

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ ИМЕНИ
АКАДЕМИКА В. И. КУЛАКОВА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

БАЧУРИНА АЛЛА ИГОРЬЕВНА

**Предотвращение преждевременного пика ЛГ в модифицированном
протоколе овариальной стимуляции программ экстракорпорального
оплодотворения**

3.1.4. Акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

д.м.н., проф. Корнеева И.Е.

Москва

2023 год

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ	2
ВВЕДЕНИЕ.....	5
Актуальность темы исследования.....	5
Цель исследования	10
Задачи исследования.....	10
Научная новизна.....	10
Практическая значимость.....	11
Личный вклад автора	13
Соответствие диссертации паспорту полученной специальности	13
Внедрение результатов исследования в практику.....	13
Апробация работы.....	14
Структура и объем диссертации.....	14
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
1.1. Основные протоколы овариальной стимуляции.....	15
1.1.1. Протоколы овариальной стимуляции с применением агонистов гонадотропин-релизинг гормона	17
1.1.2. Протоколы овариальной стимуляции с применением антагонистов гонадотропин-релизинг гормона	20
1.1.3. Сравнение протоколов овариальной стимуляции с применением агонистов и антагонистов гонадотропин-релизинг гормона	23
1.2. Роль прогестерона в ингибировании пикового выброса ЛГ в лютеиновую фазу менструального цикла.....	24

1.3. Протоколы овариальной стимуляции с плановой криоконсервацией всех полученных эмбрионов	27
1.4. Протоколы овариальной стимуляции, основанные на концепции множественных волн фолликулогенеза	30
1.4.1. Протоколы овариальной стимуляции в лютеиновую фазу цикла	32
1.4.2. Протоколы двойной овариальной стимуляции.....	34
1.5. Протоколы овариальной стимуляции с использованием прогестерона	35
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	42
2.1. Дизайн исследования	42
2.2. Методы исследования.....	47
2.2.1. Общеклинические методы исследования	47
2.2.2. Протоколы овариальной стимуляции в программе ЭКО/ICSI.	51
2.2.3. Эмбриологический этап	53
2.2.4. Гормональная подготовка эндометрия при переносе размороженных эмбрионов	62
2.2.5. Диагностика беременности	63
2.2.6. Статистическая обработка данных.....	63
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	64
3.1. Клиническая характеристика пациенток	64
3.2. Факторы бесплодия.....	71
3.3. Особенности гормонального статуса.....	72
3.4. Ультразвуковое исследование матки и придатков.	74
3.5. Показания к сегментации цикла ЭКО/ICSI	75

3.6. Характеристика протоколов овариальной стимуляции циклов ЭКО/ICSI	78
3.7. Характеристика исходов программ ЭКО/ICSI.....	90
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	95
Заключение	118
Выводы.....	119
Практические рекомендации	121
Список сокращений	122
Список литературы	124

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Стимуляция яичников является неотъемлемой частью протоколов ЭКО/ICSI. Получение когорты из 10-15 ооцитов позволяет отобрать качественный эмбрион для последующего переноса в полость матки и увеличить шансы на беременность. Экзогенное введение гонадотропинов стимулирует одновременное созревание нескольких фолликулов, вызывая повышение концентрации эстрадиола (E2) и создавая условия для преждевременного пика ЛГ, что негативно отражается на результативности лечебного цикла [1].

В настоящее время стандартная практика предотвращения преждевременного пика ЛГ, заключается в назначении аналогов Гн-РГ (агонистов и антагонистов) с целью супрессии функциональной активности гипоталамо-гипофизарной системы [1].

Агонисты Гн-РГ (аГн-РГ) связываются с рецепторами в гипофизе и вызывают на первом этапе высвобождение большого количества гипофизарного ФСГ и ЛГ, далее в результате постоянной чрезмерной стимуляции, гипофиз становится невосприимчивым к стимулирующим импульсам аГн-РГ и возникает состояние десенситизации гипофиза в результате чего снижается концентрация гонадотропинов и предотвращается преждевременный пик ЛГ [2, 3].

Антагонисты гонадотропин релизинг-гормона (антаГн-РГ) быстро подавляют секрецию гонадотропинов гипофиза путем конкурентного связывания с рецепторами Гн-РГ. Прекращение введения антаГн-РГ ведет к быстрому восстановлению оси гипофиз – яичники, так как рецепторы гипофиза остаются в этом случае интактными [2].

Однако использование аналогов Гн-РГ в протоколах ЭКО/ICSI может быть связано с некоторыми нежелательными эффектами. Так протокол с аГн-РГ сопряжен не только с повышенным риском синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ), но и образованием фолликулярных кист. Ежедневное длительное введение препарата, симптомы гипоэстрогении, а также значительная стоимость лечения не всегда приемлемы для пациенток.

Преимуществами протоколов с антагГн-РГ являются меньшая продолжительность лечения и количества инъекций, что делает их более удобными для женщин. Протоколы с антагГн-РГ предоставляют уникальные возможности для профилактики СГЯ, когда в качестве триггера овуляции вводится не человеческий хорионический гонадотропин (чХГ), который потенцирует пролонгированную экзогенную ЛГ-активность, а аГн-РГ, вызывающий финальное созревание фолликулов коротким эндогенным пиком ЛГ, что сводит к минимуму риск развития этого тяжелого осложнения [4].

Однако удобство протоколов с антагГн-РГ сопряжено с нежелательным эффектом преждевременного пика ЛГ регистрируемого у 0,34-18% женщин, что создает предпосылки для поиска подходов к оптимизации этих протоколов для улучшения исходов лечения [5].

В естественном менструальном цикле яичники регулируют гипоталамо-гипофизарную систему через механизмы позитивной и негативной обратной связи [6]. Эндогенный прогестерон, вырабатываемый желтым телом, ингибирует пиковый выброс ЛГ в лютеиновую фазу цикла [7]. Этот естественный механизм и накопленные данные о возможности проведения овариальной стимуляции в лютеиновую фазу цикла, а также появление эффективных методов криоконсервации ооцитов и эмбрионов, позволили исследователям предложить использовать препараты прогестерона с целью предотвращения преждевременной овуляции в протоколах ЭКО/ICSI [8].

Препараты прогестерона вводят перорально, они обладают более низкой стоимостью и не требуют подкожного введения в отличие от антагГн-РГ [7]. Однако, при использовании прогестинов с целью предотвращения преждевременного пика ЛГ, неизбежной становится сегментация цикла, поскольку развитие эмбриона и восприимчивость эндометрия десинхронизируются несвоевременным воздействием прогестерона. Поэтому препараты прогестерона могут быть полезны в циклах с планируемой сегментацией и криоконсервацией всех эмбрионов [8]. Это подход стал возможным благодаря достижениям в области репродуктивной биологии, изменившим концепцию стандартного протокола ЭКО/ICSI с переносом свежего эмбриона (ПЭ) в полость матки.

Методы витрификации, внедренные в повседневную клиническую практику с 2004 года, позволили добиться выживаемости более 90% эмбрионов и создать условия для наступления беременности в криоциклах, равные таковым в свежих циклах ЭКО/ICSI. Кроме того, витрификация ооцитов является важным аспектом сохранения генетического материала для отсроченной реализации репродуктивной функции у женщин не только с различными онкологическими и соматическими заболеваниями, но и по социальным показаниям. Новые стратегии безопасности протоколов стимуляции функции яичников, не связаны с потенциальным вредным воздействием гормональной среды на восприимчивость эндометрия, а также с развитием СГЯ – осложнением, угрожающим здоровью и жизни женщины, для профилактики которого в настоящее время разработан комплекс мероприятий. Сегментация цикла – важнейшее из них, позволяющее избежать развития ятрогенного синдрома на фоне ранней беременности [9, 10].

Феномен преждевременной лютеинизации реализуется на уровне эндометрия, изменяя его восприимчивость и тем самым, снижая результативность программы [10–12].

В настоящее время у клиницистов появилась возможность проведения так называемой «безопасной» стимуляции яичников или стимуляции без ограничений, связанных с риском развития СГЯ, а также преждевременной лютеинизацией ввиду раннего пика ЛГ.

Прогестин должен надежно блокировать преждевременный пик ЛГ, но в тоже время не подавлять сильно гипофиз, что неизбежно потребует увеличения дозы гонадотропинов и продолжительности дней стимуляции. В этой связи, исследования, оценивающие влияние различных прогестинов на параметры циклов овариальной стимуляции и эффективность лечения, представляются актуальными, так как дискуссия о выборе оптимального гестагена на этапе стимуляции функции яичников продолжается. Сравниваются различные прогестины: МПА, дидрогестерон, микронизированный прогестерон, диеногест, дезогестрел и их дозы, эффективность подавления преждевременного пика ЛГ, влияние на ооциты и эмбрионы, частоту наступления и исходы беременности, а также аспекты экономической эффективности [13–17]. В настоящее время целью проводимых исследований является разработка персонализированного подхода к выбору конкретного прогестина с учетом возраста женщины, состояния овариального резерва, особенностей нарушения репродуктивной системы.

По мнению некоторых исследователей, МПА способен вызывать более выраженное подавление гипофиза, что приводит к увеличению курсовой дозы гонадотропина и большей продолжительности гонадотропной стимуляции, по сравнению с микронизированным прогестероном и дидрогестероном [18]. Дидрогестерон, имея формулу эндогенного природного прогестерона является самым близким аналогом натурального прогестерона [19]. Эффект МПА – более выраженное подавление гипофиза может быть предпочтительным у пациенток старшего репродуктивного возраста со сниженным овариальным резервом, подверженных более частым преждевременным пикам ЛГ на фоне овариальной стимуляции. Поэтому возможность сохранить стимулированный цикл и получить ооциты, пригодные для оплодотворения обосновывает увеличение

курсовой дозы гонадотропина и продолжительности овариальной стимуляции. Женщинам с сохранным овариальным резервом могут быть назначены более «мягкие» препараты: микронизированный прогестерон и его аналоги. Особенно это касается женщин с ПКЯ, у которых риск преждевременного пика ЛГ невысок. В исследовании Ivami N. (2021) показана возможность овариальной стимуляции на фоне диеногеста, назначаемого после хирургического лечения у женщин с эндометриозом и выраженным болевым синдромом [20].

Изменение гормонального окружения ооцита в протоколе с прогестинами продолжает изучаться. До сих пор неясно, нарушают ли прогестины в фолликулярную фазу цикла микроокружение ооцита. В отдельных публикациях прослежены противоречивые эффекты прогестерона на созревание ооцитов и эмбрионов как *in vitro*, так и *in vivo*. Это относится к скорости созревания ооцитов и уменьшению количества бластоцист [21]. Изучают апоптоз клеток гранулезы в качестве маркера качества ооцитов [22].

Продолжается дискуссия относительно экономической эффективности протокола с прогестинами. Какие затраты должны учитываться при подсчете общей стоимости лечения? Курсовые дозы препаратов и их стоимость, количество консультаций, дополнительных лабораторных и УЗ исследований, затраченное время пациентов? Принимая во внимание, что конечной точкой эффективности программ ВРТ является частота живорождений, то при расчете финальной эффективности данного протокола необходимо принимать во внимание стоимость лечения в криопротоколе для достижения беременности.

Новая концепция использования прогестинов для предотвращения преждевременного пика ЛГ в протоколах овариальной стимуляции и продолжающаяся дискуссия о выборе эффективного и безопасного прогестина побудили нас провести настоящее исследование.

Цель исследования

Оптимизация предотвращения преждевременного пика ЛГ в программе экстракорпорального оплодотворения за счет использования дидрогестерона при планируемой сегментации цикла.

Задачи исследования

1. Оценить анамнестические и клинико-лабораторные параметры пациенток обследуемых групп.
2. Изучить динамику концентрации половых стероидных гормонов и определить частоту встречаемости преждевременного пика ЛГ в протоколе овариальной стимуляции с препаратом прогестерона и стандартном протоколе с антагонистом Гн-РГ.
3. Исследовать параметры фолликулогенеза, оогенеза и раннего эмбриогенеза у изучаемых групп пациенток.
4. Оценить частоту эуплоидии у пациенток обследуемых групп.
5. На основании полученных данных определить эффективность и экономическую целесообразность использования дидрогестерона для предотвращения преждевременного пика ЛГ в протоколе овариальной стимуляции циклов ЭКО/ICSI.

Научная новизна

Определена эффективность предотвращения преждевременного пика ЛГ при различных режимах назначения препарата прогестерона, изучены гормональные показатели циклов овариальной стимуляции, особенности фолликулогенеза, оогенеза и раннего эмбриогенеза.

Прослежена динамика концентрации ЛГ в зависимости от препарата, блокирующего его преждевременный пик, и схемы применения. На основании полученных данных представлен и научно обоснован патогенетический механизм предотвращения преждевременного пика ЛГ препаратом прогестерона, реализация которого достигается путем непрерывного назначения препарата в ранней фолликулярной фазе менструального цикла.

Определен эуплоидный статус эмбрионов при различных стратегиях предотвращения преждевременного пика ЛГ.

Практическая значимость

Модифицирован и предложен для клинической практики протокол овариальной стимуляции с использованием препарата прогестерона для предотвращения преждевременного пика ЛГ в фолликулярной фазе цикла программ ЭКО/ICSI у пациенток с планируемой сегментацией цикла по различным показаниям.

Эффективность и безопасность использования препарата прогестерона для предотвращения преждевременного пика ЛГ подтверждена показателями клинической и прогрессирующей беременности в криоциклах, а также числом ранних репродуктивных потерь.

Оценена экономическая целесообразность использования дидрогестерона для предотвращения преждевременного пика ЛГ в протоколах овариальной стимуляции циклов ЭКО/ICSI.

Положения, выносимые на защиту:

1. Использование дидрогестерона для предотвращения преждевременного пика ЛГ со 2 дня фолликулярной фазы цикла можно рассматривать в качестве альтернативы антагонистам Гн-РГ в циклах овариальной стимуляции протоколов ЭКО/ICSI, что подтверждается значимым снижением уровня ЛГ в

день завершения гонадотропной стимуляции, сопоставимыми дозами гонадотропинов, продолжительностью овариальной стимуляции, количеством фолликулов диаметром 17 мм и более в день введения триггера овуляции.

2. Патогенетический механизм, лежащий в основе контроля уровня ЛГ при использовании дидрогестерона реализуется через ингибирование положительной обратной связи эстрадиола с гипоталамусом и только при условии начала его применения в раннюю фолликулярную фазу менструального цикла. Назначение препарата с 7 дня овариальной стимуляции, соответствующее средней фолликулярной фазе, сопровождается преждевременным пиком ЛГ у 12,2% пациентов, ранней овуляцией до забора ооцитов – в 7,3% случаев.

3. Протоколы овариальной стимуляции с использованием дидрогестерона в ранней фолликулярной фазе цикла программы ЭКО/ICSI и антагонистами Гн-РГ имеют сопоставимые показатели оогенеза и раннего эмбриогенеза, что подтверждается отсутствием межгрупповых различий по количеству полученных ОКК, доли зрелых и оплодотворенных ооцитов, частоте оплодотворения, количеству бластоцист «хорошего» качества и криоконсервированных эмбрионов, в то время как назначение дидрогестерона с 7 дня овариальной стимуляции приводит к уменьшению числа полученных ооцитов и криоконсервированных эмбрионов за счет преждевременного пика ЛГ, но не влияет на их качество, что подтверждается равной частотой эуплоидии.

4. Отсутствие значимых различий в базовых характеристиках и клинической эффективности циклов овариальной стимуляции с использованием дидрогестерона в ранней фолликулярной фазе цикла и антагонистами Гн-РГ подтверждается сходными показателями эффективности криоциклов, что в сочетании с экономической рентабельностью и удобством перорального применения препарата прогестерона, обосновывает целесообразность изменения стратегий стимуляции функции яичников в протоколах ЭКО/ICSI при плановой сегментации цикла и в случаях сохранения репродуктивного материала для отсроченного деторождения.

Личный вклад автора

Автор участвовал в разработке цели, задач и дизайна исследования, а также в изучении данных литературы по теме диссертации, изучении клинико-анамнестических данных женщин, включенных в исследование. Автор участвовал в проведении всех этапов программ ВРТ. Автором собран материал для исследования, проведен анализ полученного материала, статистическая обработка данных исследования и публикация основных результатов исследования. Сформулированы выводы и рекомендации для практического применения.

Соответствие диссертации паспорту полученной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1, 4 и 5 паспорта специальности «акушерство и гинекология».

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены и используются в клинической практике отделений вспомогательных репродуктивных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

По теме диссертации опубликовано 3 печатные работы, из них – 3 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК.

Апробация работы

Работа обсуждена на межклинической конференции 30.05.2022 и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (28.11.2022 г, протокол № 12).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 145 страницах печатного текста и состоит из введения, четырех глав, выводов и практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 24 таблицами и 16 рисунками. Список литературы включает 168 источников, из них 21 работа отечественных авторов и 147 работ зарубежных авторов.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Основные протоколы овариальной стимуляции

Стимуляция яичников является неотъемлемой частью протоколов ЭКО/ICSI. Стимуляция яичников – стандартная процедура вспомогательных репродуктивных технологий [23], направленная на стимуляцию роста нескольких фолликулов и, как следствие, получение большего количества ооцитов высокого качества. Получение когорты из 10-15 ооцитов позволяет отобрать качественный эмбрион для последующего переноса в полость матки и увеличить шансы на наступление беременности.

В протоколах контролируемой овариальной стимуляции экзогенное введение гонадотропинов стимулирует одновременное созревание нескольких фолликулов, вызывая повышение концентрации эстрадиола (E_2). Раннее повышение уровня эстрадиола может способствовать преждевременному пику ЛГ, что приводит к преждевременному завершению соответствующего цикла и негативно отражается на результативности программ лечения бесплодия методами ВРТ [24].

Чтобы избежать такого эффекта, в течение последних 20 лет применяют гипофизарную супрессию. В настоящее время стандартная практика предотвращения преждевременного пика ЛГ, возникающего приблизительно в 20% циклах стимуляции яичников заключается в назначении аналогов Гн-РГ (агонистов и антагонистов) с целью супрессии функциональной активности гипоталамо-гипофизарной системы [24].

Гн-РГ и его аналоги широко используются в клинической медицине с момента их идентификации и синтеза в 1971 г. Открытие аминокислотной последовательности Гн-РГ привело к возможности синтеза его аналогов –

агонистов и антагонистов, что позволило открыть многие научные и клинические перспективы. Нативный Гн-РГ стимулирует гонадотрофы (эндокринные клетки, синтезирующие ФСГ и ЛГ) передней доли гипофиза и используется для индукции овуляции.

Период полувыведения Гн-РГ составляет всего 2-4 минуты, так как он расщепляется пептидазой и выводится с мочой. Именно это в первую очередь обусловило необходимость синтеза аналогов Гн-РГ с агонистическими или антагонистическими свойствами для увеличения их эффективности и продолжительности действия. Эти свойства были получены путем удаления, замены или модификации аминокислотной последовательности в различных положениях Гн-РГ [25].

Агонисты Гн-РГ (аГн-РГ) более эффективны и имеют более длительный период полувыведения, чем нативный Гн-РГ. Они вызывают начальную стимуляцию гипофиза, что приводит к активации секреции ЛГ и ФСГ, и ожидаемому ответу яичников. аГн-РГ связываются с рецепторами в гипофизе и вызывают на первом этапе высвобождение большого количества гипофизарного ФСГ и ЛГ. За этим ответом следует подавление и торможение гипофизарно-гонадной оси – в результате постоянной чрезмерной стимуляции, гипофиз становится невосприимчивым к стимулирующим импульсам аГн-РГ и возникает состояние десенситизации гипофиза в результате чего снижается концентрация гонадотропинов и предотвращается преждевременный пик ЛГ [25].

Антагонисты гонадотропин релизинг-гормона (антагГн-РГ) быстро подавляют секрецию гонадотропинов гипофиза путем конкурентного связывания с рецепторами Гн-РГ. Прекращение введения антагГн-РГ ведет к быстрому восстановлению оси гипофиз – яичники, так как рецепторы гипофиза остаются в этом случае интактными [25].

Предполагалось, что агонисты будут использоваться в качестве сильных устойчивых стимуляторов секреции гонадотропинов, а антагонисты станут

инструментом для химической гипофизэктомии. Оказалось относительно несложно разработать безопасный агонист, просто заменив одну или две аминокислоты, но потребовалось почти 30 лет исследований с заменой трех или более аминокислот, чтобы получить безопасный антагонист с приемлемым фармакокинетическим действием для использования в клинической практике [25].

На сегодняшний день, Гн-РГ и его аналоги используются в терапевтических целях при многих клинических состояниях [25].

Первоначально исследователи пытались подавить функцию гипофиза с помощью аГн-РГ, а антаГн-РГ были введены в клиническую практику совсем недавно [26, 27]. Более ранние исследования свидетельствовали в пользу того, что антаГн-РГ приводят к снижению частоты имплантации и наступления беременности [28–31]. Однако в более поздних исследованиях были получены противоречащие этому результаты [32–35], особенно при отказе от начала стимуляции яичников у пациенток с высоким уровнем прогестерона [36, 37] и при добавлении ЛГ в позднюю фолликулярную фазу [38].

1.1.1. Протоколы овариальной стимуляции с применением агонистов гонадотропин-релизинг гормона

Существует множество схем овариальной стимуляции с применением аГн-РГ. Они различаются, в первую очередь, по продолжительности и по началу применения препаратов. Лечение можно начинать либо в ранней фолликулярной, либо в средней лютеиновой фазе предшествующего цикла. Этот цикл может быть спонтанным или может быть индуцирован под влиянием прогестагенов и/или эстрогенов [25].

Длинный (лютеиновый) протокол или протокол десенсибилизации

Основной идеей длинного протокола является блокирование индуцированного эстрогенами механизма положительной обратной связи – блокирование пикового выброса ЛГ.

В этом типе протокола введение агониста начинается в ранней, средней или поздней лютеиновой фазе предшествующего цикла или в фолликулярной фазе до введения хорионического гонадотропина человека (ХГЧ). Наиболее часто аГн-РГ вводят ежедневно, подкожно или интраназально, в одной и той же дозе, начиная с 21-го дня предшествующего цикла, до дня введения ХГЧ. Существуют также и пролонгированные (депо) формы введения аГн-РГ, которые представляют собой микрокапсулы. Их назначают внутримышечно, а продолжительность их действия составляет приблизительно 28 дней [25].

Параллельно проводится назначение гонадотропинов, обычно – с первых дней последующей менструации, через две недели со дня введения первой дозы аГн-РГ, либо после подтверждения супрессии функции гипофиза путем получения низкого уровня эстрадиола – ниже 200 пмоль/л.

Длинный протокол широко применяется в рутинной клинической практике, однако возможны некоторые его вариации. Так, при проведении длинного фолликулярного протокола овариальной стимуляции, аГн-РГ вводится с первого дня предшествующего менструального цикла. Другим вариантом является протокол раннего прекращения, согласно которому доза аГн-РГ снижается с началом введения гонадотропинов. Такой подход направлен на снижение необходимого в протоколе овариальной стимуляции количества гонадотропинов [25].

Среди многих прочих, одним из преимуществ длинного протокола введения аГн-РГ является то, что введение экзогенных гонадотропинов после десенсибилизации гипофиза можно отсрочить на несколько дней без неблагоприятного влияния на результативность программы [39].

Агонист Гн-РГ следует назначать за неделю до ожидаемой менструации. Первоначально наблюдается вспышка ФСГ и ЛГ, которая продолжается в течение короткого времени. После этого происходит десенситизация рецепторов гипофиза. За исключением пациенток с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ), всем другим женщинам доза аГн-РГ может быть уменьшена вдвое, когда начинается менструация. В этот момент для стимуляции развития фолликулов назначаются гонадотропины. Такое снижение дозы аГн-РГ вместе с назначением гонадотропинов позволяет удержать ЛГ на низком уровне, предотвращая резкие всплески его концентрации.

Короткий протокол

Вместо того, чтобы начинать прием аГн-РГ в лютеиновую фазу цикла, его можно начать в начале цикла. Это приводит к резкому повышению секреции ФСГ и ЛГ и усиливает уже начавшийся фолликулогенез до того, как начнет преобладать подавляющее действие аГн-РГ. В коротком протоколе аГн-РГ применяется в одной и той же дозировке со второго дня менструального цикла и продолжается до дня введения ХГЧ. С третьего дня менструального цикла добавляют введение гонадотропинов. Хотя при овариальной стимуляции по короткому протоколу происходит рекрутинг фолликулов, избыток ЛГ на ранней стадии может оказывать неблагоприятное влияние на растущий фолликул [25].

Короткий протокол овариальной стимуляции – один из вариантов лечения, который может применяться у пациенток позднего репродуктивного возраста и пациенток с бедным овариальным ответом. Использование короткого протокола овариальной стимуляции также позволяет снизить дозировку гонадотропинов, что позволяет снизить затраты на проведение протокола.

Ультракороткий протокол

Существует так же модификация короткого протокола, когда гонадотропины начинают принимать в первый день менструации вместе с аГн-РГ. Введение аГн-РГ прекращается через 2-3 дня [40]. В другой вариации ультракороткого протокола гонадотропины применяются с третьего дня менструального цикла. Ультракороткий протокол, как и короткий протокол, может применяться у пациенток позднего репродуктивного возраста и пациенток с бедным овариальным ответом. Тем не менее, он не пользуется популярностью у большинства практикующих специалистов в связи с трудной прогнозируемостью ответа на овариальную стимуляцию [25].

В длинном протоколе также требуется применение больших доз гонадотропинов, по сравнению с другими режимами, такими как короткий и ультракороткий протоколы [40]. Тем не менее, согласно литературным данным, длинный лютеиновый протокол более эффективен в отношении наступления беременности, чем короткий и ультракороткий протоколы [41, 42]. Эти данные также подтверждаются результатами мета-анализа, проведенного Maheshwari A. et al. (2011) [43], а также результатами последовавшего за ним мета-анализа Siristatidis C.S. et al. (2015) [44].

Однако использование аналогов Гн-РГ в протоколах ЭКО/ICSI может быть связано с некоторыми нежелательными эффектами. Так протокол с аГн-РГ сопряжен не только с повышенным риском синдрома СГЯ, но и образованием фолликулярных кист. Ежедневное длительное введение препарата, симптомы гипоестрогении, а также повышенная стоимость лечения не всегда приемлемы для пациенток.

1.1.2. Протоколы овариальной стимуляции с применением антагонистов гонадотропин-релизинг гормона

В результате значительных усилий, приложенных к разработке антаГн-РГ, для клинического применения стали доступны два препарата – цетрореликс и ганиреликс. Способ их действия принципиально отличается от действия аГн-РГ [45].

В отличие от аГн-РГ, гиперсекреция гонадотропинов не происходит, а вместо этого вызывает немедленное и быстрое обратимое подавление секреции гонадотропинов из гипофиза. Основным механизмом действия антаГн-РГ является конкурентное занятие рецепторов Гн-РГ. Антагонисты Гн-РГ связываются с рецепторами Гн-РГ таким образом, что эндогенный Гн-РГ не может связываться с рецептором и оказывать своё стимулирующее влияние на гипофиз. В результате уже в течение нескольких часов после введения препарата происходит снижение концентраций гонадотропинов без какого-либо их повышения. Продолжительность действия антаГн-РГ зависит от назначенной дозировки.

К основным преимуществам антаГн-РГ можно отнести следующие:

- более короткий период овариальной стимуляции;
- меньшее количество гонадотропинов, необходимое для проведения овариальной стимуляции;
- снижение риска развития СГЯ;
- отсутствие кратковременного периода активации синтеза ЛГ и симптомов недостатка эстрогенов.

Возможно, как однократное, так и многократное введение антаГн-РГ в рамках протокола овариальной стимуляции. В протоколе с многократным введением антаГн-РГ возможно использование как ганиреликса, так и цетрореликса. В качестве депо-препарата возможно использование только

цетрореликса, тогда как депо-формы ганиреликса для однократного пролонгированного применения на сегодняшний день отсутствуют.

Протокол с однократным введением антагГн-РГ

Этот протокол прост в использовании, хорошо переносится и обеспечивает соблюдение пациентом режима лечения. Стимуляцию яичников проводят гонадотропинами, начиная со 2-го или 3-го дня менструального цикла. Антагонист Гн-РГ вводится на 7-9-й день овариальной стимуляции, либо, по гибкому протоколу овариальной стимуляции, при достижении доминантным фолликулом диаметра 14 мм [45, 46].

После однократной инъекции наблюдается предотвращение всплеска ЛГ в течение следующих 3-4 дней. В данном протоколе оптимальной дозировкой цетрореликса является 3,0 мг. В случае, если требуется продолжение овариальной стимуляции – если за 3-4 дня не были достигнуты критерии введения триггера овуляции, пациентке назначают дополнительные суточные дозы, в том числе в день введения триггера овуляции.

Протокол с повторным введением антагГн-РГ

Стимуляцию гонадотропинами начинают также на 2-й или 3-й день менструального цикла. В гибком протоколе (протокол Людвинга) введение антагГн-РГ начинают, как только доминантный фолликул достигает диаметра более 14 мм [47]. Данный подход к овариальной стимуляции позволяет избежать глубокого подавления ЛГ, вызывающее серьезное снижение уровня эстрадиола, часто наблюдаемое в протоколе с одной дозой.

Протокол многократных доз представляет собой простой, безопасный и эффективный подход для предотвращения всплеска ЛГ. С другой стороны, гибкий протокол позволяет избежать ненужных инъекций, когда риск выброса

ЛГ минимален, и, следовательно, позволяет снизить используемые дозы обоих препаратов. Как следствие данный протокол представляется более экономически выгодным [47].

Возможно также использование аГн-РГ в качестве триггера овуляции вместо ХГЧ. Применение аГн-РГ в качестве триггера овуляции используется, чтобы избежать синдрома гиперстимуляции яичников. Его можно использовать в цикле антагонистов или в цикле внутриматочной инсеминации, когда фолликул достаточно большой [25].

1.1.3. Сравнение протоколов овариальной стимуляции с применением агонистов и антагонистов гонадотропин-релизинг гормона

Преимуществами протоколов с антаГн-РГ являются меньшая продолжительность лечения и количества инъекций, что делает их более удобными для женщин. Протоколы с антаГн-РГ предоставляют уникальные возможности для профилактики СГЯ, когда в качестве триггера овуляции вводится не человеческий хорионический гонадотропин (чХГ), который потенцирует пролонгированную экзогенную ЛГ-активность, а аГн-РГ, вызывающий финальное созревание фолликулов коротким эндогенным пиком ЛГ, что сводит к минимуму риск развития этого тяжелого осложнения [48].

Сравнительная эффективность протоколов с аГн-РГ и антаГн-РГ обсуждалась долгое время. На сегодняшний день показано, что несмотря на большее количество ооцитов и эмбрионов, получаемых в протоколах с аГн-РГ, показатели живорождений не различаются в зависимости от типа протокола [49].

Однако удобство протоколов с антаГн-РГ, заключающееся в меньшем количестве инъекций препарата, меньшей продолжительности лечения и более низкой его стоимости сопряжено с нежелательным эффектом преждевременного

пика ЛГ регистрируемого у 0,34-18% женщин, что создает предпосылки для поиска подходов к оптимизации этих протоколов для улучшения исходов лечения [50].

1.2. Роль прогестерона в ингибировании пикового выброса ЛГ в лютеиновую фазу менструального цикла

В естественном менструальном цикле яичники регулируют гипоталамо-гипофизарную систему через механизмы позитивной и негативной обратной связи [51]. Прогестерон вырабатывается лютеинизированными гранулезными клетками. После овуляции значительное количество прогестерона вырабатывается желтым телом яичника. На рисунке 1 представлен упрощенный предполагаемый механизм действия прогестерона на гипоталамо-гипофизарно-яичниковую ось при нормальном менструальном цикле [52].



Рисунок 1. Эндокринная регуляция гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси (по Baris Ata et al. (2020), с использованием biorender.com) [52].

Концентрация прогестерона достигает своего пика на 7-8-ой день после овуляции и быстро снижается после деградации желтого тела яичника. Основной функцией прогестерона является структурная перестройка эндометрия в секреторную фазу менструального цикла [45].

При наступлении беременности прогестерон поддерживает сохранение особого состояния эндометрия. Это продолжается в течение первых недель беременности, после чего эту функцию берут на себя гормоны трофобласта/плаценты.

Под действием прогестерона увеличивается количество желез эндометрия, сами же железы становятся более извитыми [45].

Прогестерон и эстрадиол снижают выработку гонадотропных гормонов в гипофизе во время лютеиновой фазы менструального цикла. Таким образом, эндогенный прогестерон, вырабатываемый желтым телом, ингибирует пиковый выброс ЛГ в лютеиновую фазу цикла [6]. Этот естественный механизм и появление эффективных методов криоконсервации ооцитов и эмбрионов, позволили исследователям предложить использовать препараты прогестерона с целью предотвращения преждевременной овуляции в протоколах ЭКО [53].

Препараты прогестерона вводят перорально, они обладают более низкой стоимостью в отличие от антагГн-РГ, которые более дорогие и требуют подкожного введения [6]. Однако при использовании прогестерона с целью предотвращения преждевременного пика ЛГ, неизбежной становится сегментация цикла, поскольку развитие эмбриона и восприимчивость эндометрия десинхронизируются несвоевременным воздействием прогестерона. Препараты прогестерона могут быть полезны в циклах овариальной стимуляции с планируемой сегментацией цикла и криоконсервацией всех полученных эмбрионов [53].

Прогестагенный эффект заключается в индукции характерных изменений в эстроген-примированном эндометрии. Этот эффект часто выражается разницей

в дозе, необходимой для трансформации эндометрия, называемой дозой трансформации. Антигонадотропный эффект прогестинов заключается в способности ингибировать овуляцию. В таблице 1 представлено сравнение прогестагенового эффекта различных прогестинов на уровне эндометрия и их антигонадотропный эффект [52, 54].

Таблица 1.

Прогестагенный и антигонадотропный эффекты различных прогестинов

Прогестин	Доза ингибирования овуляции (мг/день)	Трансформационная доза (мг/день)
Прогестерон	300	200–300
Дидрогестерон	>30	10–20
Медроксипрогестерона ацетат	10	5–10
Ципротерона ацетат	1	1,0
Номегестрола ацетат	5,0	5,0
Норэтистерона ацетат	0,5	0
Левоноргестрел	0,05	0,15
Дроспиренон	2,0	4-6

Достижения в области репродуктивной биологии позволили изменить концепцию стандартного протокола ЭКО/ICSI, который завершается переносом свежего эмбриона (ПЭ) в полость матки и использовать новый подход сегментации цикла или стратегию «заморозить все», заключающийся в отмене ПЭ и витрификации всех эмбрионов для отсроченных переносов. Методы быстрой криоконсервации или витрификации, внедренные в повседневную

клиническую практику с 2004 года, позволили добиться выживаемости более 90% эмбрионов и создать условия для наступления беременности в криоциклах равные таковым в свежих циклах ЭКО/ICSI. Кроме того, витрификация ооцитов является важным аспектом сохранения генетического материала для отсроченной реализации репродуктивной функции у женщин не только с различными онкологическими и соматическими заболеваниями, но и по социальным показаниям [55–60]. Кроме того, новые стратегии безопасности протоколов стимуляции функции яичников, не связаны с потенциальным вредным воздействием гормональной среды на восприимчивость эндометрия, а также с развитием СГЯ [61–63].

СГЯ – это осложнение, угрожающее здоровью и жизни женщины, для профилактики которого в настоящее время разработан комплекс мероприятий. Сегментация цикла – важнейшее из них, позволяющее избежать развития ятрогенного синдрома на фоне ранней беременности [62, 64, 65].

1.3. Протоколы овариальной стимуляции с плановой криоконсервацией всех полученных эмбрионов

Успешность имплантации эмбриона напрямую зависит от синхронизации состояния эмбриона с рецептивностью эндометрия [66]. В процессе имплантации принимают участие факторы, связанные с состоянием матки, состоянием эмбриона, а также внешние факторы, которые могут оказывать влияние на репродуктивное здоровье женщины [67]. Оптимизация программ ВРТ, разработка новых подходов к овариальной стимуляции позволяют разрабатывать новые инструменты и технологии для сохранения безопасности лечения бесплодия и оптимизации его результатов.

Практика криоконсервации всех полученных эмбрионов («freeze all») подразумевает под собой криоконсервацию всех зрелых ооцитов и/или всех

жизнеспособных эмбрионов, полученных в данном цикле овариальной стимуляции. Его применение было в первую очередь проиллюстрировано в протоколах по предотвращению СГЯ путем отсрочки имплантации [68, 69].

Термин «сегментация» цикла ВРТ использовался пионерами плановой криоконсервации и отсроченного переноса эмбрионов, чтобы обозначить процесс, в котором стимуляция яичников, получение ооцитов/эмбрионов отделены от процесса переноса эмбриона в полость матки [68]. Недавно появился усовершенствованный термин «элективный перенос замороженных эмбрионов» (eFET), который лучше описывает весь процесс [70].

В последние годы сегментация цикла ВРТ, то есть стратегия «заморозить все», была предложена с целью оптимизации результатов лечения бесплодия, избегая переноса эмбрионов в том же цикле овариальной стимуляции, поскольку рецептивность эндометрия может быть недостаточной для успешной имплантации [66].

Несколько исследований, проведенных в последние годы, показали, что решением этой проблемы может быть подход, направленный на перенос эмбрионов в последующем естественном или искусственном менструальном цикле в полость матки, эндометрий которой не подвергался воздействию высоких доз экзогенных гонадотропинов [71–74]. В вышеупомянутых работах действительно отмечается, что частота наступления клинической беременности на перенос эмбриона в полость матки значительно повышается в группе криоконсервации, по сравнению с пациентками, которым эмбрион был перенесен в том же цикле, в котором проводилась овариальная стимуляция. Эта стратегия стала значительно более доступной благодаря совершенствованию технологии криоконсервации ооцитов и эмбрионов человека, которое произошло в течение последнего десятилетия. Так, уровень выживаемости после оттаивания достиг 80–100%, а эффективность таких программ стала сравнима с частотой имплантации со свежими эмбрионами [66, 75–77].

В последствии разными авторскими группами был опубликован ряд работ, направленный в поддержку процедуры «freeze all» в качестве потенциальной стратегии для применения во всех циклах ВРТ [75]. Однако несмотря на то, что использование этого подхода может иметь право на жизнь, тщательный анализ предыдущих исследований показывает, что эти данные имеют ряд ограничений. В большинстве случаев у включенных пациенток отмечена тенденция к высокому ответу яичников, что связано с более высоким риском СГЯ и более высокой вероятностью наличия высоких уровней эстрадиола и прогестерона в конце периода стимуляции [66].

В исследовании Shapiro B.S. et al. (2011) у 70 пациенток, перенесших плановую криоконсервацию, частота продолжающихся беременностей была значительно выше, чем у 67 пациенток, подвергшихся переносу свежих эмбрионов. Однако было выдвинуто несколько ограничений и предубеждений в отношении небольшого числа пациентов, высокой частоты наступления беременности в циклах криоконсервации и наличия двойного запуска (называемого эффектом совместных вмешательств) [72].

В гораздо более крупном исследовании Roque M. et al. (2015) наблюдали значительно более высокий уровень наступления клинической беременности в циклах «freeze all», чем при свежих переносах. Тем не менее, группы исследования были несопоставимы, так как у пациенток группы «freeze all», наблюдался значительно больший ответ яичников и более высокие уровни прогестерона в день запуска. Это говорит о том, что данная стратегия была применена в этой группе пациенток, чтобы избежать негативного влияния высокого уровня прогестерона на рецептивность эндометрия [78]. Таким образом, польза выборочной криоконсервации была подтверждена в исследованиях, включающих пациентов с высоким ответом яичников на овариальную стимуляцию.

Авторы данного исследования также сравнили результаты между переносом свежих эмбрионов и циклами «freeze all» в зависимости от количества

полученных ооцитов. В группе с 4–9 полученными ооцитами не было различий в частоте наступления клинической беременности между группами сравнения. Тем не менее, сравнивая группы со свежими ооцитами и группами с замораживанием, лучший результат был получен в группе «freeze all», когда было получено большое количество ооцитов. Это можно рассматривать как указание на то, что при исключении пациентов с высоким ответом яичников на овариальную стимуляцию стратегия «freeze all» не приносит значительной пользы [78].

Подобные результаты были недавно отмечены в двух крупных рандомизированных контролируемых исследованиях (РКИ) [79, 80]. Эти исследования показали, что стратегия «заморозить все» не имеет преимуществ в отношении частоты живорождения, по сравнению с переносом свежих эмбрионов у женщин с нормальным ответом на овариальную стимуляцию. Что еще более важно, китайское исследование также показало, что риск умеренного или тяжелого СГЯ был значительно снижен в группе «заморозить все» [79].

Наконец, в метаанализе 2019 года, проведенном Roque M. et al., были проанализированы 11 рандомизированных исследований, включающих 5379 пациентов [70]. Когда были тщательно изучены различные подгруппы, значимые различия частоты живорождения были выявлены только у гиперреспондеров и в циклах преимплантационного генетического тестирования (ПГТ-А). Различий в частоте живорождения у нормореспондеров выявлено не было [70].

1.4. Протоколы овариальной стимуляции, основанные на концепции множественных волн фолликулогенеза

Классические циклы контролируемой овариальной стимуляции начинаются во время ранней фолликулярной фазы. Во время овариальной стимуляции ранние антральные фолликулы должны расти синхронно в ответ на

введение гонадотропинов, чтобы достичь одновременного созревания [81]. В настоящее время разработаны новые стратегии получения наибольшего количества ооцитов в кратчайшие сроки [82–84]. Это может быть особенно важно для особых групп пациентов, в том числе – для женщин, стремящиеся сохранить фертильность перед проведением химиотерапии [85–87].

Современные данные свидетельствуют о том, что множественные когорты или волны антральных фолликулов рекрутируются непрерывно в течение менструального цикла [88–90]. Эта концепция позволила разработать новые подходы, в которых начало стимуляции яичников предлагается начинать не только в раннюю фолликулярную фазу, но и в позднюю фолликулярную, а также в лютеиновую фазу. Осведомленность о наличии полицикличности развития фолликулов изначально привела к появлению протоколов стимуляции яичников со случайным стартом для тех, кому требуется срочное получение яйцеклеток, например, для сохранения фертильности [91].

Развитие этой концепции послужило причиной формирования некоторых других подходов к овариальной стимуляции, таких как стимуляция яичников в лютеиновой фазе, которая была представлена как новая стратегия для однократной стимуляции, особенно для пациенток с бедным ответом на овариальную стимуляцию, или как часть протокола двойной овариальной стимуляции (DuoStim) [86, 88].

Стимуляция в лютеиновую фазу похожа на классический протокол овариальной стимуляции, но она начинается через 2–7 дней после овуляции или забора ооцитов. Поскольку эндометрий в этом случае развивается не синхронно с ооцитом и эмбрионом, перенос свежего эмбриона в этом случае не проводится.

Протокол двойной овариальной стимуляции DuoStim, в свою очередь, представляет собой последовательный протокол овариальной стимуляции в рамках одного и того же менструального цикла: один в фолликулярную фазу, а второй в лютеиновую фазу того же цикла [89, 92–94]. Как правило, второй цикл

овариальной стимуляции начинается через 2–5 дней после забора ооцитов. Недавно было описано несколько протоколов DuoStim, таких как «Нью-Йоркское предложение» (включает введение кломифена цитрата или летрозолола в комбинации с ФСГ/ЛГ в фолликулярной и в лютеиновой фазах цикла), «Шанхайский протокол» (включает применение чМГ в фолликулярной и в лютеиновой фазах цикла) и «итальянский протокол» (включает использование ФСГ и ЛГ в обеих фазах цикла) [86, 91, 94, 95].

Другой альтернативой, основанной на концепции множественных волн фолликулогенеза, является метод стимуляции яичников со случайным началом (англ. – *random-start ovarian stimulation*) [89, 96], который может быть начат не только с ранней фолликулярной фазы или с лютеиновой фазы, но и в поздней фолликулярной фазе [14]. Эти протоколы были предложены в качестве средства экстренного сохранения фертильности у онкологических пациентов [85, 97]. Если пациентка находится в начале фолликулярной или лютеиновой фазы, начинают «классический» или «лютеиновый» протокол, аналогичный описанным выше. Если пациентка находится в поздней фолликулярной фазе, протокол модифицируется в зависимости от наличия или отсутствия доминантного фолликула [91].

Сравнение эффективности перечисленных выше протоколов овариальной стимуляции было проведено в мета-анализе Glujovsky D. et al. (2020). В мета-анализ были включены данные 15 завершенных и 15 текущих исследований. Авторы проанализировали общее количество полученных ооцитов, число ооцитов стадии МII и особенности протокола овариальной стимуляции [91].

1.4.1. Протоколы овариальной стимуляции в лютеиновую фазу цикла

При анализе общей когорты пациентов были проанализированы данные трех исследований с участием 2229 женщин из общей популяции пациенток с

бесплодием (одно проспективное и два ретроспективных когортных исследования), сравнивали овариальную стимуляцию в лютеиновой фазе цикла с традиционным протоколом овариальной стимуляции [7, 98, 99]. Анализ не выявил значимых различий в числе полученных ооцитов, исключил клинически важную разницу в общем количестве извлеченных ооцитов и ооцитов стадии МП. Оценить разницу в эффективности протоколов по показателям частоты беременности, выкидышей и живорождения было затруднительно из-за недостаточного уровня доказательности данных, однако эти показатели были сопоставимы при использовании обоих протоколов овариальной стимуляции. Было также выявлено, что длительность овариальной стимуляции была значимо выше в группе стимуляции в лютеиновую фазу менструального цикла [91].

При анализе пациенток, желавших криоконсервировать собственные ооциты с целью сохранения фертильности, были проанализированы данные трех исследований с участием 808 женщин (ретроспективные когортные исследования), сравнивали овариальную стимуляцию в лютеиновой фазе цикла с традиционным протоколом овариальной стимуляции [100–102]. Было выявлено, что у пациенток, овариальная стимуляция которых проводилась в лютеиновую фазу менструального цикла, было получено несколько больше ооцитов, однако различий по числу полученных ооцитов стадии МП выявлено не было. Длительность овариальной стимуляции была несколько выше в группе стимуляции в лютеиновую фазу менструального цикла [91].

При анализе пациенток с бедным овариальным ответом были проанализированы данные четырех исследований с участием 865 женщин со сниженным овариальным резервом (одно РКИ, одно проспективное и два ретроспективных когортных исследования), сравнивали овариальную стимуляцию в лютеиновой фазе цикла с традиционным протоколом овариальной стимуляции [103–106]. Не было выявлено различий по числу полученных ооцитов и ооцитов стадии МП. Оценить разницу в эффективности протоколов по

показателям частоты беременности, выкидышей и живорождения было затруднительно из-за недостаточного уровня доказательности данных [91].

1.4.2. Протоколы двойной овариальной стимуляции

Четыре включенных исследования (одно РКИ, одно проспективное когортное исследование, одно ретроспективное когортное исследование и одно исследование «до-после») сравнивали эффективность протоколов двойной овариальной стимуляции с эффективностью «традиционных» протоколов у пациентов с бедным овариальным ответом [95, 103, 107, 108]. У пациенток с двойной овариальной стимуляцией число полученных ооцитов и число ооцитов стадии МII почти вдвое превышало количество, полученное при овариальной стимуляции в фолликулярной фазе менструального цикла. В наблюдательном исследовании было продемонстрировано, что при двойной овариальной стимуляции большее число пациенток получили по крайней мере один эуплоидный эмбрион, по сравнению с овариальной стимуляцией в фолликулярную фазу менструального цикла (33,0% против 19,3%, $p < 0,05$) [108]. Оценить разницу и эффективность протоколов по показателям частоты беременности и частоты прерывания беременности оказалось затруднительно. В проспективном когортном исследовании было показано, что частота живорождения у пациенток с двойной овариальной стимуляцией была несколько выше, чем у пациенток с овариальной стимуляцией в фолликулярную фазу менструального цикла [91].

1.5. Протоколы овариальной стимуляции с использованием прогестерона

Феномен преждевременной лютеинизации реализуется на уровне эндометрия, изменяя его восприимчивость и тем самым уменьшая результативность программы [64].

Таким образом, у клиницистов появилась возможность разработки нового подхода к овариальной стимуляции – проведения так называемой «безопасной» стимуляции яичников или стимуляции без ограничений, связанных прежде всего, с риском развития синдрома гиперстимуляции яичников, а также преждевременной лютеинизацией ввиду раннего пика ЛГ.

Первое исследование по использованию прогестина при стимуляции яичников было опубликовано в 2015 году Kuang с соавторами [6]. Авторы сравнивали результаты последующих циклов криопереноса, в зависимости от протокола стимуляции яичников в свежих циклах, где в одной группе в качестве препарата блокирующего преждевременный пик ЛГ использовали медроксипрогестерон (МПА) (10 мг/сутки) назначая его с 3 дня цикла, а в другой – аГн-РГ в коротком протоколе. Каждые 2-3 дня авторы проводили УЗИ мониторинг, оценивали сывороточные концентрации ФСГ, ЛГ, эстрадиола, прогестерона. МПА назначали до дня введения триггера овуляции, в качестве которого использовали 0,1 мг триптореллина. Количество полученных ооцитов, эмбрионов хорошего качества и криоконсервированных эмбрионов не различалось в группах. Кроме того, не было выявлено различий в частоте преждевременного пика ЛГ, а также частоте клинической беременности и живорождений. Врожденные пороки развития у детей не были зарегистрированы [6].

Аналогичный подход был применен позднее Wang с соавторами в 2016 году у пациенток с СПКЯ [109]. Для группы сравнения был выбран короткий протокол с аГн-РГ. Все циклы были сегментированы. Известно, что женщины с

СПКЯ предрасположены к плохому качеству ооцитов, низким показателям оплодотворения, а также высокому риску развития СГЯ и ранних репродуктивных потерь [110–112]. Авторы сочли возможным начать поиск новых подходов, способных снизить эти риски и улучшить результативность программы. Результаты проведенного исследования оправдали ожидания клиницистов: так коэффициент оплодотворения в группе МПА составил $77,69 \pm 16,59\%$ против $70,54 \pm 19,23\%$ ($P < 0,05$) в группе сравнения, коэффициент текущей беременности – $58,67\%$ против $42,86\%$ соответственно ($P < 0,05$). В группе с МПА не было зарегистрировано ни одного случая СГЯ, в то время как в группе сравнения СГЯ развился у 2-х женщин [109].

Последующие исследования были направлены на определение минимальной и эффективной дозы МПА, способной блокировать преждевременный пик ЛГ. Полученные данные показали, что 4 мг/сутки МПА является эффективной и безопасной дозой, способной предотвращать нежелательные эффекты ЛГ в стимулированном цикле. При этом, количество полученных ооцитов и эмбрионов хорошего качества не различалось при назначении 4 мг и 10 мг/сутки МПА [109, 113].

Возможность назначения МПА у пациенток с «бедным ответом» в естественном цикле с минимальной стимуляцией была оценена (Chen с соавторами 2017). Частота преждевременного пика ЛГ и преждевременной овуляции была значительно ниже в группе МПА (10% против 50%, $P < 0,05$) и (2% против 10,8%, $P < 0,05$), чем в группе сравнения (естественный цикл с минимальной стимуляцией без использования МПА). При этом количество полученных ооцитов было значимо больше в основной группе ($P < 0,05$). Авторы предложили использовать этот подход у пациенток с «бедным ответом» [114].

Интересные данные были получены о применении прогестина у 216 доноров ооцитов со средним возрастом $24 \pm 4,5$ и средним индексом массы тела $23 \pm 2,9$ кг / м², получавшие 10 мг / сутки МПА с первого дня стимуляции или 0,25 мг ганирелекса с седьмого дня стимуляции, до назначения триггера

овуляции – трипторелина (Begueria R et al 2019). Количество полученных зрелых ооцитов, эмбрионов хорошего качества, длительность стимуляции яичников, суммарная доза гонадотропина, гормональный профиль циклов не различались в группах МПА и антагГн-РГ. Однако лучшие показатели по частоте наступления беременности оказались в группе антагГн-РГ (46% против 31%), в то время как частота живорождения не различалась [53].

Sule Yildiz, et al., 2019 провели аналогичное исследование у 87 доноров ооцитов. Для стимуляции яичников авторы использовали стандартный гибкий протокол с антагГн-РГ (назначение антагГн-РГ при диаметре фолликула 14 мм) и протокол с МПА (10 мг/сутки). Препарат назначали с 7 дня гонадотропной стимуляции. Полученные результаты демонстрировали равную продолжительность гонадотропной стимуляции в обеих группах (10-11 дней) и отсутствие преждевременной овуляции. Однако протокол с МПА давал большее количество ооцит-кумулюсных комплексов (33 против 26) и большее количество ооцитов МП (24 против 21), при этом показатели клинической и прогрессирующей беременности, а также живорождений не различались. Авторы сделали заключение об эффективности данного протокола, делая особый акцент на отсутствие влияния прогестина на качество ооцитов и сопоставимую результативность по частоте живорождений [115].

В настоящее время в доступной литературе представлены данные о возможности назначения прогестинов в фолликулярную фазу цикла с участием более 2600 женщин. Сравниваются различные прогестины и дозы препаратов. Так в исследовании Zhu X, et al., 2017 сравнивали пероральные дозы микронизированного прогестерона (100 против 200 мг / день) у 150 женщин программ ЭКО/ICSI. Препарат назначали с 3 дня цикла совместно с чМГ. В качестве первичной точки исследования авторы оценивали частоту преждевременного пика ЛГ, в качестве вторичных точек- количество и качество эмбрионов, а также частоту наступления беременности. Устойчивое подавление ЛГ было достигнуто в группе, применявшей 100 мг утрожестана, количество

полученных ооцитов значимо не различалось между группами ($9,87 \pm 5,77$ против $10,25 \pm 5,43$). Кроме того, не было выявлено различий по количеству и качеству эмбрионов, частоте наступления беременности и показателям живорождений [116].

Эти же авторы позднее показали, что протоколы с утрожестаном в дозе 200 мг/сутки и гонадотропинами (чМГ 150-225 МЕ/сутки) у 132 пациенток с СПКЯ способны улучшить качество ооцитов по сравнению с аналогичными показателям в коротком протоколе с аГн-РГ. Коэффициент оплодотворения, частота имплантации и клинической беременности были значительно выше в основной группе, применявшей утрожестан (РФ).

Аналогичный протокол применялся у женщин с предполагаемым нормальным ответом на стимуляцию. Целью этого исследования явилась демонстрация эффективности низкой дозы утрожестана (100 мг/сутки), способной эффективно блокировать преждевременный всплеск ЛГ. Авторы не выявили различий в особенностях индуцированного цикла при использовании доз 100 и 200 мг/сутки [117].

Безопасность утрожестана была оценена в ретроспективном когортном исследовании Wang с соавторами (2018). Неонатальные исходы и частота врожденных пороков развития не различались в группах женщин, которым применяли стандартный подход к стимуляции яичников и новый подход с назначением утрожестана совместно с гонадотропинами [7].

Дискуссия о выборе прогестина на этапе стимуляции функции яичников продолжается. По мнению некоторых исследователей, МПА предпочтительнее микронизированного прогестерона, так как последний имея формулу эндогенного природного прогестерона может давать погрешности в определении уровня сывороточного прогестерона, что в свою очередь может привести к недооценке риска преждевременной лютеинизации [10].

В то же время МПА способен вызывать более выраженное подавление гипофиза, что приводит к увеличению курсовой дозы гонадотропина и большей продолжительности гонадотропной стимуляции [9].

В 2018 году появились сообщения о возможности применения дидрогестерона на этапе стимуляции функции яичников у пациенток с СПКЯ. В проспективном рандомизированном исследовании (N=516) дидрогестерон сравнивали с МПА. Авторы не выявили различий в количестве извлеченных ооцитов ($10,8 \pm 6,3$ для группы чМГ + дидрогестерон, по сравнению с $11,1 \pm 5,8$ для группы чМГ + МПА) ($P = 0,33$). Доля жизнеспособных эмбрионов на извлеченный ооцит не различалась между двумя группами (отношение шансов (OR): 1,08, 95% ДИ: 0,97–1,21, $P = 0,16$): 37,4% (1052/2815) для группы с дидрогестероном по сравнению с 35,6% (1009/2837) для группы с МПА. Средний уровень ЛГ в основной группе был выше, чем в группе сравнения с МПА ($P < 0,001$). Однако, ни в одном случае в обеих группах не было преждевременного всплеска ЛГ. Также не было обнаружено различий в частоте клинической беременности в первом криоцикле 57,6% для группы с дидрогестероном против 62,3% для группы с МПА [10].

Аналогичные результаты были показаны при сравнении утрожестана и дидрогестерона Zhu с соавторами (2017), в котором было показано, что утрожестан и дидрогестерон одинаково эффективно блокируют преждевременный пик ЛГ и не влияют на результативность последующего криоцикла [118].

В 2020 году Rashidi В.Н. et al. провели рандомизированное контролируемое испытание с участием двухсот женщин. Целью исследования было сравнение дидрогестерона и антагГн-РГ для предотвращения преждевременного выброса ЛГ в циклах ЭКО/ICSI [119]. Авторами был выбран дидрогестерон, поскольку он, как синтетический прогестин, который тесно связан с эндогенным прогестероном, является более удобным для пациента режимом с некоторыми преимуществами, такими как: пероральный прием,

меньшая андрогенная активность, меньше побочных эффектов по сравнению с другими прогестинами и высокая селективность в отношении рецептора прогестерона [54, 120, 121].

Авторы сделали вывод об одинаковой эффективности применения 20 мг/сут дидрогестрона и антагГн-РГ с целью предотвращения преждевременного выброса ЛГ, эмбриональные и репродуктивные исходы также не различались в этих группах. По всей видимости, дидрогестерон является разумным вариантом для применения в протоколах овариальной стимуляции. Однако необходимы дополнительные клинические испытания, чтобы определить оптимальную дозу и лучшее время для начала приема дидрогестрона в циклах стимуляции яичников у пациенток, в зависимости от овариального резерва, возраста и других клинико-лабораторных факторов [119].

Эти наблюдения показывают, что разные препараты прогестерона в разных дозировках могут быть использованы с одинаковой эффективностью для подавления преждевременного пика ЛГ, не ухудшая эмбриологические показатели и не влияя на частоту наступления беременности, показатели живорождения и состояние здоровья детей.

Таким образом, современные данные о фолликулогенезе позволяют расширить и оптимизировать подходы к проведению контролируемой овариальной стимуляции в программах ВРТ.

Вероятно, протоколы с прогестинами, назначаемыми на этапе гонадотропной стимуляции могут быть показаны различным пациенткам программ ВРТ, в случаях с планируемой сегментацией цикла. Этими пациентками могут быть женщины с поликистозом яичников, нормальным и низким овариальным резервом, доноры ооцитов, планирующие преимплантационное генетическое тестирование (ПГТ). Особенно необходимо отметить, группу женщин с риском СГЯ, где замена триггера овуляции на аГн-РГ с последующей сегментацией цикла помогает избежать раннего развития

ятрогенного синдрома. Другими преимуществами назначения прогестинов на этапе гонадотропной стимуляции являются пероральное применение препаратов, лучший контроль за концентрацией ЛГ, кроме того, эта программа более удобна для женщин, так как требует меньшего количества инъекций, и она дешевле.

Таким образом, применение прогестерона с целью предотвращения пика ЛГ является новой стратегией при овариальной стимуляции в программах вспомогательных репродуктивных технологий и требует всестороннего изучения с целью оптимизации показаний, выбора пациенток, которые могли бы получить наибольшую пользу от использования данного модифицированного протокола в клинической практике, оценки безопасности и эффективности протокола. Разработка персонализированного подхода к применению модифицированного протокола в фолликулярную фазу цикла с препаратом гестагена с целью предотвращения преждевременного пика ЛГ в программах ВРТ является актуальной задачей современной медицинской науки.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования

Обследовано 202 женщины с бесплодием, обратившихся в научно-клиническое отделение ВРТ им. Ф. Паулсена ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава РФ для достижения беременности в программе ЭКО /ICSI в период с сентября 2019г. по июнь 2022 г. (Заведующий отделением профессор Назаренко Т.А.).

Для решения поставленных задач все пациентки методом простой рандомизации с неравномерным распределением (методом конвертов) были разделены на 2 группы: 1 группу составили 98 женщин, которым для предотвращения преждевременного пика ЛГ в протоколе овариальной стимуляции использовали дидрогестерон. Эта группа на этапе овариальной стимуляции в дальнейшем была разделена на две подгруппы (1А и 1Б). Женщинам 1А подгруппы (n=57) назначали дидрогестерон со 2-го дня менструального цикла, пациенткам 1Б подгруппы (n=41) – при диаметре растущих фолликулов 13-14 мм, что соответствовало 6-7 дню овариальной стимуляции. Во 2 группу были включены 104 пациентки, которым стимуляцию яичников проводили в стандартном протоколе с антагГн-РГ. На момент вступления в программу ЭКО/ICSI все 202 женщины имели плановые показания к сегментации цикла с отменой переноса эмбрионов (ПЭ), а именно: проведение ПГТ-А, риск развития СГЯ в связи с наличием мультифолликулярных или ПКЯ яичников, сохранение репродуктивного материала перед хирургическим лечением.

Перенос размороженных эмбрионов в полость матки женщинам, включенным в исследование, был произведен в криоцикле.

Заключительным этапом исследования явилась оценка исходов лечения в протоколах ВРТ.

Проведение данного исследования было одобрено комитетом по этике биомедицинских исследований при ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Пациенткам была предоставлена полная информация по поводу цели и методов исследования, так же подробно освещены вопросы о возможных рисках и предполагаемой пользе от участия в исследовании. Все женщины подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Дизайн исследования

Для решения 1 задачи построен следующий дизайн исследования (рис. 2).

Дизайн: обсервационное продольное проспективное исследование.



Рисунок 2. Дизайн исследования для задачи 1.

Для решения 2 задачи построен следующий дизайн исследования (рис. 3).

Дизайн: проспективное когортное исследование.

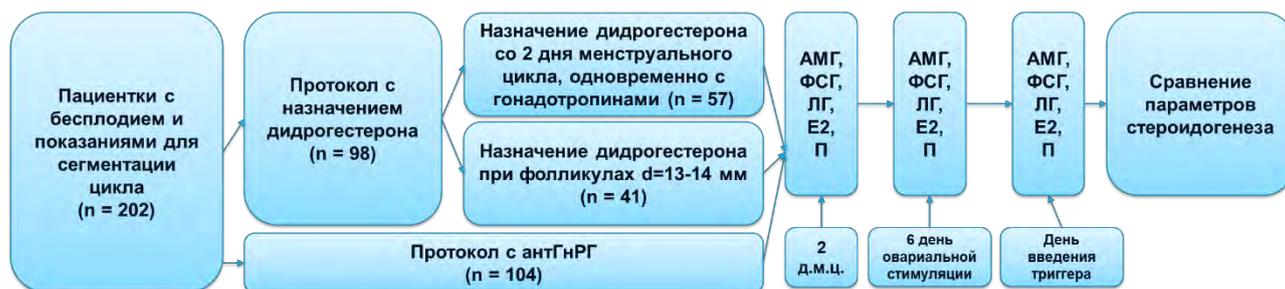


Рисунок 3. Дизайн исследования для задачи 2.

Для решения 3 задачи построен следующий дизайн исследования (рис. 4).

Дизайн: проспективное когортное исследование.

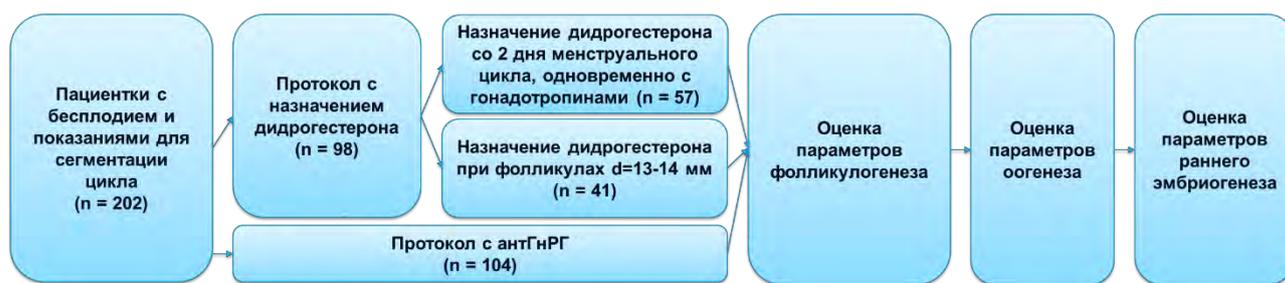


Рисунок 4. Дизайн исследования для задачи 3.

Для решения 4 задачи исследования построен следующий дизайн исследования (рис. 5).

Дизайн: проспективное когортное исследование.

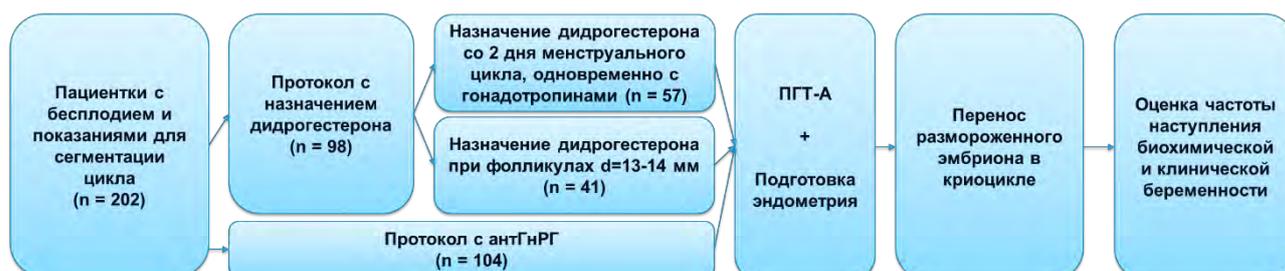


Рисунок 5. Дизайн исследования для задачи 4.

Критерии включения в исследование:

- Возраст женщин <38 лет;
- ИМТ от 18 до 29 включительно;
- Регулярный менструальный цикл (21-35 дней) или олигоменорея (35-90 дней);
- Женское бесплодие, обусловленное любыми факторами;
- Сохранный овариальный резерв;
- Наличие плановых показаний к сегментации цикла с отменой ПЭ;
- Информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии невключения в исследование:

- Противопоказания к проведению программы ЭКО/ICSI, изложенные в приказе Минздрава России № 803н от 31.07.2020 г. "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению".
- Приобретенные деформации полости матки, при которых невозможна имплантация эмбрионов или вынашивание беременности.
- Преждевременная недостаточность яичников.
- Выраженные формы патозооспермии, получение сперматозоидов хирургическим путем.

Критерии исключения из исследования:

- Отсутствие возможности продолжить участие в исследовании со стороны пациента.
- Желание пациента добровольно прекратить участие в исследовании.

Первичная конечная точка исследования:

- частота наступления клинической беременности в 1 криоцикле (%).

Вторичные точки исследования:

- курсовая доза гонадотропина (МЕ);
- длительность овариальной стимуляции (дни);
- число фолликулов $D > 17$ мм в день введения триггера овуляции;
- число полученных ооцит-кумулюсных комплексов;
- число полученных зрелых ооцитов (стадия МII);
- количество оплодотворенных ооцитов;
- частота оплодотворения (%);
- частота бластуляции (%);
- число бластоцист класса А от числа полученных бластоцист (%);
- число бластоцист класса В от числа полученных бластоцист (%);
- число бластоцист класса С от числа полученных бластоцист (%);
- число криоконсервированных эмбрионов;
- число эуплоидных эмбрионов (%).

2.2 Методы исследования

2.2.1 Общеклинические методы исследования

На момент обращения в Центр для лечения в программе ЭКО/ICSI все бесплодные пары были обследованы в соответствии с приказом Минздрава России № 803н от 31.07.2020 г. "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению".

У всех пациенток были изучены данные о ранее перенесенных соматических заболеваниях, общих оперативных вмешательствах, особенностях становления и характере менструального цикла (возраст менархе, регулярность и продолжительность менструального цикла, характер менструации).

Анализировали данные анамнеза о ранее перенесенных гинекологических заболеваниях, ИППП и оперативных вмешательствах на органах малого таза. Изучали особенности репродуктивной функции, уточняли данные о количестве и исходах беременностей, родов, продолжительности и причинах бесплодия, методах его лечения на предыдущих этапах, сведения о ранее проведенных программах ВРТ.

При проведении общего осмотра у всех женщин были определены рост и вес, вычислен индекс массы тела по формуле: $ИМТ = \text{масса тела} / \text{рост}^2$ (кг/м²). Нормальным считали ИМТ от 18,5-24,9, избыточная масса тела соответствовала значениям 25-30, ИМТ > 30 расценивали как ожирение.

При гинекологическом осмотре оценивали состояние наружных половых органов, шейки матки, слизистой оболочки влагалища. При бимануальном исследовании определяли размер, расположение, подвижность, болезненность

матки и придатков, а также наличие опухолевидных образований в области малого таза.

Исследование *гормонального профиля* проводили на 2-3 день менструального цикла при вступлении в протокол лечения. Определяли уровень фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), эстрадиола (E2), тиреотропного гормона (ТТГ), пролактина (ПРЛ), тестостерона (Т). *Оценку овариального резерва* проводили путем определения уровня антимюллерова гормона (АМГ) в сыворотке крови на 2-3 день менструального цикла и подсчета количества антральных фолликулов по данным УЗИ.

Значение АМГ менее 1,0 нг/мл расценивали как низкий овариальный резерв, показатели от 1,5 до 2,5 нг/мл – как нормальный, уровень гормона >2,5 нг/мл – как высокий овариальный резерв [122].

Динамику уровня ЛГ, E2 и прогестерона оценивали на 6 день овариальной стимуляции и в день введения триггера финального созревания ооцитов.

Исследование *гормонального профиля* было проведено на иммунохемилюминесцентном автоматическом анализаторе Immulite 2000 (Siemens, США) с использованием реагентов этой же фирмы. Концентрацию гормонов в плазме крови выражали в системе СИ. Определений уровня АМГ использовали иммуноферментный набор АМН GEN II ELISA для определения MIS/АМН (антимюллеров гормон/фактор регрессии Мюллерова канала). Все гормональные исследования были произведены в научно-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И.Кулакова» Минздрава РФ. В качестве нормативных параметров гормонального статуса использовали референсные значения, полученные для здоровых женщин репродуктивного возраста в той же лаборатории (заведующий – д.м.н. Иванец Т.Ю.) (таблицы 2, 3).

**Концентрация гормонов в сыворотке крови у фертильных женщин
репродуктивного возраста**

Гормон	Референсный интервал для женщин репродуктивного возраста
ФСГ, МЕ/л	3,0 – 8,0
ЛГ, МЕ/л	3,0 – 10,0
Е2, пмоль/л	150 – 450
ТТГ, мМЕ/л	1,0 – 3,0
ПРЛ, мМЕ/л	120 – 500
Тестостерон, нмоль/л	1,0 – 2,5
АМГ, нг/мл	1,0 – 2,5

УЗИ матки и придатков проводили на аппарате «Flex Focus 400» («ВК Medical», Дания) трансвагинальным датчиком с частотой 6,5 МГц. Оценивали форму и размер тела матки, толщину и структурные особенности эндометрия, размеры яичников, количество антральных фолликулов, наличие или отсутствие объемных образований в полости малого таза при опорожненном мочевом пузыре.

Концентрация E2 и прогестерона в сыворотке крови различные фазы менструального цикла у фертильных женщин репродуктивного возраста

Гормон	Фолликулиновая фаза Референсный интервал для женщин репродуктивного возраста	Лютеиновая фаза Референсный интервал для женщин репродуктивного возраста
Эстрадиол, пмоль/л	150 – 480	280 – 940
Прогестерон, нмоль/л	1,8 – 2,2	9 – 83

В протоколе овариальной стимуляции первое УЗИ матки и придатков осуществляли в день начала лечения на 2-3 день цикла. Далее УЗ-мониторинг роста фолликулов и трансформации эндометрия проводили на 6 день стимуляции яичников и далее через день (не более 3-х раз) до достижения двумя – тремя фолликулами Д – 17 мм, после чего вводили триггер овуляции.

В криоцикле УЗИ матки и придатков проводили на 2-3 день цикла, далее дважды с интервалом 6-7 дней. Оценивали состояние яичников и величину М-ЭХО. Перенос эмбриона в полость матки осуществляли под УЗ- контролем.

Для подтверждения клинической беременности УЗИ матки и придатков выполняли через 35-40 дней после переноса размороженного эмбриона в полость матки.

2.2.2. Протоколы овариальной стимуляции в программе ЭКО/ICSI

Для сравнительной оценки параметров овариальной стимуляции, гормональных показателей стимулированных циклов и выбора оптимального режима дозирования дидрогестерона – пациентки 1 группы на этапе стимуляции функции яичников были разделены на 2 подгруппы: 1А (n=57) и 1Б (n=41). Овариальную стимуляцию у всех женщин, включенных в исследование, начинали в фолликулярную фазу цикла (с 2-3 дня), используя фоллитропин альфа в суточной дозе 150-300 МЕ, в зависимости от показателей овариального резерва. Для предотвращения преждевременного пика ЛГ в подгруппе 1А одновременно с фоллитропином альфа ежедневно назначали дидрогестерон в суточной дозе 20 мг перорально (рис. 6). Женщинам подгруппы 1Б дидрогестерон назначали в аналогичной дозе при достижении 2-3 фолликулов диаметра 13-14 мм (6-7 день овариальной стимуляции) (рис. 7). Последний день приема дидрогестерона у пациенток обеих подгрупп – день введения триггера овуляции. У пациенток 2 группы (n=104) для предотвращения преждевременного пика ЛГ при достижении 2-3 фолликулами диаметра 13-14 мм начинали введение цетрореликса в суточной дозе 0,25 мг ежедневно п/к в течение 4-5 дней (рис. 8).

Триггер овуляции: аГн-РГ – трипторелин – 0,2 мг водили при достижении 1-3 фолликулов Д-17-18 мм (рис 6, 7).

При выборе агониста в качестве триггера овуляции, мы руководствовались современными представлениями, согласно которым в сегментированных циклах у пациенток с сохраненным овариальным резервом, более безопасным является аГн-РГ.

Трансвагинальную пункцию яичников под в/в анестезией и УЗ контролем выполняли через 37-37,5 часов после введения триггера овуляции, в малой операционной. Аспирацию фолликулярной жидкости производили под

отрицательным давлением в диапазоне 130-135 мм водного столба в стерильные пробирки с помощью однопросветных пункционных игл. Полученную фолликулярную жидкость передавали эмбриологам для последующей идентификации ооцит-кумулюсного комплекса и оценки степени зрелости полученных ооцитов.



Рисунок 6. Протокол овариальной стимуляции с назначением дидрогестерона со 2 дня цикла, одновременно с гонадотропинами (1А подгруппа).



Рисунок 7. Протокол овариальной стимуляции с назначением дидрогестерона при размерах растущих фолликулов 13-14 мм (6-7 день стимуляции яичников) (1Б подгруппа).



Рисунок 8. Протокол овариальной стимуляции в стандартном протоколе с антагГн-РГ (2 группа).

2.2.3. Эмбриологический этап

При подготовке ооцитов к оплодотворению идентифицированные в фолликулярной жидкости ооцит-кумулюсные комплексы (ОКК) отмывались в универсальном HEPES-буфере (буфере 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты) для гамет (Ооклин) (фирмы Панэко), или в универсальном MOPS-буфере (буфере 3-Морфолинопропансульфоновой кислоты) (MOPS Plus) (фирмы VitroLife), затем переносились в стерильные чашки с уравновешенной средой для оплодотворения (G-IVF Plus) (фирмы VitroLife), покрытой культуральным маслом (Ovoil) (фирмы VitroLife) и помещались группами по 5-7 ОКК, в соответствии с номером образца фолликулярной жидкости, лунки четырехлуночного планшета в термостат для дальнейшего оплодотворения и культивирования эмбрионов.

Оценка ОКК проводилась в соответствии с классификацией Lin Y.C. и соавт. (2003г.), согласно которой:

Зрелый ОКК характеризуется протяженным кумулюсом, светящейся короной, четкой прозрачной оболочкой (zona pellucida, ZP), светлой

цитоплазмой, широким хорошо сгруппированным слоем гранулезных клеток (рисунок 8);

Почти зрелый ОКК имеет протяженную массу кумулюсных клеток, незначительную компактизацию клеток «лучистого венца» (*Corona radiata*), широкий, хорошо сгруппированный слой гранулезных клеток;

Незрелый ОКК характеризуется плотным слоем кумулюса, если он присутствует, примыкающим слоем *Corona radiata*, видимым зародышевым пузырьком (germinal vesicle), компактным неагрегированным слоем гранулезных клеток;

Перезрелый ОКК представляет собой комплекс, состоящий из протяженного кумулюса, с участками плотного скопления клеток, иногда неполного объема *coronae radiatae* со скоплениями клеток, неправильной формы, видимой ZP, гранулярной или темноокрашенной ооплазмой, малым и относительно дезагрегированным слоем гранулезных клеток;

Атретический ОКК редко встречается в ассоциации с кумулюсом. *Corona radiata* кластирована и неравномерна, ZP просматривается, ооплазма темноокрашена и часто деформирована, слой гранулезных клеток с маленькими участками скоплений [123].



Рисунок 9. Зрелый ОКК (А) и ооцит М II (Б) после денудации клеток короны и кумулюсного комплекса (воспроизведено из атласа Veeck L., Zaninovic N. (2005г.)) [124].

Оценка качества ооцитов проводилась в соответствии с классификацией клиники Bourn Hall [125].

Очень незрелый ооцит находится на стадии профазы первого деления мейоза (germinal vesicle stage, GV), стадии «зародышевого пузырька», на которой происходит блок мейоза в процессе оогенеза. Клетки кумулюса и *corona radiata* плотно упакованы вокруг ооцита. Иногда определяется ядро ооцита – зародышевый пузырек. Полярное тельце еще не сформировано.

Незрелый ооцит находится на стадии метафазы первого деления мейоза (MI или GVB, germinal vesicle breakdown, исчезновение «зародышевого пузырька»), блок мейоза уже снят, однако формирование полярного тельца пока не произошло. Клетки *corona radiata* все еще плотно примыкают к ооциту, слой кумулюсных клеток незначительно увеличен.

Преовуляторный ооцит находится на стадии метафазы второго деления мейоза (MII), полярное тельце уже сформировано. Клетки *corona radiata* расходятся лучами от ооцита, слой кумулюсных клеток разросшийся, но имеет клеточную структуру.

Перезрелый ооцит находится на стадии метафазы второго деления мейоза (MII), полярное тельце обычно хорошо видно. Присутствует небольшое количество клеток *corona radiata*, уже не примыкающих плотно к ооциту, который хорошо просматривается. Слой кумулюсных клеток разросшийся, но все еще имеет клеточную структуру.

Лютеинизированный ооцит вокруг ооцита клетки кумулюса образуют скопления (комки), остальной слой кумулюсных клеток представляет собой желеобразную массу с небольшим количеством клеток.

Дегенеративный ооцит обычно темноокрашен. Несколько клеток гранулезы окружают ооцит, слой кумулюсных клеток отсутствует или очень маленький.

В данной работе использовалась адаптированная по Veeck L.L. классификация, в соответствии с которой полученные ооциты классифицировались на 4 типа [126]:

GV (germinal vesicle stage) – стадия зародышевого пузырька. Соответствует 1 классу по классификации Bourn Hall.

М I (метафаза 1) – незрелый ооцит – соответствует 2 классу по классификации Bourn Hall.

М II – зрелый ооцит – соответствует 3 классу по классификации Bourn Hall.

ATR – дегенеративный ооцит – соответствует 5, 6 классам по классификации Bourn Hall [127].

На рисунке 10 представлено изображение ооцитов различных степеней зрелости.

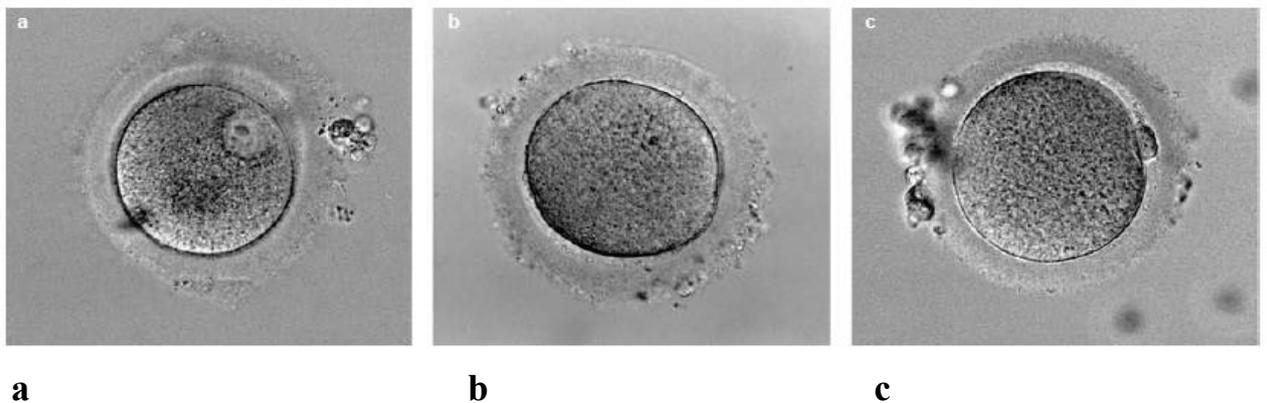


Рисунок 10. Морфологические критерии, характеризующие степень зрелости ооцита. Gardner D.K. и соавт. (2009г.) [128].

а) очень незрелый ооцит GV: мейоз еще не возобновился, присутствует типичная нуклеарная структура germinal vesicle («зародышевый пузырек»); б) незрелый ооцит стадии MI или GVB: мейоз возобновился, «зародышевый пузырек» исчез, но первое полярное тельце отсутствует; в) зрелый ооцит стадии MII: произошел выход первого полярного тельца.

Выбор метода оплодотворения ЭКО/ICSI осуществлялся эмбриологом в зависимости от параметров спермограммы партнера пациентки в день ТВП. При оплодотворении с помощью **стандартного ЭКО** маркированные ОКК культивировались отдельно до оплодотворения ооцитов, которое осуществлялось через 4-5 часов после ТВП. Далее проводилась инсеминация каждого ооцита образцом спермы с концентрацией сперматозоидов 100000/мл и последующая инкубация в индивидуальных маркированных лунках четырехлуночного планшета в течение 16-18 часов с последующей оценкой оплодотворения.

Для ICSI проводили предварительную денудацию ооцитов из ОКК, путем применения фермента гиалуронидазы в концентрации 80 МЕ/мл (Hyaluronidase) (фирмы Origio). Применение литических ферментов удаляет кумулюсные клетки, окружающие ооцит, чтобы визуализировать полярное тельце и правильно расположить ооцит перед инъекцией сперматозоида. Иммобилизацию сперматозоида производили при помощи микроиглы путем неполного перетирания его хвоста о дно чашки Петри. Далее выполняли аспирацию сперматозоида с определенной ориентацией «хвостовой частью» вперед в микропипетку. Затем закрепляли ооцит при ориентации полярного тельца на 6 или 12 часах условного циферблата с помощью удерживающей микропипетки. Далее осуществляли прокол оолеммы в положении на 3 часах и производили инъекцию сперматозоида в ооцит. После ICSI ооциты по одному максимально быстро переносили в индивидуальную культуральную среду маркированных четырехлуночных планшетов и культивировали в дальнейшем как после оплодотворения методом стандартного ЭКО.

На следующий день после аспирации производили **оценку оплодотворения**: ооциты просматривали с использованием инвертированного микроскопа для оценки признаков оплодотворения.

Оплодотворение расценивали как нормальное при наличии двух пронуклеусов через 16-18 часов после оплодотворения. Если пронуклеусы обнаружить не удавалось – оплодотворение считали не состоявшимся, при определении одного пронуклеуса или более двух – оплодотворение расценивали как аномальное.

Морфологическую оценку эмбрионов проводили через 120-144 часов после проведения ЭКО/ICSI. Оценка эмбрионов проводили по классификации Гарднера: дискретно оценивали качество трофэктодермы (количество клеток на периферии оптического среза, их форму и размер) и качество внутренней клеточной массы (ее визуальное наличие, размер, компактность), а также степень экспансии бластоцист [129].

В соответствии с классификацией Гарднера по степени экспансии выделяют ранние бластоцисты (степени экспансии 1-2), бластоцисты (степень экспансии 3), экспандированные, или полные, бластоцисты (степени экспансии 4), вылупляющиеся бластоцисты (степень экспансии 5): трофэктодерма начинает выступать из *zona pellucida* (*hatching blastocyst*, *h.B1 VAA*); вылупившуюся бластоцисту: полностью освобожденную от *zona pellucida* (*full hatched blastocyst*, *full h.B1*).

А степень выраженности клеточных компонентов оценивают двумя заглавными латинскими буквами, первая из которых характеризует внутреннюю клеточную массу, а вторая – трофэктодерму.

Графическое изображение классификации Гарднера представлено слайдом авторства Шафеи Р.А. на рисунке 11.

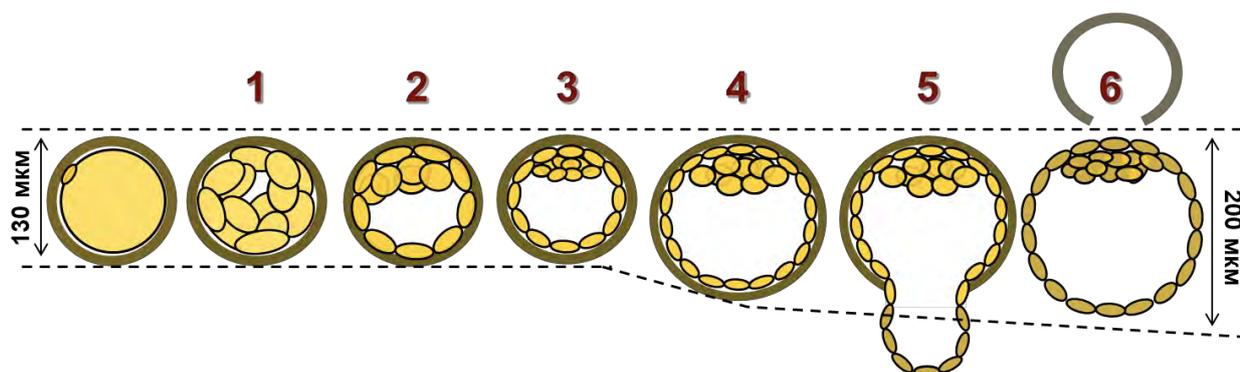


Схема оценки степени экспансии эмбриона на стадии бластоцисты (рисунок Шафеи 2008 по Gardner et al., 1999)

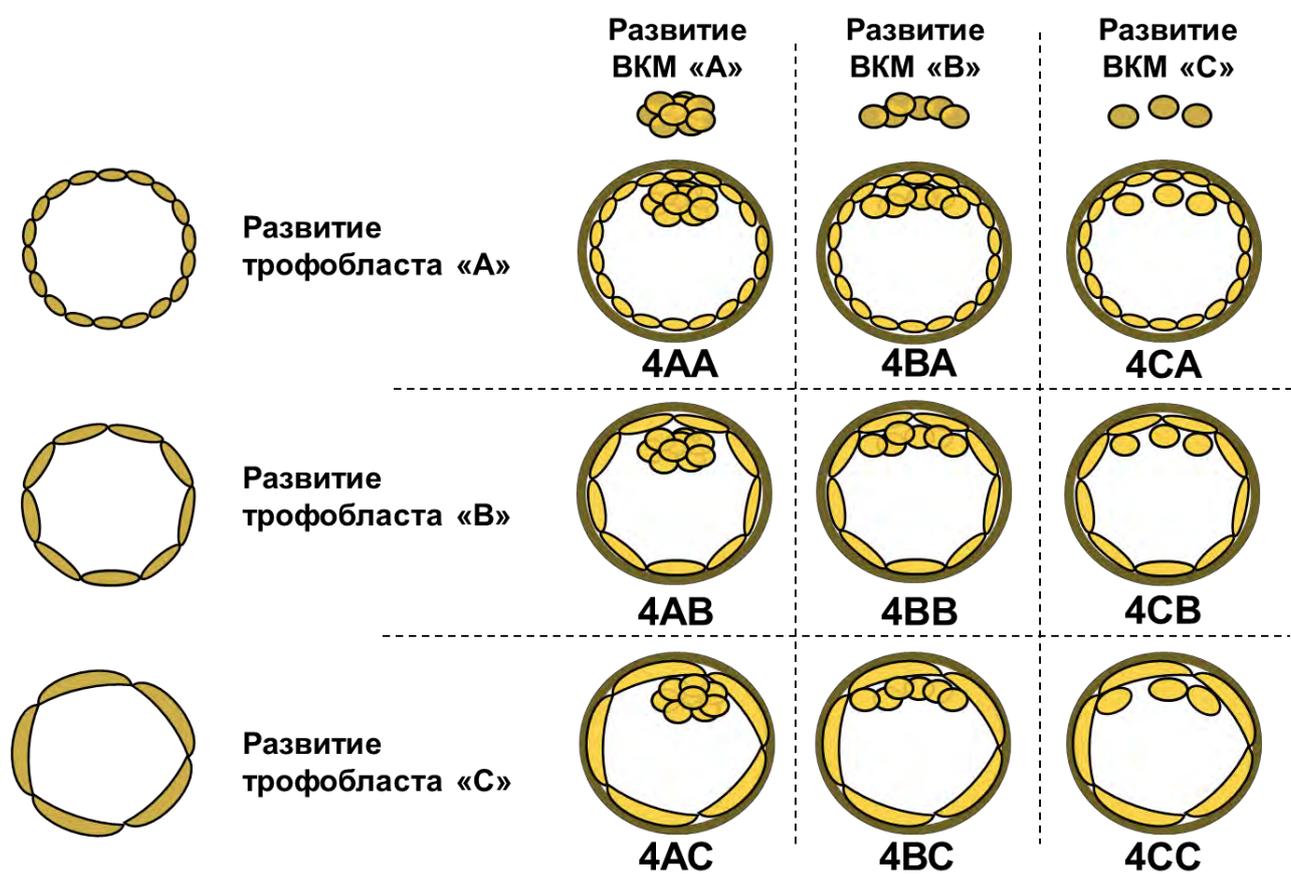


Схема оценки клеток трофэктодермы и внутренней клеточной массы эмбриона на стадии бластоцисты (рисунок Шафеи 2008 по Gardner et al., 1999)

Рисунок 11. Графическое изображение классификации Гарднера [129, 130].

Учитывая морфологические характеристики эмбрионов, эмбрионы были классифицированы на 3 класса:

Класс А бластоцисты, имеющие степень экспансии 3 и более, морфологическую характеристику внутренней клеточной массы и трофэктодермы АА или ВА, соответственно;

Класс В бластоцисты, имеющие степень экспансии 3 и более, морфологическую характеристику внутренней клеточной массы и трофэктодермы АВ или ВВ, соответственно;

Класс С бластоцисты, имеющие степень экспансии 2 и более, морфологическую характеристику внутренней клеточной массы и трофэктодермы ВС или СС, соответственно.

Культивирование эмбрионов проводили индивидуально в каплях в маркированных чашках в соответствии с номером образца фолликулярной жидкости, аспирированной отдельно из каждого фолликула при проведении ТВП. Все манипуляции с эмбрионами производили с использованием сред фирмы «Vitrolife» (Швеция), культивирование эмбрионов осуществлялось в одноступенчатой среде (G-TL) (VitroLife).

Для переноса размороженного эмбриона использовали бластоцисты имеющие оценку не менее 3ВВ.

Биопсия трофобласта и витрификация эмбрионов

На 5–6 сутки развития после оплодотворения выполняли биопсию клеток трофэктодермы у бластоцист хорошего и отличного качества согласно морфологическим критериям оценки по классификации Гарднера (классы А и В).

Для биопсии использовали пипетки ТРС (США), или Microtech (Чехия). Полученные клетки трофэктодермы переносили в пробирки типа Эппендорф, содержащие буфер для полногеномной амплификации, и передавали их в лабораторию для проведения молекулярно-генетической диагностики исследуемых образцов.

Эмбрионы после биопсии выдерживали 1 час и в случае отсутствия выраженной дегенерации подвергали криоконсервации методом витрификации на средах Cryotech (Япония) согласно инструкции производителя сред для витрификации.

Преимплантационное генетическое тестирование

Для тестирования брали клетки трофэктодермы эмбрионов, полученных в программе ВРТ. Все эмбрионы были получены после оплодотворения методом ICSI. Высокопроизводительное секвенирование полного генома (NGS) для выявления хромосомных анеуплоидий и хромосомных aberrаций (делеций и дупликаций) в единичных клетках проводили с помощью набора реагентов «РепроЛайн» для выявления хромосомных аномалий в единичных клетках на системе «F-Genetics».

Перед секвенированием осуществляли полногеномную амплификацию ДНК клеток трофэктодермы.

Анализ качества полученного продукта WGA проводили с помощью электрофореза. В основе метода лежит регистрация сигналов флуоресцентно меченых нуклеотидов. Для получения результата исследуемую ДНК сначала модифицируют, затем создают коллекцию случайных фрагментов нужной структуры. К основным этапам процесса NGS можно отнести:

- 1) выделение ДНК-фрагментов определенной длины;
- 2) прикрепление адаптеров по краям фрагментов;

- 3) амплификация каждого фрагмента ДНК;
- 4) определение нуклеотидной последовательности фрагментов ДНК;
- 5) биоинформатический анализ данных.

Данные обрабатывали согласно инструкции фирмы-производителя. Глубина покрытия генома составляет около 0,01x, что соответствует около 100 000 уникальных прочтений на образец (или библиотеку).

2.2.4. Гормональная подготовка эндометрия при переносе размороженных эмбрионов

Гормональную подготовку эндометрия начинали с назначения препаратов 17 β -эстрадиола валерата с 2-3 дня цикла в дозе 4 мг с увеличением до 6-8 мг под контролем УЗ мониторинга. На 13-14 дни цикла при величине М-ЭХО не менее 7 мм добавляли микронизированный прогестерон в дозе 600 мг в сутки вагинально. ПЭ в полость матки производили на 6 день назначения прогестерона (P+5) под контролем УЗИ с помощью катетера Соок (Австралия). Прием гормональных препаратов продолжали в течение 14 дней с последующим тестом на диагностику беременности.

Перенос размороженного эмбриона

Размораживание эмбрионов проводили за 3 часа до предполагаемого переноса на средах производства компании Kitazato (Япония) согласно инструкции производителя. Размороженные бластоцисты культивировали и переносили в полость матки под ультразвуковым контролем в среде G-TL (VitroLife, Швеция) катетерами СООК (Австралия). Эмбрион переносили в

полость матки на 19–22 день менструального цикла при толщине эндометрия в день ПЭ более 7 мм под контролем УЗ-исследования.

2.2.5. Диагностика беременности

Оценку исходов лечения производили путем определения уровня В-хорионического гонадотропина в сыворотке крови через 14 дней после ПЭ. Положительным считался уровень β -ХГ более 20 МЕ/л. Заключение об успешной имплантации (клиническая беременность), было установлено после верификации сердцебиения эмбриона в полости матки при сроке беременности 4-5 недель.

2.2.6. Статистическая обработка данных

Для статистической обработки данных использовали электронные таблицы «Microsoft Excel» и пакет программ «GraphPad Prism 6» (GraphPad Software, USA). Для построения графиков использовали электронные таблицы «Microsoft Excel». Для определения нормальности распределения использовали обобщённый тест Д'Агостино-Пирсона. При анализе параметрических данных рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение, использовали t-test для двух групп и ANOVA для трех групп. При анализе непараметрических данных – медиану и интерквартильный размах, использовали тест Манна-Уитни для двух групп и тест Краскела-Уоллиса для трех групп. При анализе качественных данных рассчитывали абсолютное значение и процент, использовали точный тест Фишера. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Клиническая характеристика пациенток

В соответствии с поставленными целью и задачами обследовано 202 женщины репродуктивного возраста, соответствующие критериям включения в настоящее исследование, обратившихся для проведения программы ЭКО/ICSI в ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава РФ. На предварительном этапе все бесплодные пары были обследованы в соответствии с приказом Министерства здравоохранения РФ от 31 июля 2020г. № 803н "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий в противопоказаниях и ограничениях к их применению" и не имели противопоказаний к лечению в программах вспомогательных репродуктивных технологий.

В зависимости от используемого протокола овариальной стимуляции пациентки были разделены на 2 группы. Пациенткам 1 группы (n=98) предотвращение преждевременного пика ЛГ в фолликулярную фазу цикла проводили путем назначения дидрогестерона; женщинам 2 группы (n=104) – проводили овариальную стимуляцию в стандартном протоколе с антагГн-РГ.

Для решения 1 задачи были оценены клиничко-анамнестические и лабораторные данные всех 202 пациенток.

Пациентки обеих группы были сопоставимы по возрасту и ИМТ. Средний возраст у женщин 1 группы составил $35,7 \pm 3,29$ лет, у пациенток 2 группы – $36,2 \pm 3,12$ лет, ИМТ $24,3 \pm 2,2$ и $23,6 \pm 1,9$ кг/м² соответственно.

Сведения о перенесенных экстрагенитальных заболеваниях и оперативных вмешательствах представлены в таблице 4.

Перенесенные соматические заболевания и экстрагенитальные операции

Заболевание	1 группа (n=98)		2 группа (n=104)		P
	Абс. число	%	Абс. число	%	
Заболевания дыхательной системы	42	42,9	51	49,0	0,230
Заболевания пищеварительной системы	23	23,4	31	29,8	0,195
Заболевания мочевыделительной системы	19	19,3	17	16,3	0,352
Доброкачественные заболевания молочной железы	17	17,3	21	20,1	0,369
Заболевания сердечно – сосудистой системы	9	9,2	14	13,4	0,232
Операции на молочной железе	3	3,1	2	1,9	0,472
Аппендэктомия	5	5,1	8	7,7	0,323

Согласно данным таблицы 4, пациентки обеих групп были сопоставимы по частоте и характеру перенесенных соматических заболеваний и общих оперативных вмешательств. Превалировали заболевания дыхательной (42,9% и 49,0%) и пищеварительной (23,4% и 29,8%) систем. Частота доброкачественных заболеваний молочных желез составила 17,3% и 20,1% в 1 и 2 группах соответственно.

Характеристика менструального цикла 202 пациенток представлена в таблице 5.

Таблица 5.

Характеристика менструального цикла

Особенности менструального цикла	1 группа (n=98)	2 группа (n=104)	P
Регулярный ритм менструации, n (%)	85 (86,6%)	87 (83,6%)	0,876
Олигоменорея, n (%)	13 (13,4%)	17 (16,4%)	0,921
<i>Средний возраст менархе:</i>			
Средний возраст, (M±m)	13,1±1,6	13,2±1,8	0,452
<i>Средняя продолжительность менструального цикла:</i>			
Средняя длительность, (M±m) дни	28,6±1,4	29,1±1,3	0,369
<i>Средняя длительность кровотечения:</i>			
Средняя продолжительность кровотечения (M±m) дни	4,8±1,1	4,9±1,2	0,654

Согласно данным таблицы 2, пациентки обеих групп имели сопоставимую характеристику менструального цикла. Так, на регулярный ритм менструаций указали 85 женщин (86,6%) 1 группы и 87 пациенток (83,6%) 2 группы, на олигоменорею – 13 (13,4%) и 17 (16,4%) соответственно. Средняя продолжительность менструального цикла составила 28,6±1,4 и 29,1±1,3 дней при длительности кровотечения 4,8±1,1 и 4,9±1,2 дней соответственно.

Данные о перенесенных гинекологических заболеваниях представлены в таблице 6.

Таблица 6.

Ранее перенесенные гинекологические заболевания

Заболевание	1 группа (n=98)		2 группа (n=104)		P
	Абс. число	%	Абс. число	%	
НГЭ	29	29,6	32	30,7	0,678
Доброкачественные новообразования яичников	26	26,5	9	27,8	0,231
Миома матки	18	18,3	14	13,5	0,134
Патология шейки матки	14	14,3	19	18,3	0,246
Полип эндометрия	11	11,2	18	17,3	0,176
СПКЯ	9	9,1	7	6,7	0,321
ИППП	9	9,1	11	10,6	0,189
Гиперплазия эндометрия	2	2,0	1	0,9	0,529
Внутриматочные синехии	2	2,0	1	0,9	0,452
Внутриматочная перегородка	1	1,0	0	0	0,198

Данные таблицы 3 показывают, что пациентки обеих не различались по частоте и структуре перенесенных гинекологических заболеваний. Частота встречаемости НГЭ у женщин 1 группы составила 29,6% у пациенток 2 группы 30,7%, доброкачественных новообразований яичников 26,5% и 27,8%, миомы матки – 18,3% и 13,5%, патология шейки матки – 14,3% и 18,3%, полипа эндометрия – 11,2% и 17,3%, СПКЯ – 9,1% и 6,7% (соответственно).

Данные о частоте и характере перенесенных гинекологических операциях отражены в таблице 7.

Таблица 7.

Перенесенные оперативные вмешательства на органах малого таза

Оперативные вмешательства	1 группа (n=98)		2 группа (n=104)		P
	Абс. число	%	Абс. число	%	
Лапароскопия, гистероскопия, РДВ					
Реконструктивно-пластические операции на маточных трубах, разделение спаек	38	38,7	42	40,4	0,191
Коагуляция очагов эндометриоза, разделение спаек	29	29,6	32	30,7	0,223
Резекция яичников	26	26,5	9	27,8	0,173
Двухсторонняя тубэктомия	15	15,3	14	13,4	0,184
Односторонняя тубэктомия	12	12,5	16	15,3	0,243
Гистероскопия + РДВ					
Полип эндометрия	11	11,2	18	17,3	0,321
Гиперплазия эндометрия	2	2,0	1	0,9	0,189
Разделение внутриматочных синехий	2	2,0	1	0,9	0,144
Удаление внутриматочной перегородки	1	1,0	-	-	0,123

Представленные данные демонстрируют отсутствие межгрупповых различий по частоте и видам ранее произведенных операций на органах малого таза у обследуемых пациенток. Каждая из общего числа женщин, включенных в исследование, ранее перенесла хирургическое вмешательство на органах малого

таза, среди которых преобладали реконструктивно-пластические операции на маточных трубах с разделением спаек – 38,7% и 40,4% (в 1 и 2 группах, соответственно). Операции по поводу НГЭ выполнены у 29,6% и 30,7% женщин, резекция яичников – у 26,5% и 27,8%, двухсторонняя тубэктомия – у 15,3% и 13,4%, односторонняя тубэктомия – у 12,5% и 15,3% пациенток 1 и 2 групп соответственно.

Длительность бесплодия колебалась от 2 до 9 лет, составила в среднем $4,1 \pm 2,6$ и $4,4 \pm 3,2$ года и не различалась в группах (табл. 8).

Таблица 8.

Длительность бесплодия

Показатель	1 группа (n=98)	2 группа (n=104)	P
Средняя длительность бесплодия, лет ($M \pm m$)	$4,1 \pm 2,6$	$4,4 \pm 3,2$	0,382

Частота первичного и вторичного бесплодия представлена в таблице 9.

На отсутствие беременностей в анамнезе указали 32,6% женщин 1 группы и 40,4% пациенток 2 группы. Частота вторичного бесплодия составила 67,4% и 59,6% соответственно. Межгрупповые различия не выявлены.

Таблица 9.

Частота первичного и вторичного бесплодия

Бесплодие	1 группа (n=98)		2 группа (n=104)		P
	Абс. число	%	Абс. число	%	
Первичное	32	32,6	36	40,4	0,442
Вторичное	66	67,4	68	59,6	

Изучены исходы беременностей у 134 женщин с вторичным бесплодием. Каждая из них имела в среднем $1,9 \pm 1,1$ беременностей. Статистически значимых различий между группами выявлено не было.

Исходы предыдущих беременностей у женщин с вторичным бесплодием представлены в таблице 10.

Таблица 10.

Исходы беременностей у 134 женщин с вторичным бесплодием

Исходы беременности	1 группа (n=66)		2 группа (n=68)		P
	Абс. число	%	Абс. число	%	
Самопроизвольный выкидыш	18	27,3	14	20,6	0,420
Трубная беременность	12	18,2	16	23,5	0,526
Неразвивающаяся беременность	15	22,7	13	19,2	0,674
Медицинский аборт	9	13,6	11	16,2	0,810
Своевременные роды	10	15,2	12	17,6	0,817
Преждевременные роды	2	3,0	2	2,9	1,000

Наиболее частыми исходами предыдущих беременностей явились: самопроизвольный выкидыш (27,3% и 20,6% в 1 и 2 группах соответственно) и трубная беременность (18,2% и 23,5%). Частота неразвивающейся беременности составила 22,7% и 19,2%, медицинского аборта 13,6% и 16,2%. Своевременными родами завершились лишь 15,2% беременностей у женщин 1 группы и 17,6% – у пациенток 2 группы.

Межгрупповые различия в исходах беременности не выявлены.

3.2. Факторы бесплодия

Распределение пациенток, обследуемых групп по факторам бесплодия представлено в таблице 11.

Таблица 11.

Факторы бесплодия

Факторы бесплодия	1 группа (n=98)		2 группа (n=104)		P
	Абс. число	%	Абс. число	%	
Трубно-перитонеальный	16	16,4	20	19,3	0,713
НГЭ	11	11,2	10	9,6	0,819
Мужской	5	5,1	8	7,7	0,570
Маточный	5	5,1	2	1,9	0,268
Эндокринный	5	5,1	3	2,9	0,488
Сочетанный	56	57,1	61	58,6	0,887

Пациентки обеих групп были сопоставимы по факторам бесплодия, среди которых в каждом втором случае преобладали сочетанные нарушения репродуктивной системы (57,1% в 1 группе и 58,6% во 2 группе). Частота трубно-перитонеального фактора составила 16,4% и 19,3%, НГЭ – 11,2% и 9,6%, мужского – 5,1% и 7,7%, маточного – 5,1% и 1,9%, эндокринного – 5,1% и 2,9% в 1 и 2 группах соответственно.

Данные о количестве безуспешных попыток ЭКО/ICSI представлены в таблице 12.

Количество циклов ЭКО/ICSI в анамнезе

	1 группа (n=98)		2 группа (n=104)		P
	Абс. число	%	Абс. число	%	
Не было	42	42,8	48	46,1	0,672
1 попытка	22	22,4	28	26,9	0,516
2 попытки	7	7,1	11	10,5	0,464
3 и более попыток	2	2,0	4	3,8	0,684

Согласно данным таблицы 12, каждая вторая женщина из числа обследованных (55,4%) имела в анамнезе хотя бы одну безуспешную попытку ЭКО/ICSI. На 2 и более неэффективные попытки лечения в протоколах ВРТ указали 9,1% женщин 1 группы и 14,3% пациенток 2 группы.

3.3. Особенности гормонального статуса

Для оценки гормонального статуса изучена базальная концентрация гонадотропных и стероидных гормонов у 202 пациенток, включенных в исследование (табл. 13).

У всех пациенток базальная концентрация гонадотропных и стероидных гормонов в сыворотке крови соответствовала нормативным значениям и не различались между группами (табл. 13).

Так средний уровень АМГ составил: 2,4 (1,7 – 4,6) нг/мл и 2,3 (1,6 – 4,1) нг/мл в первой и второй группах соответственно и указывал на сохраненный овариальный резерв.

**Концентрация гормонов в сыворотке крови на момент начала
овариальной стимуляции (2-3 день цикла)**

Гормоны	Группа 1 (n=98)	Группа 2 (n=104)	P
АМГ (нг/мл)	2,4 (1,7 – 4,6)	2,3 (1,6 – 4,1)	0,452
ЛГ (МЕ/л)	7,4 (4,5 – 10,7)	7,1 (3,9 – 9,3)	0,387
ФСГ (МЕ/л)	7,1 (5,7 – 9,8)	7,4 (5,9 – 9,6)	0,231
Пролактин (мМЕ/л)	181 (125 – 338)	195 (121 – 423)	0,289
ТТГ (МЕ/л)	1,2 (0,8 – 2,4)	1,1 (0,8 – 2,5)	0,194
Е2 (пмоль/л)	181 (124 – 326)	169 (125 – 224)	0,176
Тестостерон (нмоль/л)	1,4 (0,8 – 2,3)	1,6 (0,9 – 2,3)	0,221
Кортизол (нмоль/л)	248 (259 – 493)	334 (268 – 421)	0,169
ДГЭА-С (мкмоль/л)	3,8 (2,1 – 5,2)	4,4 (2,2 – 5,8)	0,261

Концентрация ЛГ у женщин 1 группы составила в среднем 7,4 (4,5 – 10,7) МЕ/л, у пациенток 2 группы – 7,1 (3,9 – 9,3) МЕ/л; ФСГ – 7,1 (5,7 – 9,8) МЕ/л и 7,4 (5,9 – 9,6) МЕ/л.

Средний уровень пролактина соответствовал средним значениям 181 (125 – 338) мМЕ/л и 195 (121 – 423) мМЕ/л; ТТГ – 1,2 (0,8 – 2,4) МЕ/л, и 1,1 (0,8 – 2,5) МЕ/л в 1 и 2 группах соответственно. Оба показателя указывали на отсутствие патологии щитовидной железы и сохранении пролактинсекретирующей функции гипофиза [131].

Уровень Е2 в сыворотке крови у женщин 1 группы составил – 181 (124 – 326) пмоль/л, у пациенток 2 группы – 169 (125 – 224) пмоль/л, тестостерона – 1,4 (0,8 – 2,3) нмоль/л и 1,6 (0,9 – 2,3) нмоль/л, ДГЭА-С – 3,8 (2,1 – 5,2) мкмоль/л и

4,4 (2,2 – 5,8 мкмоль/л), кортизола – 248 (259 – 493) нмоль/л и 334 (268 – 421) нмоль/л соответственно.

3.4. Ультразвуковое исследование матки и придатков.

Результаты УЗИ матки и придатков на момент начала овариальной стимуляции представлены в таблице 14.

Таблица 14.

УЗИ матки и придатков на 2-3 день менструального цикла

Параметры	Группа 1 (n=98)	Группа 2 (n=104)	P
М-ЭХО (см)	0,3±0,2	0,4±0,1	0,242
Продольный размер матки (см)	5,3±0,7	4,8±0,9	0,167
Поперечный размер матки (см)	3,7±0,7	3,8±0,4	0,169
Переднезадний размер матки (см)	4,4±0,9	4,5±0,7	0,132
Объем правого яичника (см ³)	6,1±1,8	6,3±0,8	0,198
Объем левого яичника (см ³)	6,2±1,4	5,9±1,9	0,236
Количество антральных фолликулов (КАФ)	6,2±1,21	7,1±0,89	0,117

Согласно данным таблицы 10, у всех пациенток размеры матки и объем яичников соответствовали нормативным значениям женщин данной возрастной группы и значимо не различались. Овариальный резерв был сохранен у всех 202 пациенток с КАФ 6,2±1,21 и 7,1±0,89 в 1 и 2 группах.

3.5. Показания к сегментации цикла ЭКО/ICSI

Плановые показания к сегментации цикла ЭКО/ICSI отражены в таблице 15.

Таблица 15.

Показания к сегментации цикла ЭКО/ICSI

Показания	1 группа (n=98)		2 группа (n=104)		P
	Абс. число	%	Абс. число	%	
ПГТ-А	41	41,8	50	48,0	0,398
Риск СГЯ	23	23,6	29	27,5	0,521
Отсроченная реализация репродуктивной функции	22	22,4	14	13,4	0,102
Патология эндометрия	12	12,2	11	11,1	0,825

Наиболее частым показанием к сегментации цикла, в каждом втором случае, явилось желание пациентов провести ПГТ-А ввиду ранее безуспешных попыток ЭКО/ICSI. Каждая четвертая женщина имела высокий риск развития СГЯ ввиду наличия ПКЯ или мультифолликулярных яичников. Остальные пациенты сохраняли репродуктивный материал перед предстоящим хирургическим лечением по поводу эндометриоидных кист яичников или патологии матки и эндометрия (рисунок 12).

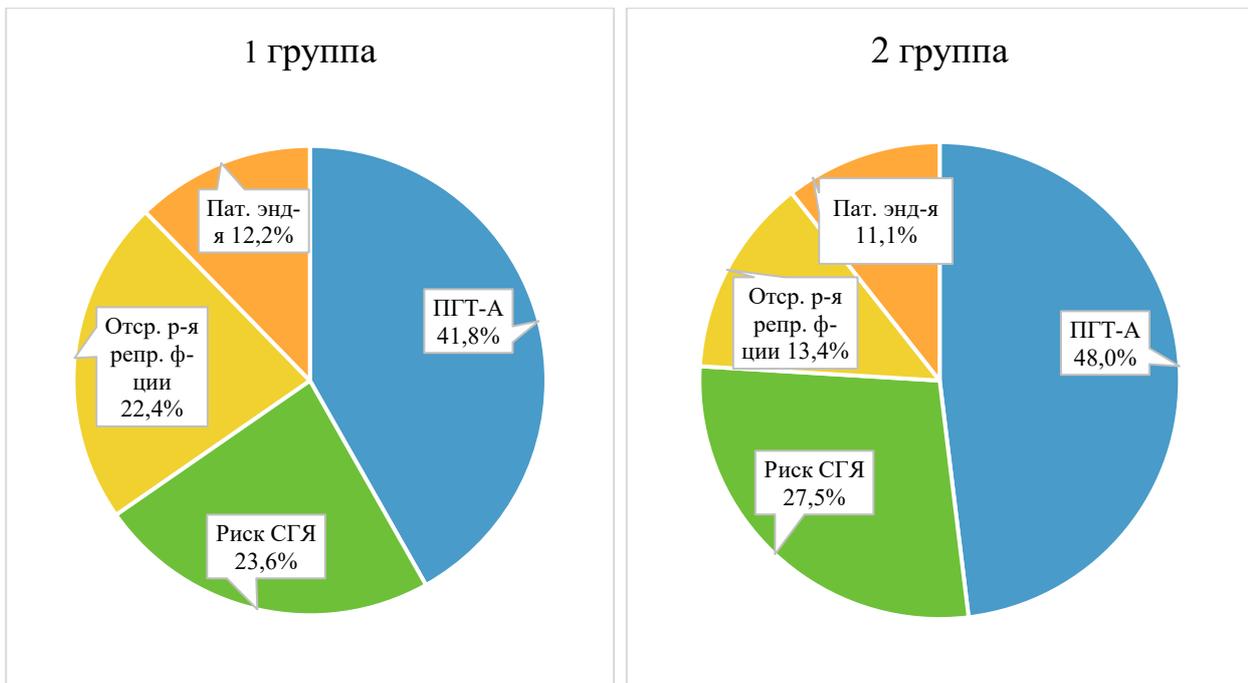


Рисунок 12. Показания к сегментации цикла ЭКО/ICSI.

Заключая результаты клиничко-лабораторного обследования 202 женщин, обратившихся для лечения, необходимо отметить, что пациентки обеих групп были сопоставимы по всем анализируемым клиничко-лабораторным показателям.

Это были пациентки среднего репродуктивного возраста ($35,7 \pm 3,29$ лет и $36,2 \pm 3,12$ лет), нормального телосложения (ИМТ – $24,3 \pm 2,2$ и $23,6 \pm 1,9$) и длительностью бесплодия от 2 до 9 лет ($4,1 \pm 2,6$ лет и $4,4 \pm 3,2$ лет) в 1 и 2 группах.

Соматический статус пациенток не отличался от общепопуляционных данных: преобладали заболевания дыхательной (42,9% и 49,0%) и пищеварительной систем (23,4% и 29,8%). Частота доброкачественных заболеваний молочных желез составила 17,3% и 20,1%, при этом операции на молочных железах ранее были произведены у 3,1% женщин 1 группы и у 1,9% пациенток 2 группы. На неосложненную аппендэктомию в анамнезе указали 5,1% и 7,7% женщин соответственно.

Анамнестические данные о ранее диагностированных гинекологических заболеваниях указывали в каждом третьем случае на наличие НГЭ (29,6% и

30,7%), в каждом четвертом случае – на доброкачественные новообразования яичников (26,5% и 27,8%), в каждом пятом-шестом случае – на лечение по поводу миомы матки (18,3% и 13,5%), патологии шейки матки (14,3% и 18,3%), полипа эндометрия (11,2% и 17,3%). СПКЯ имели 9,1% и 6,7% женщин 1 и 2 групп.

Несмотря на отсутствие анамнестических данных о перенесенных воспалительных заболеваниях органов малого таза и невысокой частоте ИППП (9,1% в первой и 10,6% во второй группе) в структуре гинекологических операций преобладали реконструктивно-пластические операции на маточных трубах и сальпингоовариолизис (38,7% и 40,4%). Вероятно, вклад в наличие спаечного процесса в малом тазу вносил и НГЭ, явившийся вторым, по частоте показанием к хирургическому вмешательству (29,6% и 30,7%). Резекция яичников по поводу доброкачественных новообразований, в числе которых были эндометриоидные кисты яичников была выполнена в 26,5% и 27,8% случаев. Ввиду выраженных анатомических изменений маточных труб и трубной беременности в анамнезе двухсторонняя/односторонняя тубэктомия произведены 27,8% женщин 1 группы и 28,7% пациенток 2 группы.

Гистероскопия + РДВ при подозрении на наличие внутриматочной патологии ранее была произведена у каждой пятой – шестой женщины (16,2% и 19,1%) из числа обследованных.

подавляющее большинство пациенток (86,6% в 1 группе и 83,6% во второй) имело регулярный менструальный цикл со средней длительностью $28,6 \pm 1,4$ дней и $29,1 \pm 1,3$ дней. Частота олигоменореи составила 13,4% и 16,4 %.

Для лечения вторичного бесплодия обратилось более половины пациенток (67,4% и 59,6%) в 1 и 2 группах соответственно. На осложненное течение беременности, завершившееся ранними репродуктивными потерями, указали 81,8% женщин в 1 группе и 79,5% во второй.

В структуре причин бесплодия в каждом втором случае превалировали сочетанные нарушения репродуктивной системы (57,1% в 1 группе и 58,6% во 2

группе). Частота трубно-перитонеального фактора составила 16,4% и 19,3%, НГЭ – 11,2% и 9,6%, мужского – 5,1% и 7,7%, маточного – 5,1% и 1,9%, эндокринного – 5,1% и 2,9% в 1 и 2 группах соответственно.

Гормональный статус всех обследованных женщин указывал на сохраненный овариальный резерв и не отличался от аналогичных показателей женщин фертильной популяции.

Результаты УЗИ матки и придатков соответствовали нормативным значениям.

Сохраненный овариальный резерв подтвержден уровнем АМГ – 2,4 (1,7 – 4,6) нг/мл и 2,3 (1,6 – 4,1) нг/мл и КАФ $6,2 \pm 1,21$ и $7,1 \pm 0,89$ по данным УЗИ в 1 и 2 группах соответственно.

Таким образом, на момент начала овариальной стимуляции пациентки обеих групп имели сопоставимые клинико-лабораторные показатели и равные возможности получения репродуктивного материала для достижения беременности в протоколах ВРТ.

3.6. Характеристика протоколов овариальной стимуляции циклов

ЭКО/ICSI

Протоколы овариальной стимуляции, используемые в ВРТ, направлены на получение достаточного количества ооцитов, чтобы оптимизировать шансы на успех лечения. Однако по мере роста фолликулов и повышения их чувствительности к ЛГ, возникает риск преждевременного пика ЛГ и преждевременной овуляции до момента забора ооцитов. С целью предотвращения этого риска, в протоколы включают аналоги Гн-РГ. Однако, использование этих препаратов сопряжено со значительными затратами для пациентов и дискомфортом, связанным с инъекционным путем введения. Поэтому на современном этапе развития ВРТ, когда витрификация эмбрионов стала повседневной клинической практикой и дает хорошие результаты, можно

рассматривать новые варианты контроля пика ЛГ и блока преждевременной овуляции с использованием препаратов прогестерона. Ввиду раннего негативного влияния прогестерона на эндометрий, ПЭ осуществляют в следующем криоцикле. В настоящее время, это не является ограничивающим фактором, поскольку эволюция методов криоконсервации привела к сопоставимым результатам при переносе как размороженных, так и «свежих» эмбрионов [132]. Стратегия криоконсервации всех эмбрионов позволяет перенести их в более физиологичную среду матки [7].

Для решения второй задачи мы провели овариальную стимуляцию у всех 202 пациенток. Из них: у 98 женщин (1 группа) с использованием препарата прогестерона – дидрогестерона; у 104 женщин (2 группа) в стандартном протоколе с антагГн-РГ. Для выбора оптимального режима назначения дидрогестерона 1 группу женщин мы разделили на 2 подгруппы. В 1А подгруппе (n=57) дидрогестерон назначали в дозе 20 мг/сутки со 2 дня менструального цикла, в 1Б подгруппе (n=41) – при диаметре растущих фолликулов 13-14 мм, что соответствовало 6-7 дню овариальной стимуляции. Мы оценили и сравнили разовые и курсовые дозы гонадотропинов, длительность стимуляции яичников, количество фолликулов Д – 17 мм и более в день введения триггера овуляции, а также гормональные параметры стимулированных циклов.

Характеристика протоколов овариальной стимуляции представлена в таблице 16. Результаты, представленные в таблице 16 показывают, что независимо от препарата, назначаемого для профилактики преждевременного пика ЛГ пациентки 1А и 1Б подгрупп, а также 2 группы не имели различий в разовой 194 (150 – 225) МЕ, 193 (150 – 225) и 189 (150 – 225) МЕ, курсовой дозах 2112 (1450 – 2720) МЕ, 2110 (1451 – 2690) и 1986 (1368 – 2630) МЕ гонадотропина, а также в продолжительности овариальной стимуляции 10 (8 – 12) дней, 10 (9 – 12) дней и 9 (8 – 11) дней, и количестве фолликулов Д-17 мм и более в день введения триггера овуляции.

Таблица 16.

Характеристика протоколов овариальной стимуляции

	1 Группа (n = 98)		2 группа (n=104)	p
	1А подгруппа (n=57)	1Б подгруппа (n=41)		
Суточная доза ГТ (МЕ)	194 (150 – 225)	193 (150 – 225)	189 (150 – 225)	0,212
Длительность стимуляции (дни)	10 (8 – 12)	10 (9 – 12)	9 (8 – 11)	0,389
Суммарная доза гонадотропинов (МЕ)	2112 (1450 – 2720)	2110 (1451 – 2690)	1986 (1368 – 2630)	0,118
Количество фолликулов Д- 17 мм и более	7,2±3,3	7,4±2,9	8,1±2,1	0,172

Гормональные параметры овариальной стимуляции циклов ЭКО/ICSI представлены в таблице 17.

Таблица 17.

Гормональные параметры циклов овариальной стимуляции

Показатели	1 группа (n = 98)		2 группа (n=104)	P
	1А подгруппа (n=57)	1Б подгруппа (n=41)		
ФСГ, МЕ/л (день начала ОС)	6,7 (5,8 – 9,8)	6,9 (5,7 – 9,7)	7,8 (5,9 – 9,6)	0,118
ЛГ МЕ/л	7,5	7,4	7,1	0,702

(день начала ОС)	(4,5 – 8,7)	(4,6 – 9,8)	(3,9 – 9,3)	
ЛГ МЕ/л (6 день ОС)	6,7 (4,0 – 7,9)	6,9 (4,2 – 8,9)	6,2 (3,8 – 8,6)	0,648
ЛГ МЕ/л (день введения триггера овуляции)	3,9 (2,9 – 6,3) *P=0,039	7,8 (5,9 – 14,9)^ *P=0,048	7,9 (3,1 – 14,8)^	0,041
Эстрадиол, пмоль/л (день начала ОС)	183 (124 – 326)	191 (132 – 328)	168 (125 – 224)	0,212
Эстрадиол, пмоль/л (6 день ОС)	2154 (1489 – 3276)	2353 (1523 – 2346)	2562 (1515 – 3661)	0,204
Эстрадиол, пмоль/л (день введения триггера овуляции)	4935 (3167 – 7694) *P=0,031	4898 (2987 – 7342) *P=0,023	4135 (2871 – 6968) *P=0,045	0,217
Прогестерон, нмоль/л (день начала ОС)	1,2 (0,7-2,2)	1,1 (0,8 – 2,1)	1,1 (0,8 – 1,8)	0,101
Прогестерон, нмоль/л (6 день ОС)	1,3 (0,6-1,6)	1,4 (1,0 – 2,6)	1,4 (1,0 – 2,3)	0,134
Прогестерон, нмоль/л (день введения триггера овуляции)	2,6 (2,0-3,4) *P= 0,023	2,9 (2,1 – 3,9)^ *P=0,034	2,4 (1,0 – 3,1)^#	0,042

P *<0,05 в день введения триггера овуляции, по сравнению с днем начала ОС;

^ – P<0,05, по сравнению с подгруппой 1А;

– P<0,05, по сравнению с подгруппой 1Б.

ОС – овариальная стимуляция

Данные таблицы 17 демонстрируют отсутствие межгрупповых различий в базальных уровнях гонадотропных и стероидных гормонов в сыворотке крови в день начала лечения: ФСГ – 6,7 (5,8 – 9,8) МЕ/л в 1А подгруппе, 6,9 (5,7 – 9,7) в 1 Б подгруппе и 7,8 (5,9 – 9,6) МЕ/л во 2 группе, ЛГ – 7,5 (4,5 – 8,7) МЕ/л, 7,4 (4,6 – 9,8) МЕ/л и 7,1 (3,9 – 9,3) МЕ/л, Е2 – 183 (124 – 326) пмоль/л, 191 (132 – 328) пмоль/л и 168 (125 – 224) пмоль/л, прогестерон – 1,2 (0,7 – 2,2) нмоль/л, 1,1 (0,8 – 2,1) нмоль/л и 1,1 (0,8 – 1,8) нмоль/л соответственно.

На протяжении овариальной стимуляции динамика концентрации ЛГ у пациенток 1А и 1Б подгрупп различалась. Так в 1А подгруппе концентрация ЛГ в день завершения гонадотропной стимуляции статистически значимо снижалась с 7,5 (4,5 – 8,7) до 3,9 (2,9 – 6,3) МЕ/л ($P=0,039$). Уровень ЛГ >12 МЕ/л, указывающий на преждевременный пик гормона, не был отмечен ни в одном случае.

У пациенток 1Б подгруппы средний уровень ЛГ значимо возрастал к дню завершения стимуляции яичников с 7,4 (4,6 – 9,8) МЕ/л до 7,8 (5,9 – 14,9) МЕ/л ($p=0,048$) и у 5-х из 41 женщины (12,2%) составил 14,1 (12,9 – 15,0) МЕ/л. Таким образом, частота преждевременного пика ЛГ при назначении дидрогестерона с 6-7 дня овариальной стимуляции составила 12,2%, а у 3-х из 5 женщин произошла преждевременная овуляция, частота которой в расчете на всех женщин 1Б подгруппы составила 7,3%.

Концентрация ЛГ у женщин 2 группы, на фоне антагГн-РГ значимо не менялась: 7,1 (3,9 – 9,3) МЕ/л на момент начала лечения и 7,9 (3,1 – 14,8) МЕ/л на день введения триггера овуляции. Преждевременный пик ЛГ выявлен у 5 (4,8%) из 104 женщин, среднее значение уровня ЛГ у этих пациенток составило 13,9 (12,1 – 14,8) МЕ/л. Преждевременная овуляция не выявлена. (рисунок 13).

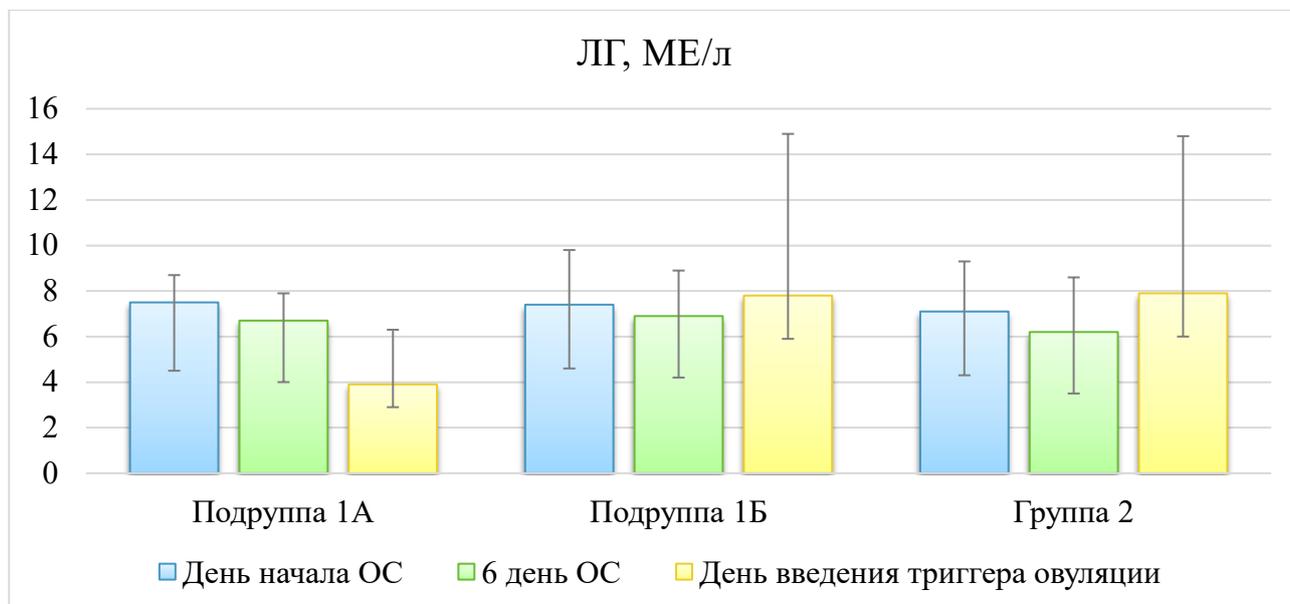


Рисунок 13. Динамика концентрации ЛГ в течение овариальной стимуляции (медиана, интерквартильный размах).

Уровень E_2 имел одинаковую динамику: значительно возрос во всех группах к дню введения триггера и составил в среднем 4935 (3167 – 7694) пмоль/л у пациенток 1А подгруппы, 4898 (2987 – 7342) пмоль/л у женщин 1Б подгруппы и 4135 (2871 – 6968) пмоль/л у женщин 2 группы соответственно. (рисунок 14).

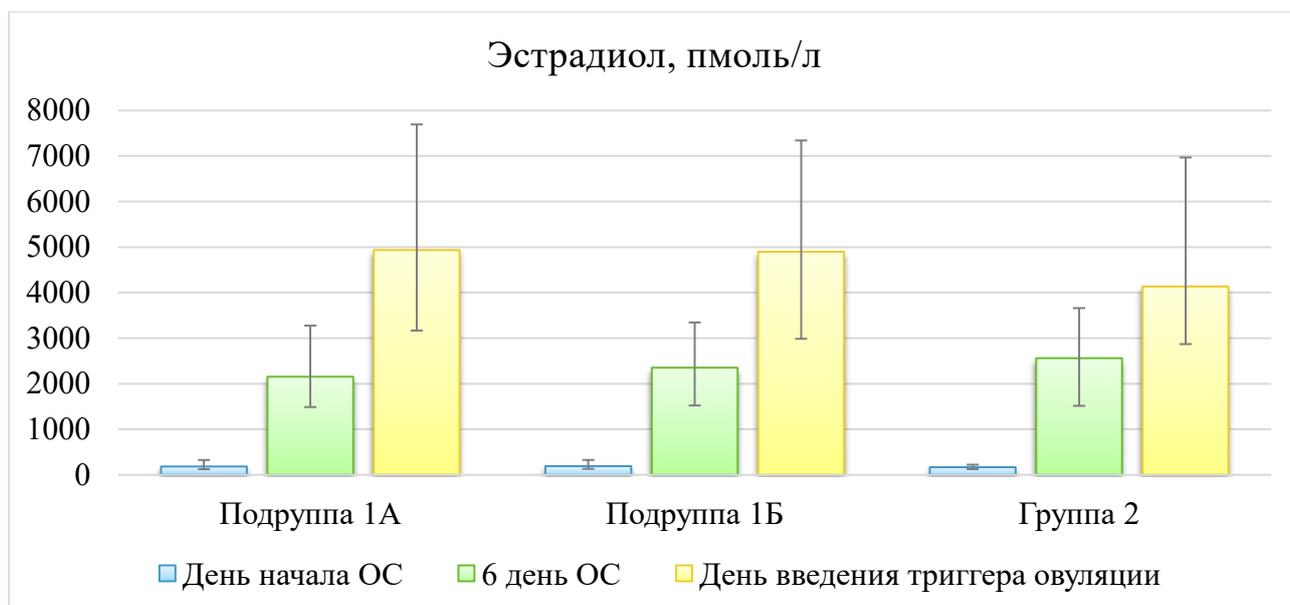


Рисунок 14. Динамика концентрации эстрадиола в течение овариальной стимуляции (медиана, интерквартильный размах).

Концентрация прогестерона в день завершения овариальной стимуляции у пациенток 1А и 1Б подгрупп достоверно увеличивалась по сравнению с исходным показателем с 1,2 (0,7 – 2,2) нмоль/л до 2,6 (2,0 – 3,4) нмоль/л ($P=0,023$) и с 1,1 (0,8 – 2,1) нмоль/л до 2,9 (2,1 – 3,9) нмоль/л ($P=0,034$). При этом, средний уровень прогестерона у пациенток 1Б подгруппы, принимавших дидрогестерон с 6-7 дня овариальной стимуляции, был значимо выше аналогичного показателя женщин 1А подгруппы, что вероятно было связано с преждевременным пиком ЛГ, зарегистрированным в 12,2% случаев. Тенденция к увеличению уровня прогестерона с 1,1 (0,8 – 1,8) нмоль/л до 2,4 (1,0 – 3,1) нмоль/л на протяжении овариальной стимуляции, сопровождающая преждевременным пиком ЛГ в 4,8% случаев, отмечена и у пациенток 2 группы. (рисунок 15).

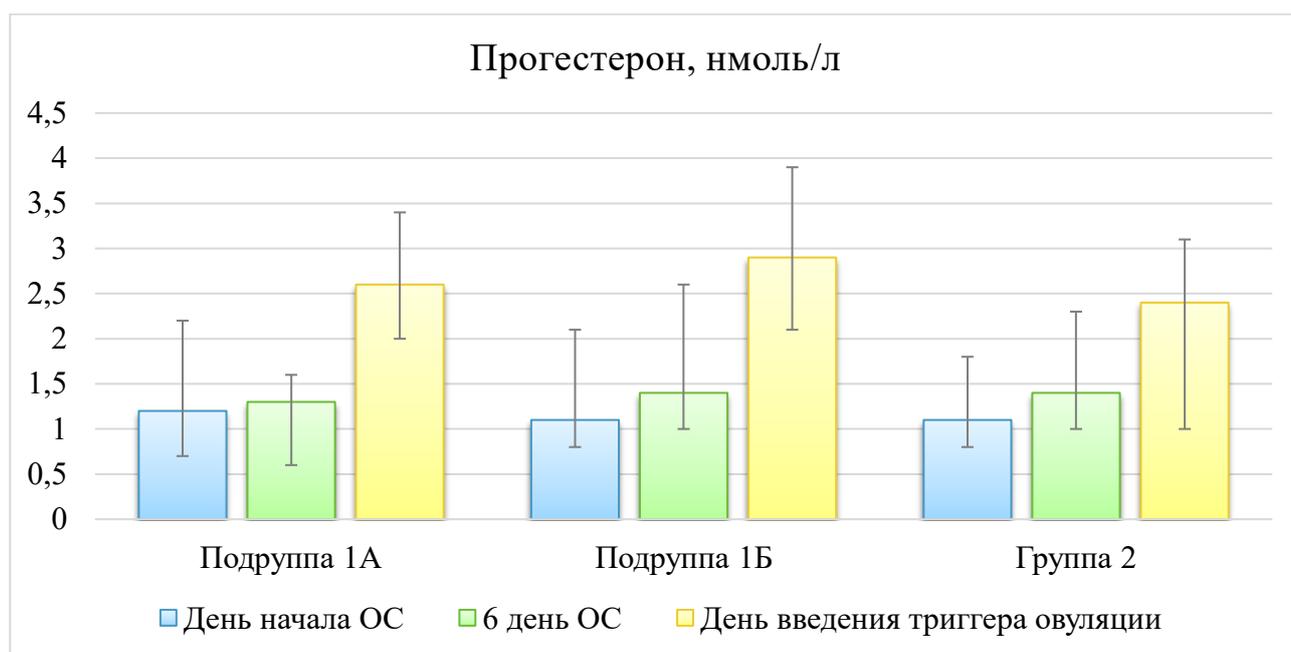


Рисунок 15. Динамика концентрации прогестерона в течение овариальной стимуляции (медиана, интерквартильный размах).

Заключая этот раздел исследования, можно отметить, что пациентки обеих групп имели сопоставимые показатели циклов овариальной стимуляции (разовые и курсовые дозы гонадотропинов, продолжительность овариальной

стимуляции, количество фолликулов Д-17 мм и более в день введения триггера овуляции).

Лучшие гормональные показатели в протоколах овариальной стимуляции отмечены у пациенток 1А подгруппы, принимавших дидрогестерон со 2 дня цикла. На фоне значимого повышения уровня прогестерона к дню введения триггера овуляции концентрация ЛГ снижалась ($P=0,039$), что демонстрировало отсутствие преждевременного пика ЛГ у всех женщин 1А подгруппы. В протоколе с антаГн-РГ уровни прогестерона и ЛГ увеличивались, но претерпевали значимых изменений к дню введения триггера овуляции, при этом преждевременный пик ЛГ зарегистрирован у 4,8% женщин 2 группы. У пациенток 1Б подгруппы (применявших дидрогестерон с 6-7 дня овариальной стимуляции) несмотря на высокий уровень прогестерона концентрация ЛГ не снижалась, а значимо возрастала, и к дню завершения гонадотропной стимуляции преждевременный пик ЛГ был зарегистрирован у 12,2% женщин, преждевременная овуляция у 7,3% пациенток.

Уровень Е2 имел одинаковую динамику в обеих группах исследования: достоверно увеличивался к дню введения триггера овуляции.

Для решения 3 задачи мы проанализировали показатели оогенеза и раннего эмбриогенеза в циклах ЭКО/ICSI у 202 пациенток, включенных в настоящее исследование. Данные представлены в таблице 18.

Согласно данным таблицы 18, не выявлено значимых межгрупповых различий у пациенток 1А подгруппы (принимавших дидрогестерон с 2 дня цикла) и 2 группы (на фоне антаГн-РГ) в числе полученных ОКК ($8,9\pm 3,1$, и $7,9\pm 4,7$), зрелых ооцитов МП ($7,6\pm 1,5$ и $6,9\pm 1,6$), оплодотворенных ооцитов ($4,9\pm 1,2$ и $4,7\pm 2,1$), бластоцист ($3,2\pm 0,3$ и $2,9\pm 0,6$) и числу криоконсервированных эмбрионов ($2,4\pm 0,6$ и $2,5\pm 0,4$), хотя тенденция к лучшим показателям у женщин 1А подгруппы прослеживалась.

Показатели оогенеза и раннего эмбриогенеза

Показатель на пациентку	1 группа (n = 98)		2 группа (n=104)	P
	1А подгруппа (n=57)	1Б подгруппа (n=41)		
Кол-во полученных ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК) (ЭКО и ICSI)	8,9±3,1	7,4±2,2[^]	7,9±4,7	0,037
Кол-во ооцитов МП в циклах ICSI	7,6±1,5	7,1±0,9 [^]	6,9±1,6	0,009
Доля зрелых ооцитов в циклах ICSI	78,3%	77,9%	77,2%	0,138
Кол-во оплодотворенных ооцитов в циклах ICSI на пациентку	5,3±0,5	4,9±0,7[^]	4,8±1,9	0,047
Частота оплодотворения в циклах ICSI	73,9%	72,8%	75,1%	0,183
Кол-во оплодотворенных ооцитов в циклах ЭКО	4,9±1,2	4,1±0,9[^]	4,7±2,1	0,039
Частота оплодотворения в циклах ЭКО	55,1%	54,3%	59,5%	0,378
Кол-во бластоцист (ЭКО и ICSI)	3,2±0,3	2,7±0,3[^]	2,9±0,6	0,047
Частота бластуляции (ЭКО и ICSI)	66,1%	61,7%	64,8%	0,198

Кол-во криоконсервированных бластоцист (ЭКО и ICSI)	2,4±0,6	2,1±0,4[^]	2,5±0,4	0,042
Доля криоконсервированных бластоцист (ЭКО и ICSI)	48,4%	47,3%	49,1%	0,121

[^] – P<0,05, по сравнению с подгруппой 1А.

Эмбриологические показатели пациенток 1Б подгруппы (принимавших дигестерон с 7 дня овариальной стимуляции), по сравнению с аналогичными показателями женщин 1А подгруппы, характеризовались меньшим числом полученных ОКК 7,4±2,2 против 8,9±3,1 и количеством ооцитов МП в циклах ICSI 7,1±0,9 против 7,6±1,5, уменьшением количества оплодотворенных ооцитов как в программах ЭКО – 4,1±0,9 против 4,9±1,2 так и ICSI 4,9±0,7 против 5,3±0,5, меньшим числом бластоцист 2,7±0,3 против 3,2±0,3 и криоконсервированных бластоцист 2,1±0,4 против 2,4±0,6.

Доля зрелых ооцитов, частота оплодотворения (отношение эмбрионов, находящихся на стадии двух пронуклеусов на следующие сутки после инсеминации ооцитов, к количеству зрелых ооцитов), а также частота бластуляции в группах превышало 60%. Высокий уровень формирования бластоцисты, соответствующий данным литературы, свидетельствует о хорошем качестве эмбрионов [133]. Стадия бластоцисты является наиболее благоприятной для проведения переноса эмбриона, т.к. имеет место включение собственного генома эмбриона, в связи с этим отмечается большая жизнеспособность эмбрионов, лучшая синхронизация с развитием эндометрия [134, 135].

Характеристика качества эмбрионов представлена в таблице 19.

Характеристика качества эмбрионов

Класс качества эмбрионов	1 группа (n=98)		2 группа (n=104)	P
	1А подгруппа (n=57)	1Б подгруппа (n=41)		
1(А) класс	118 (64,5%)	70 (63,1%)	199 (65,9%)	0,197
2 (В) класс	37 (20,2%)	26 (23,4%)	61 (20,2%)	0,144
3 (С) класс	28 (15,3%)	15 (13,5%)	42 (13,9%)	0,232
Кол-во эмбрионов «хорошего качества»	2,4±0,6	2,1±0,4	2,5±0,4	0,167

Известно, что наибольшей способностью к имплантации обладают blastocysts с наиболее хорошо развитой трофэктодермой без признаков вакуолизации с интенсивностью экспандирования, соответствующей дню культивирования [136]. При проведении исследования мы использовали для характеристики blastocysts общепринятые понятия «хорошего» качества, которые включает в себя не только характеристику трофэктодермы, внутренней клеточной массы, но и степень экспансии, отсутствие вакуолизации и другие параметры. К группе blastocysts «хорошего» качества относились эмбрионы А и В класса. Представленные в таблице 19 данные, не демонстрируют межгрупповых различий в числе пациенток, имевших эмбрионы классов А (64,5%, 63,1%, 65,9%) в подгруппах 1А, 1Б, и 2 группе, и В классов (20,2%, 23,4%, 20,2%), а также в количестве эмбрионов «хорошего» качества 2,4±0,6, 2,1±0,4, 2,5±0,4 соответственно, которые были криоконсервированны для последующего криопереноса. (рисунок 16).

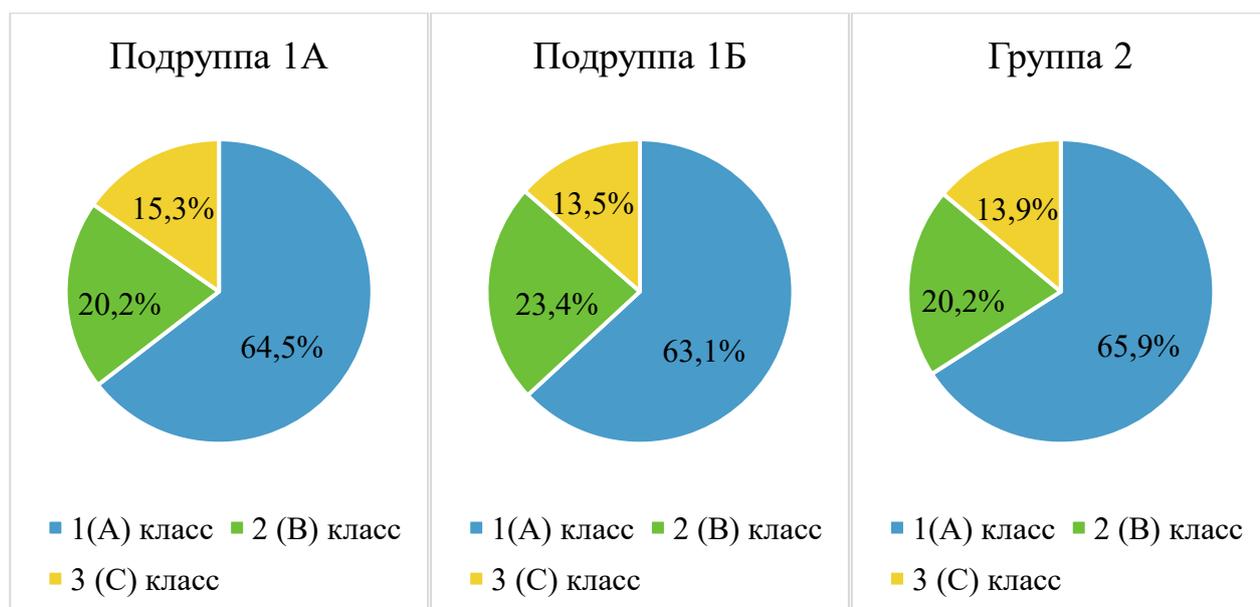


Рисунок 16. Качество полученных эмбрионов.

На ПГТ-А были направлены 55 бластоцист 23 пациенток 1А группы, 38 бластоцист 18 женщин 1Б группы и 125 бластоцист 50 женщин 2 группы. Результаты представлены в таблице 20.

Таблица 20.

Результаты ПГТ-А (N= 91)

	1 группа (n = 41)		2 группа (n=50)	P
	1А подгруппа (n=23)	1Б подгруппа (n=18)		
Общее количество бластоцист (n)	55	38	125	0,111
Эуплоидные бластоцисты (n)	22	15	52	0,143
Частота эуплоидных бластоцист (%)	39,7	40,0	41,6	0,271
Кол-во эуплоидных бластоцист на пациента	1,2±0,3	0,8±0,2	1,1±0,4	0,351
Частота эуплоидных эмбрионов на пациента (%)	48,8	41,1	48,0	0,274

Согласно данным таблицы 20, значимых межгрупповых различий выявлено не было. Общее количество эуплоидных бластоцист в группах составило 22, 15 и 52. Частота эуплоидных бластоцист в группах также не различалась и составила 39,7%, 40,0% и 41,6%. В среднем каждая пациентка имела $1,2 \pm 0,3$ и $0,8 \pm 0,2$ и $1,1 \pm 0,4$ эуплоидных бластоцист. Таким образом, уровень эуплоидии в расчете на пациента составил – 48,8%, 41,1% и 48,0% в 1А, 1Б и 2 группах соответственно.

Полученные данные показывают равные результаты ПГТ-А при всех изучаемых стратегиях овариальной стимуляции циклов ЭКО/ICSI настоящего исследования.

Подводя итог этого раздела, можно заключить, что протокол овариальной стимуляции с назначением дидрогестерона в ранней фолликулярной фазе менструального цикла не ухудшает параметры раннего оогенеза и эмбриогенеза, что подтверждается отсутствием межгрупповых различий по количеству полученных ОКК, доли зрелых и оплодотворенных ооцитов, частоте оплодотворения, количеству бластоцист «хорошего» качества и криоконсервированных эмбрионов, а также равным уровнем эуплоидии по сравнению с антагГн-РГ.

При назначении дидрогестерона с 7 дня овариальной стимуляции отмечено уменьшение числа полученных ОКК, количества зрелых и оплодотворенных ооцитов, количества криоконсервированных бластоцист.

Частота эуплоидии при всех изучаемых стратегиях подавления преждевременного пика ЛГ не различалась.

3.7. Характеристика исходов программ ЭКО/ICSI.

Перенос эмбрионов пациенткам настоящего исследования произведен в криоцикле 178 из 202 пациенток, включенных в исследование. Подготовку эндометрия к переносу размороженного эмбриона проводили, используя последовательное назначение эстрадиола валерата и микронизированного

прогестерона. Перенос размороженного эмбриона осуществляли на 6 сутки назначения микронизированного прогестерона. Величина М-ЭХО в день ПЭ не различалась между группами (табл. 21).

Таблица 21.

Толщина эндометрия в день ПЭ по данным УЗИ

Параметр	1 группа (n = 87)		2 группа (n=91)	P
	1А подгруппа (n=57)	1Б подгруппа (n=30)		
М-ЭХО (мм)	9,6±1,6	9,4±1,4	9,9±1,2	0,186

Исходы циклов переноса размороженных эмбрионов представлены в таблице 22.

Перенос эмбрионов «хорошего» качества (классов А и В) в полость матки произведен 57 пациенткам 1А подгруппы, 30 женщинам 1Б подгруппы и 91 пациенткам 2 группы.

Данные, представленные в таблице 22 не демонстрируют значимые межгрупповые различия, оцениваемых показателей эффективности лечения. Частота клинической беременности в группах составила – 36,8%, 33,3%, 38,4%; прогрессирующей беременности – 33,3 %, 26,7%, 34,0%. Ранние репродуктивные потери отмечены у 9,5%, 6,7% и 11,4% женщин обследуемых групп.

Исходы криоциклов

Показатель	1 группа (n = 87)		2 группа (n=91)	P
	1А подгруппа (n=57)	1Б подгруппа (n=30)		
Количество перенесенных эмбрионов в полость матки в «криоцикле»	1 (1 – 2)	1 (1 – 2)	1 (1 – 2)	0,189
Частота клинической беременности на ПЭ	21 (36,8%)	10 (33,3%)	35 (38,4%)	0,142
Частота ранних репродуктивных потерь до 12 недель беременности	2 (9,5%)	2 (6,7%)	4 (11,4%)	0,123
Частота прогрессирующей беременности	19 (33,3%)	8 (26,7%)	31 (34,0%)	0,072

Результаты проведенного исследования демонстрируют, что на момент вступления в программу ЭКО/ПЭ пациентки обследуемых групп не имели статистически значимых различий по оцениваемым клинико-анамнестическим данным и результатам лабораторного обследования.

Все пациентки были среднего репродуктивного возраста около 36 лет, с нормальным ИМТ, длительностью бесплодия от 2 до 9 лет.

Регулярный менструальный цикл имели 84% женщин; частота олигоменореи не превышала 16%.

В структуре гинекологических заболеваний в каждом третьем случае превалировал НГЭ, в каждом четвертом случае – доброкачественные

новообразования яичников, а также патологические изменения полости матки и эндометрия, что и явилось показанием к последующему хирургическому лечению.

Для лечения вторичного бесплодия обратилось более половины пациенток. На осложненное течение беременности, завершившейся ранними репродуктивными потерями, указали около 70% женщин обеих групп.

В структуре причин бесплодия в каждом втором случае выявлены сочетанные нарушения репродуктивной системы. В структуре изолированных факторов преобладал трубно-перитонеальный.

Гормональные показатели обследуемых женщин, не отличались от аналогичных показателей в фертильной популяции.

Результаты УЗИ матки и придатков соответствовали нормативным значениям. Сохраненный овариальный резерв подтвержден уровнем АМГ в сыворотке крови и КАФ по данным УЗИ.

Таким образом, на момент начала овариальной стимуляции пациентки обеих групп имели сопоставимые клинико-лабораторные показатели и равные возможности получения репродуктивного материала для достижения беременности в протоколах ВРТ.

Независимо от используемого препарата, предотвращающего преждевременный пик ЛГ и режима его назначения, пациентки обследуемых групп имели сопоставимые показатели циклов овариальной стимуляции (разовые и курсовые дозы гонадотропинов, продолжительность овариальной стимуляции, количество фолликулов Д-17 мм и более в день введения триггера овуляции).

Лучшие гормональные характеристики циклов овариальной стимуляции отмечены у пациенток 1А подгруппы, принимавших дидрогестерон со 2 дня цикла. Преждевременный пик ЛГ не был зарегистрирован ни в одном случае.

У женщин подгруппы 1Б (принимавших дидрогестерон с 6-7 дня овариальной стимуляции) преждевременный пик ЛГ был выявлен в 12,2% случаев, ранняя овуляция в 7,3% случаев.

В протоколе с антагГн-РГ частота преждевременного пика ЛГ составила 4,8%. Несвоевременная овуляция не выявлена.

При изучении показателей оогенеза и раннего эмбриогенеза мы не выявили значимых межгрупповых различий в числе полученных ОКК, зрелых ооцитов МII, оплодотворенных ооцитов, количеству зигот, бластоцист и числу криоконсервированных эмбрионов у пациенток 1А подгруппы и 2 группы, хотя тенденция к лучшим показателям у женщин 1А подгруппы прослеживалась.

Эмбриологические показатели женщин 1Б подгруппы характеризовались меньшим количеством полученных ООК, зрелых и оплодотворенных ооцитов, бластоцист и криоконсервированных эмбрионов. Частота эуплоидии в обследованных группах не различалась.

Результаты этого раздела работы демонстрируют отсутствие негативного влияния дидрогестерона назначаемого в ранней фолликулярной фазе цикла на параметры эмбриологического этапа программы ЭКО/ICSI, что и подтверждается результатами исходов криоциклов, согласно которым частота наступления клинической беременности в группах составила – 36,8%, 33,3%, 38,4%; прогрессирующей беременности – 33,3%, 26,7%, 34,0%.

Результаты проведенного исследования, обосновывают перспективность использования дидрогестерона в ранней фолликулярной фазе цикла для профилактики преждевременного пика ЛГ в протоколах овариальной стимуляции программ ЭКО/ICSI у пациенток с планируемой сегментацией цикла по различным показаниям, в числе которых риск развития СГЯ, ПГТ-А, патология эндометрия, криоконсервация ооцитов и эмбрионов для отсроченной реализации репродуктивной функции, циклы донорства ооцитов.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Антагонисты Гн-РГ используются для подавления активности гипофиза и предотвращения преждевременного пика ЛГ во время овариальной стимуляции с 1990-х годов [137]. Антагонисты быстро подавляют секрецию гонадотропинов гипофизом без фазы активации и могут быть назначены в среднюю и позднюю фолликулярную фазы менструального цикла [49].

Совершенствование методов витрификации в последние годы позволило рассмотреть новые модификации протоколов овариальной стимуляции, в числе которых использование прогестинов в качестве альтернативы аналогам Гн-РГ [9]. Способность прогестинов ингибировать преовуляторный пик ЛГ путем снижения пульсации Гн-РГ гипоталамуса при его назначении в раннюю фолликулярную фазу менструального цикла, послужило обоснованием к применению этой группы препаратов для контроля овуляции в гормональной контрацепции на протяжении уже более 50 лет [138].

После публикации исследований по овариальной стимуляции в лютеиновую фазу цикла, демонстрирующих последовательное подавление ЛГ без спонтанных пиков, была показана возможность использования препаратов прогестерона при стимуляции яичников [139, 140]. С 2014 года прогестины начали использоваться в циклах овариальной стимуляции для предотвращения преждевременного пика ЛГ [139, 140]. Некоторые ограничения протоколов с прогестинами сопряжены с необходимостью криоконсервации всех полученных эмбрионов (стратегия freeze-all) ввиду негативного влияния прогестерона на восприимчивость эндометрия [141].

Однако, современные методы криоконсервации эмбрионов, обеспечивающие высокую результативность криоциклов, позволили отказаться от традиционного подхода с обязательным переносом «свежих» эмбрионов без потери эффективности лечения. Возможно, отказ от переноса эмбрионов можно

отнести к недостаткам этого протокола. Данный подход позволяет избежать не только риска развития СГЯ, но и негативного влияния высоких концентраций половых стероидов в стимулированном цикле на изменение экспрессии в эндометрии более чем 200 генов, приводящих к снижению частоты наступления беременности по сравнению с криоциклами и акушерским осложнениям [72]. Кроме того, эта стратегия может использоваться в протоколах, не планирующих перенос «свежих» эмбрионов, а именно: в донорских циклах, программах ПГТ, при сохранении репродуктивного материала по медицинским и социальным показаниям [142].

В настоящее время накоплен положительный опыт использования, так называемых «прогестиновых» протоколов овариальной стимуляции (PPCOS), демонстрирующих сопоставимые показатели эффективности лечения, по сравнению с аналогичными в стандартных протоколах с антаГн-РГ, однако дискуссия о выборе оптимального прогестагена и режиме его назначения продолжается [14, 143].

С одной стороны, препарат прогестерона должен надежно блокировать преждевременный пик ЛГ, но в тоже время не подавлять сильно гипофиз, что неизбежно потребует увеличения дозы гонадотропинов и продолжительности дней стимуляции. В этой связи исследования, оценивающие влияние различных прогестинов на параметры циклов овариальной стимуляции и эффективность лечения, представляются актуальными.

Дидрогестерон имеет молекулярную структуру, аналогичную прогестерону, широко используется в гинекологической практике для лечения ряда заболеваний, угрозы прерывания беременности, а также в протоколах ВРТ. В отличие от медроксипрогестерон ацетата (МПА), дидрогестерон легче переносится ввиду отсутствия побочных эффектов, сопряженных с метаболическим профилем препарата. Эффекты любого прогестина на клеточном уровне опосредуются внутриклеточными рецепторами прогестерона, а способность связываться с этими рецепторами различна. Относительная

аффинность связывания дидрогестерона с рецепторами прогестерона ниже, чем у МПА, в связи с чем можно предположить, что дидрогестерон при его использовании в фолликулярную фазу цикла, способен предотвратить преждевременный пик ЛГ без выраженного подавления активности гипофиза, что не повлечет за собой увеличения дозы гонадотропинов и продолжительности овариальной стимуляции [18, 143].

Новая концепция использования прогестинов для предотвращения преждевременного пика ЛГ в протоколах овариальной стимуляции и продолжающаяся дискуссия о выборе эффективного и безопасного прогестагена, а также режиме его назначения, побудили нас провести настоящее исследование, целью которого явилась разработка персонализированного подхода к реализации программ ВРТ на основании оценки эффективности использования дидрогестерона для предотвращения преждевременного пика ЛГ в протоколах овариальной стимуляции.

Для реализации поставленной цели мы провели обследование и лечение 202 женщин с бесплодием, обратившихся в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И.Кулакова» Минздрава России в период с 2019 по 2022 гг. для реализации репродуктивной функции в программах ВРТ.

1 группу составили 98 женщин, которым для предотвращения преждевременного пика ЛГ в протоколе овариальной стимуляции использовали дидрогестерон в фолликулярную фазу цикла. Для сравнительной оценки параметров овариальной стимуляции, гормональных показателей стимулированных циклов и выбора оптимального режима дозирования дидрогестерона пациентки 1 группы на этапе стимуляции функции яичников были разделены на 2 подгруппы: 1А (n=57) и 1Б (n=41). Для предотвращения преждевременного пика ЛГ в подгруппе 1А одновременно с фоллитропином альфа с 2-3 дня менструального цикла ежедневно назначали дидрогестерон в суточной дозе 20 мг перорально. Женщинам подгруппы 1Б дидрогестерон назначали в аналогичной дозе при достижении 2-3 фолликулов диаметра 13-14

мм (6-7 день овариальной стимуляции). 2 группу составили 104 пациентки, которым стимуляцию яичников проводили в стандартном протоколе с антагонистом Гн-РГ.

На момент вступления в программу ЭКО/ICSI все 202 женщины имели плановые показания к сегментации цикла с отменой переноса эмбрионов (ПЭ), а именно: проведение ПГТ-А (45%), риск развития СГЯ в связи с наличием мультифолликулярных или ПКЯ яичников (25,7%), сохранение репродуктивного материала перед хирургическим лечением (17,9%), неготовность эндометрия (11,4%).

Перенос размороженных эмбрионов в полость матки женщинам, включенным в исследование, был произведен в криоцикле.

На момент начала исследования, мы не имели практического опыта применения препаратов прогестерона для предотвращения преждевременного пика ЛГ в фолликулярную фазу менструального цикла, хотя уже несколько лет проводили стимуляцию яичников в лютеиновую фазу цикла и так называемую «двойную» стимуляцию, как у пациенток с «бедным» ответом, так и для сохранения репродуктивного материала у онкологических больных [90]. Анализируя литературу, касающуюся возможностей применения протоколов прогестиновой стимуляции, обозначаемых в международных публикациях аббревиатурой – PPCOS, мы обратили внимание, что их большая часть посвящена пациенткам с «бедным» ответом, а наиболее изученным прогестагеном, применяемым для предотвращения преждевременного пика ЛГ у данной категории женщин, является МПА. В последние годы количество женщин после 40 лет, обращающихся для лечения в программы ВРТ, неуклонно растет. Доказано, что количество и качество ооцитов, являющихся доминирующим фактором, определяющим качество эмбрионов, снижается с возрастом матери. При этом, коэффициент рождаемости связан с количеством полученных ооцитов, которое зависит от протокола овариальной стимуляции [144]. Контроль преждевременного пика ЛГ у женщин с «бедным» ответом

«старшего репродуктивного» возраста является крайне актуальным, так как в 0,34-18% случаев назначение антаГн-РГ при овариальной стимуляции не позволяет избежать этого нежелательного явления, что негативно отражается на эффективности лечения [50, 145]. Поэтому в качестве альтернативы антаГн-РГ у данной категории пациенток все чаще начинают использовать МПА с его способностью непрямого устойчивого подавления секреции ЛГ гипофизом и сопоставимым показателем количества ооцитов, эмбрионов и исходам беременности [9, 146].

В то же время, количество исследований, оценивающих результативность циклов ЭКО при использовании других препаратов прогестерона у пациенток с предполагаемым нормо- и гиперответом яичников на овариальную стимуляцию ограничено. Поэтому, планируя настоящее исследование, мы включили в него пациенток среднего репродуктивного возраста с сохраненным овариальным резервом, а в качестве прогестагена, предотвращающего преждевременный пик ЛГ, использовали дидрогестерон в дозе 20 мг/сутки перорально. Для выбора оптимального режима назначения дидрогестерона мы сравнили клинические, гормональные и эмбриологические параметры циклов овариальной стимуляции и определили частоту преждевременного пика ЛГ в зависимости от дня начала приема препарата. Полученные данные позволили нам патогенетически обосновать механизм подавления преждевременного пика ЛГ при различных режимах применения дидрогестерона.

Для решения 1 задачи мы провели обследование и оценили анамнестические, клинические и лабораторные данные пациенток, включенных в исследование. Когорту обследуемых, составили женщины среднего репродуктивного возраста ($35,7 \pm 3,29$ лет и $36,2 \pm 3,12$ лет), нормального телосложения (ИМТ – $24,3 \pm 2,2$ и $23,6 \pm 1,9$ кг/м²) с длительностью бесплодия ($4,1 \pm 2,6$ лет и $4,4 \pm 3,2$ лет) в 1 и 2 группах соответственно и регулярным менструальным циклом в 84% случаев.

В структуре гинекологических заболеваний в каждом третьем случае превалировал НГЭ (29,6% и 30,7%), в каждом четвертом случае – доброкачественные новообразования яичников (26,5% и 27,8%). СПКЯ имели 9,1% и 6,7% женщин 1 и 2 групп соответственно. Для лечения вторичного бесплодия обратилось более половины пациенток обследованных групп (67,4% и 59,6%). На осложненное течение беременности, завершившееся ранними репродуктивными потерями, указали более 70% женщин.

В структуре причин бесплодия в каждом втором случае превалировали сочетанные нарушения репродуктивной системы (57,1% в 1 группе и 58,6% во 2 группе).

Гормональные показатели всех обследованных женщин не отличались от аналогичных значений женщин фертильной популяции.

Сохраненный овариальный резерв подтвержден уровнем АМГ – 2,4 (1,7-4,6) нг/мл и 2,3 (1,6- 4,1) нг/мл и результатам гормонального обследования, а также КАФ $6,2 \pm 1,21$ и $7,1 \pm 0,89$ по данным УЗИ в 1 и 2 группах соответственно.

Таким образом, на момент начала овариальной стимуляции пациентки обеих групп имели сопоставимые клинико-лабораторные показатели и равные возможности получения репродуктивного материала для достижения беременности в циклах ВРТ.

Важным моментом при проведении овариальной стимуляции в протоколах ЭКО/ICSI является предотвращение преждевременного пика ЛГ, возникающего на фоне увеличенной концентрации половых стероидных гормонов вследствие мультифолликулярного роста [14].

В настоящее время для этой цели наиболее часто используют антаГн-РГ. Однако, этот протокол сопряжен с риском преждевременного пика ЛГ, а также, с некоторыми неудобствами для пациентов, а именно: риском отмены цикла лечения, необходимостью ежедневных инъекций препарата и высокой стоимостью лечения. Эти недостатки привели к поиску альтернативных схем

супрессии гипофиза. Показано, что эндогенный прогестерон, секретируемый желтым телом, подавляет пульсирующую секрецию Гн-РГ гипоталамуса и ЛГ гипофиза, предотвращая индуцированный E2 эффект положительной обратной связи во время лютеиновой фазы менструального цикла [6]. Эту способность прогестерона в дальнейшем начали использовать для ингибирования всплеска ЛГ в фолликулярную фазу цикла при овариальной стимуляции [7]. Однако время введения экзогенного прогестерона имеет решающее значение для достижения его блокирующего или стимулирующего действия на продукцию ЛГ [139]. Durdag et al. показали, что блокада всплеска ЛГ не была достигнута у 11,5% женщин, если введение дидрогестерона было начато при диаметре созревающих фолликулов более 12 мм (6-7 день овариальной стимуляции) [147]. Однако, в более раннем исследовании Yildiz S. et al (2019) блок преждевременного всплеска ЛГ был достигнут во всех случаях при использовании МПА в дозе 10 мг/сутки с 7 дня овариальной стимуляции [115].

Принимая во внимание разноречивые данные этих исследований, мы посчитали целесообразным сравнить два режима назначения дидрогестерона: со 2 и 6-7 дней овариальной стимуляции для сравнительной оценки гормональных и эмбриологических показателей программы ЭКО/ICSI и определения условий для устойчивого блока преждевременного пика ЛГ. Прослеживая динамику концентрации ЛГ на протяжении протокола овариальной стимуляции у пациенток 1А подгруппы, принимавших дидрогестерон со 2 дня менструального цикла, мы не зарегистрировали преждевременного пика ЛГ (>12 МЕ/л) ни в одном случае. Концентрация ЛГ в день завершения гонадотропной стимуляции статистически значимо снижалась с 7,5 (4,5 – 8,7) МЕ/л до 3,9 (2,9 – 6,3) МЕ/л по сравнению с днем начала лечения ($P=0,039$). Напротив, у пациенток 1Б подгруппы, принимавших дидрогестерон с 6-7 дня овариальной стимуляции средний уровень ЛГ значимо возрастал к дню завершения стимуляции яичников с 7,4 (4,6 – 9,8) МЕ/л до 7,8 (5,9 – 14,9) МЕ/л ($p=0,048$), и у 5-х из 41 женщины (12,2%) составил 14,1 (12,9 – 14,9) МЕ/л. Таким образом, частота

преждевременного пика ЛГ при назначении дидрогестерона с 6-7 дня овариальной составила 12,2%.

Концентрация ЛГ у женщин 2 группы, на фоне антаГн-РГ значимо не менялась и составила на момент начала лечения 7,1 (3,9 – 9,3) МЕ/л и 7,9 (3,1 – 14,8) МЕ/л на день введения триггера овуляции. Преждевременный пик ЛГ выявлен у 5 (4,8%) из 104 женщин, среднее значение уровня ЛГ у этих пациенток составило 13,9 (12,1 – 14,8) МЕ/л.

Показано, что уровень E2 в протоколах с антаГн-РГ может внезапно снижаться после его введения, что коррелирует с более низкой частотой наступления беременности [31]. По нашим данным уровень E2 не снижался, а даже возрастал у всех женщин к дню введения триггера овуляции, хотя в группе антаГн-РГ он оказался несколько ниже – 4135 (2871 – 6968) пмоль/л против 4935 (3167 – 7694) пмоль/л у пациенток 1А подгруппы и 4898 (2987 – 7342) пмоль/л у женщин 1Б подгруппы. Полученные нами данные, указывали на стабильность уровней E2 при использовании дидрогестерона, что можно отнести к преимуществам данного протокола.

Концентрация прогестерона в день завершения овариальной стимуляции у пациенток 1А и 1Б подгрупп достоверно увеличивалась по сравнению с исходным показателем с 1,2 (0,7 – 2,2) нмоль/л до 2,6 (2,0 – 3,4) нмоль/л и с 1,1 (0,8 – 2,1) нмоль/л до 2,9 (2,1 – 3,9) нмоль/л. При этом, средний уровень прогестерона у пациенток 1Б подгруппы, принимавших дидрогестерон с 6-7 дня овариальной стимуляции, был значимо выше аналогичного показателя женщин 1А подгруппы, что вероятно было связано с преждевременным пиком ЛГ, зарегистрированным в 12,2% случаев. Тенденция к увеличению уровня прогестерона с 1,1 (0,8 – 1,8) нмоль/л до 2,4 (1,0 – 3,1) нмоль/л на протяжении овариальной стимуляции, сопровождающая преждевременным пиком ЛГ в 4,8% случаев отмечена и у пациенток 2 группы.

Полученные нами данные позволили охарактеризовать патогенетический механизм предотвращения преждевременного пика ЛГ при использовании дидрогестерона. Известно, что антагГн-РГ подавляют преждевременный пик ЛГ путем прямого конкурентного связывания с рецепторами Гн-РГ, но эндогенное эстроген-индуцируемое высвобождение Гн-РГ сохраняется. Наиболее часто антагонисты с этой целью применяют с 6-7 дня овариальной стимуляции при уровне $E_2 > 200$ пг/мл [1, 24]. Вследствие этого, преждевременный пик ЛГ может возникать до начала применения антагГн-РГ.

Точный механизм предотвращения преждевременного пика ЛГ при воздействии прогестинов остается неясным. Известно, что способность прогестина блокировать преждевременный пик ЛГ инициируется через его возможность ингибировать секрецию Гн-РГ в гипоталамусе, замедляя частоту импульсов ЛГ, увеличивая их амплитуду и тем самым уменьшая концентрацию ЛГ в сыворотке крови. При этом уровень E_2 играет решающую роль [1, 24].

В настоящем исследовании пациенткам 1А подгруппы мы назначали дидрогестерон со 2 дня цикла ежедневно при уровне $E_2 - 183$ (124 – 326) пмоль/л. Непрерывное назначение препарата устойчиво блокировало преждевременный пик гормона, что доказано значимым снижением уровня ЛГ к дню введения триггера овуляции и возрастанием концентрации прогестерона. Женщины 1Б подгруппы дидрогестерон начинали применять с 6-7 дня овариальной стимуляции при уровне $E_2 - 2533$ (1523 – 2346) пмоль/л. Значения концентрации ЛГ в динамике имели тенденцию к увеличению, хотя достоверные различия между подгруппами 1А и 1Б не были выявлены. При этом у 5-х из 41 женщины (12,2%) уровень ЛГ составил 14,1 (12,9 – 14,9) МЕ/л, что указывало на преждевременный пик ЛГ. Следует отметить, что уровень прогестерона у пациенток 1Б подгруппы значимо не отличался от аналогичных значений женщин 1А подгруппы. Полученные нами результаты позволили обосновать целесообразность раннего назначения дидрогестерона с 2 дня менструального цикла для устойчивого блока несвоевременного пика ЛГ и продемонстрировать,

что решающим фактором, определяющим эффективность этого подхода, является уровень E2. При этом важнейшим компонентом патогенетического механизма выступает способность прогестерона устойчиво ингибировать преждевременный пик ЛГ только при условии начала его применения в раннюю фолликулярную фазу менструального цикла, препятствуя тем самым положительной обратной связи E2 и гипоталамуса. Можно предположить, что механизм, лежащий в контроле уровня ЛГ может быть непрямыми и медленным, что обосновывает раннее назначение дидрогестерона в непрерывном режиме. Результаты проведенного исследования подтверждают концепцию, согласно которой, воздействие прогестерона на секрецию гонадотропинов может быть антагонистическим или синергичным по отношению к уровню E2 и времени воздействия.

Пациентки обследуемых групп не имели различий в суточной и курсовой дозах гонадотропин, а также в продолжительности овариальной стимуляции и количестве фолликулов диаметром 17 мм и более в день введения триггера овуляции. Однако у 3-х из 41 женщин (7,3%) 1Б подгруппы произошла овуляция до момента забора ооцитов. В группе с антагГн-РГ при зарегистрированном преждевременном пике ЛГ у 5 из 104 женщин (4,8%) преждевременной овуляции не отмечено.

Сравнение гормональных параметров протоколов овариальной стимуляции в группах с антагГн-РГ и дидрогестероном, назначаемым в различных режимах проведено в некоторых исследованиях [19, 115, 148].

Авторы публиковали результаты, аналогичные нашим у нормо- и гиперчувствительных пациенток, которые представляют наиболее подходящую когорту для данного протокола, так как отмена ПЭ и их криоконсервация является стандартом профилактики СГЯ. Согласно данным SART частота наступления беременности у этих пациентов в криоциклах оказалась значительно выше [149].

В мета-анализе Roque et al. подчеркнуто, что результаты криоциклов были лучше у гиперчувствительных пациентов, а также при переносе эмбрионов после ПГТ-А [70].

Следующий аспект, на котором хотелось бы остановиться – это выбор гонадотропина, что является принципиально важным, для получения оптимального количества ооцитов, от числа которых напрямую зависит частота наступления беременности. Согласно опубликованным данным, наиболее частым препаратом, используемым для предотвращения преждевременного пика ЛГ в протоколах прогестерон-праймированной овариальной стимуляции, является МПА. Именно поэтому исследователи отдают предпочтение чМГ в качестве компенсирующего агента для обеспечения оптимальной концентрации ЛГ, необходимой для созревания фолликулов на фоне назначения МПА, предполагая его выраженное подавление секреции ЛГ [116, 118].

Планируя настоящее исследование, мы остановили свой выбор на препарате рекФСГ [150], ориентируясь на предыдущие публикации, согласно которым у пациенток нормо- и гиперответом подавление секреции ЛГ на фоне прогестагена не было столь значительным. Так по данным Wang Y. в при использовании МПА средний уровень ЛГ в день введения триггера овуляции составил $2,08 \pm 1,82$ МЕ/л [109]. В нашем исследовании аналогичный показатель составил – 3,9 (2,9-6,3) МЕ/л, что демонстрировало обоснованность использования рекФСГ для овариальной стимуляции в данном протоколе.

В отличии от работы Iwami N., в которой суммарная доза гонадотропина при использовании дидрогестерона значимо превышала аналогичный показатель в группе с антагГн-РГ $1957,30 \pm 682,86$ МЕ против $1519,84 \pm 541,86$ МЕ ($P < 0,01$) [148], в нашем исследовании суточные и курсовые дозы гонадотропинов были сопоставимы в группах и составили в 1А подгруппе: 194 (150 – 225) МЕ и 2112 (1450 – 2720) МЕ соответственно, в 1Б подгруппе: 193 (150 – 225) и 2110 (1451 – 2690). Во 2 группе 189 (150 – 225) МЕ и 1986 (1368 – 2630) МЕ гонадотропина, хотя в группе с дидрогестероном отмечена тенденция к увеличению числа

единиц рекФСГ. Продолжительность овариальной стимуляции независимо от используемого препарата, блокирующего преждевременный пик ЛГ и режима его назначения, не различалась и составила 10 (8 – 12) дней, 10 (9 – 12) дней и 9 (8 – 11) дней в 1А, 1Б подгруппах и 2 группе соответственно. Количество преовуляторных фолликулов было сопоставимым.

Поскольку протокол с прогестагеном не приводит к десенситизации гипоталамо-гипофизарной системы можно использовать аГн-РГ в качестве триггера овуляции. Однако, выраженное подавление секреции ЛГ при его уровне $<1,5$ МЕ/л сопряжено с получением малого числа ооцитов. Lu X с соавт. описали более выраженное подавление всплеска ЛГ на фоне МПА по сравнению с дидрогестероном, в связи с чем использовали двойной триггер овуляции (агонист Гн-РГ + чХГ 1000-5000 ЕД) [151].

В нашем исследовании уровень ЛГ на фоне антаГн-РГ не претерпевал существенных изменений и составил в день начала протокола 7,1 (3,9 – 9,3) МЕ/л, в день введения триггера овуляции – 7,9 (3,1 – 14,8) МЕ/л. Аналогичная динамика ЛГ отмечена и у женщин 1Б подгруппы: 7,4 (4,6 – 9,8) МЕ/л в день начала овариальной стимуляции и 7,8 (5,9 – 14,9) МЕ/л в день ее завершения.

Снижение уровня ЛГ с 7,5 (4,5 – 8,7) МЕ/л до 3,9 (2,9 – 6,3) МЕ/л ($P=0,039$) прослежено у пациенток 1А подгруппы на фоне непрерывного назначения дидрогестерона с 2 дня цикла. Таким образом, полученные нами данные, не противоречили результатам ранее проведенных исследований о возможности использования аГн-РГ в качестве триггера овуляции в протоколах с прогестинами без добавления ХГ [152].

Влияние прогестагена, введение которого завершается в день триггера овуляции на количество и качество ооцитов обсуждается. Известно, что основной эффект прогестерона – подавление пика ЛГ с блоком высвобождения Гн-РГ гипоталамуса. аГн-РГ инициирует пик ЛГ независимо от гипоталамуса. Поэтому прогестаген, введенный в день триггера овуляции, не оказывает

отрицательного влияния на пик ЛГ. Это механизм объясняет сопоставимые данные относительно количества полученных ооцитов в протоколах с прогестагеном и антагГн-РГ [6, 9, 118].

Один из вопросов, обсуждаемых в литературе, касается оптимального интервала времени между введением триггера овуляции и забором ооцитов при ТВП. Ранее было показано, что более длительный интервал может привести к образованию более зрелых ооцитов или более высокому уровню оплодотворения [153].

Как уже было отмечено, механизм подавления преждевременного пика ЛГ в протоколе с прогестагеном отличается от такого при использовании антагГн-РГ [154]. В связи с этим, измененная концентрация гормонов в сыворотке крови и фолликулярной жидкости может менять окружение ооцита, что может повлиять на время введения триггера овуляции и результат ТВП. Shen с соавт. оценили оптимальный интервал времени между введением триггера овуляции и ТВП в протоколах с прогестагеном по количеству и зрелости ооцитов, частоты имплантации и живорождения на перенос эмбриона. На основании ретроспективного анализа более 7000 циклов ЭКО/ICSI авторы сделали вывод о том, что оптимальное время для триггера овуляции в данном протоколе составляет 36,4-37,8 часов [155].

В нашем исследовании интервал между введением аГн-РГ и ТВП составлял 37-37,5 часов. Следует отметить, что этот интервал мы используем уже в течение длительного времени при замене триггера овуляции в протоколах с антагГн-РГ у женщин с риском развития СГЯ.

Мы не выявили значимых межгрупповых различий у пациенток 1А подгруппы (принимавших дидрогестерон с 2 дня цикла) и женщин 2 группы (на фоне антагГн-РГ) в числе полученных ОКК ($8,9 \pm 3,1$ и $7,9 \pm 4,7$), зрелых ооцитов МП ($7,6 \pm 1,5$ и $6,9 \pm 1,6$), оплодотворенных ооцитов ($4,9 \pm 1,2$ и $4,7 \pm 2,1$), бластоцист

($3,2\pm 0,3$ и $2,9\pm 0,6$) и числу криоконсервированных эмбрионов ($2,4\pm 0,6$ и $2,5\pm 0,4$), хотя тенденция к лучшим показателям у женщин 1А подгруппы прослеживалась.

Эмбриологические показатели пациенток 1Б подгруппы (принимавших дидрогестерон с 7 дня овариальной стимуляции), по сравнению с аналогичными показателями женщин 1А подгруппы, характеризовались меньшим числом полученных ОКК $7,4\pm 2,2$ против $8,9\pm 3,1$ и количеством ооцитов МП в циклах ICSI $7,1\pm 0,9$ против $7,6\pm 1,5$, уменьшением количества оплодотворенных ооцитов как в программах ЭКО – $4,1\pm 0,9$ против $4,9\pm 1,2$ так и ICSI $4,9\pm 0,7$ против $5,3\pm 0,5$, меньшим числом бластоцист $2,7\pm 0,3$ против $3,2\pm 0,3$ и криоконсервированных бластоцист $2,1\pm 0,4$ против $2,4\pm 0,6$ ($p=0,042$). Анализируя, различия в эмбриологических показателях программы, следует отметить, что пациентки 1Б подгруппы в 12,2% случаев имели преждевременный пик ЛГ, в 7,3% – преждевременную овуляцию до момента забора ооцитов и как следствие получение меньшего числа ОКК, зрелых ооцитов, бластоцист и криоконсервированных эмбрионов.

Наши данные еще раз показали, что использование аГн-РГ в качестве триггера овуляции за 37-37,5 часов перед ТВП у нормо- и гиперчувствительных пациентов является достаточным для получения адекватного количества ооцитов. Полученные результаты согласуются с аналогичными результатами, касающимися пациенток с нормо- и гиперответом, опубликованными ранее. Сравнивая эти два протокола, авторы показали не меньшую эффективность протоколов с прогестагенами в отношении показателей фолликуло-оогенеза и раннего эмбриогенеза [53, 115, 148].

Качество работы клиники репродукции – это не только эффективность лечения, но и его безопасность. Серьезным осложнением овариальной стимуляции является СГЯ, сопряженный с развитием полиорганной недостаточности, а в редких случаях и с материнской смертностью. Когорта гиперчувствительных пациентов, а в 8% случаев и нормочувствительных женщин подвержены высокому риску этого ятрогенного синдрома. В этой связи,

протокол PPOS, минимизирующий этот риск является предпочтительным. До последнего времени, протоколом выбора при риске развития СГЯ являлся протокол с антагГн-РГ, позволяющий использовать аГн-РГ в качестве триггера овуляции. Преимущества аГн-РГ для триггеринга заключаются в его способности меньше стимулировать продукцию СЭФР – основного медиатора СГЯ, более физиологичном всплеске гонадотропинов, а также уменьшении размера яичников в лютеиновую фазу менструального цикла, вследствие более короткого периода полувыведения ЛГ и более раннего регресса желтых тел [156].

Результаты сравнения частоты развития СГЯ в протоколах с различными прогестинами демонстрировали лучшие показатели, по сравнению с аналогичными в протоколах с антагГн-РГ. Кроме того, было показано, что прогестерон предотвращает развитие СГЯ как в фолликулярной, так и в лютеиновой фазе цикла. Однако механизм, лежащий в основе этого явления пока неясен [6, 9, 109, 157, 158].

В нашем исследовании риск развития СГЯ при уровне АМГ $>3,6$ нг/мл имели 23,6% женщин 1 группы (1А+1Б подгрупп) и 27,5% пациенток – 2 группы. СГЯ легкой степени тяжести развился у 2-х из 23 пациенток (8,6%) принимавших дидрогестерон и у 3-х из 29 женщин (10,3%) 2 группы. Мы не отметили значимые преимущества какого-либо используемого протокола в плане предотвращения СГЯ, вероятно из-за малого числа пациентов.

Частота наступления беременности в криоцикле во многом зависит от качества эмбрионов, переносимых в полость матки. В более ранних исследованиях подтверждено негативное влияние повышенного уровня прогестерона в день введения триггера овуляции на частоту наступления беременности в связи с его негативным влиянием на эндометрий [141].

В исследованиях на животных показано снижение количества blastocyst на 40% при воздействии прогестерона на ООК крупного рогатого скота [159].

Тем не менее, в клинических протоколах при стимуляции в лютеиновую фазу цикла и при «random- старте» отрицательного влияния прогестерона на развитие фолликулов выявлено не было [160–162].

В исследованиях последних лет продемонстрированы сопоставимые результаты по числу полученных зрелых ооцитов и эмбрионов хорошего качества в протоколах с прогестинами и антагГн-РГ [163].

Согласно данным настоящего исследования, классу А соответствовали 64,5%, 63,1%, 65,9% эмбрионов в подгруппах 1А, 1Б, и 2 группе, классу В – 20,2%, 23,4%, 20,2% соответственно. Количество эмбрионов «хорошего» качества, которые были криоконсервированы для последующего криопереноса, в расчете на пациентку составило: $2,4 \pm 0,6$, $2,1 \pm 0,4$, $2,5 \pm 0,4$ соответственно. Межгрупповые различия не выявлены. Аналогичные данные представлены в работе Zhang J (2021) [163].

Однако в недавнем РКИ, оценивающем эффективность овариальной стимуляции с прогестинами у доноров ооцитов получены неоднозначные результаты, касающиеся репродуктивных исходов. Так, при равных показателях эмбриологического этапа программы частота клинической и прогрессирующей беременности, а также живорождений при последующем ПЭ в криоцикле оказались ниже в группе МПА, чем в группе с антагГн-РГ [164].

Обсуждая неожиданно полученные результаты, касающиеся снижения результативности репродуктивных исходов, авторы подчеркивают, что несмотря на ранее проведенные исследования, не демонстрирующие отрицательного влияния повышенного уровня на качество ооцитов, работы в этом направлении целесообразно продолжать.

Оценка качества эмбрионов носит субъективный характер. Объективным или ревалентным критерием этого параметра может служить эмбриональная эуплоидия. Поскольку существует прямая зависимость между эуплоидным

статусом бластоцисты и вероятностью живорождения, уровень эуплоидии можно принять в качестве промежуточного маркера акушерских исходов [83].

Таким образом, уровень эуплоидии в протоколах овариальной стимуляции с прогестинами, может означать, что уровень живорождения не уступает таковому при стандартных подходах.

В проспективном исследовании «случай-контроль» сравнивали уровень эуплоидии в протоколах PPOS и антагГн-РГ. Для анализа были доступны 785 эмбрионов, частота образования бластоцист на ооцит составила 21% в обеих группах.

Мы получили аналогичные данные: количество эуплоидных бластоцист не различалось в 1А,1Б и 2 группах (39,7%, 40,0% и 41,6%) и составило в расчете на пациента – $1,2 \pm 0,3$ и $0,8 \pm 0,2$, и $1,1 \pm 0,4$ соответственно при уровне эуплоидии – 48,8%, 41,1% и 48,0%, что согласуется с результатами ранее проведенных исследований [115].

Полученные нами данные показывают равные результаты ПГТ-А при применении изучаемых стратегий овариальной стимуляции в циклах ЭКО/ICSI.

Подводя итог этого раздела исследования, можно заключить, что протокол овариальной стимуляции с использованием препарата прогестерона в фолликулярной фазе цикла не ухудшает параметры раннего эмбриогенеза, что подтверждается отсутствием межгрупповых различий по количеству полученных ОКК, доли зрелых и оплодотворенных ооцитов, частоте оплодотворения, количеству бластоцист «хорошего» качества и криоконсервированных эмбрионов, а также равным уровнем эуплоидии.

Завершая раздел, касающийся сравнительной оценки вторичных точек исследования, следует отметить, что использование дидрогестерона для предотвращения преждевременного пика ЛГ в протоколе овариальной стимуляции показало сопоставимые данные с аналогичными в протоколе с антагГн-РГ, а именно: частоте преждевременного пика ЛГ, курсовой дозе

гонадотропина, длительности овариальной стимуляции, числу фолликулов диаметром 17 мм в день введения триггера овуляции, числу полученных ооцит-кумулюсных комплексов, зрелых ооцитов, зигот, частоте бластуляции, числу бластоцист хорошего качества, числу криоконсервированных эмбрионов и количеству зуплоидных бластоцист.

Первичной точкой настоящего исследования явилась оценка частоты клинической беременности, наступившей в первом криоцикле. Этот показатель не различался между группами и составил – 36,8%, 33,3%, 38,4%. Частота прогрессирующей беременности также была сопоставима – 33,3%, 26,7%, 34,0%. Ранние репродуктивные потери отмечены у 9,5%, 6,7% и 11,4% женщин 1А, 1Б и 2 групп. Полученные нами данные согласуются с большинством опубликованных на сегодняшний день исследований, о равной частоте беременности и живорождений в протоколах с прогестинами и антагГн-РГ.

Безопасность протоколов овариальной стимуляции с прогестинами обсуждена в мета-анализе РКИ в 2021 году [18, 143, 165]. Согласно результатам лечения 1016 женщин частота клинической беременности на ПЭ была одинаковой для прогестинов и антагГн-РГ (ОШ = 1,12; 95%ДИ = 0,91 – 1,38). Анализ течения 439 беременностей показал равную частоту с/выкидышей (ОШ = 1,11; 95%ДИ = 0,79 – 1,56). Коэффициент живорождений также не различался (ОШ = 1,36; 95%ДИ = 0,88 – 2,11).

Вывод о том, что протоколы с прогестином не увеличивают риски врожденных пороков развития по сравнению со стандартными протоколами сделаны в мета-анализе 4-х РКИ. При обследовании 9274 младенцев авторы не отметили увеличения числа врожденных пороков развития (ОШ = 0,92; 95%ДИ = 0,63 – 1,34; $p = 0,65$) и низкой массы тела при рождении (ОШ = 1,06; 95%ДИ 0,95 – 1,18; $p = 0,29$) [21].

Обсуждение экономической эффективности протокола с прогестагенами основано на более низкой стоимости прогестинов по сравнению с аналогами Гн-

РГ, особенно с антагГн-РГ. Однако, использование гестагенов требует обязательной сегментации цикла и криоконсервации эмбрионов, для их отсроченного переноса в криоцикле. Данный подход влечет за собой затраты на криоконсервацию эмбрионов, последующую подготовку эндометрия, размораживание эмбрионов, визиты в клинику, расходы, связанные с потерей рабочего времени [166]. В расчете на одно живорождение протоколы с антагГн-РГ при переносе свежих эмбрионов, более экономически рентабельны чем протоколы с прогестинами. Основываясь на стоимости лечения в США, протокол с прогестинами оказался экономически выгоден только при запланированной сегментации цикла. В анализе экономической эффективности учитывали сходные показатели живорождения в протоколах с прогестинами, а также с аналогами Гн-РГ, аналогичную потребность в гонадотропинах. Стоимость дополнительно мониторинга в криоцикле, размораживание эмбрионов оказались причинами более низкой экономической эффективности протокола с прогестинами. Авторы заключили, что данный протокол будет рентабелен только в случае плановой сегментации цикла [167].

Вопросы экономической эффективности циклов овариальной стимуляции с использованием препаратов прогестерона для предотвращения преждевременного пика ЛГ обсуждаются. По мнению ряда исследователей эти циклы более удобны для пациента и экономически эффективны [167]. Так по данным Iwani с соавт (2018) стоимость прогестина для предотвращения преждевременного пика ЛГ оказалась на 93% ниже стоимости антагГн-РГ [148].

Однако есть некоторые особенности: при расчете экономической эффективности необходимо принимать во внимание состояние овариального резерва женщины и конкретный прогестин, используемый в протоколе. Так, например, применение МПА у пациенток со сниженным овариальным резервом требует более высоких доз мочевых гонадотропинов и большей длительности стимуляции яичников. В тоже время МПА сильнее подавляет преждевременный пик ЛГ и это его свойство предпочтительно для данной когорты женщин, у

которых риск несвоевременного всплеска ЛГ составляет 50% [114]. Сегментация цикла сопряжена с дополнительными затратами на криоконсервацию эмбрионов и их последующий ПЭ в полость матки, поэтому рентабельность подобного подхода требует более детального изучения.

Учитывая отсутствие опубликованных данных, критически оценивающих экономическую эффективность протоколов с прогестинами, В. Evans с соавт. 2019 провели исследование экономической эффективности, сравнивающее прогестиновые протоколы со стандартными, использующими аналоги Гн-РГ. Авторы пользовались шестью опубликованными данными о средней стоимости в США обычных циклов ЭКО с аГн-РГ и антаГн-РГ, а также переноса как свежих, так и размороженных эмбрионов. Модели общей стоимости устанавливали среднюю базовую цену свежего цикла ЭКО и криоциклов. Увеличение или уменьшение стоимости учитывалось в зависимости от базовых значений для прогестинов, аналогов Гн-РГ и гонадотропинов. Для разработки модели был принят показатель живорождения 42% как в циклах переноса свежих, так и замороженных эмбрионов на начатый «свежий» цикл у пациенток моложе 35 лет, и предполагалось, что эти показатели живорождения верны независимо от протокола стимуляции яичников. Результаты анализа показали, что циклы с прогестинами с учетом переноса эмбрионов в криоцикле могут быть экономически эффективными только при увеличении рождаемости на 11%. В тоже время, если оценивать затраты на сегментированный цикл (без учета стоимости криоцикла), то использование препаратов прогестерона для предотвращения преждевременного пика ЛГ, рентабельнее, чем применение антаГн-РГ на 2079 долларов США за живорождение [168]. Авторы делают вывод об экономической эффективности протокола в случаях только плановой сегментации цикла.

Е. Mathieu в 2020 году провели медико-экономический анализ протоколов с прогестинами и антаГн-РГ в случаях плановой сегментации цикла. Оба протокола были эквиваленты по продолжительности стимуляции яичников,

общей дозе гонадотропинов, количеству визитов в клинику и анализов крови. Разница в стоимости протоколов с антаГн-РГ и прогестином составила 209 евро на пациента, что по мнению авторов делает цикл с препаратом прогестерона доминирующим над антаГн-РГ [168].

Для определения экономической целесообразности использования протоколов овариальной стимуляции с препаратами прогестерона в программах ЭКО/ICSI нами произведена сравнительная оценка текущей стоимости лекарственных препаратов в используемых протоколах (табл. 23, 24).

Принимая во внимание, что назначение дидрогестерона с 7 дня овариальной стимуляции в 12,2% не блокирует преждевременный пик ЛГ, а в 7,3% случаев сопровождается овуляцией до момента извлечения ооцитов, что приводит к меньшему количеству полученных ООК и в конечном итоге к меньшему числу криоконсервированных эмбрионов, мы посчитали возможным не оценивать стоимость данного протокола, так полученная разница будет минимальна.

Сведения о стоимости лекарственных препаратов взяты из реестра государственных закупок.

Таким образом, стоимость препарата для предотвращения преждевременного пика ЛГ в протоколе овариальной стимуляции с дидрогестероном в 9 раз ниже по сравнению с антаГн-РГ (788 рублей против 6950 рублей). Кроме того использование гестагена позволяет сократить количество УЗ-мониторингов на 1-2 визита, так как препарат назначают в непрерывном режиме со 2 дня цикла, в то время как антаГн-РГ – при диаметре 14 мм 2-х и более фолликулов [168].

Таблица 23.

**Стоимость лекарственного обеспечения в протоколе с препаратом
прогестерона**

Доза препарата в расчете на пациентку	1А подгруппа	Стоимость 1 единицы препарата (Руб.)	Стоимость курса лечения (Руб.)
Курсовая доза гонадотропина	2112 МЕ	1535,00	32 419,00
Трипторелин	0,2 мг	206,00	412,00
Курсовая доза дидрогестерона	200 мг	26,26	788,00
ИТОГО			33619,00

Таблица 24.

Стоимость лекарственного обеспечения в протоколе с антагГн-РГ

Доза препарата в расчете на пациентку	2 группа	Стоимость 1 ед. препарата (Руб.)	Стоимость курса лечения (Руб.)
Курсовая доза гонадотропина	2112 МЕ	1535,00	32 419,00
Трипторелин	0,2 мг	206,00	412,00
Курсовая доза антагГн-РГ	1,25 мг	1390,00	6950,00
ИТОГО			39781,00

Результаты проведенного исследования позволили охарактеризовать патогенетический механизм блока преждевременного пика ЛГ посредством использования дидрогестерона, ведущим компонентом которого является уровень E2 и время назначения препарата. Полученные данные согласуются с данными литературы, указывающими, что препараты прогестерона при назначении в раннюю фолликулярную фазу менструального цикла эффективно блокируют преждевременный пик ЛГ, не ухудшают эмбриологические показатели программы, имеют сопоставимую частоту наступления беременности и живорождений по сравнению с протоколами, в которых применяются антагонисты Гн-РГ.

Заключение

Результаты настоящего исследования могут послужить основанием для изменения стратегий овариальной стимуляции при плановой сегментации цикла по различным показаниям: проведение ПГТ, риск развития СГЯ. Поскольку криоконсервация ооцитов и эмбрионов для отсроченного переноса в криоцикле являются обязательными в протоколе с препаратами прогестерона, то этот протокол может быть лучшим вариантом для доноров ооцитов, а также в случаях сохранения репродуктивного материала для отсроченного деторождения.

Принимая во внимание пероральный путь использования гестагенов, позволяющий уменьшить количество ежедневных инъекций, а также их меньшую стоимость по сравнению с антаГн-РГ, данные протоколы более удобны для пациентов, как с экономической, так и с медицинской точки зрения. В нашем исследовании протокол с дидрогестероном у женщин с сохраненным овариальным резервом оказался рентабельнее протокола с антагонистами более чем на 6000 рублей.

Перспективы для дальнейших исследований в этом направлении заключаются в проведении исследований сравнительной эффективности протоколов овариальной стимуляции, где учитывается кумулятивный показатели живорождения на женщину, начавшую стимуляцию функции яичников. Представляет интерес и оценка побочных явлений в протоколах с прогестинами и их сравнение со стандартными протоколами, о чем не сообщалось в опубликованных исследованиях. И конечно более обширная информация о течении беременности, акушерских осложнениях, неонатальных исходах и состоянии здоровья детей.

Выводы

1. Клинико-анамнестические данные обследованной когорты женщин характеризуются сохраненным овариальным резервом и наличием факторов, обосновывающих плановую сегментацию цикла ЭКО/ICSI с отменой ПЭ в полость матки: проведение ПГТ-А (45,1%), риск СГЯ (25,7%), сохранением репродуктивного материала для отсроченной реализации репродуктивной функции (17,8%), патологией эндометрия (11,4%).
2. Динамика концентрации ЛГ в протоколах с дидрогестероном имеет различный характер и зависит от времени назначения препарата: снижается с 7,5 (4,5 – 8,7) до 3,9 (2,9 – 6,3) МЕ/л ($P=0,039$) при начале его применения со 2 дня ранней фолликулярной фазы цикла и возрастает с 7,4 (4,6 – 9,8) МЕ/л до 7,8 (5,9 – 14,9) МЕ/л ($P=0,048$) при назначении с 6-7 дня овариальной стимуляции, что соответствует средней фолликулярной фазе цикла, за счет преждевременного пика в 12,2% случаев и ранней овуляции до забора ооцитов – в 7,3% случаев. Преждевременный пик ЛГ при отсутствии существенных колебаний его уровня в протоколе с антаГн-РГ выявлен у 4,8% женщин в то время, как ранняя овуляция не подтверждена ни в одном случае.
3. Динамика уровня половых стероидных гормонов в сыворотке крови при овариальной стимуляции в протоколах с препаратом прогестерона, независимо от режима его назначения, характеризуется сопоставимыми уровнями E_2 и значимым возрастанием содержания прогестерона в день введения триггера овуляции по сравнению с исходным показателем: с 1,2 (0,7 – 2,2) нмоль/л до 2,6 (2,0 – 3,4) нмоль/л ($P=0,023$) и с 1,1 (0,8 – 2,1) нмоль/л до 2,9 (2,1 – 3,9) нмоль/л ($P=0,034$). Тенденция к повышению уровня прогестерона в протоколе с антагонистом Гн-РГ с 1,1 (0,8 – 1,8) нмоль/л до 2,4 (1,0 – 3,1) нмоль/л обусловлена преждевременным пиком ЛГ у 4,8% женщин.

4. Выявленные особенности стероидогенеза в изучаемых циклах овариальной стимуляции показывают, что ключевым фактором контроля преждевременного пика ЛГ является исходный уровень эстрадиола на момент назначения дидрогестерона. Патогенетический механизм, блокирующий всплеск ЛГ, реализуется через ингибирование положительной обратной связи эстрадиола с гипоталамусом, что обосновывает назначение препарата в ранней фолликулярной фазе.
5. Протоколы овариальной стимуляции при использовании препарата прогестерона и антагониста Гн-РГ у женщин с сохраненным овариальным резервом имеют сопоставимые показатели суточной: 194 (150 – 225) МЕ, 193 (150 – 225) МЕ, 189 (150 – 225) МЕ и курсовой доз 2112 (1450 – 2720) МЕ, 2110 (1451 – 2690) и 1986 (1368 – 2630) МЕ гонадотропина, продолжительности овариальной стимуляции 10 (8 – 12) дней, 10 (9 – 12) дней и 9 (8 – 11) дней, а также количестве фолликулов диаметром 17 мм и более в день введения триггера овуляции.
6. Показатели эмбриологического этапа программы ЭКО/ICSI при назначении дидрогестерона в ранней фолликулярной фазе цикла для предотвращения преждевременного пика ЛГ и в протоколе с антагонистом Гн-РГ не имеют значимых различий по количеству полученных ОКК, доли зрелых и оплодотворенных ооцитов, частоте оплодотворения, количеству blastocyst «хорошего» качества и криоконсервированных эмбрионов. Назначение дидрогестерона с 7 дня овариальной стимуляции не приводит к устойчивому ингибированию преждевременного пика ЛГ и сопровождается уменьшением числа полученных ООК ($P=0,037$) и криоконсервированных эмбрионов ($P=0,042$), но не влияет на их качество, что подтверждается равной частотой эуплоидии в обследованных группах.
7. Частота клинической и прогрессирующей беременности в первом криоцикле у женщин обследованных групп значимо не различалась и составила 36,8%, 33,3%, 38,4% и 33,3%, 26,7%, 34,0% соответственно. Ранние репродуктивные потери имели 9,5%, 6,7% и 11,4% женщин 1А, 1Б и 2 групп.

Практические рекомендации

1. Протокол овариальной стимуляции с использованием дидрогестерона для предотвращения преждевременного пика ЛГ, назначаемого в ранней фолликулярной фазе менструального цикла, целесообразно выбирать при наличии показаний к плановой сегментации цикла ЭКО/ICSI по различным показаниям, в том числе – у доноров ооцитов, а также при сохранении репродуктивного материала для отсроченной реализации репродуктивной функции.
2. Использование дидрогестерона в дозе 20 мг/сутки с дня начала гонадотропной стимуляции, включая день введения триггера овуляции, эффективно блокирует преждевременный пик ЛГ у женщин с сохраненным овариальным резервом, не увеличивает потребность в курсовой дозе гонадотропина и продолжительности дней стимуляции. Назначение дидрогестерона с 6-7 дня овариальной стимуляции может привести к преждевременному пику ЛГ, ранней овуляции и уменьшению количества полученных ооцитов и криоконсервированных бластоцист.
3. Динамическая оценка уровней ЛГ и половых стероидных гормонов в цикле овариальной стимуляции с препаратом прогестерона не целесообразна, так как не повышает клиническую результативность цикла.

Список сокращений

аГн-РГ	агонисты гонадотропин-рилизинг гормона
антагГн-РГ	антагонисты гонадотропин-рилизинг гормона
АМГ	антимюллеров гормон
ВИЧ	вирус иммунодефицита человека
ВРТ	вспомогательные репродуктивные технологии
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
E ₂	эстрадиол
ИМТ	индекс массы тела
КАФ	количество антральных фолликулов
ЛГ	лютеинизирующий гормон
МЕ	международные единицы
НГЭ	наружный генитальный эндометриоз
ООК	ооцит-кумулюсный комплекс
ОШ	отношение шансов
ПГТ	преимплантационное генетическое тестирование
ПГТ-А	преимплантационное генетическое тестирование эмбрионов на анеуплоидии
ПНЯ	преждевременная недостаточность яичников
ПЭ	перенос эмбриона(ов) в полость матки
СГЯ	синдром гиперстимуляции яичников

ИППП	инфекции, передаваемые половым путем
СПКЯ	синдром поликистозных яичников
Т	тестостерон
ТВП	трансвагинальная пункция яичников
ТТГ	тиреотропный гормон
ТЭ	трофэктодерма
УЗИ	ультразвуковое исследование
ФСГ	фолликулостимулирующий гормон
ХГЧ	хорионический гонадотропин человека
ЧНБ	частота наступления беременности
чМГ	человеческий менопаузальный гонадотропин
ЭКО	экстракорпоральное оплодотворение
AUC	площадь под кривой
GV	ооцит стадии зародышевого пузырька
ICSI	инъекция сперматозоида в цитоплазму ооцита
MI	ооцит метафазы первого деления мейоза
MII	зрелый ооцит (вторая стадия деления мейоза)
ROC	график, позволяющий оценить качество бинарной классификации (кривая ошибок)
2pn	успешно оплодотворенный ооцит без аномалий оплодотворения

Список литературы

1. Mascarenhas M.N., Flaxman S.R., Boerma T., Vanderpoel S., Stevens G.A. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Med.* 2012; 9(12):e1001356.
2. Fatemi H.M., Popovic-Todorovic B., Humaidan P., Kol S., Banker M., Devroey P., et al. Severe ovarian hyperstimulation syndrome after gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist trigger and “freeze-all” approach in GnRH antagonist protocol. *Fertil Steril.* 2014; 101(4):1008–11.
3. Краснопольская К.В., Назаренко Т.А., Бекетова А.Н., Черкезов Я.А., Бадалян Г.В. Приоритеты при выборе препаратов гонадотропинов для контролируемой стимуляции в программах ЭКО. *Проблемы репродукции.* 2016; 22(1):44–9.
4. Griesinger G., Schultz L., Bauer T., Broessner A., Frambach T., Kissler S. Ovarian hyperstimulation syndrome prevention by gonadotropin-releasing hormone agonist triggering of final oocyte maturation in a gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol in combination with a “freeze-all” strategy: a prospective multicentric st. *Fertil Steril.* 2011; 95(6):2029–33, 2033.e1.
5. Chabbert-Buffet N., Pintiaux-Kairis A., Bouchard P., VA2914 Study Group. Effects of the progesterone receptor modulator VA2914 in a continuous low dose on the hypothalamic-pituitary-ovarian axis and endometrium in normal women: a prospective, randomized, placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92(9):3582–9.
6. Kuang Y., Hong Q., Chen Q., Lyu Q., Ai A., Fu Y., et al. Luteal-phase ovarian stimulation is feasible for producing competent oocytes in women undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatment, with optimal

- pregnancy outcomes in frozen-thawed embryo transfer cycles. *Fertil Steril*. 2014; 101(1):105–11.
7. Wang N., Wang Y., Chen Q., Dong J., Tian H., Fu Y., et al. Luteal-phase ovarian stimulation vs conventional ovarian stimulation in patients with normal ovarian reserve treated for IVF: a large retrospective cohort study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2016; 84(5):720–8.
 8. Richter T.A., Robinson J.E., Evans N.P. Progesterone blocks the estradiol-stimulated luteinizing hormone surge by disrupting activation in response to a stimulatory estradiol signal in the ewe. *Biol Reprod*. 2002; 67(1):119–25.
 9. Kuang Y., Chen Q., Fu Y., Wang Y., Hong Q., Lyu Q., et al. Medroxyprogesterone acetate is an effective oral alternative for preventing premature luteinizing hormone surges in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2015; 104(1):62-70.e3.
 10. Yu S., Long H., Chang H.Y.-N., Liu Y., Gao H., Zhu J., et al. New application of dydrogesterone as a part of a progestin-primed ovarian stimulation protocol for IVF: a randomized controlled trial including 516 first IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod*. 2018; 33(2):229–37.
 11. Назаренко Т.А., Зыряева Н.А. Применение экзогенного лютеинизирующего гормона для стимуляции яичников у пациенток программ ЭКО. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2013; 3(45):79–83.
 12. Рудакова Е.Б., Серова О.Ф., Стрижова Т.В., Федорова Е.А., Острина С.Я. Роль лютеинизирующего гормона в овариальной стимуляции в программах экстракорпорального оплодотворения (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2022; 28(1):129–35.
 13. Mizrachi Y., Weissman A., Rozen G., Rogers P.A.W., Stern C., Polyakov A. Timing of progesterone luteal support in natural cryopreserved embryo transfer cycles: back to basics. *Reprod Biomed Online*. 2022; 45(1):63–8.

14. La Marca A., Capuzzo M. Use of progestins to inhibit spontaneous ovulation during ovarian stimulation: the beginning of a new era? *Reprod Biomed Online*. 2019; 39(2):321–31.
15. Kalafat E., Turkgeldi E., Yıldız S., Dizdar M., Keles I., Ata B. Outcomes of a GnRH Agonist Trigger Following a GnRH Antagonist or Flexible Progestin-Primed Ovarian Stimulation Cycle. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022; 13:837880.
16. Huang T.-C., Huang M.-Z., Seow K.-M., Yang I.-J., Pan S.-P., Chen M.-J., et al. Progestin primed ovarian stimulation using corifollitropin alfa in PCOS women effectively prevents LH surge and reduces injection burden compared to GnRH antagonist protocol. *Sci Rep*. 2021; 11(1):22732.
17. Wang N., Zhu Q., Ma M., Liang Z., Tao Y., Wang Y., et al. Comparison of a progestin-primed ovarian stimulation protocol with a flexible GnRH antagonist protocol in patients with polycystic ovary syndrome who are participating in an IVF programme: study protocol for a randomised controlled trial. *BMJ Open*. 2020; 10(12):e038153.
18. Ata B., Capuzzo M., Turkgeldi E., Yıldız S., La Marca A. Progestins for pituitary suppression during ovarian stimulation for ART: a comprehensive and systematic review including meta-analyses. *Hum Reprod Update*. 2021; 27(1):48–66.
19. Gurbuz A.S., Gode F. Dydrogesterone-primed ovarian stimulation is an effective alternative to gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol for freeze-all cycles in polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynaecol Res*. 2020; 46(8):1403–11.
20. Iwami N., Kawamata M., Ozawa N., Yamamoto T., Watanabe E., Mizuuchi M., et al. New treatment strategy for endometriosis using progestin-primed ovarian stimulation with dienogest: A prospective cohort study, comparison of dienogest versus dydrogesterone. *Reprod Biol*. 2021; 21(1):100470.

21. Zolfaroli I., Ferriol G.A., Mora J.-J.H., Cano A. Impact of progestin ovarian stimulation on newborn outcomes: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet.* 2020; 37(5):1203–12.
22. Li X., Zhang X., Cai J., Pang J., Sun P., Chen J., et al. Granulosa cells apoptosis and follicular fluid hormones: comparison of progestin-primed ovarian stimulation versus GnRH antagonist protocols. *Gynecol Endocrinol.* 2021; 37(7):609–13.
23. Baruffi R.L., Mauri A.L., Petersen C.G., Felipe V., Martins A.M., Cornicelli J., et al. Recombinant LH supplementation to recombinant FSH during induced ovarian stimulation in the GnRH-antagonist protocol: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online.* 2007; 14(1):14–25.
24. Cavagna M., Paes de Almeida Ferreira Braga D., Biaggioni Lopes F., de Cássia Savio Figueira R., Iaconelli A., Borges E. The effect of GnRH analogues for pituitary suppression on ovarian response in repeated ovarian stimulation cycles. *Arch Med Sci.* 2011; 7(3):470–5.
25. Kumar P., Sharma A. Gonadotropin-releasing hormone analogs: Understanding advantages and limitations. *J Hum Reprod Sci.* 2014; 7(3):170–4.
26. Albano C., Smitz J., Camus M., Riethmüller-Winzen H., Van Steirteghem A., Devroey P. Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril.* 1997; 67(5):917–22.
27. Porter R.N., Smith W., Craft I.L., Abdulwahid N.A., Jacobs H.S. Induction of ovulation for in-vitro fertilisation using buserelin and gonadotropins. *Lancet (London, England).* 1984; 2(8414):1284–5.
28. Hernandez E.R. Embryo implantation and GnRH antagonists: embryo implantation: the Rubicon for GnRH antagonists. *Hum Reprod.* 2000; 15(6):1211–6.

29. Ludwig M., Katalinic A., Diedrich K. Use of GnRH antagonists in ovarian stimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol. Meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet.* 2001; 265(4):175–82.
30. Al-Inany H.G., Abou-Setta A.M., Aboulghar M. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception: a Cochrane review. *Reprod Biomed Online.* 2007; 14(5):640–9.
31. Lindheim S.R., Morales A.J. GnRH antagonists followed by a decline in serum estradiol results in adverse outcomes in donor oocyte cycles. *Hum Reprod.* 2003; 18(10):2048–51.
32. Bodri D., Vernaev V., Guillén J.J., Vidal R., Figueras F., Coll O. Comparison between a GnRH antagonist and a GnRH agonist flare-up protocol in oocyte donors: a randomized clinical trial. *Hum Reprod.* 2006; 21(9):2246–51.
33. Kolibianakis E.M., Collins J., Tarlatzis B.C., Devroey P., Diedrich K., Griesinger G. Among patients treated for IVF with gonadotrophins and GnRH analogues, is the probability of live birth dependent on the type of analogue used? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 12(6):651–71.
34. Moraloglu O., Kilic S., Karayalçin R., Yuksel B., Tasdemir N., Işik A., et al. Comparison of GnRH agonists and antagonists in normoresponder IVF/ICSI in Turkish female patients. *Adv Ther.* 2008; 25(3):266–73.
35. Wei A.Y., Mijal K.A., Christianson M.S., Schouweiler C.M., Lindheim S.R. Comparison of GnRH antagonists and flareup GnRH agonists in donor oocyte cycles. *J Reprod Med.* 2008; 53(3):147–50.
36. Kolibianakis E.M., Zikopoulos K., Smitz J., Camus M., Tournaye H., Van Steirteghem A.C., et al. Elevated progesterone at initiation of stimulation is associated with a lower ongoing pregnancy rate after IVF using GnRH antagonists. *Hum Reprod.* 2004; 19(7):1525–9.
37. Kolibianakis E.M., Bourgain C., Papanikolaou E.G., Camus M., Tournaye H.,

- Van Steirteghem A.C., et al. Prolongation of follicular phase by delaying hCG administration results in a higher incidence of endometrial advancement on the day of oocyte retrieval in GnRH antagonist cycles. *Hum Reprod.* 2005; 20(9):2453–6.
38. Baruffi R.L., Mauri A.L., Petersen C.G., Felipe V., Martins A.M., Cornicelli J., et al. Recombinant LH supplementation to recombinant FSH during induced ovarian stimulation in the GnRH-antagonist protocol: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online.* 2007; 14(1):14–25.
39. Chang S.Y., Lee C.L., Wang M.L., Hu M.L., Lai Y.M., Chang M.Y., et al. No detrimental effects in delaying initiation of gonadotropin administration after pituitary desensitization with gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril.* 1993; 59(1):183–6.
40. Ron-El R., Herman A., Golan A., Soffer Y., Nachum H., Caspi E. Ultrashort gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a) protocol in comparison with the long-acting GnRH-a protocol and menotropin alone. *Fertil Steril.* 1992; 58(6):1164–8.
41. Daya S. Gonadotropin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles. *Cochrane database Syst Rev.* 2000; (2):CD001299.
42. Pellicer A., Simón C., Miró F., Castellví R.M., Ruiz A., Ruiz M., et al. Ovarian response and outcome of in-vitro fertilization in patients treated with gonadotrophin-releasing hormone analogues in different phases of the menstrual cycle. *Hum Reprod.* 1989; 4(3):285–9.
43. Maheshwari A., Gibreel A., Siristatidis C.S., Bhattacharya S. Gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols for pituitary suppression in assisted reproduction. *Cochrane database Syst Rev.* 2011; (8):CD006919.
44. Siristatidis C.S., Gibreel A., Basios G., Maheshwari A., Bhattacharya S.

Gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols for pituitary suppression in assisted reproduction. *Cochrane database Syst Rev.* 2015; (11):CD006919.

45. Стимуляция яичников : практическое руководство / Рой Хомбург; пер. с англ. под ред. И. Ю. Когана. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2017. - 288 с. : ил.
46. Olivennes F., Fanchin R., Bouchard P., Taïeb J., Selva J., Frydman R. Scheduled administration of a gonadotrophin-releasing hormone antagonist (Cetrorelix) on day 8 of in-vitro fertilization cycles: a pilot study. *Hum Reprod.* 1995; 10(6):1382–6.
47. Ludwig M., Katalinic A., Banz C., Schröder A.K., Löning M., Weiss J.M., et al. Tailoring the GnRH antagonist cetrorelix acetate to individual patients' needs in ovarian stimulation for IVF: results of a prospective, randomized study. *Hum Reprod.* 2002; 17(11):2842–5.
48. Youssef M.A.F.M., Van der Veen F., Al-Inany H.G., Mochtar M.H., Griesinger G., Nagi Mohesen M., et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist-assisted reproductive technology. *Cochrane database Syst Rev.* 2014; (10):CD008046.
49. Al-Inany H.G., Youssef M.A., Ayeleke R.O., Brown J., Lam W.S., Broekmans F.J. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane database Syst Rev.* 2016; 4:CD001750.
50. Bosch E., Valencia I., Escudero E., Crespo J., Simón C., Remohí J., et al. Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 2003; 80(6):1444–9.
51. Messinis I.E. Ovarian feedback, mechanism of action and possible clinical implications. *Hum Reprod Update.* 12(5):557–71.
52. Lin Y., Chen Q., Zhu J., Teng Y., Huang X., Chen X. Progesterin-Primed Ovarian Stimulation with Clomiphene Citrate Supplementation May Be More Feasible

for Young Women with Diminished Ovarian Reserve Compared with Standard Progestin-Primed Ovarian Stimulation: A Retrospective Study. *Drug Des Devel Ther.* 2021; 15:5087–97.

53. Beguería R., García D., Vassena R., Rodríguez A. Medroxyprogesterone acetate versus ganirelix in oocyte donation: a randomized controlled trial. *Hum Reprod.* 2019; 34(5):872–80.
54. Schindler A.E., Campagnoli C., Druckmann R., Huber J., Pasqualini J.R., Schweppe K.W., et al. Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas.* 2003; 46 Suppl 1:S7–16.
55. Дмитриева И.Е., Мартиросян Я.О., Джанашвили Л.Г., Дементьева В.О., Адамян Л.В., Назаренко Т.А. Тактика сохранения репродуктивного материала при раке шейки матки. *Репродуктивное здоровье и ВРТ. Медицинский совет.* 2021; (3):28–32.
56. Дмитриева И.Е., Назаренко Т.А., Бурдули А.Г., Полушкина Е.С., Хохлова С.В. Восстановление репродуктивной функции у женщин после лечения неходжкинских лимфом. *Акушерство и гинекология.* 2021; (11):187–93.
57. Назаренко Т.А., Ашрафян Л.А., Джанашвили Л.Г., Мартиросян Я.О. Сохранение репродуктивного материала у онкологических больных как медико-социальная и организационная проблема. *Онкология Журнал им ПА Герцена.* 2020; 9(1):60–5.
58. Назаренко Т.А., Бурдули А.Г., Мартиросян Я.О., Джанашвили Л.Г. Криоконсервация репродуктивного материала у онкологических больных. *Акушерство и гинекология.* 2019; (9):40–8.
59. Краснопольская К.В., Новикова О.В., Шевчук А.С., Ершова И.Ю., Куликова С.Е., Тихоновская М.Н., et al. реализация репродуктивной функции у онкологических больных. *Онкогинекология.* 2021; 3(39):49–56.
60. Буняева Е.С., Кириллова А.О., Хабас Г.Н., Абубакиров А.Н., Мишиева Н.Г.

Современные методы сохранения фертильности у пациенток с онкологическими заболеваниями органов репродуктивной системы. *Акушерство и гинекология*. 2021; (7):45–52.

61. Cobo A., Meseguer M., Remohí J., Pellicer A. Use of cryo-banked oocytes in an ovum donation programme: a prospective, randomized, controlled, clinical trial. *Hum Reprod*. 2010; 25(9):2239–46.
62. Корнеева И.Е., Перминова С.Г., Павлович С.В., Смольникова В.Ю., Мишиева Н.Г., Юренева С.В., et al. Диагностика, лечение и профилактика синдрома гиперстимуляции яичников. Учебное пособие Москва. 2016; .
63. Паскарь С.С., Калугина А.С., Ткачук А.Г. Принципы безопасного лечения бесплодия с помощью вспомогательных репродуктивных технологий. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2020; 69(4):83–8.
64. Drakopoulos P., Blockeel C., Stoop D., Camus M., de Vos M., Tournaye H., et al. Conventional ovarian stimulation and single embryo transfer for IVF/ICSI. How many oocytes do we need to maximize cumulative live birth rates after utilization of all fresh and frozen embryos? *Hum Reprod*. 2016; 31(2):370–6.
65. Корнеева И.Е., Перминова С.Г., Пырегов А.В., Павлович С.В., Смольникова В.Ю., Мишиева Н.Г., et al. Диагностика, лечение и профилактика синдрома гиперстимуляции яичников. Учебно-методическое пособие / Москва, 2018 (2-е издание, переработанное и дополненное).
66. Celada P., Bosch E. Freeze-all, for whom, when, and how. *Ups J Med Sci*. 2020; 125(2):104–11.
67. Simón C., Mercader A., Frances A., Gimeno M.J., Polan M.L., Remohí J., et al. Hormonal regulation of serum and endometrial IL-1 alpha, IL-1 beta and IL-1ra: IL-1 endometrial microenvironment of the human embryo at the apposition phase under physiological and supraphysiological steroid level conditions. *J Reprod Immunol*. 1996; 31(3):165–84.

68. Devroey P., Polyzos N.P., Blockeel C. An OHSS-Free Clinic by segmentation of IVF treatment. *Hum Reprod.* 2011; 26(10):2593–7.
69. Akagbosu F., Marcus S., Abusheikha N., Avery S., Brinsden P. Does ovarian hyperstimulation syndrome affect the quality of oocytes? *Hum Reprod.* 1998; 13(9):2583–4.
70. Roque M., Haahr T., Geber S., Esteves S.C., Humaidan P. Fresh versus elective frozen embryo transfer in IVF/ICSI cycles: a systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes. *Hum Reprod Update.* 2019; 25(1):2–14.
71. Zhu D., Zhang J., Cao S., Zhang J., Heng B.C., Huang M., et al. Vitrified-warmed blastocyst transfer cycles yield higher pregnancy and implantation rates compared with fresh blastocyst transfer cycles--time for a new embryo transfer strategy? *Fertil Steril.* 2011; 95(5):1691–5.
72. Shapiro B.S., Daneshmand S.T., Garner F.C., Aguirre M., Hudson C., Thomas S. Evidence of impaired endometrial receptivity after ovarian stimulation for in vitro fertilization: a prospective randomized trial comparing fresh and frozen-thawed embryo transfer in normal responders. *Fertil Steril.* 2011; 96(2):344–8.
73. Shapiro B.S., Daneshmand S.T., Restrepo H., Garner F.C., Aguirre M., Hudson C. Matched-cohort comparison of single-embryo transfers in fresh and frozen-thawed embryo transfer cycles. *Fertil Steril.* 2013; 99(2):389–92.
74. Roque M., Lattes K., Serra S., Solà I., Geber S., Carreras R., et al. Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2013; 99(1):156–62.
75. Cohen J., Grudzinskas G., Johnson M. Welcome to the '100% club'! *Reprod Biomed Online.* 2012; 24(4):375–6.
76. Kuwayama M. Highly efficient vitrification for cryopreservation of human oocytes and embryos: the Cryotop method. *Theriogenology.* 2007; 67(1):73–80.

77. Cobo A., de los Santos M.J., Castellò D., Gámiz P., Campos P., Remohí J. Outcomes of vitrified early cleavage-stage and blastocyst-stage embryos in a cryopreservation program: evaluation of 3,150 warming cycles. *Fertil Steril.* 2012; 98(5):1138-46.e1.
78. Roque M., Valle M., Guimarães F., Sampaio M., Geber S. Freeze-all policy: fresh vs. frozen-thawed embryo transfer. *Fertil Steril.* 2015; 103(5):1190–3.
79. Shi Y., Sun Y., Hao C., Zhang H., Wei D., Zhang Y., et al. Transfer of Fresh versus Frozen Embryos in Ovulatory Women. *N Engl J Med.* 2018; 378(2):126–36.
80. Vuong L.N., Dang V.Q., Ho T.M., Huynh B.G., Ha D.T., Pham T.D., et al. IVF Transfer of Fresh or Frozen Embryos in Women without Polycystic Ovaries. *N Engl J Med.* 2018; 378(2):137–47.
81. Garcia-Velasco J.A., Fatemi H.M. To pill or not to pill in GnRH antagonist cycles: that is the question! *Reprod Biomed Online.* 2015; 30(1):39–42.
82. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: asrm@asrm.org. Fertility preservation in patients undergoing gonadotoxic therapy or gonadectomy: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2019; 112(6):1022–33.
83. Esteves S.C., Carvalho J.F., Bento F.C., Santos J. A Novel Predictive Model to Estimate the Number of Mature Oocytes Required for Obtaining at Least One Euploid Blastocyst for Transfer in Couples Undergoing in vitro Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection: The ART Calculator. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019; 10:99.
84. Polyzos N.P., Devroey P. A systematic review of randomized trials for the treatment of poor ovarian responders: is there any light at the end of the tunnel? *Fertil Steril.* 2011; 96(5):1058-61.e7.
85. Cakmak H., Katz A., Cedars M.I., Rosen M.P. Effective method for emergency

fertility preservation: random-start controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 2013; 100(6):1673–80.

86. Kuang Y., Chen Q., Hong Q., Lyu Q., Ai A., Fu Y., et al. Double stimulations during the follicular and luteal phases of poor responders in IVF/ICSI programmes (Shanghai protocol). *Reprod Biomed Online*. 2014; 29(6):684–91.
87. Kahraman S., Çil A.P., Oğur Ç., Semiz A., Yılanlıoğlu C. Probability of finding at least one euploid embryo and the euploidy rate according to the number of retrieved oocytes and female age using FISH and array CGH. *J Reprod Biotechnol Fertil*. 2016; 5:205891581665327.
88. Vaiarelli A., Cimadomo D., Trabucco E., Vallefucio R., Buffo L., Dusi L., et al. Double Stimulation in the Same Ovarian Cycle (DuoStim) to Maximize the Number of Oocytes Retrieved From Poor Prognosis Patients: A Multicenter Experience and SWOT Analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018; 9:317.
89. Ubaldi F.M., Capalbo A., Vaiarelli A., Cimadomo D., Colamaria S., Alviggi C., et al. Follicular versus luteal phase ovarian stimulation during the same menstrual cycle (DuoStim) in a reduced ovarian reserve population results in a similar euploid blastocyst formation rate: new insight in ovarian reserve exploitation. *Fertil Steril*. 2016; 105(6):1488-1495.e1.
90. Sighinolfi G., Sunkara S.K., La Marca A. New strategies of ovarian stimulation based on the concept of ovarian follicular waves: From conventional to random and double stimulation. *Reprod Biomed Online*. 2018; 37(4):489–97.
91. Glujovsky D., Pesce R., Miguens M., Sueldo C.E., Lattes K., Ciapponi A. How effective are the non-conventional ovarian stimulation protocols in ART? A systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2020; 37(12):2913–28.
92. Cardoso M.C. de A., Evangelista A., Sartório C., Vaz G., Werneck C.L.V., Guimarães F.M., et al. Can ovarian double-stimulation in the same menstrual

cycle improve IVF outcomes? *JBRA Assist Reprod.* 2017; 21(3):217–21.

93. Vaiarelli A., Cimadomo D., Argento C., Ubaldi N., Trabucco E., Drakopoulos P., et al. Double stimulation in the same ovarian cycle (DuoStim) is an intriguing strategy to improve oocyte yield and the number of competent embryos in a short timeframe. *Minerva Ginecol.* 2019; 71(5):372–6.
94. Zhang J. Luteal phase ovarian stimulation following oocyte retrieval: is it helpful for poor responders? *Reprod Biol Endocrinol.* 2015; 13:76.
95. Ubaldi F.M., Vaiarelli A., Alviggi C., Trabucco E., Zullo F., Capalbo A., et al. Double stimulation in a single menstrual cycle increases the number of oocytes retrieved in poor prognosis patients undergoing IVF treatment. Prospective study with historical control. *Fertil Steril.* 2015; 104(3):e322.
96. Tsampras N., Gould D., Fitzgerald C.T. Double ovarian stimulation (DuoStim) protocol for fertility preservation in female oncology patients. *Hum Fertil (Camb).* 2017; 20(4):248–53.
97. Sönmezer M., Türkçüoğlu I., Coşkun U., Oktay K. Random-start controlled ovarian hyperstimulation for emergency fertility preservation in letrozole cycles. *Fertil Steril.* 2011; 95(6):2125.e9-11.
98. Buendgen N.K., Schultze-Mosgau A., Cordes T., Diedrich K., Griesinger G. Initiation of ovarian stimulation independent of the menstrual cycle: a case-control study. *Arch Gynecol Obstet.* 2013; 288(4):901–4.
99. Qin N., Chen Q., Hong Q., Cai R., Gao H., Wang Y., et al. Flexibility in starting ovarian stimulation at different phases of the menstrual cycle for treatment of infertile women with the use of in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2016; 106(2):334-341.e1.
100. Cakmak H., Rosen M.P. Random-start ovarian stimulation in patients with cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2015; 27(3):215–21.

101. Cavagna F., Pontes A., Cavagna M., Dzik A., Donadio N.F., Portela R., et al. Specific protocols of controlled ovarian stimulation for oocyte cryopreservation in breast cancer patients. *Curr Oncol.* 2018; 25(6):e527–32.
102. von Wolff M., Capp E., Jauckus J., Strowitzki T., Germeyer A., FertiPROTEKT study group. Timing of ovarian stimulation in patients prior to gonadotoxic therapy: an analysis of 684 stimulations. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016; 199:146–9.
103. Jin B., Niu Z., Xu B., Chen Q., Zhang A. Comparison of clinical outcomes among dual ovarian stimulation, mild stimulation and luteal phase stimulation protocols in women with poor ovarian response. *Gynecol Endocrinol.* 2018; 34(8):694–7.
104. Lin L.-T., Vitale S.G., Chen S.-N., Wen Z.-H., Tsai H.-W., Chern C.-U., et al. Luteal Phase Ovarian Stimulation May Improve Oocyte Retrieval and Oocyte Quality in Poor Ovarian Responders Undergoing In Vitro Fertilization: Preliminary Results from a Single-Center Prospective Pilot Study. *Adv Ther.* 2018; 35(6):847–56.
105. Llácer J., Moliner B., Luque L., Bernabéu A., Lledó B., Castillo J.C., et al. Luteal phase stimulation versus follicular phase stimulation in poor ovarian responders: results of a randomized controlled trial. *Reprod Biol Endocrinol.* 2020; 18(1):9.
106. Zhang W., Wang M., Wang S., Bao H., Qu Q., Zhang N., et al. Luteal phase ovarian stimulation for poor ovarian responders. *JBRA Assist Reprod.* 2018; 22(3):193–8.
107. Martazanova B, Mishieva N, Bogatyreva K, Veyukova M, Kodileva T, Burmenskaya O, et al. Double stimulation in a single menstrual cycle in patients with reduced ovarian reserve: hormonal characteristics, cumulus cell gene expression, embryological and clini.
108. Vaiarelli A., Cimadomo D., Conforti A., Schimberni M., Giuliani M., D'Alessandro P., et al. Luteal phase after conventional stimulation in the same

ovarian cycle might improve the management of poor responder patients fulfilling the Bologna criteria: a case series. *Fertil Steril*. 2020; 113(1):121–30.

109. Wang Y., Chen Q., Wang N., Chen H., Lyu Q., Kuang Y. Controlled Ovarian Stimulation Using Medroxyprogesterone Acetate and hMG in Patients With Polycystic Ovary Syndrome Treated for IVF: A Double-Blind Randomized Crossover Clinical Trial. *Medicine (Baltimore)*. 2016; 95(9):e2939.
110. Колода Ю.А., Подзолкова Н.М., Петриченко Ю.Г. Прогнозирование исходов и выбор оптимальной тактики в программах вспомогательных репродуктивных технологий при синдроме поликистозных яичников. *Акушерство и гинекология*. 2021; (2):84–9.
111. Подзолкова Н.М., Колода Ю.А. Современные представления о синдроме поликистозных яичников. *Фарматека*. 2016; 3(316):6–13.
112. Калугина А.С., Бобров К.Ю. Синдром поликистозных яичников: современные представления и роль в проблеме бесплодия (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2015; 21(2):31–5.
113. Dong J., Wang Y., Chai W.R., Hong Q.Q., Wang N.L., Sun L.H., et al. The pregnancy outcome of progestin-primed ovarian stimulation using 4 versus 10 mg of medroxyprogesterone acetate per day in infertile women undergoing in vitro fertilisation: a randomised controlled trial. *BJOG*. 2017; 124(7):1048–55.
114. Chen Q., Wang Y., Sun L., Zhang S., Chai W., Hong Q., et al. Controlled ovulation of the dominant follicle using progestin in minimal stimulation in poor responders. *Reprod Biol Endocrinol*. 2017; 15(1):71.
115. Yildiz S., Turkgeldi E., Angun B., Eraslan A., Urman B., Ata B. Comparison of a novel flexible progestin primed ovarian stimulation protocol and the flexible gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol for assisted reproductive technology. *Fertil Steril*. 2019; 112(4):677–83.
116. Zhu X., Ye H., Fu Y. Use of Utrogestan during controlled ovarian

hyperstimulation in normally ovulating women undergoing in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection treatments in combination with a “freeze all” strategy: a randomized controlled dose-finding study. *Fertil Steril*. 2017; 107(2):379-386.e4.

117. Zhu X., Fu Y. Randomized, Controlled Pilot Study of Low-Dose Human Chorionic Gonadotropin Administration Beginning From the Early Follicular Phase for Women With Polycystic Ovarian Syndrome Undergoing Ovarian Stimulation Using the Progesterone Protocol. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019; 10:875.
118. Zhu X., Ye H., Fu Y. Duphaston and human menopausal gonadotropin protocol in normally ovulatory women undergoing controlled ovarian hyperstimulation during in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatments in combination with embryo cryopreservation. *Fertil Steril*. 2017; 108(3):505-512.e2.
119. Hossein Rashidi B., Tarafdari A., Ghazimirsaeed S.T., Shahrokh Tehraninezhad E., Keikha F., Eslami B., et al. Comparison of Dydrogesterone and GnRH Antagonists for Prevention of Premature LH Surge in IVF/ICSI Cycles: A Randomized Controlled Trial. *J Fam Reprod Heal*. 2020; 14(1):14–20.
120. Schindler A.E. Progestational effects of dydrogesterone in vitro, in vivo and on the human endometrium. *Maturitas*. 2009; 65 Suppl 1:S3-11.
121. Nadarajah R., Rajesh H., Wong K.Y., Faisal F., Yu S.L. Live birth rates and safety profile using dydrogesterone for luteal phase support in assisted reproductive techniques. *Singapore Med J*. 2017; 58(6):294–7.
122. Fatemi H., Bilger W., Denis D., Griesinger G., La Marca A., Longobardi S., et al. Dose adjustment of follicle-stimulating hormone (FSH) during ovarian stimulation as part of medically-assisted reproduction in clinical studies: a systematic review covering 10 years (2007-2017). *Reprod Biol Endocrinol*. 2021; 19(1):68.

123. Lin Y.-C., Chang S.-Y., Lan K.-C., Huang H.-W., Chang C.-Y., Tsai M.-Y., et al. Human oocyte maturity in vivo determines the outcome of blastocyst development in vitro. *J Assist Reprod Genet.* 2003; 20(12):506–12.
124. Veeck L.L., Zaninovic N. *An Atlas of Human Blastocysts* [Internet]. Chemistry & CRC Press; 2003.
125. Brinsden P.R., editor. *A textbook of in vitro fertilization and assisted reproduction : the Bourn Hall guide to clinical and laboratory practice.* 2nd ed. NY: Parthenon Pub. Group; 1999. 564 p.
126. Veeck L.L. Oocyte quality and assisted conception. *Acta Eur Fertil.* 1992; 23(6):275–88.
127. Brinsden PR. *A Textbook of In Vitro Fertilization and Assisted Reproduction: The Bourn Hall Guide to Clinical and Laboratory Practice: Third Edition.* Informa Healthcare. 2005:704.
128. Gardner D.K. *Textbook of assisted reproductive technologies : laboratory and clinical perspectives.* 3rd ed. UK: Informa Healthcare; 2009. 944 p.
129. Gardner D.K., Schoolcraft W.B. *In vitro culture of human blastocysts.* - Jansen R., Mortimer D. (eds.) *Towards Reproductive Certainty: Infertility and Genetics Beyond.* - Carnforth: Parthenon Press, 1999. - P. 378 - 388.
130. Шафеев Р.А. Репродуктивные технологии / Курс лекций на Биологическом факультете МГУ им. М.В. Ломоносова, 2008.
131. Краснопольская К.В., Бурумкулова Ф.Ф., Гутуева Ч.Г., Соколова Е.А., Исакова К.М. Эффективность программ экстракорпорального оплодотворения у пациенток с заболеваниями щитовидной железы. *Российский вестник акушера-гинеколога.* 2020; 20(2):64–70.
132. Massin N. New stimulation regimens: endogenous and exogenous progesterone use to block the LH surge during ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod*

Update. 2017; 23(2):211–20.

133. Vlasisavljevic V., Apter S., Capalbo A., D'Angelo A., Gianaroli L., Griesinger G., et al. The Maribor consensus: report of an expert meeting on the development of performance indicators for clinical practice in ART. *Hum Reprod Open*. 2021; 2021(3).
134. Korzh V. Zygotic Genome Activation: Critical Prelude to the Most Important Time of Your Life. *Methods Mol Biol*. 2021; 2218:319–29.
135. Ing-Simmons E., Rigau M., Vaquerizas J.M. Emerging mechanisms and dynamics of three-dimensional genome organisation at zygotic genome activation. *Curr Opin Cell Biol*. 2022; 74:37–46.
136. Anagnostopoulou C., Maldonado Rosas I., Singh N., Gugnani N., Chockalingham A., Singh K., et al. Oocyte quality and embryo selection strategies: a review for the embryologists, by the embryologists. *Panminerva Med*. 2022; 64(2):171–84.
137. Hall J.E., Brodie T.D., Badger T.M., Rivier J., Vale W., Conn P.M., et al. Evidence of differential control of FSH and LH secretion by gonadotropin-releasing hormone (GnRH) from the use of a GnRH antagonist. *J Clin Endocrinol Metab*. 1988; 67(3):524–31.
138. Letterie G.S. Inhibition of gonadotropin surge by a brief mid-cycle regimen of ethinyl estradiol and norethindrone: possible role in in vitro fertilization. *Gynecol Endocrinol*. 2000; 14(1):1–4.
139. Richter T.A., Robinson J.E., Lozano J.M., Evans N.P. Progesterone can block the preovulatory gonadotropin-releasing hormone/luteinising hormone surge in the ewe by a direct inhibitory action on oestradiol-responsive cells within the hypothalamus. *J Neuroendocrinol*. 2005; 17(3):161–9.
140. Sitruk-Ware R. New progestagens for contraceptive use. *Hum Reprod Update*. 12(2):169–78.

141. Bu Z., Zhao F., Wang K., Guo Y., Su Y., Zhai J., et al. Serum progesterone elevation adversely affects cumulative live birth rate in different ovarian responders during in vitro fertilization and embryo transfer: a large retrospective study. *PLoS One*. 2014; 9(6):e100011.
142. Mizrachi Y., Horowitz E., Farhi J., Raziel A., Weissman A. Ovarian stimulation for freeze-all IVF cycles: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2020; 26(1):118–35.
143. Cui L., Lin Y., Wang F., Chen C. Effectiveness of progesterone-primed ovarian stimulation in assisted reproductive technology: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2021; 303(3):615–30.
144. Alper M.M., Fauser B.C. Ovarian stimulation protocols for IVF: is more better than less? *Reprod Biomed Online*. 2017; 34(4):345–53.
145. Reichman D.E., Zakarin L., Chao K., Meyer L., Davis O.K., Rosenwaks Z. Diminished ovarian reserve is the predominant risk factor for gonadotropin-releasing hormone antagonist failure resulting in breakthrough luteinizing hormone surges in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril*. 2014; 102(1):99–102.
146. Huang J., Xie Q., Lin J., Lu X., Zhu J., Gao H., et al. Progestin-Primed Ovarian Stimulation with Dydrogesterone versus Medroxyprogesterone Acetate in Women with Polycystic Ovarian Syndrome for in vitro Fertilization: A Retrospective Cohort Study. *Drug Des Devel Ther*. 2019; 13:4461–70.
147. Zhu X., Zhang X., Fu Y. Utrogestan as an effective oral alternative for preventing premature luteinizing hormone surges in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Medicine (Baltimore)*. 2015; 94(21):e909.
148. Iwami N., Kawamata M., Ozawa N., Yamamoto T., Watanabe E., Moriwaka O., et al. New trial of progestin-primed ovarian stimulation using dydrogesterone versus a typical GnRH antagonist regimen in assisted reproductive technology.

Arch Gynecol Obstet. 2018; 298(3):663–71.

149. Acharya K.S., Acharya C.R., Bishop K., Harris B., Raburn D., Muasher S.J. Freezing of all embryos in in vitro fertilization is beneficial in high responders, but not intermediate and low responders: an analysis of 82,935 cycles from the Society for Assisted Reproductive Technology registry. *Fertil Steril.* 2018; 110(5):880–7.
150. Назаренко Т.А., Мартиросян Я.О., Бирюкова А.М., Краснова В.Г. Алгоритм применения рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона в клинической практике. *Акушерство и гинекология.* 2022; (S6):9–15.
151. Lu X., Hong Q., Sun L., Chen Q., Fu Y., Ai A., et al. Dual trigger for final oocyte maturation improves the oocyte retrieval rate of suboptimal responders to gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril.* 2016; 106(6):1356–62.
152. Abbara A., Hunjan T., Ho V.N.A., Clarke S.A., Comminos A.N., Izzi-Engbeaya C., et al. Endocrine Requirements for Oocyte Maturation Following hCG, GnRH Agonist, and Kisspeptin During IVF Treatment. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020; 11:537205.
153. Weiss A., Neril R., Geslevich J., Lavee M., Beck-Fruchter R., Golan J., et al. Lag time from ovulation trigger to oocyte aspiration and oocyte maturity in assisted reproductive technology cycles: a retrospective study. *Fertil Steril.* 2014; 102(2):419–23.
154. He W., Li X., Adekunbi D., Liu Y., Long H., Wang L., et al. Hypothalamic effects of progesterone on regulation of the pulsatile and surge release of luteinising hormone in female rats. *Sci Rep.* 2017; 7(1):8096.
155. Shen X., Long H., Guo W., Gao H., Cai R., Jin W., et al. Optimal Ovulation Trigger-Oocyte Pickup Interval in Progestin-Primed Ovarian Stimulation Protocol: A Retrospective Study Using Propensity Score Matching. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019; 10:694.

156. Wu H.-M., Chang H.-M., Leung P.C.K. Gonadotropin-releasing hormone analogs: Mechanisms of action and clinical applications in female reproduction. *Front Neuroendocrinol.* 2021; 60:100876.
157. Eftekhar M., Hoseini M., Saeed L. Progesterone-primed ovarian stimulation in polycystic ovarian syndrome: An RCT. *Int J Reprod Biomed.* 2019; 17(9):671–6.
158. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: ASRM@asrm.org, Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Prevention and treatment of moderate and severe ovarian hyperstimulation syndrome: a guideline. *Fertil Steril.* 2016; 106(7):1634–47.
159. Ling B., Feng D.Q., Zhou Y., Gao T., Wei H.M., Tian Z.G. Effect of conditioned medium of mesenchymal stem cells on the in vitro maturation and subsequent development of mouse oocyte. *Brazilian J Med Biol Res = Rev Bras Pesqui medicas e Biol.* 2008; 41(11):978–85.
160. Rashtian J., Zhang J. Luteal-phase ovarian stimulation increases the number of mature oocytes in older women with severe diminished ovarian reserve. *Syst Biol Reprod Med.* 2018; 64(3):216–9.
161. Назаренко Т.А., Мартиросян Я.О., Бирюкова А.М., Джанашвили Л.Г., Иванец Т.Ю., Сухова Ю.В. Опыт стимуляции яичников в режиме “random-start” протоколов для сохранения репродуктивного материала онкологических больных. *Акушерство и гинекология.* 2020; (4):52–8.
162. Назаренко Т.А., Краснопольская К.В. Модификации схем стимуляции яичников: показания и эффективность. *Российский вестник акушера-гинеколога.* 2017; 17(5):57–61.
163. Zhang J., Du M., Li Z., Liu W., Ren B., Zhang Y., et al. Comparison of Dydrogesterone and Medroxyprogesterone in the Progestin-Primed Ovarian

Stimulation Protocol for Patients With Poor Ovarian Response. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12:708704.

164. Giles J., Alama P., Gamiz P., Vidal C., Badia P., Pellicer A., et al. Medroxyprogesterone acetate is a useful alternative to a gonadotropin-releasing hormone antagonist in oocyte donation: a randomized, controlled trial. *Fertil Steril*. 2021; 116(2):404–12.
165. Guan S., Feng Y., Huang Y., Huang J. Progestin-Primed Ovarian Stimulation Protocol for Patients in Assisted Reproductive Technology: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12:702558.
166. Ata B., Seli E. Economics of assisted reproductive technologies. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2010; 22(3):183–8.
167. Evans M.B., Parikh T., DeCherney A.H., Csokmay J.M., Healy M.W., Hill M.J. Evaluation of the cost-effectiveness of ovulation suppression with progestins compared with GnRH analogs in assisted reproduction cycles. *Reprod Biomed Online*. 2019; 38(5):691–8.
168. Mathieu d'Argent E., Ferrier C., Zacharopoulou C., Ahdad-Yata N., Boudy A.-S., Cantalloube A., et al. Outcomes of fertility preservation in women with endometriosis: comparison of progestin-primed ovarian stimulation versus antagonist protocols. *J Ovarian Res*. 2020; 13(1):18.