty folitropiny alfa w całkowitej dawce 3050 IU oraz menotropinę podskórnie w dawce całkowitej 675 IU. Octan cetroreliksu w dawce 0,25 mg/d włączono do protokołu stymulacji w 5 dniu. W dniu podania hCG stężenie estradiolu w surowicy wynosiło 1082 pg/ml, progesteronu 0,7 ng/ml. Podczas punkcji jajników uzyskano 5 oocytów: 2 w stadium M2 oraz 3 oocyty zdegenerowane. Parametry nasienia odpowiadały kryteriom normozoospermii. W 3 dobie hodowli uzyskano 1 zarodek, który transferowano do jamy macicy.

W związku z dwoma niepowodzeniami programu zapłodnienia pozaustrojowego pacjentkę zakwalifikowano do badania polimorfizmów genu dla *GDF-9* w ramach projektu badawczego NCN N N 407297540. Grupę kontrolną stanowiło 31 płodnych kobiet poniżej 35 roku życia, które zaszły naturalnie w ciąży. Czas starania o dziecko nie przekraczał 18 miesięcy. Krew do badań genetycznych pobierano podczas pobytu w oddziale porodowym. Komisja bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu wyraziła zgodę na przeprowadzenie projektu badawczego. Uzyskano pisemną zgodę pacjentek na udział w badaniu.

DNA genomowe izolowano z 200 µl krwi obwodowej pobranej na EDTA, przy użyciu metody kolumnkowej na złożu krzemionkowym, za pomocą zestawu AxyPrep Blood Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen Biosciences), zgodnie z protokołem załączonym przez producenta zestawu.

Stężenie DNA oznaczano na podstawie pomiaru spektrofotometrycznego przy długości fali 260 nm ( $A_{260}$ ). Czystość oraz jakość preparatu oceniano na podstawie stosunku absorbancji  $A_{260/280}$  oraz  $A_{260/230}$ . Dwa egzony genu *GDF9*, które kodują sekwencję aminokwasów białka *GDF9*, wraz z sekwencjami flankującymi, podzielono na dziewięć fragmentów, numerowanych od #1 do #9. Fragmenty od #1 do #3 obejmowały egzon 1, natomiast od #4 do #9 obejmowały egzon 2. Poszczególne fragmenty amplifikowano za pomocą par specyficznych starterów.

Optymalny profil termiczny amplifikacji wszystkich dziewięciu fragmentów genu *GDF9*, w szczególności właściwą temperaturę przyłączania starterów (temperaturę annealingu), określono za pomocą reakcji Real-Time PCR z gradientem temperatury annealingu w zakresie 55-65°C na aparacie Bio-Rad CFX96. Na podstawie uzyskanych krzywych amplifikacji reakcji Real-Time PCR wybrano temperaturę annealingu dla fragmentów: #1, #2, #3, #4, #5, #6 i #7 równą 59°C, natomiast dla fragmentów: #8 i #9 temperaturę 55°C. Poszukiwanie polimorfizmów występujących w sekwencji kodującej genu *GDF9* przeprowadzono za pomocą reakcji amplifikacji DNA w czasie rzeczywistym (Real-Time PCR) połączonej z analizą krzywych topnienia produktów amplifikacji w wysokiej rozdzielczości (High Resolution Melting, HRM). Reakcję Real-Time PCR oraz analizę HRM wykonano na płytkach 96-dołkowych za pomocą aparatu LightCycler 480 II (Roche Diagnostics) oraz zestawu odczytników dedykowanych przez producenta – LightCycler 480 High Resolution Melting Master (Roche Diagnostics).

Obecność polimorfizmów stwierdzano na podstawie analizy kinetyki topnienia (kształtu krzywych topnienia oraz temperatury topnienia) produktów amplifikacji poszczególnych fragmentów genu *GDF9* przy pomocy modułu GeneScanning wchodzącego w skład oprogramowania LightCycler 480 Software 1.5 SP3, służącego do sterowania aparatem i analizy wyników.

Monika Serdyńska-Szuster et al. Przewidywanie słabej odpowiedzi na kontrolowaną hiperstymulację jajników na podstawie polimorfizmów genu GDF-9 – opis przypadku

Na podstawie analizy profili topnienia produktów amplifikacji fragmentów genu *GDF9* wytypowano próby, których temperatura topnienia ( $T_m$ ) oraz kształt krzywej topnienia odbiegały od pozostałych prób. Wytypowane próby amplifikowano za pomocą klasycznej reakcji PCR, korzystając ze startera *forward* zaprojektowanego dla danego fragmentu oraz startera *revers* zaprojektowanego dla sąsiedniego fragmentu, w celu uzyskania produktów o długości około 500 pz, które można było sekwencjonować za pomocą metody Sangera (dideoksy). Produkty amplifikacji rozdzielano w 2% żelu agarozowym z dodatkiem bromku etydyny, w celu oceny ich jakości i ilości. Wyniki sekwencjonowania analizowano za pomocą programu FinchTV v.1.4.0 (Geospiza).

## Wyniki

U badanej pacjentki zidentyfikowano następujące warianty genu GDF-9:

C447T (rs 254289) z genotypem heterozygotycznym C/T oraz dodatkowo w badanym fragmencie 4 genu stwierdzono wariant G/C intr.1(398-39) rs254285.

W grupie kontrolnej potwierdzono obecność polimorfizmu C447T. Genotyp heterozygotyczny C/T, obecny u analizowanej pacjentki potwierdzono u 38,7% płodnych kobiet, natomiast u 61,3% wykazano obecność genotypu homozygotycznego C/C, T/T. W grupie kontrolnej nie stwierdzono natomiast obecności drugiego opisywanego wariantu genu GDF-9 #4G/C intr.1(398-39).

## Dyskusja

Zmniejszona ilość i jakość komórek jajowych u kobiet w wieku reprodukcyjnym jest związana ze słabą odpowiedzią na kontrolowaną hiperstymulację jajników w programie zapłodnienia pozaustrojowego. Głównym czynnikiem ograniczającym płodność kobiety jest wiek biologiczny. W prezentowanej sytuacji klinicznej nie uzyskano ciąży u 32-letniej regularnie miesiączkującej pacjentki, u której zdiagnozowano czynnik jajowodowy jako przyczynę niepłodności. Wycięcie obydwu jajowodów było rekomendowane z powodu wodniaków jajowodów, które w istotny sposób obniżają skuteczność programu IVF [5]. Słaba odpowiedź na stymulację wydaje się zaskakująca u młodej kobiety, u której wykluczono zaburzenia hormonalne oraz strukturalne w układzie rozrodczym. Ponadto wykładniki rezerwy jajnikowej przed kwalifikacją do programu IVF wskazywały na prawidłową wydolność jajników. W terapii pacjentki zastosowano dwa różne protokoły stymulacji jajczkowania, które nie przyniosły spodziewanego efektu. Pacjentka spełnia kryteria poor response (według kryteriów bolońskich (konsensus ESHRE 2011) [6]. Zmiana protokołu stymulacji oraz zwiększenie dawki gonadotropin nie wpłynęło na efektywność terapii.

Na podstawie dotychczasowych badań wykazano, że słabej odpowiedzi na stymulację można spodziewać się u ok. 10% młodych kobiet [7]. Podkreśla się wpływ czynników genetycznych na proces folikulogenezy i jakość oocytów, a różne warianty genetyczne tych czynników mogą mieć wpływ na funkcjonowanie jajnika [7]. Dotyczy to czynnika GDF-9. Odpowiednie stężenie tego czynnika jest konieczne do ekspresji receptora dla FSH i przygotowanie pęcherzyków do fazy wzrostu zależnej od gonadotropin [3]. Zatem czynnik ten może modulować odpowiedź jajników na preparaty hormonalne. Wykazano, że warianty genetyczne genu GDF-9 mają wpływ na

nieprawidłową funkcję białka GDF-9, czego następstwem może być promowanie apoptozy pęcherzyków primordialnych, spadek jakości oocytów, obniżenie przeżywalności komórek ziarnistych oraz zaburzenie endokrynej homeostazy jajnika [8].

Do tej pory udowodniono, że obecność polimorfizmów genu GDF-9 u kobiet ze zmniejszoną rezerwą jajnikową prowadzi do słabej odpowiedzi na leczenie, dotyczy to zwłaszcza polimorfizmu G546A [9]. W prezentowanej pracy u badanej kobiety potwierdzono obecność dwóch innych wariantów genu GDF-9: C447T (rs 254289) z genotypem heterozygotycznym C/T oraz dodatkowo wariant #4G/C intr.1(398-39) rs254285.

W prezentowanym badaniu wykazano, że polimorfizm C447T występuje również w grupie kobiet, które nie miały problemu z zajściem w ciążę. Wydaje się więc, że występowanie różnych wariantów genu GDF-9 może wpływać niekorzystnie na funkcję generatywną jajnika, nie wyklucza natomiast szansy na zajście w ciążę.

## Wnioski

GDF-9 jest jednym z czynników wpływających na rezerwę jajnikową. Pula pęcherzyków jajnikowych zdolnych do odpowiedzi na kontrolowaną hiperstymulację jajników jest modyfikowana genetycznie. Wydaje się, że ocena polimorfizmów genu GDF-9 może być przydatna do określenia przyczyn niepowodzenia kontrolowanej hiperstymulacji jajników.

## Oświadczenie autorów:

1. Monika Serdyńska-Szuster – autor koncepcji i założeń pracy, rekrutacja pacjentek do badania, zbieranie materiału do badań, analiza wyników, przygotowanie manuskryptu i piśmiennictwa, uzyskanie funduszy na realizację badań laboratoryjnych, przechowywanie dokumentacji.
2. Katarzyna Ożegowska – rekrutacja pacjentek do badania, zebranie materiału do badań, pomoc przy analizie wyników, uzyskanie funduszy na realizację badań laboratoryjnych, przechowywanie dokumentacji – autor zgłaszający i odpowiedzialny za manuskrypt.
3. Marcin Hołysz – współautor protokołu, wykonanie badań laboratoryjnych.
4. Paweł Piotr Jagodziński – współautor protokołu, wykonanie badań laboratoryjnych.
5. Leszek Pawelczyk – nadzór merytoryczny nad projektem, ostateczna weryfikacja i akceptacja ostatecznego kształtu manuskryptu, korekta i aktualizacja literatury.

## Źródło finansowania:

część projektu finansowanego z grantu Narodowego Centrum Nauki nr: NN 407297540.

## Konflikt interesów:

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów oraz nie otrzymali żadnego wynagrodzenia związanego z powstawaniem pracy.



Monika Serdyńska-Szuster et al. Przewidywanie słabej odpowiedzi na kontrolowaną hiperstymulację jajników na podstawie polimorfizmów genu GDF-9 – opis przypadku

KOMUNIKAT

## Piśmiennictwo

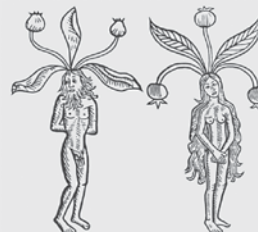
1. Vitt UA, Hayashi M, Klein C, [et al.]. Growth differentiation factor-9 stimulates proliferation but suppresses the follicle-stimulating hormone-induced differentiation of cultured granulosa cells from small antral and preovulatory rat follicles. *Biol Reprod.* 2000, 62, 370–377.
2. Yan C, Wang P, DeMayo J, [et al.]. Synergistic roles of bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 in ovarian function. *Mol Endocrinol.* 2001, 15, 854–866.
3. Orisaka M, Orisaka S, Jiang JY, [et al.]. Growth differentiation factor 9 is antiapoptotic during follicular development from preantral to early antral stage. *Mol Endocrinol.* 2006, 20, 2456–2468.
4. Dong J, Albertini DF, Nishimori K, Kumar, [et al.]. Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature.* 1996, 383, 531–535.
5. Nackley AC, Muasher SJ. The significance of hydrosalpinx in in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1998, 69 (3), 373–84. Review.
6. Sallam HN, Ezzeldin F, Agameya AF, [et al.]. The definition of 'poor response': Bologna criteria. *Hum Reprod.* 2012, 27(2), 626–627.
7. Nikolaou D, Templeton A. Early ovarian ageing. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004, 113 (2), 126–133. Review.
8. Wang TT, Ke ZH, Song Y, [et al.]. Identification of a mutation in GDF9 as a novel cause of diminished ovarian reserve in young women. *Hum Reprod.* 2013, 28 (9), 2473–2481.
9. Wang TT, Wu YT, Dong MY, [et al.]. G546A polymorphism of growth differentiation factor-9 contributes to the poor outcome of ovarian stimulation in women with diminished ovarian reserve. *Fertil Steril.* 2010, 94 (6), 2490–2492.

**Polskie Towarzystwo Medycyny Perinatalnej  
Oddział Wielkopolski**

**Sekcja Perinatologii  
Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego**

**Klinika Perinatologii i Ginekologii  
Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu**

## XV Poznańskie Dni Medycyny Perinatalnej



## PRAKTYCZNE ASPEKTY FARMAKOTERAPII PODCZAS CIĄŻY

**Poznań, 15-16 kwietnia 2016 r.**

**Centrum Kongresowo-Dydaktyczne  
Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu  
ul. Przybyszewskiego 37A**

**Komitet Organizacyjny**

**G.H. Bręborowicz, M. Ropacka-Lesiak, W. Markwitz**

**Główne tematy sympozjum**

- Zasady farmakoterapii podczas ciąży
- Farmakoterapia płodu
- Podstawy teratologii
- Transport łożyskowy leków
- Krwotok w okresie okołoporodowym
- Cięża wielopłodowa
- PROM
- Poród przedwczesny
- Choroby matki wpływające przebieg ciąży
- Stosowanie witamin podczas ciąży
- Szczepienia podczas ciąży
- Podstawy terapii w okresie laktacji
- Znieczulenie podczas ciąży i porodu
- Cięża po technikach wspomaganego rozrodu

**Termin rejestracji – 31 stycznia 2016 r.  
Termin nadsyłania prac – 31 stycznia 2016 r.**

**Szczegóły dotyczące rejestracji  
[www.ptmp.com.pl](http://www.ptmp.com.pl)**

**Sekretariat sympozjum**

**Klinika Perinatologii i Ginekologii  
Uniwersytet Medyczny w Poznaniu  
ul. Polna 33, 60-535 Poznań  
tel.: (061) 65 99 283, (061) 65 99 652  
faks: (061) 65 99 204  
e-mail: sekretariat.kpig@gpsk.am.poznan.pl**