

*На правах рукописи*

МАРТЫНОВА  
Мария Валерьевна

РОЛЬ ПРОГРАММИРОВАНИЯ ИНДУЦИРОВАННОГО ЦИКЛА В  
ПОВЫШЕНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ БЕСПЛОДИЯ В ПРОТОКОЛАХ  
С АНТАГОНИСТАМИ ГОНАДОТРОПИН РИЛИЗИНГ-ГОРМОНА

14.01.01 – Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва – 2020

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Мишиева Нона Годовна

Официальные оппоненты:

Серебренникова Клара Георгиевна – доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель по акушерству и гинекологии ФГБУЗ «Центральная клиническая больница РАН»

Калугина Алла Станиславовна – доктор медицинских наук, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, кафедра акушерства, гинекологии и неонатологии, профессор

Ведущая организация: ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России

Защита диссертации состоится «20» октября 2020 г. в 13:00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.125.01 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» по адресу: 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д.4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России:

[http://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/Martynova\\_MV\\_disser.pdf](http://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/Martynova_MV_disser.pdf)

Автореферат разослан « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 202\_\_ г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук,  
профессор

Калинина Елена Анатольевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Протоколы с антагонистом гонадотропин рилизинг-гормона (антГнРГ) становятся все более популярными для стимуляции функции яичников за счет сокращения времени стимуляции, суммарной дозы гонадотропинов, возможности профилактики развития синдрома гиперстимуляции яичников. Частота живорождения при использовании протокола с антГнРГ сопоставима с таковой при использовании «длинных» протоколов (Al-Inany et al. 2011). Однако лимитирующим фактором при применении протоколов с антГнРГ является зачастую отсутствие оптимальных условий для стимуляции яичников, а также привязанность пациентов и клиницистов ко времени начала стимуляции, которым является 2-3 день менструального цикла. (Hauzman et al. 2013).

В настоящее время существует множество методов, которые позволяют синхронизировать пул антральных фолликулов, регулировать старт стимуляции и, тем самым, увеличивать число получаемых ооцитов. Самыми перспективными из них являются: введение комбинированных оральных контрацептивов (КОК), препаратов эстрадиола в лютеиновой фазе предшествующего цикла, а также антГнРГ до начала стимуляции функции яичников гонадотропинами.

Согласно последним данным, прием КОК в цикле перед программой ЭКО снижает частоту наступления беременности. Возможным объяснением является влияние гестагенового компонента КОК на рецептивность эндометрия, в связи с чем нарушается нормальная пролиферации эндометрия, не происходит его полноценной секреторной трансформации, снижается кровоснабжение (Carlos Simón 2017). Также имеет место длительное подавление уровня лютеинизирующего гормона (ЛГ), который необходим для правильного фолликулогенеза (Georg Griesinger et al. 2010). В то же время, согласно данным Garcia-Velasco и соавт. назначение КОК в режиме 14 дней в цикле перед программой ЭКО в протоколе с антГнРГ не оказывает негативного влияния на эффективность программ ЭКО (Garcia-Velasco et al. 2011).

Другим методом программирования цикла является кратковременное назначение антГнРГ в раннюю фолликулярную фазу до начала гонадотропной стимуляции функции яичников, которая основывается на подавлении антГнРГ секреции гипофизарных гонадотропинов и гонадотропин-зависимой продукции половых стероидных гормонов, что статистически значимо увеличивает количество зрелых ооцитов, частоту оплодотворения в циклах стимуляции функции яичников в протоколе с антГнРГ, а также частоту имплантации и частоту наступления клинической беременности ( $P > 0,05$ ) (Eftekhar et al. 2018; Younis et al. 2010; Blockeel C. et al. 2011).

Применение эстрогенов с середины лютеиновой фазы цикла, предшествующего стимуляции яичников, для программирования циклов ЭКО основывается на ингибирующем эффекте эстрадиола на рост фолликула по механизму отрицательной обратной связи. R. Fanchin и J.S. Cunha-Filho (2003) продемонстрировали, что эстрадиол может способствовать синхронизации роста антральных фолликулов. Увеличение числа полученных ооцитов при подготовке

эстрогенами также подтверждается данными Кохрановского обзора (MD 2.23, 95% CI 0.71 to 3.75; 2 RCTs; 139 women; I<sup>2</sup> = 0%) (Farquhar et al. 2017). Однако, влияние данной подготовки на клинические исходы ЭКО у пациенток с нормальным резервом остается дискуссионным. Так, по данным Кохрановского обзора за 2017г не выявлено убедительных доказательств о повышении частоты наступления беременности при использовании препаратов эстрадиола во вторую фазу предыдущего цикла (Farquhar et al. 2017), в то время как, согласно современным данным, использование данной схемы у пациенток со сниженным овариальным резервом приводит к увеличению эффективности программы ЭКО (Pinelli et al. 2017).

В циклах ЭКО, наряду с отбором эмбрионов хорошего и отличного качества, необходимо определить время максимальной рецептивности эндометрия для проведения переноса эмбрионов (ПЭ) в полость матки с целью достижения максимальной частоты имплантации и наступления беременности ( Richter K.S. et al. 2007; Simon A. et al. 2012).

Ввиду возможного повреждения эндометрия в лечебных циклах, большинство методов предполагает производить биопсию эндометрия в естественном цикле, предшествующем переносу эмбриона. В связи с этим, актуален поиск косвенных методов оценки состояния эндометрия непосредственно перед переносом эмбриона.

В ряде работ показано, что цервикальная слизь представляет собой секрет не только слизистой цервикального канала, но и полости матки. Неоднократно было отмечено присутствие ряда цитокинов в цервикальной слизи ( Voomsma С.М. et al. 2009; Gargiulo A.R. et al. 2004). Так, Voomsma С.М. с соавторами (2009) показали, что разные цитокины, присутствующие в смывах из полости матки в день ПЭ у женщин, участвующих в программах ЭКО, так же находятся и в цервикальной слизи, но в меньших концентрациях.

Согласно данным отечественных авторов, экспрессия цитокинов в биоптате эндометрия коррелирует с их концентрацией в цервикальной слизи (Левиашвили М.М. 2012; Сеидова Л.А. 2016г). Также при изучении цитокинов аспирата полости матки выявлено, что они могут быть обнаружены в цервикальной слизи и использованы для оценки функции эндометрия (Gargiulo и соавт. 2004). Изучение цитокинового профиля цервикальной слизи позволяет косвенно оценить изменения, происходящие в эндометрии в динамике после гормонального программирования протоколов с антГнРГ без отмены ПЭ.

Таким образом, на сегодняшний день существует актуальная проблема повышения эффективности и пациентоориентированности программ ЭКО в протоколах с антГнРГ. Не определена целесообразность программирования индуцированного цикла для создания оптимальных условий для проведения стимуляции функции яичников, а также влияние гормональной подготовки на эндометрий. Для изучения этих вопросов планируется проведение данного исследования.

### Цель исследования

Оптимизация лечения бесплодия в программах ЭКО в протоколе с антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона путем программирования индуцированного цикла с использованием комбинированных оральных контрацептивов, эстрогенов и антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона.

### Задачи исследования

1. Изучить динамику концентраций половых гормонов в циклах с антагонистами ГнРГ при использовании различных схем синхронизации роста фолликулов.
2. Исследовать параметры фолликуло-, оо- и раннего эмбриогенеза у изучаемых групп больных.
3. Оценить состояние рецептивности эндометрия в протоколах с антагонистами ГнРГ на основании определения содержания цитокинов и факторов роста (VEGF, TNF- $\alpha$ , LIF, MIF, IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IL-7, IL-9, IL-15, RANTES, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17A, MIP-1 $\beta$ , MIP-1 $\alpha$ , PDGF-BB, Eotaxin, FGF, G-CSF, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IP-10, MCP-1) в цервикальной слизи у изучаемых групп пациенток.
4. Провести сравнительную оценку частоты наступления беременности у изучаемых групп пациенток.
5. На основании полученных данных разработать алгоритм программирования индуцированного цикла с антагонистами ГнРГ в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

### Научная новизна

В сравнительном аспекте изучены особенности гормонального профиля индуцированных циклов, параметров фолликуло-, оо- и эмбриогенеза в протоколах с антГнРГ после использования разных схем предварительной гормональной подготовки. Оценено влияние различных методов программирования индуцированного цикла на уровень провоспалительных цитокинов, проангиогенных факторов, хемокинов, факторов роста в цервикальной слизи в динамике лютеиновой фазы индуцированного цикла: VEGF, TNF- $\alpha$ , LIF, MIF, IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IL-7, IL-9, IL-15, RANTES, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17A, MIP-1 $\beta$ , MIP-1 $\alpha$ , PDGF-BB, Eotaxin, FGF basic, G-CSF, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IP-10, MCP-1. Дана сравнительная оценка эффективности программ ЭКО при различных вариантах программирования индуцированного цикла в протоколах с антГнРГ.

### Практическая значимость

Показана возможность синхронизации фолликулярного пула к началу стимуляции функции яичников путем гормональной подготовки различными методами перед вступлением в протокол с антГнРГ. Доказано отсутствие негативного влияния на фолликуло-, оо- и эмбриогенез, а также влияния на длительность стимуляции и суммарное потребление гонадотропинов при использовании различных методов программирования начала цикла. На основании сравнительной оценки уровней цитокинов в цервикальной слизи в

динамике лютеиновой фазы определено влияние изучаемых методов подготовки на эндометрий, а также определена целесообразность ПЭ в лечебном цикле в зависимости от применяемого метода претритмента. На основании ROC-анализа определены пороговые значения концентраций цитокинов в цервикальной слизи, позволяющие прогнозировать вероятность наступления беременности. Результаты исследования позволили разработать алгоритм дифференцированного подхода к программированию индуцированного цикла в протоколах с антГнРГ.

#### Положения, выносимые на защиту

1. Применение КОК, эстрадиола валерата в предшествующем цикле, а также введение антГнРГ в начале цикла стимуляции позволяет эффективно программировать время вступления в протокол ЭКО и начало стимуляции яичников в протоколе с антГнРГ, не оказывая негативного влияния на фолликуло-, оо- и эмбриогенез. Применение КОК и эстрадиола валерата позволяет сформировать большой пул синхронных фолликулов на начало стимуляции яичников и, соответственно, получить большее количество преовуляторных фолликулов, зрелых ооцитов и бластоцист отличного качества, по сравнению с отсутствием подготовки к вступлению в программу ЭКО.

2. Использование КОК для подготовки к проведению программы ЭКО в протоколе с антГнРГ приводит к снижению концентрации провоспалительных цитокинов (IL-12p70, IL-6, IL-1 $\beta$ , LIF) и хемокинов (IL-8), а также к дисбалансу проангиогенных факторов (VEGF, FGF, GM-CSF), что является результатом негативного влияния КОК на рецептивность эндометрия.

3. Использование эстрадиола валерата в предшествующем стимуляции яичников цикле, а также введение антГнРГ перед стимуляцией яичников не оказывает негативного влияния на клинические исходы программ ВРТ. Программирование циклов ЭКО с помощью КОК с ПЭ в цикле стимуляции нецелесообразно в связи с нарушением секреции цитокинов в эндометрии и связанным с этим снижением эффективности программ ЭКО.

#### Личный вклад автора в проведенное исследование

Автор принимал непосредственное участие в выборе направления исследования, разработке цели и задач исследования. Разработан дизайн исследования и карты обследования пациентов. Автор самостоятельно проводил анкетирование, обследование и наблюдение пациентов. Принимал участие в лечении женщин, курировал пациенток после ПЭ.

Совместно с врачом клинической лабораторной диагностики лаборатории клинической иммунологии Вторушиной В.В. выполнял иммунологическое исследования.

#### Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 4 и 5 паспорта акушерства и гинекологии.

### Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены и используются в практической работе 1-го гинекологического отделения ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, из которых 4 входят в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК.

### Апробация результатов

Работа обсуждена на конференции 1-го гинекологического отделения сохранения и восстановления репродуктивной функции (05.02.2020) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (17.02.2020, протокол № 18).

### Структура и объем диссертации

Работа изложена на 127 страницах и состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы и приложения. Диссертация содержит 21 таблиц и 10 рисунков. Библиографический указатель включает 202 литературных источника, из которых 14 работ отечественных авторов и 188 зарубежных.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### Материал и методы исследования

В исследование были включены 210 пациенток, обратившихся для лечения бесплодия в программе ЭКО в период с 2011 по 2014г. в 1 гинекологическое отделение (руководитель отделения – к.м.н. Абубакиров А.Н.) ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор – академик Сухих Г.Т.).

Все пациентки, включенные в исследование, были предварительно обследованы в соответствии с приказом Минздрава России №107н.

После проведенного обследования при помощи метода блочной рандомизации 210 пациенткам, входившим в исследуемые группы, назначалась предварительная подготовка:

I группа – 53 пациентки, получавшие КОК (этинилэстрадиол 30 мкг/ гестоден 75 мкг) в режиме 14 дней со второго дня менструального цикла;

II группа – 52 пациентки, которые получали эстрогены (эстрадиола валерат 4 мг/сут) с 21-25 дня предыдущего цикла перед стимуляцией функции яичников по протоколу с антГнРГ в течение 6-10 дней с отменой их за день до начала стимуляции функции яичников;

III группа – 52 женщины, получавшие антГнРГ в раннюю фолликулярную фазу в течение 3 дней со 2 дня цикла с последующим переходом к стимуляции функции яичников гонадотропинами по протоколу с антГнРГ с 5 дня цикла.

IV группу (контрольную) составили 53 женщины, не получавшие предварительную подготовку, стимуляция функции яичников в которой проводилась по стандартному протоколу.

Далее всем пациенткам проводилась стимуляция функции яичников по фиксированному протоколу с антГнРГ. Введение гонадотропинов начинали: в I

группе - на 5 день после отмены КОК; во II группе - на следующий день после отмены эстрадиола; в III группе - с 5 дня менструального цикла; в IV группе - с 2-3 дня менструального цикла. Стартовая доза во всех группах была одинаковой и составила 225 МЕ в сутки. На 6 день стимуляции с целью подавления преждевременного пика ЛГ всем пациенткам вводили антГнРГ (цертрореликс) в дозе 0,25 мг в сутки в течение 2-4 дней до достижения критериев, необходимых для введения триггера финального созревания ооцитов.

Длительность стимуляции суперовуляции, кратность и дозу вводимых препаратов определяли на основании данных гормонального и ультразвукового (УЗ) мониторинга.

В качестве триггера финального созревания ооцитов использовался препарат хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) в дозировке 10000 ЕД в/м, который вводили при достижении лидирующим фолликулом диаметра не менее 17 мм по данным ультразвукового исследования (УЗИ). После этого через 35-36 часов производили трансвагинальную пункцию (ТВП) фолликулов и аспирацию ооцитов в условиях малой операционной под кратковременным внутривенным наркозом посредством вакуумной аспирации фолликулов под трансвагинальным ультразвуковым мониторингом с использованием одноразовых игл (система Cook IVF).

Для поддержки лютеиновой фазы индуцированного цикла использовали микронизированный прогестерон в дозе 600 мг/сутки со следующего дня после ТВП.

Морфологическую оценку эмбрионов осуществляли согласно принятым критериям (Gardner and Schoolcraft 1999). Перенос не более двух эмбрионов в полость матки производили на 5 сутки после оплодотворения. Через 14 дней после ПЭ в полость матки оценивалась концентрация бета-субъединицы хорионического гонадотропина человека (bХГЧ) в крови пациенток. Положительной считалась концентрация bХГЧ >20 МЕ/л. УЗИ производилось на 21 день после ПЭ в полость матки с целью визуализации плодного яйца в полости матки. Ультразвуковая диагностика сердцебиения плода проводилась в 5-6 недель беременности.

В ходе стимуляции проводили УЗ-мониторинг: на 2-3 день менструального цикла в раннюю фолликулярную фазу, на 6-й день стимуляции функции яичников, далее ежедневно с целью контроля динамики роста фолликулов и состояния эндометрия для своевременной коррекции дозы вводимого индуктора и введения овуляторной дозы хорионического гонадотропина.

В ходе исследования производили забор периферической крови в день начала стимуляции функции яичников для определения концентраций лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), эстрадиола ( $E_2$ ) и прогестерона (Р), на 6-й день стимуляции и в день введения триггера овуляции определяли концентрации ЛГ,  $E_2$  и Р.

Для оценки влияния предварительной подготовки на цитокиновый профиль эндометрия у пациенток различных групп в лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (руководитель – д.м.н. Кречетова Л.В.) определялись концентрации цитокинов:



IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, FGF, eotaxin, G-CSF, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IP-10, MCP-1 (MCAF), MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , PDGF-BB, RANTES, TNF- $\alpha$ , VEGF; в цервикальной слизи мультиплексным методом с использованием стандартной 27-плексной тест-системы Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex Assay, а LIF и MIF – с использованием дуплексной тест-системы Bio-Plex Pro Human Cytokine, Group II (Bio-Rad, США) на проточном лазерном иммуноанализаторе Bio-Plex 200 System (Bio-Rad, США) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя и последующей обработкой полученных результатов с использованием приложения Bio-Plex Manager 6,0 Properties (Bio-Rad, США). Содержание цитокинов в цервикальной слизи выражали в пикограммах на миллилитр (пг/мл).

Исследование было одобрено комиссией по этике биомедицинских исследований Центра.

Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакета прикладных программ «IBM SPSS Statistics» v. 22 (США).

Статистическую обработку данных производили общепринятыми методами вариационной статистики. Для каждого количественного параметра были определены среднеарифметическое значение, стандартное среднеквадратичное отклонение, медиана, интерквартильный размах. Для качественных данных определяли показатели частоты (%).

Для сравнения качественных данных использовались методы обработки данных по критериям  $\chi^2$ . Для сравнения параметрических критериев использовали Т-критерий Стьюдента для несвязанных совокупности. Использовали Т-критерий Стьюдента для связанных пар для сравнительного анализа связанных переменных. Для несвязанных выборок использовали критерий Манна-Уитни, а для связанных критерий Вилкоксона. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . Для определения прогностичности данных использовался ROC-анализ. Для определения вероятности наступления события использовался метод множественной логистической регрессии.

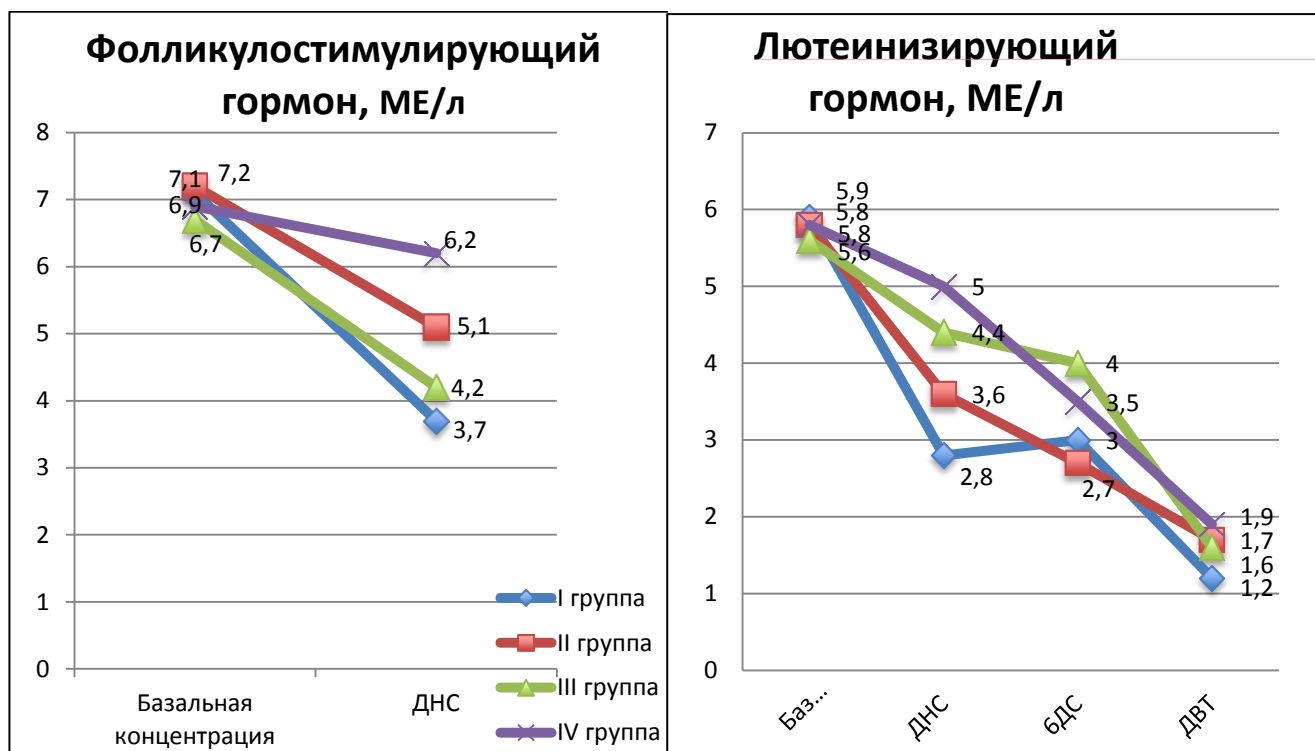
### Результаты собственных исследований и их обсуждение

Пациентки исследуемых групп не различались по возрасту, клинико-анамнестическим характеристикам, факторам бесплодия и репродуктивному анамнезу.

Всем вошедшим в исследование пациенткам проводился гормональный мониторинг. Забор крови был произведен на 2 день менструального цикла в цикле предшествующем стимуляции функции яичников, непосредственно перед началом стимуляции, на 6-й день стимуляции и в день введения триггера овуляции. Оценка данных исходного гормонального профиля во всех исследуемых группах показала, что пациентки имели сопоставимые параметры овариального резерва.

В каждой группе исследовалась динамика уровней гонадотропинов (ФСГ и ЛГ) до начала предварительной подготовки и в день старта стимуляции яичников, статистически достоверной разницы при сравнительном анализе не выявлено. Однако прослеживается тенденция к снижению концентрации ФСГ и ЛГ после

приема КОК (рисунок 1,2).



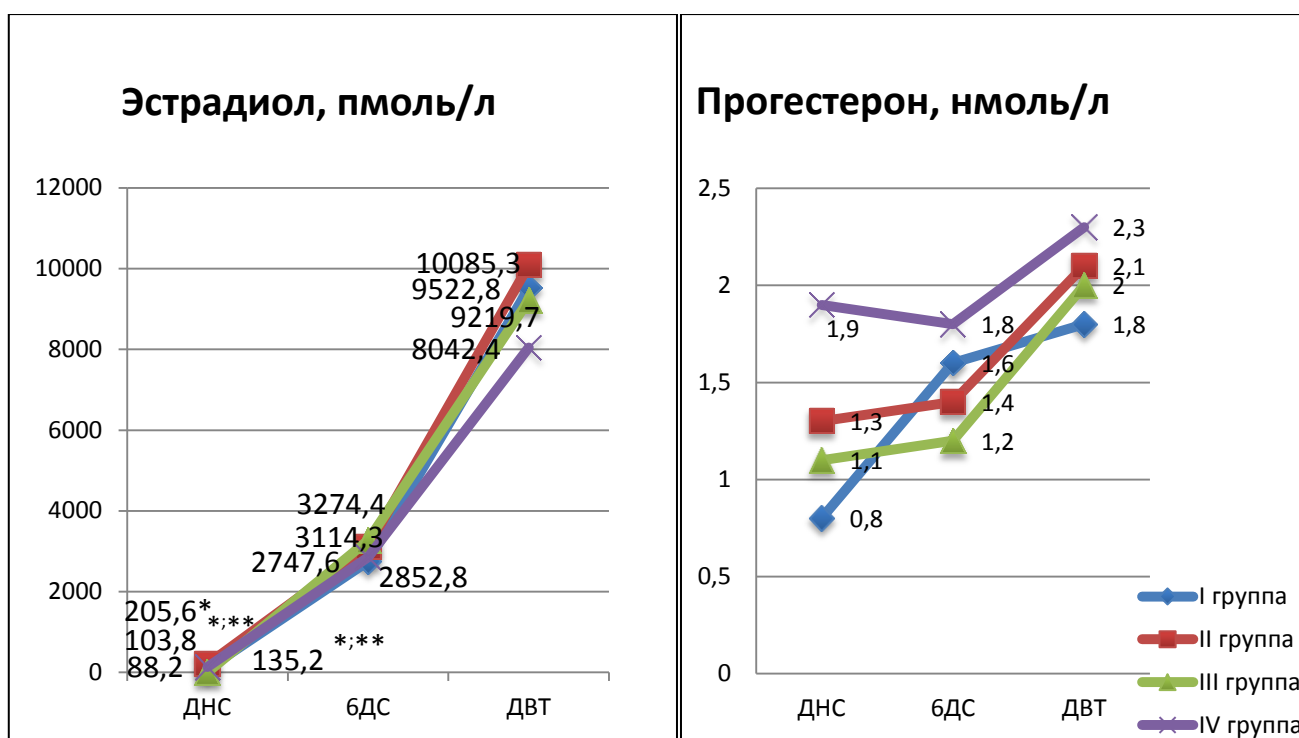
Примечание: Баз. Концентрация – базальная концентрация; ДНС-день начала стимуляции суперовуляции; 6ДС - 6-й день стимуляции суперовуляции; ДВТ - день введения триггера;  $p>0,05$

**Рисунок 1** Динамика концентрации ФСГ **Рисунок 2** Динамика концентрации ЛГ

При исследовании гормонального профиля непосредственно перед началом стимуляции функции яичников, выявлено, что уровень ФСГ и ЛГ во всех группах статистически не различался (рисунок 1,2), что соответствует данным Cédric-Durnerin и соавт. 2012г. Однако уровень эстрадиола был статистически достоверно ниже в группе с применением КОК для предварительной подготовки по сравнению с другими группами и составил  $88,2\pm 64,7$  пмоль/л, в то время как в группе с применением эстрогенов концентрация эстрадиола оказалась статистически значимо выше при сравнении с другими группами- $205,6\pm 99,3$  пмоль/л (при сравнении группы I и II,  $p^*<0,001$ ), в группе с использованием антГнРГ -  $103,8\pm 68,2$  пмоль/л (при сравнении группы I и III,  $p^*=0,04$ , при сравнении группы II и III,  $p^{**}=0,011$ ), и в группе с без предварительной подготовки концентрация  $E_2$  составила  $135,2\pm 80,6$  пмоль/л (при сравнении группы I и IV,  $p^*=0,02$ , при сравнении группы II и IV  $p^{**}=0,037$ ). Концентрация прогестерона была статистически достоверно ниже в I группе по сравнению с группой без предварительной подготовки ( $0,8\pm 0,6$  и  $1,9\pm 1,2$ ;  $p=0,034$ ). Уровень прогестерона во II и III группах составил  $1,3\pm 0,9$  и  $1,1\pm 0,7$  нмоль/л соответственно (рисунок 3,4).

На 6 день стимуляции функции яичников уровни  $E_2$ , P и ЛГ между группами статистически не различались (рисунок 2,3,4).

В день введения триггера овуляции гормональный профиль исследуемых групп также статистически значимо не различался (рисунок 2,3,4).



Примечание: ДНС - день начала стимуляции суперовуляции; 6ДС- 6-й день стимуляции суперовуляции; ДВТ- день введения триггера;  $p^*$  - различия при сравнении с группой IV;  $p^{***}$  - различия при сравнении с группой II

**Рисунок 3** Динамика концентрации  $E_2$

**Рисунок 4** Динамика концентрации P

При анализе циклов стимуляции яичников не было выявлено статистически значимых различий в продолжительности стимуляции суперовуляции и суммарной дозе гонадотропинов. Однако в I группе отмечается тенденция к увеличению длительности стимуляции по сравнению с другими исследуемыми группами (таблица 1).

**Таблица 1**

Характеристика стимулированного цикла

Параметры	I КОК (n=53)	II E2 (n=52)	III антГнРГ (n=52)	IV станд. (n=53)
Стартовая доза гонадотропина, МЕ	225	225	225	225
Средняя доза гонадотропина/сутки, МЕ	225±73,4	225±78,5	225± 81,7	225±105,4
Суммарная доза рФСГ, МЕ	2211,1±879,4	2115,7±757,2	2137,8±581,4	2047,9±780,2
Длительность стимуляции, дни	10,2±1,6	9,8±2,1	9,5±1,7	9,1±1,4

Примечание:  $p > 0,05$

При сравнительном анализе параметров фолликулогенеза в исследуемых группах выявлено достоверно значимое увеличение когорты фолликулов 6-9 мм в начале стимуляции яичников ( $15,5 \pm 2,5$  в группе I и  $14,8 \pm 2,4$  в группе II по сравнению с группой IV -  $9,2 \pm 3,2$ ;  $p < 0,05$ ) и соответственно преовуляторных фолликулов ( $14,3 \pm 3,2$  в группе I и  $13,8 \pm 3,0$  в группе II по сравнению с группой IV -  $9,0 \pm 1,9$ ;  $p < 0,05$ ) в день введения триггера в группах с использованием программирования цикла при помощи КОК и эстрадиола по сравнению с контрольной группой, что также подтверждалось в работах Cédric-Durnerin 2007г, 2012г. Однако данные Кохрановского обзора подтвердили этот вывод только в случае использования подготовки препаратами эстрадиола, но не при приеме КОК (Farquhar 2017г). В группе с антГнРГ по сравнению с контрольной группой различий не выявлено.

По данным УЗИ толщина эндометрия в день введения триггера овуляции была сопоставима между группами ( $9,8 \pm 1,8$  в группе I;  $10,1 \pm 2,1$  в группе II;  $10,2 \pm 1,6$  в группе III;  $10,4 \pm 2,3$  в IV группе).

Таким образом, статистически достоверное снижение концентраций стероидных гормонов в группе КОК в день начала стимуляции суперовуляции, по сравнению с другими группами, может свидетельствовать о сохраняющейся супрессии фолликулярного пула яичников после применения КОК. Проведение предварительной гормональной подготовки различными методами не привело к увеличению суммарной дозы гонадотропинов и продолжительности стимуляции, по сравнению с группой контроля. Применение КОК и эстрадиола валерата в лютеиновой фазе предыдущего цикла позволяет сформировать больший синхронный пул фолликулов к началу стимуляции яичников, по сравнению с группой, где подготовка не проводилась.

Далее нами был проведен сравнительный анализ эмбриологического этапа программ ЭКО в исследуемых группах. Было выявлено статистически значимое увеличение количества полученных и зрелых ооцитов в группах, где для подготовки использовались препараты КОК и эстрадиола валерата по сравнению с контрольной группой. Количество бластоцист, бластоцист отличного качества, а также витрифицированных эмбрионов оказалось также выше в I и II группах, что дает возможность увеличить кумулятивную частоты наступления беременности за счет большего количества криоконсервированных эмбрионов (таблица 2).

В группе, где в качестве подготовки вводился антГнРГ показатели оо- и раннего эмбриогенеза были сопоставимы с таковыми в контрольной группе ( $p > 0,05$ ).

Таблица 2

## Характеристика показателей оогенеза и раннего эмбриогенеза

Параметры	I КОК (n=53)	II E2 (n=52)	III антГнРГ (n=52)	IV станд. (n=53)
Кол-во ооцитов	12,9±4,4 (p*=0,04)	12,7±3,5 (p*=0,034)	9,7±4,2	8,2±3,9
Количество ооцитов МП	11,2±3,7 (p*= 0,028)	9,3±3,9 (p*= 0,026)	8,5±3,8	7,7±3,2
Частота оплодотворения (%)	87,9	89,2	78,8	79,8
Количество нормально оплодотворившихся ооцитов (2PN)	9,2±3,1	8,1±2,6	6,2±2,4	5,3±2,9
Кол-во бластоцист	4,8±2,4 (p*= 0,022)	4,2±2,0 (p*= 0,032)	3,2±2,4	2,1±1,6
Кол-во эмбрионов на перенос	1,8±0,2	1,6±0,4	1,4±0,3	1,7±0,2
Количество бластоцист отличного качества	3,1±0,8 (*p- 0,037)	3,0±0,6 (*p- 0,039)	2,6±0,4	1,2±0,5
Кол-во криоконсервированных эмбрионов	2,4±1,5 (p*= 0,004)	2,2±1,5 (p*= 0,006)	1,4±1,1	0,9±0,6

Примечание: p\* - различия при сравнении с группой IV

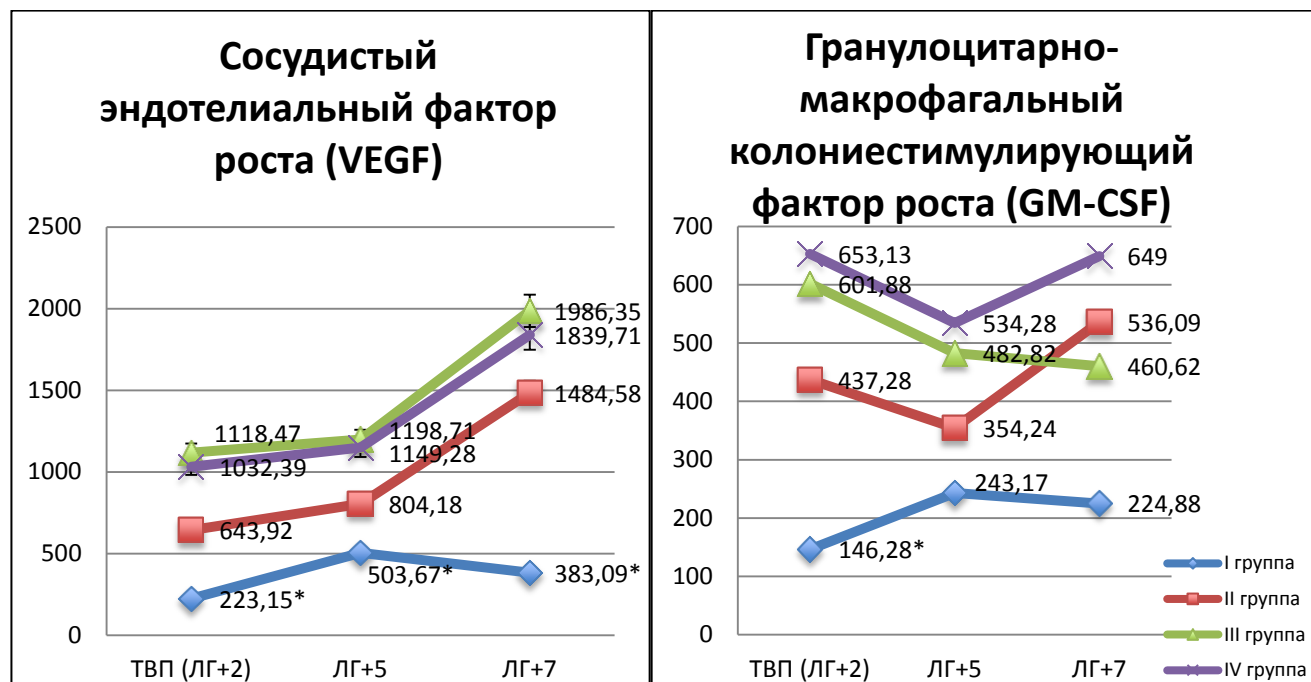
Отсутствие негативного влияния на параметры оо- и эмбриогенеза согласуются с данными Кохрановского обзора (Farquhar 2017г).

На следующем этапе работы нами были проанализированы концентрации 29 цитокинов в цервикальной слизи, но только 8 из них изменили свою концентрацию со дня ТВП до дня ПЭ.

Согласно полученным данным, концентрации сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF) были значительно ниже в группе с КОК в течение периода исследования, по сравнению с контрольной группой. При анализе концентраций факторов роста выявлена тенденция к увеличению значений VEGF от дня ТВП до дня ПЭ во всех группах, однако в I группе, где в качестве подготовки к циклу стимуляции использовали КОК, выявлена обратная динамика – снижение концентрации VEGF от дня ТВП до дня ПЭ. Выявлено статистически значимое снижение концентрации VEGF в I группе, по сравнению с контрольной группой в день ТВП, а также на 3и сутки после пункции и в день ПЭ (рисунок 6).

При сравнении концентрации гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора роста (GM-CSF) между группами

зарегистрирована статистически достоверно низкая концентрация в день ТВП между I и IV группами, но затем его концентрация увеличилась и была сопоставима с контрольной группой в день ПЭ (рисунок 7).



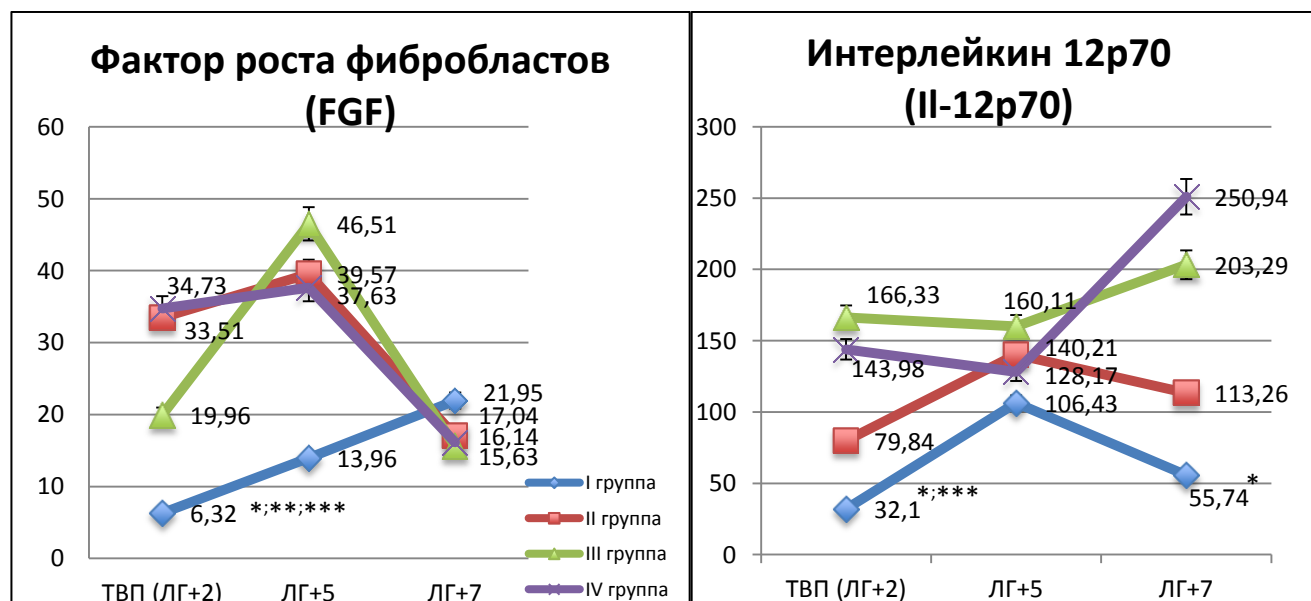
Примечание:  $p^*$ - различия при сравнении с группой IV

**Рисунок 6** Концентрация VEGF

**Рисунок 7** Концентрация GM-CSF

Фактор роста фибробластов (FGF) был статистически значимо ниже в день ТВП в группе с предварительной подготовкой КОК и составил  $6,32 \pm 0,72$  нг/мл, но затем увеличился и был сопоставим во всех группах в день ПЭ (рисунок 8).

Концентрации интерлейкин-12 IL-12 также были статистически значимо ниже в группе I в день ТВП и в день ПЭ по сравнению с IV группой (рисунок 9).



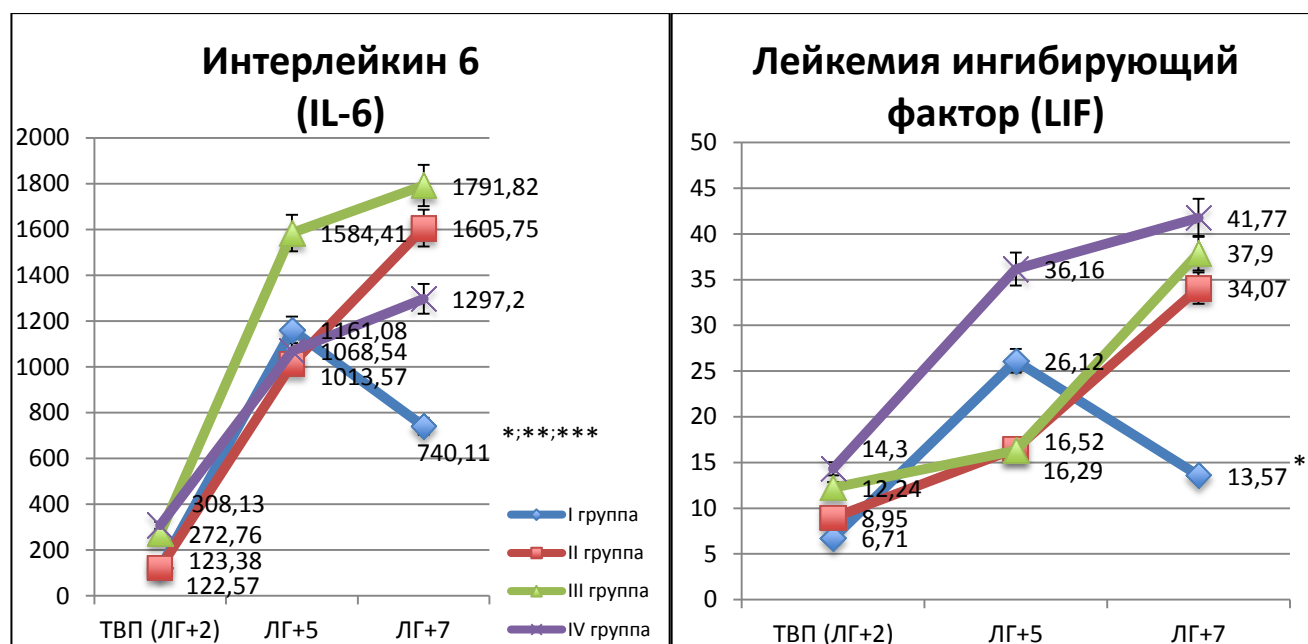
Примечание:  $p^*$ - различия при сравнении с группой IV;  $p^{**}$ - различия при сравнении с группой II;  $p^{***}$ - различия при сравнении с группой III

**Рисунок 8** Концентрация FGF

**Рисунок 9** Концентрация IL-12

Уровень интерлейкина-6 (IL-6) был значительно ниже в день ПЭ для группы КОК по сравнению с другими группами. Выявлено статистически достоверное повышение концентрации IL-6 от дня ТВП до дня ПЭ во всех изучаемых группах, в то время как в I группе происходит снижение уровней IL-6 от дня ТВП+3 до дня ПЭ. Концентрация IL-6 на день переноса эмбрионов статистически достоверно ниже в группе КОК по сравнению с остальными исследуемыми группами (рисунок 10).

Содержание лейкоцимии ингибирующего фактора (LIF) статистически достоверно увеличивалось от дня ТВП до дня ПЭ во всех группах кроме группы с КОК, в которой наблюдалось падение уровня LIF до  $13,57 \pm 3,35$  пг/мл в день переноса эмбрионов, что оказалось статистически достоверно при сравнении с уровнем LIF в контрольной группе (рисунок 11).

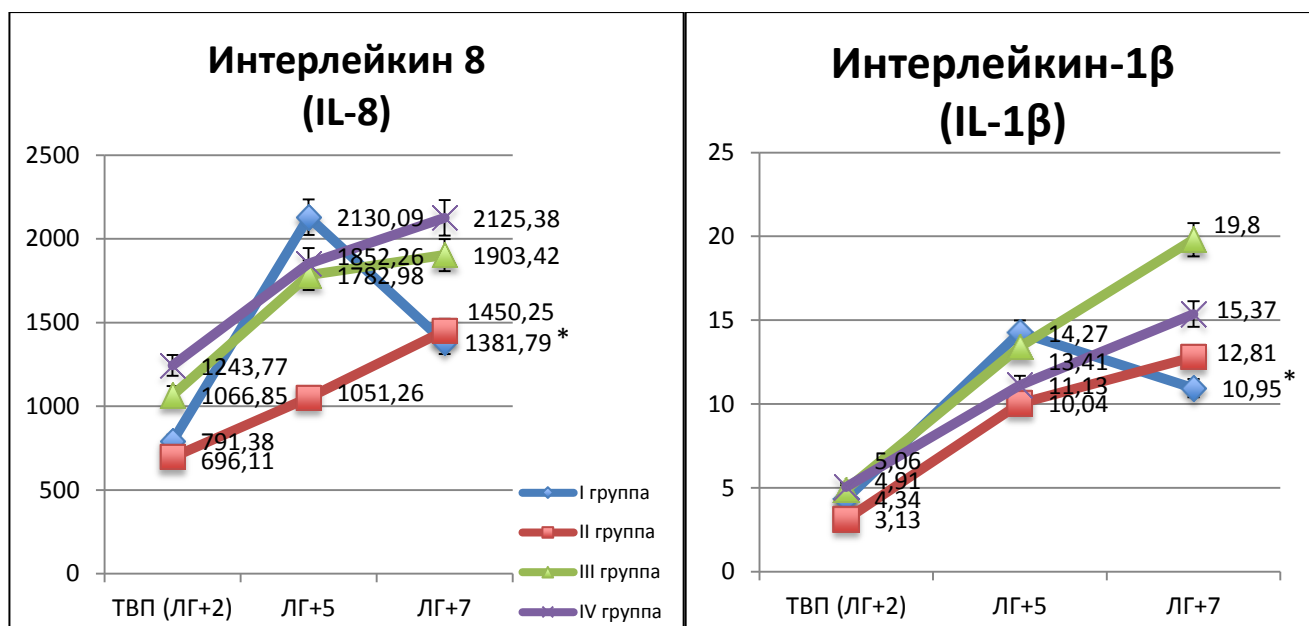


Примечание:  $p^*$ - различия при сравнении с группой IV;  $p^{**}$ - различия при сравнении с группой II;  $p^{***}$ - различия при сравнении с группой III

**Рисунок 10** Концентрация IL-6

**Рисунок 11** Концентрация LIF

При анализе изменения концентрации цитокинов в период окна имплантации отмечалось статистически достоверное снижение концентрации IL-8 и IL-1 $\beta$  с третьего дня после ТВП до дня ПЭ в группе, где подготовка проводилась КОК (рисунки 12, 13).



Примечание:  $p^*$ - различия при сравнении в I группе между днем ЛГ+5 и ЛГ+7

**Рисунок 12** Концентрация IL-8

**Рисунок 13** Концентрация IL-1β

Таким образом, выявлено статистически достоверное снижение концентраций провоспалительных цитокинов (IL-12p70, IL-6, IL-1β, LIF) и хемокинов (IL-8), а также дисбаланс проангиогенных факторов (VEGF, FGF, GM-CSF), что может являться результатом применения КОК в качестве предварительной подготовки к программе ЭКО.

Анализируя эффективность программ ЭКО можно отметить, что частота наступления беременности была статистически значимо ниже в группе с предварительной подготовкой КОК и составила 16 % при сравнении с другими изучаемыми группами. Частота наступления прогрессирующей беременности также была статистически значимо ниже в группе КОК при сравнении с группой II, однако при сравнении исходов программы ЭКО II группы с III и IV группами статистически значимой разницы не выявлено (таблица 3).



## Исходы программы ЭКО

Параметры	I КОК (n=53)	II E2 (n=52)	III антГнРГ (n=52)	IV станд. (n=53)
Частота наступления беременности	16,98% (9)	44,2% (23) (**p-0,006)	40,38% (21) (**p-0,015)	37,7% (20) (*p- 0.03)
Частота наступления клинической беременности	15,09% (8)	40,4% (21) (**p-0,008)	36,5% (19) (**p-0,02)	32,1% (17)
Частота ранних репродуктивных потерь	11,11% (1/9)	9,5% (2/21)	10,5% (2/19)	5,9% (1/17)
Частота прогрессирующей беременности	15,09% (8)	36,5% (19) (**p-0,022)	32,7% (17)	30,2% (16)
Частота многоплодных беременностей	1,9% (1)	5,7% (3)	5,8% (3)	5,7% (3)
Частота родов	15,09% (8)	34,6% (18) (**p-0,037)	30,8% (16)	28,3% (15)

Примечание:  $p^*$  - различия при сравнении с группой IV;  $p^{**}$  - различия при сравнении с группой II

Отсутствие значимой разницы при использовании препаратов эстрадиола в лютеиновой фазе предыдущего цикла и антГнРГ перед проведением стимуляции функции яичников также соответствуют данным Shahrokhi и соавторы 2018г, Blockeel и соавт. 2011г., а также выводам Кохрановского обзора за 2017г.

Однако полученные нами данные по эффективности программы ЭКО с переносом эмбрионов в лечебном цикле после подготовки КОК были противоположны данным Garcia-Velasco с соавт. в 2011 г., и соответствуют данным Кохрановского обзора за 2017г, который также говорит о нецелесообразности проведения программы ЭКО с ПЭ в лечебном цикле после приема КОК (Farquhar 2017г).

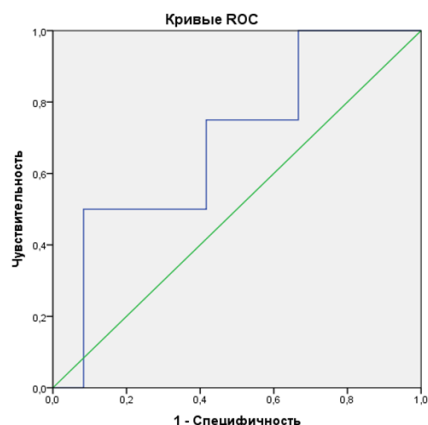
Отсутствие негативного влияния предварительной подготовки КОК на качество эмбрионов позволило предположить, что в основе ухудшения эффективности программ ЭКО лежит дисбаланс продукции цитокинов.

Для прогнозирования наступления беременности на различных этапах проведения программы ЭКО был проведен ROC анализ цитокинового профиля исследуемых групп.

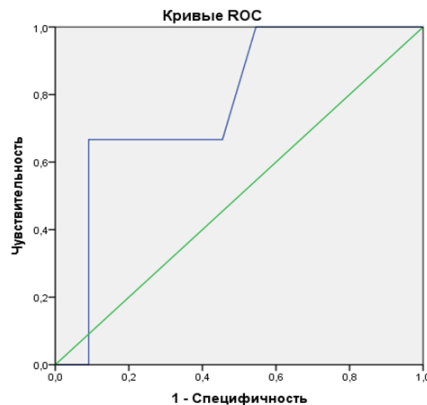
При помощи ROC анализа определено пороговое значение концентрации VEGF в день ТВП, при котором ожидается наступление беременности, которая

составила 182 нг/мл с чувствительностью 72 % и специфичностью 70%, площадь под кривой составила 0,711 (рисунок 14).

При построении ROC кривой для FGF в день ТВП выявлена точка отсечки 12 нг/мл с чувствительностью 86% и специфичностью 60% при площади под кривой 0.783 (рисунок 15).

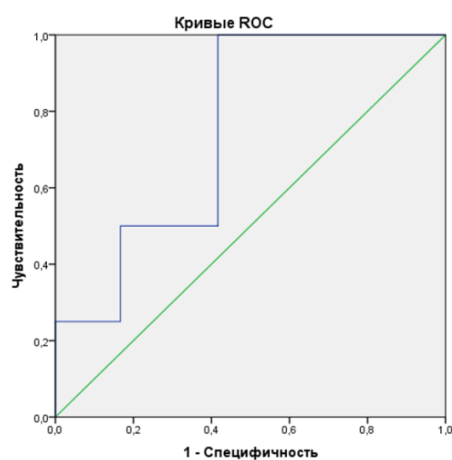


**Рисунок 14** ROC кривая для уровня VEGF



**Рисунок 15** ROC кривая для уровня FGF

При построении ROC кривой для GM-CSF в день ТВП выявлена точка отсечки 69 нг/мл с чувствительностью 75% и специфичностью 68%, площадь под кривой составила 0.764 (рисунок 16).



**Рисунок 16** ROC кривая для уровня GM-CSF

В день ПЭ выявлена прогностическая ценность концентраций ИЛ-6 и LIF (провоспалительные цитокины), предвещающих наступление беременности.

Так при построении ROC кривой для уровня ИЛ-6 в день ПЭ пороговым значением явилось 535 нг/мл с чувствительностью 82 % и специфичностью 71%, площадь под кривой составила 0,764 (рисунок 17).

Для концентрации LIF в день ПЭ точкой отсечки явилась 12 нг/мл с чувствительностью 98% и специфичностью 60% с площадью под кривой 0.722 (рисунок 18).

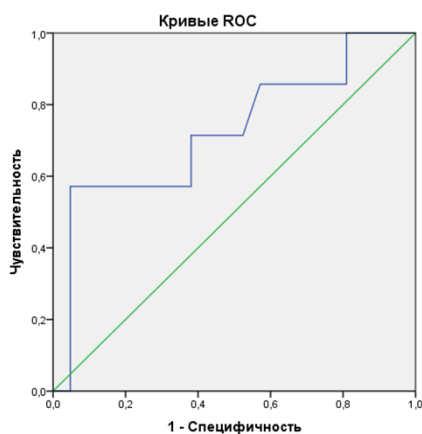


Рисунок 17 ROC кривая для уровня IL-6

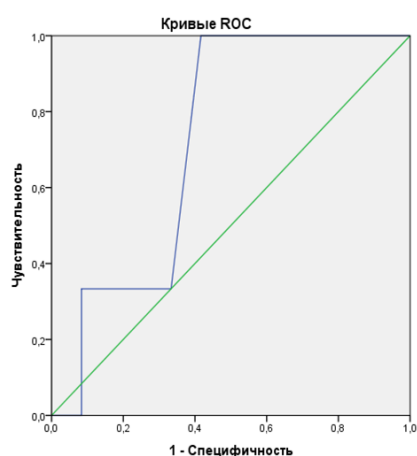


Рисунок 18 ROC кривая для уровня LIF

Таким образом, определение концентрации цитокинов в цервикальной слизи позволяет прогнозировать вероятность наступления беременности в протоколах ВРТ и индивидуально решать вопрос о целесообразности проведения переноса эмбриона в полость матки в данном лечебном цикле.

В результате ЛОГ анализа для прогнозирования наступления беременности нами выведена следующая формула:

$$Z = -46,151 \times \text{IL-6} - 0,003 \times \text{IL-6} - 0,217 \times \text{LIF} + 1,621 \times \text{VEGF} + 22,97 \times \text{E2} - 5,903$$

Формула вероятности наступления беременности:

$$\frac{1}{(1 + e^{-z})}$$

где  $e$  – основание натурального логарифма ( $\approx 2,72$ ). Чувствительность метода 66%, специфичность 87,5%, точность 81,8%.

## ВЫВОДЫ

1. Использование КОК в течение 14 дней при подготовке к протоколу с анд-ГнРГ приводит к снижению уровня эстрадиола (группа I -  $88,2 \pm 64,7$  пмоль/л, группа II -  $205,6 \pm 99,3$  пмоль/л, группа III -  $103,8 \pm 68,2$  пмоль/л, группа IV -  $135,2 \pm 80,6$  пмоль/л,  $p < 0,05$ ) и прогестерона (I группа -  $0,8 \pm 0,6$  нмоль/л, II группа -  $1,3 \pm 0,5$  нмоль/л, III группа -  $1,1 \pm 0,7$  нмоль/л, IV группа -  $1,9 \pm 1,2$  нмоль/л;  $p < 0,05$ ) в день начала стимуляции суперовуляции, по сравнению с другими методами подготовки и без нее, что может свидетельствовать о сохраняющейся супрессии яичников после применения КОК.

2. Подготовка КОК и эстрадиола валератом в лютеиновую фазу предыдущего цикла позволяет сформировать большой синхронный пул фолликулов 6-9 мм ко дню начала стимуляции яичников, по сравнению с группой без подготовки (группа I -  $15,2 \pm 2,5$ , группа II -  $14,8 \pm 2,4$ , IV группа -  $9,2 \pm 3,2$ ,  $p > 0,05$ ); получить большее число преовуляторных фолликулов (группа I -  $14,3 \pm 3,2$ , группа II -  $13,8 \pm 3,0$ , IV группа -  $9,0 \pm 1,9$ ,  $p < 0,05$ ); большее число зрелых ооцитов (I группа -  $11,2 \pm 3,7$ , II группа -  $9,3 \pm 3,9$ , IV группа -  $7,7 \pm 3,2$ ,  $p < 0,05$ ); blastocyst хорошего качества (I группа -  $3,1 \pm 0,8$ ; II группа -  $3,0 \pm 0,6$ , IV группа -  $1,2 \pm 0,5$ ,  $p < 0,05$ ), и, соответственно, криоконсервированных эмбрионов (I группа -  $2,4 \pm 1,5$ ; II группа -  $2,2 \pm 1,5$ , IV группа -  $0,9 \pm 0,6$ ,  $p < 0,05$ ). В группе, где в качестве подготовки

вводился анТГнРГ перед вступлением в стимуляцию суперовуляции показатели фолликуло-, оо- и раннего эмбриогенеза были сопоставимы с контрольной группой ( $p>0,05$ ).

3. Применение КОК в течение 14 дней приводит к снижению концентрации провоспалительных цитокинов в цервикальной слизи в период окна имплантации (с 3го дня после трансвагинальной пункции ко дню переноса эмбрионов): IL-1 $\beta$  – с  $14,27\pm 5,48$  до  $10,95\pm 3,26$  ( $p=0,027$ ); IL-6 – с  $1161,08\pm 389,62$  до  $740,11\pm 229,97$  пг/мл ( $p=0,035$ ); IL-8 –  $2130,09\pm 109,41$  и  $1381,79\pm 508,29$  ( $p=0,017$ ); IL-12p70 – с  $106,43\pm 60,13$  до  $55,74\pm 25,94$  ( $p=0,028$ ); концентрация IL-6 на день переноса эмбрионов статистически достоверно ниже в I группе по сравнению с остальными исследуемыми группами ( $740,11\pm 229,97$  и  $1271,66\pm 297,20$ ,  $p=0,044$  при сравнении I и IV группы,  $740,11\pm 229,97$  и  $1605,75\pm 225,49$ ,  $p=0,012$  при сравнении I и II группы,  $740,11\pm 229,97$  и  $1791,82\pm 383,85$ ,  $p=0,041$  при сравнении I и III группы).

4. Подготовка КОК приводит к снижению концентрации факторов роста и хемокинов. В цервикальной слизи выявлено статистически значимое снижение концентрации VEGF в I группе, по сравнению с контрольной группой ( $223,15\pm 188,34$  и  $1032,39\pm 245,23$  пг/мл,  $p=0,0187$ ) в день трансвагинальной пункции, в день ТВП+3 ( $503,67\pm 283,72$  и  $1149,28\pm 306,84$  пг/мл,  $p=0,039$ ) и в день переноса эмбрионов ( $383,09\pm 212,97$  и  $1839,71\pm 271,49$  пг/мл,  $p=0,0314$  в I и IV группе соответственно); концентрации FGF в день ТВП статистически достоверно ниже по сравнению с другими группами и составила  $6,32\pm 0,72$  пг/мл, по сравнению с  $34,73\pm 12,51$  пг/мл в контрольной группе ( $p=0,046$ ),  $33,51\pm 14,68$  пг/мл во II группе ( $p=0,017$ ) и  $19,96\pm 13,26$  пг/мл в III группе ( $p=0,043$ ); получена статистически достоверно низкая концентрация фактора роста GM-CSF в I группе, по сравнению с контрольной группой в день ТВП ( $146,28\pm 139$  против  $653,13\pm 156,30$ , соответственно,  $p=0,0279$  в I и IV группе соответственно).

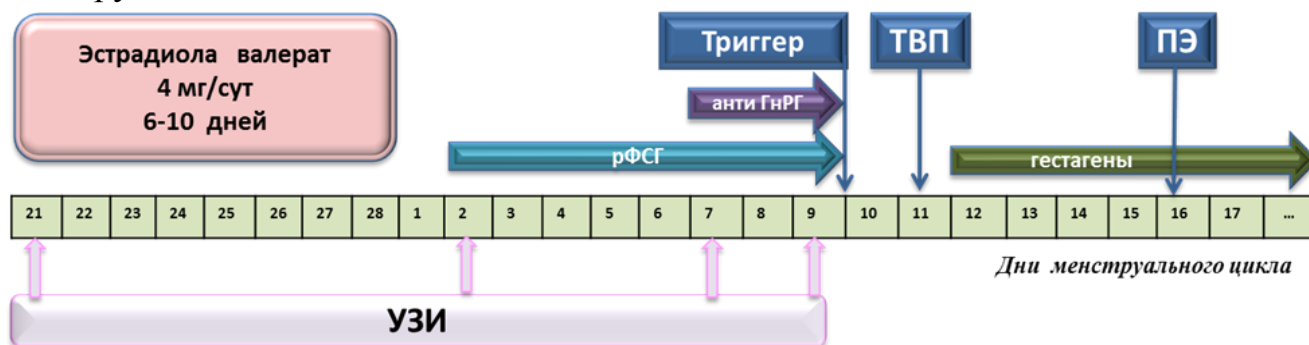
5. Использование эстрадиола валерата не оказывает влияние на концентрации факторов роста и провоспалительных цитокинов в день переноса эмбриона ( $p>0,05$ ). Введение антагониста ГнРГ перед началом стимуляции функции яичников не оказывает влияние на изученные факторы роста, хемокины, провоспалительные и противовоспалительные цитокины ( $p>0,05$ ).

6. Эффективность программ ЭКО в протоколе с антагонистами ГнРГ не страдает при использовании предварительной подготовки эстрадиола валератом и антагонистами ГнРГ: частота беременности на перенос эмбриона в группах II, III, IV –  $44,2\%$ ,  $40,38\%$ ,  $37,7\%$ , соответственно ( $p>0,05$ ), частота наступления клинической беременности на ПЭ –  $40,4\%$ ,  $36,5\%$ ,  $32,1\%$ , соответственно ( $p>0,05$ ), прогрессирующей беременности –  $36,5\%$ ,  $32,7\%$ ,  $30,2\%$ , соответственно ( $p>0,05$ ) и живорождения –  $34,6\%$ ,  $30,8\%$ ,  $28,3\%$  соответственно ( $p>0,05$ ). Частота наступления беременности на перенос была статистически значимо ниже в группе I и составила  $16,98\%$  ( $p=0,03$  при сравнении с группой контроля), что может быть связано с негативным влиянием КОК на рецептивность эндометрия в результате вышеуказанных нарушений баланса цитокинов.

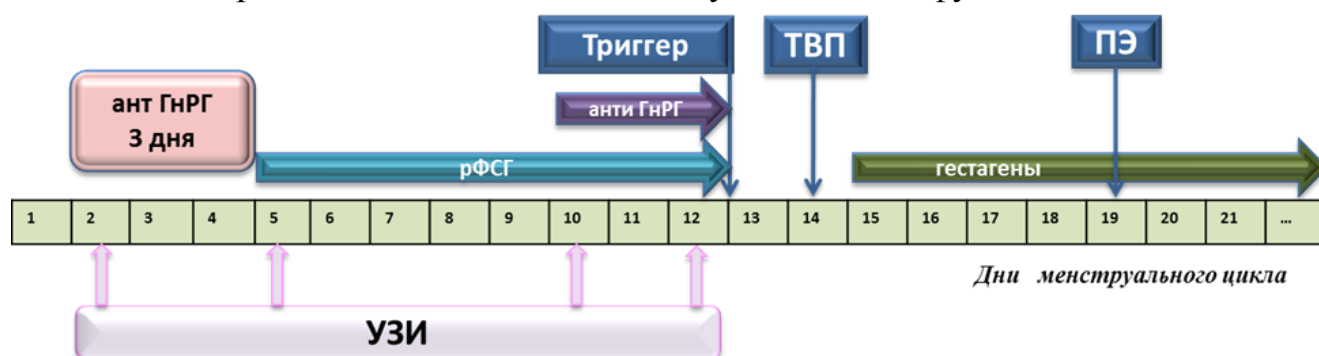
## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В протоколе с антагонистами ГнРГ целесообразно использование гормональной подготовки для формирования большого синхронного пула антральных фолликулов к началу стимуляции.

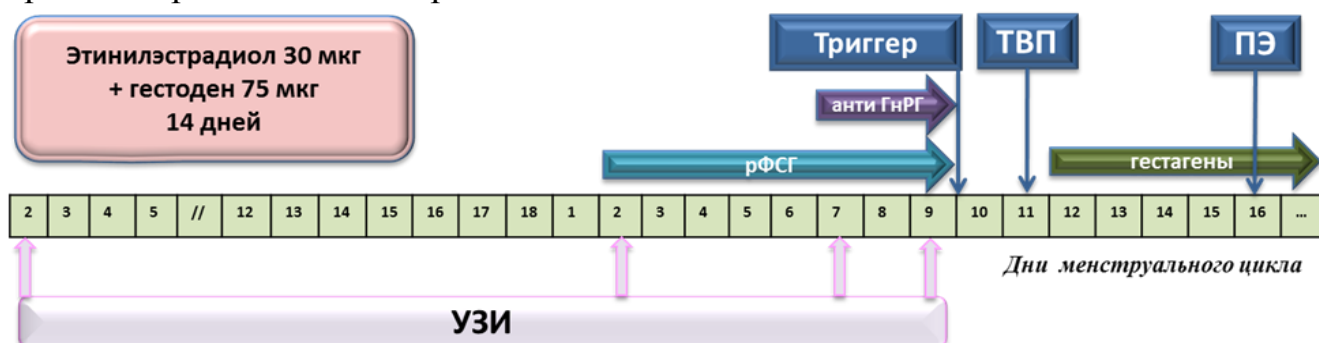
2. При планировании переноса эмбриона в стимулированном цикле возможно применение эстрадиола валерата в лютеиновой фазе предыдущего менструального цикла по схеме:



3. Также возможно программирование цикла за счет введения антагонистов ГнРГ перед началом стимуляции функции яичников:



4. При планировании переноса эмбрионов в стимулированном цикле применение КОК для программирования цикла ЭКО нецелесообразно в связи с негативным их влиянием на исходы программ ВРТ. При плановой криоконсервации всех эмбрионов возможно использование КОК:



5. При планировании ПЭ целесообразно изучение цитокинового профиля цервикальной слизи. При отсутствии прироста IL-12p70, IL-1β, LIF, IL-8 в период окна имплантации от переноса эмбрионов целесообразно отказаться.

6. В день ТВП прогностически значимыми являются цитокины: VEGF, FGF, GM-CSF. При помощи ROC анализа определено пороговое значение

концентрации VEGF, при котором ожидается наступление беременности, которая составила 182 нг/мл с чувствительностью 72 % и специфичностью 70%, площадь под кривой составила 0,711. При построении ROC кривой для фактора роста фибробластов выявлена точка отсечки 12 нг/мл с чувствительностью 86% и специфичностью 60% при площади под кривой 0,783. При построении ROC кривой для гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора роста выявлена точка отсечки 69 нг /мл с чувствительностью 75% и специфичностью 68%, площадь под кривой составила 0,764. В день ПЭ выявлена прогностическая ценность концентрации ИЛ-6 и LIF, прогнозирующие наступление беременности. Так, при построении ROC кривой для ИЛ-6 пороговым значением явилось 535 нг/мл с чувствительностью 82% и специфичностью 71%, площадь под кривой составила 0,764. Для концентрации LIF точкой отсечки явилась 12 нг/мл с чувствительностью 98% и специфичностью 60% с площадью под кривой 0,722.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Модифицированный протокол стимуляции яичников антагонистами ГнРГ в протоколе ЭКО/ЭКО+ИКСИ / И.Е. Корнеева, Л.В. Виноградова, М.В. Мартынова, Н.В. Баркалина // **Материалы XXII Международной конференции РАРЧ «Репродуктивные технологии сегодня и завтра», 2012- с.114-115.**

2. Модифицированный протокол стимуляции яичников в программе ЭКО/ЭКО+ИКСИ с антагонистами ГнРГ: влияние концентрации эндогенного прогестерона в день введения чХГ на эффективность программы / И.Е. Корнеева, Л.В. Виноградова, М.В. Мартынова, Н.В. Баркалина, А.Н. Абубакиров // **Материалы XIII Всероссийского Научного Форума «Мать и Дитя», 2012- с.463-464.**

3. Влияние предварительной подготовки на исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий в протоколах с антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона / М.В. Мартынова, Н.Г. Мишиева, Л.В. Виноградова, А.Н. Абубакиров // **Акушерство и гинекология-2013-№8- стр. 9-11.**

4. Гормональные особенности циклов ЭКО, стимулированных человеческим менопаузальным гонадотропином и рекомбинантным ФСГв протоколах с антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона / Л.В. Виноградова, Н.Г. Мишиева, А.Н. Абубакиров, Л.А. Левков, М.В. Мартынова // **Акушерство и гинекология -2014-№11- стр. 88-95**

5. Содержание ангиогенных факторов и интерлейкина-8 в сыворотке крови и фолликулярной жидкости пациенток с высоким риском синдрома гиперстимуляции яичников при замене триггера овуляции /Б.А. Мартазанова, В.В. Вторушина, С.М. Ипен, Н.Г. Мишиева, Л.В. Кречетова, А.М. Грачева, М.В. Мартынова, С.М. Муллабаева, А.Н. Абубакиров // **Акушерство и гинекология – 2015-№1- стр. 58-65**

6. Эффективность применения комбинированных оральных контрацептивов, эстрадиола валерата и антагониста гонадотропин-рилизинг гормона с целью программирования циклов ЭКО / М.В. Мартынова, Н.Г. Мишиева, Л.А. Левков,

Б.А. Мартазанова, В.С. Лапина, Х.А. Богатырева, А.Н. Абубакиров // **Акушерство и гинекология** – 2015-№11- стр. 46-52

7. Oocyte and embryo quality in patient with diminished ovarian reserve undergoing stimulation in different phases of menstrual cycle / Т.Кодулева, М. Фармаковская, А. Королкова, N. Mishieva, А. Abubakirov, А. Ekimov, М. Martynova, I. Ushakova // Материалы 34<sup>th</sup> Annual Meeting European Society of Human Reproduction and Embryology.

## ПРИЛОЖЕНИЕ

## Персонализированный алгоритм ведения пациенток с нормальным овариальным резервом, нуждающихся в программировании цикла ЭКО





ДЛЯ ЗАМЕТОК

Подписано в печать 18.08.2020 г.  
Объем 1,0 усл.п.л.  
Тираж: 100 экз. Заказ №  
Отпечатано в типографии «Реглет»  
г. Москва, ул.Покрышкина, д.4  
+7 (495)-979-98-99, [www.reglet.ru](http://www.reglet.ru)