

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное учреждение
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И
ПЕРИНАТОЛОГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И.КУЛАКОВА»

На правах рукописи

МАРТЫНОВА
Мария Валерьевна

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

14.01.01. – акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

д.м.н. Мишиева Н.Г.

Москва – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ:

		Стр.
ВВЕДЕНИЕ	3
Глава 1.	Роль программирования индуцированного цикла в повышении эффективности лечения бесплодия в протоколах с антагонистами гонадотропин рилизинг-гормона.....	9
	1.1. Введение.....	9
	1.2. Методы и схемы стимуляции овуляции.....	10
	1.3. Способы программирования индуцированного цикла в протоколах с антагонистами ГнРГ	20
	1.4. Имплантация эмбриона и рецептивность эндометрия.....	30
	1.5. Заключение.....	42
Глава 2.	Материал и методы исследования.....	44
	2.1. Материал исследования.....	44
	2.2. Методы исследования.....	47
	2.3. Схемы назначения предварительной подготовки к стимуляции функции яичников.....	52
	2.4. Этапы программы ЭКО и ПЭ.....	54
	2.5. Статистический анализ полученных данных	59
Глава 3.	Результаты собственных исследований.....	60
	3.1. Клинико-anamnestическая характеристика пациенток.....	60
	3.2. Результаты клинико-лабораторного обследования.....	66
	3.3. Оценка эмбриологических параметров.....	71
	3.4. Цитокиновый профиль цервикальной слизи женщин исследуемых групп.....	73
	3.5. Оценка исходов программ ЭКО.....	81
	3.6. Результаты ROC-анализа и бинарной логистической регрессии.....	82
Глава 4.	Обсуждение полученных результатов.....	86
Выводы	102
Практические рекомендации	104
Список сокращений	106
Список литературы	109
Приложение		127

ВВЕДЕНИЕ

Антагонисты гонадотропин рилизинг-гормона широко используются в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) на протяжении последних 12 лет.

Это обусловлено, как за счет сокращением времени стимуляции, а также суммарной дозы гонадотропинов, возможности профилактики развития синдрома гиперстимуляции яичников, а также отсутствия эффектов гипоэстрогемии, возникающей на фоне десенситизации ГГЯ системы в протоколах с аГнРГ. Согласно последнему Кохрановскому метаанализу, частота живорождения при использовании протокола с антГнРГ сопоставима с таковой при использовании протоколов с аГнРГ. Однако лимитирующим фактором при применении протоколов с антГнРГ является зачастую отсутствие оптимальных условий для стимуляции, а также привязанность пациентов и клиницистов ко времени начала стимуляции, которым является 2-3 день менструального цикла, что затрудняет программирование старта программы ЭКО [81].

Это привело к поиску способов программирования индуцированного цикла с целью оптимизации созревания фолликулярного пула в цикле стимуляции суперовуляции, и управления датой начала старта стимуляции функции яичников. В настоящее время существует множество методов программирования начала программы ЭКО, которые позволяют синхронизировать пул антральных фолликулов и регулировать старт стимуляции, и тем самым увеличить число получаемых ооцитов, самыми перспективными из которых являются:- введение комбинированных оральных контрацептивов,- введение препаратов эстрадиола в лютеиновой фазе предшествующего цикла, а также введение антГнРГ в течение 3х дней до старта стимуляции функции яичников.

Однако согласно последним данным прием КОК в цикле перед программой ЭКО снижает частоту наступления беременности из-за возможного неблагоприятного влияния гестагенного компонента на рецептивность эндометрия, а также длительного подавления уровня ЛГ, который необходим для правильного течения процесса фолликулогенеза [81]. Тем не менее, согласно

данным Garsia-Velasco и соавт. назначение КОК в цикле перед программой ЭКО по протоколу с антагонистами ГнРГ в режиме на 14 дней не оказывает негативного влияния на эффективность программ ЭКО [73].

Другим методом программирования цикла является кратковременное назначение антагонистов ГнРГ в раннюю фолликулиновую фазу до начала гонадотропной стимуляции функции яичников, которая основывается, на подавлении секреции гипофизарных гонадотропинов и, таким образом, гонадотропин-зависимую продукцию половых стероидных гормонов антагонистами ГнРГ [193].

Применение оральных эстрогенов с середины лютеиновой фазы цикла, предшествующего стимуляции яичников, для программирования циклов ЭКО основывается на ингибирующем эффекте эстрадиола на рост фолликула по механизму отрицательной обратной связи. Впервые эффективность назначения 17β -эстрадиола перед проведением процедуры ЭКО по протоколу с антГнРГ была изучена R. Fanchin и J.S. Cunha-Filho (2003). Авторы продемонстрировали, что эстрадиол может способствовать синхронизации роста антральных фолликулов, однако влияние данной подготовки на клинические исходы ЭКО остается дискуссионным [61].

Обсуждаются также вопросы о программировании индуцированного цикла с помощью назначения эстрогенов с середины лютеиновой фазы предыдущего цикла и отмены за день до начала стимуляции функции яичников. Назначение эстрогенов в таком режиме способствует формированию синхронного пула фолликулов, что улучшает результаты стимуляции функции яичников и приводит к повышению эффективности лечения [63; 84].

Таким образом, на сегодняшний день существует актуальная проблема повышения результативности программ ЭКО в протоколах с антагонистами ГнРГ. Не определена целесообразность программирования индуцированного цикла, обсуждаются вопросы о создании оптимальных условий для проведения стимуляции функции яичников. Для изучения этих вопросов планируется проведение данного исследования.

Цель исследования

Оптимизация лечения бесплодия в программе ЭКО в протоколах с антагонистами ГнРГ путем программирования индуцированного цикла с использованием комбинированных оральных контрацептивов (КОК), эстрогенов и антагонистов ГнРГ.

Задачи исследования

1. Изучить динамику концентраций половых стероидных гормонов в циклах с антагонистами ГнРГ при использовании различных схем синхронизации роста фолликулов.
2. Исследовать параметры фолликулогенеза, оогенеза и раннего эмбриогенеза у изучаемых групп больных.
3. Оценить состояние рецептивности эндометрия в протоколах с антагонистами ГнРГ путем определения содержания LIF, LIFR, IL6 и TGF –beta 2 в цервикальной слизи у изучаемых групп больных.
4. Провести сравнительную оценку частоты наступления беременности у изучаемых групп пациенток.
5. На основании полученных данных разработать алгоритм программирования индуцированного цикла с антагонистами ГнРГ в программах ВРТ.

Научная новизна

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

CSF, IFN- γ , IP-10, MCP-1. Дана сравнительная оценка эффективности программ ЭКО при различных вариантах программирования индуцированного цикла в протоколах с антГнРГ.

Практическая значимость

Показана возможность синхронизации фолликулярного пула к началу стимуляции функции яичников путем гормональной подготовки различными методами перед вступлением в протокол с антГнРГ. Доказано отсутствие негативного влияния на фолликуло-, оо- и эмбриогенез, а также влияния на длительность стимуляции и суммарное потребление гонадотропинов при использовании различных методов программирования начала цикла. На основании сравнительной оценки уровней цитокинов в цервикальной слизи в динамике лютеиновой фазы определено влияние изучаемых методов подготовки на эндометрий, а также определена целесообразность ПЭ в лечебном цикле в зависимости от применяемого метода претритмента. На основании ROC-анализа определены пороговые значения концентраций цитокинов в цервикальной слизи, позволяющие прогнозировать вероятность наступления беременности. Результаты исследования позволили разработать алгоритм дифференцированного подхода к программированию индуцированного цикла в протоколах с антГнРГ.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Применение комбинированных оральных контрацептивов, эстрадиола валерата в предшествующем цикле, а также введение антагониста гонадотропин-рилизинг гормона в начале цикла стимуляции позволяет эффективно программировать время вступления в протокол ЭКО и начало стимуляции яичников в протоколе с антагонистами ГнРГ, не оказывая негативного влияния на фолликуло-, оо- и эмбриогенез. Применение КОК и эстрадиола валерата позволяет сформировать большой пул синхронных фолликулов на начало стимуляции яичников и, соответственно, получить большее количество

преовуляторных фолликулов, зрелых ооцитов и бластоцист отличного качества, по сравнению с отсутствием подготовки к вступлению в программу ЭКО.

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

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

Личный вклад автора в проведенное исследование

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

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

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

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

Апробация результатов

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

Внедрение результатов исследования в практику

На основании полученных результатов разработан персонифицированный алгоритм ведения пациенток в программе ЭКО с различными предварительными подготовками и внедрен в практическую деятельность 1-го отделения гинекологического ФГБУ «НМИЦ АГ и П им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Результаты исследования широко используются для курсантов, слушателей семинаров, аспирантов и клинических ординаторов ФГБУ «НМИЦ АГ и П им. В.И. Кулакова». По теме диссертации опубликовано 7 научных трудов, из них 4 статей - в рецензируемых научных журналах.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 127 страницах компьютерного текста и состоит из оглавления, введения, обзора литературы, глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка использованной литературы, приложения. Библиографический указатель включает 202 источник, из них 14 отечественных и 188 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 21 таблицами и 10 рисунками.

Глава 1. Роль программирования индуцированного цикла в повышении эффективности лечения бесплодия в протоколах с антагонистами гонадотропин рилизинг-гормона (обзор литературы).

1.1 . Введение

Бесплодие является серьезной медицинской и социальной проблемой. По данным Всемирной организации здравоохранения частота бесплодия составляет от 8 до 19%, и имеет тенденцию к постоянному росту [6]. Важнейший этап в лечении бесплодия – разработка и внедрение в клиническую практику методов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Впервые эта процедура была успешно проведена в Великобритании в 1977 году. За 20 лет вспомогательные репродуктивные технологии прочно вошли в медицинскую практику, давая во многих случаях бесплодным парам единственный шанс иметь детей. В настоящее время в мире ежегодно рождается более 100 000 детей, зачатых с помощью ЭКО [269; 270].

В последние десятилетия, протоколы с антагонистами ГнРГ (антГнРГ) становятся все более популярными для контролируемой стимуляции яичников, в исследованиях убедительно показаны преимущества использования этих препаратов. Обратимость действия, отсутствие неблагоприятных побочных эффектов, небольшая продолжительность лечения, меньший расход гонадотропина и низкий риск синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) делают эти препараты привлекательными для лечения пациенток с бесплодием. Однако, несмотря на большую безопасность антГнРГ, снижение частоты наступления беременности, выявленное во многих исследованиях, препятствовало их внедрению в клиническую практику на протяжении многих лет [73; 92].

Использование антГнРГ традиционно ограничивалось пациентками с «бедным» ответом, с СПКЯ и высоким риском развития СГЯ [165]. Тем не менее, в последнем Кохрановском обзоре была подтверждена большая безопасность антГнРГ и сопоставимая эффективность с аГнРГ [200]. Широкое внедрение данных результатов в клиническую практику могло бы способствовать

расширению показаний для использования протоколов стимуляции с антагонистами ГнРГ [190].

Считается, что одной из основных причин снижения частоты наступления беременности в протоколах с антагонистами ГнРГ является отсутствие оптимальных условий для стимуляции яичников [88]. Неоднократно было показано, что высокие концентрации E_2 , прогестерона и ЛГ в начале стимуляции неблагоприятно сказываются на качестве получаемых ооцитов и, соответственно, на частоте имплантации и частоте наступления беременности [171]. Эти наблюдения привели к активному поиску способов программирования индуцированного цикла с целью оптимизации созревания фолликулярного пула в цикле стимуляции суперовуляции, а также предотвращения возникновения преждевременного пика ЛГ [193].

Многими авторами изучалась роль предварительной терапии оральными контрацептивами, эстрогенами, а также антагонистами ГнРГ перед началом стимуляции яичников, однако в проведенных исследованиях были получены противоречивые и неоднозначные результаты [106]. Таким образом, эффективность методов программирования индуцированного цикла и необходимость его проведения в настоящее время является неопределенной.

1.2. Методы и схемы стимуляции овуляции

1.2.1 Применение антагонистов ГнРГ в программах ВРТ

Контролируемая стимуляция яичников является неотъемлемой частью современных программ ВРТ. Основными целями ее проведения являются стимуляция роста множества фолликулов, подавление гонадотропной активности гипофиза, индукция финального дозревания ооцитов [128]. Однако индукция множественного роста фолликулов приводит к быстрому росту уровня эстрадиола и в результате к несвоевременному выбросу лютеинизирующего гормона (ЛГ). Преждевременный пик ЛГ происходит в 24% случаев стимуляции яичников гонадотропинами и приводит к лютеинизации и нарушению нормального развития фолликулов, что зачастую является причиной отмены цикла [92].

Подавление активности гипофиза способствует предотвращению преждевременного выброса ЛГ и обеспечивает условия для дальнейшего развития фолликулов. В настоящее время с этой целью используются агонисты ГнРГ (аГнРГ) и антагонисты ГнРГ (антГнРГ) [24].

В течение многих лет в программах ЭКО использовались аГнРГ, в то время как антГнРГ, как реальная альтернатива классическим протоколам, были введены в клиническую практику только в последние десятилетия. Несмотря на то, что эти препараты имеют общие клинические показания, их механизмы действия являются совершенно разными [139] аГнРГ приводят к уменьшению количества рецепторов посредством интернализации комплекса лиганд/рецептор (down-регуляция) [19]. Таким образом, гипофиз становится невосприимчивым к стимулирующему воздействию эндогенного ГнРГ, выработка гонадотропинов значительно снижается, что приводит к подавлению функциональной активности яичников. Напротив, антГнРГ конкурентно связываются с рецепторами ГнРГ, индуцируют прямую, дозозависимую и быстро обратимую блокаду рецепторов ГнРГ без фазы активации [1; 48].

АнтГнРГ назначаются в конце фолликулярной фазы цикла в соответствии с двумя возможными протоколами: гибкий или фиксированный протокол с антГнРГ. В соответствии с фиксированным протоколом с многократным введением антГнРГ препарат назначается с 6 дня стимуляции до введения хорионического гонадотропина человека (ХГЧ). Данные схемы эффективно предотвращают преждевременный выброс ЛГ, обуславливая высокую клиническую эффективность лечения [5; 194].

В гибких протоколах стимуляции овуляции с многократным введением антГнРГ препарат назначается не в определенный день, а в соответствии с размерами фолликула и уровнями эстрадиола (Е2). Данная схема является столь же эффективной, как и фиксированный протокол с антГнРГ, однако ее применение ассоциировано с более высокими уровнями Е2 в сыворотке крови и с меньшим суммарным количеством использованного антГнРГ [200]. Было проведено несколько крупных рандомизированных контролируемых

исследований (РКИ) в которых сравнивалась эффективность длинных схем стимуляции с применением аГнРГ с протоколами с однократным и многократным введением антГнРГ. Показано, что применение схем с антГнРГ позволяет снизить суммарную дозу вводимых гонадотропинов, а также уменьшает длительность стимуляции суперовуляции [10; 152].

Тем не менее, в большинстве РКИ при использовании данных схем было выявлено значительное уменьшение количества полученных ооцитов, а также снижение частоты наступления беременности [44]. Кроме того, 5 РКИ были изучены в мета-анализе, опубликованном в Кохрановском руководстве, результаты которого продемонстрировали значительное снижение частоты наступления клинической беременности [125]. Тем не менее, большая безопасность антГнРГ по сравнению с аГнРГ была окончательно продемонстрирована в последней версии Кохрановского обзора, в котором были выявлены клинические преимущества этих препаратов, в частности уменьшение частоты отмены цикла в связи с возможностью профилактики СГЯ [83].

Также, согласно последним данным, эффективность использования антГнРГ сопоставима с традиционными схемами стимуляции - в частности, не было выявлено существенных различий в частоте наступления беременности и рождения живых детей [190]. Помимо снижения риска СГЯ, использование антГнРГ снижает продолжительность стимуляции яичников, необходимость длительного гормонального и УЗИ-мониторинга, также отсутствуют побочные эффекты, обусловленные гипоэстрогенией (например, приливы жара, нарушение сна, головные боли), которые часто наблюдаются при назначении аГнРГ. Однако, несмотря на неоспоримые преимущества, по-прежнему нет единого мнения относительно эффективности антГнРГ [105].

Согласно литературным данным, среди пациенток с нормальным ответом яичников и молодых женщин (<35 лет) эффективность антГнРГ сопоставима с аГнРГ, что было продемонстрировано в нескольких современных исследованиях [127]. В исследовании, проведенном F.J. Broekmans и P.J. Verweij (2014) 136 пациенток, включенных в программу ЭКО, были случайным образом

распределены на 2 группы с возможными протоколами: длинный протокол стимуляции с аГнРГ или протокол с антГнРГ. Суммарное количество использованного рФСГ, длительность стимуляции, уровень ЛГ и число фолликулов размером 18 мм существенно не отличались между группами. Частота имплантации, клинической беременности и самопроизвольных абортов на ранних сроках беременности также были сходны в этих группах. Однако назначение протокола с аГнРГ было связано с более высокими уровнями Е2 и с большим количеством фолликулов в день введения чХГ [31].

По мнению авторов исследования, представленные результаты могут быть ассоциированы с лучшей синхронизацией развития фолликулов, что и привело к увеличению общего количества ооцитов. Рост меньшего числа фолликулов в группе пациенток, получавших антГнРГ, может быть обусловлен выбросом ЛГ до введения цетрореликса. С одной стороны, высокие уровни ЛГ могут вызвать андроген-опосредованную атрезию мелких фолликулов; с другой стороны, они могут поддерживать рост крупных фолликулов, клетки гранулезы которых экспрессируют рецепторы ЛГ. Важно отметить, что обе схемы стимуляции яичников показали сходную эффективность относительно частоты наступления имплантации и клинической беременности, однако назначение аГнРГ ассоциировано с лучшим ростом фолликулов и развитием ооцитов [31]. Таким образом, использование протоколов с антГнРГ приводит к сопоставимым результатам при сравнении с длинными схемами стимуляции с аГнРГ у молодых женщин с нормальным яичниковым резервом [9; 112].

Данные схемы являются особенно привлекательными из-за меньшей продолжительности лечения, стоимости и отсутствия неблагоприятных побочных эффектов. Однако остается спорным вопрос, касающийся частоты наступления беременности. По мнению некоторых авторов, основными факторами, приводящими к снижению частоты наступления беременности в протоколах с антГнРГ, являются количественные и качественные характеристики ооцитов [52; 53]. Было высказано предположение, что антГнРГ могут приводить к остановке роста примордиальных фолликулов, а также эти препараты оказывают влияние на

клетки гранулезы и препятствуют вступлению ооцита во второе мейотическое деление [132].

Использование анГнРГ в клинической практике сопровождается интересом также из-за возможности их применения у пациенток с «бедным» ответом яичников на стимуляцию овуляции. Определение «бедного ответа» на стимуляцию яичников в программах ЭКО или ИКСИ соответствует наличию либо одного параметра, либо комбинации нескольких параметров, таких как количество зрелых фолликулов при УЗИ (от <2 до <5), пик уровня сывороточного E2 (от 100 до 600 пг/мл), количество полученных ооцитов (от <3 до <6), минимальное количество дней стимуляции гонадотропинами в предыдущем цикле [141]. Кроме того, как известно, возраст (> 40 лет) и уровни ФСГ в раннюю фолликулярную фазу (от 6,5 до 15 мМЕ/мл) также ассоциированы с «бедным» ответом на стимуляцию [190]. Тем не менее, в настоящее время считается, что наиболее значимыми предикторами «бедного» ответа на являются уровень АМГ менее 0,5 – 1,1 пг/мл, количество антральных фолликулов, визуализируемых при УЗИ менее 5 - 7. Диагноз подтверждается неэффективностью стимуляции функции яичников или отменой, по крайней мере, одного цикла [31].

В связи с высокой распространенностью бедного ответа на стимуляцию, среди пациенток в программе ЭКО (9-24%), появилась необходимость определения критериев его диагностики [147]. Согласно данным Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (англ. ESHRE), диагноз «бедного» ответа на стимуляцию овуляции в цикле ЭКО должен ставиться на основании, по меньшей мере, двух из следующих критериев: 1) поздний репродуктивный возраст пациентки или наличие других факторов риска; 2) плохой ответ на стимуляцию в предыдущих циклах; 3) лабораторные маркеры сниженного овариального резерва [69].

В настоящее время не представлено убедительных данных относительно абсолютной эффективности тех или иных препаратов для стимуляции яичников у пациенток с бедным ответом, тем не менее, было предложено множество протоколов, способных увеличить яичниковый ответ. Короткие схемы

стимуляции овуляции с аГнРГ долгое время являлись основными протоколами, используемыми у пациенток с «бедным» ответом в целях улучшения результатов ЭКО [152]. Тем не менее, использование этих схем приводит к преждевременному пику ЛГ во время раннего созревания фолликулов, что влияет на качество ооцитов. Напротив, антГнРГ вызывают быстрое и сильное подавление функций гипофиза и, следовательно, не приводят к возникновению побочных эффектов [151]. Таким образом, протокол с антГнРГ является протоколом выбора для индукции овуляции у пациенток с бедным ответом. Тем не менее, результаты современных исследований противоречивы, что вероятно обусловлено различными критериями отбора пациенток, а также разными протоколами стимуляции яичников и небольшим числом пациенток, включенных в исследования [18].

Несмотря на то, что современные схемы стимуляции овуляции являются достаточно безопасными, в некоторых случаях возможно развитие тяжелых и потенциально летальных осложнений, в частности СГЯ. Данное осложнение возникает после использования в качестве триггера овуляции ХГЧ и усугубляется с наступлением беременности. Многие факторы, такие как возраст, индекс массы тела (ИМТ) и синдром поликистозных яичников (СПКЯ) благоприятствуют возникновению СГЯ [143]. Кроме того, режимы стимуляции овуляции также оказывают влияние на риск возникновения СГЯ. В нескольких исследованиях, сравнивающих частоту СГЯ среди групп пациенток, получавших аГнРГ и антГнРГ, было показано снижение частоты возникновения СГЯ в группе антГнРГ, что связано с возможностью замены триггера овуляции на агонист ГнРГ с целью финального созревания ооцитов [66].

В крупном проспективном, многоцентровом исследовании, проведенном G. Ragni и W. Vegetti (2005) была показана эффективность антГнРГ в снижении риска СГЯ у 87 пациенток, которым в предыдущем цикле назначались аГнРГ с последующим развитием СГЯ. Частота отмены цикла в связи с риском СГЯ составила 56,3% против 32,2%, а заболеваемость СГЯ средней или тяжелой степени составила 27,6% против 11,5% в группах с аГнРГ и антГнРГ,

соответственно. По мнению авторов, данные результаты обусловлены меньшей продолжительностью стимуляции и меньшей дозой гонадотропинов, что привело к уменьшению количества фолликулов и снижению уровня E2 в день введения ХГЧ. Кроме того, показано, что назначение антГнРГ приводит к увеличению количества полученных ооцитов (67,8% против 43,7%) и перенесенных эмбрионов (96,6% против 76,3%) в цикле [153].

Имеются данные, что чрезвычайно высокие уровни E2 в протоколах стимуляции с аГнРГ приводят к ухудшению как качества эмбрионов, так и рецептивности эндометрия, что влияет на процесс имплантации. Кроме того, выявлено, что при стимуляции яичников изменяется экспрессия генов в эндометрии по сравнению с естественным циклом, в результате чего наблюдается асинхронность эмбриона и эндометрия [126]. Предполагается, что схемы стимуляции с антГнРГ приводят к сравнимой с естественным циклом экспрессии генов в эндометрии, что таким образом увеличивает эффективность ЭКО [59].

Известно, что протоколы стимуляции овуляции оказывают влияние на микроокружение фолликулов. Понимание механизмов этого влияния и процессов, происходящих в яичнике при стимуляции овуляции, является основой для выбора тактики ведения пациенток. Физиологические процессы, происходящие в яичнике, обусловлены сложным взаимодействием стероидных гормонов, гонадотропинов, факторов роста и цитокинов [122]. Показано, что цитокины оказывают модулирующее влияние на функцию яичников, секрецию гормонов, функцию желтого тела, развитие эмбриона и имплантацию [16]. Процесс стимуляции множественного роста фолликулов ассоциирован с развитием воспалительной реакции в яичнике, что приводит к изменению экспрессии молекул адгезии, таких как молекул межклеточной адгезии 1 типа (ICAM-1) и сосудистых молекул клеточной адгезии 1 типа (VCAM-1). Концентрации этих факторов в их растворимой форме (sICAM-1 и sVCAM-1), могут отражать различные аспекты развития фолликулов [115].

Содержание sICAM-1 в фолликулярной жидкости может способствовать прогнозированию ответа яичников, так как его секреция обусловлена

активностью клеток гранулезы. Концентрация sVCAM-1 отражает степень лютеинизации фолликула, а также выступает в качестве проангиогенного фактора в конце фолликулярной фазы [101]. На основании этих наблюдений, было проведено рандомизированное проспективное исследование, в котором было изучено влияние протоколов стимуляции с аГнРГ и антГнРГ на уровни ICAM-1 и sVCAM-1 в фолликулярной жидкости [17]. Анализ содержания уровней молекул адгезии фолликулярной жидкости показал, что концентрация ICAM-1 положительно коррелирует с количеством полученных ооцитов в обеих группах. На основании этих данных авторы предположили, что ICAM-1 можно считать биохимическим маркером ответа яичников на стимуляцию яичников. Концентрации sVCAM-1 существенно не отличались в зависимости от использованного протокола стимуляции, однако более высокие уровни VCAM-1 были обнаружены в фолликулах больших размеров, что вероятно обусловлено увеличением экспрессии этого гликопротеина с ростом фолликула. Кроме того, учитывая положительную корреляцию между VCAM-1 и значениями прогестерона, VCAM-1 вероятно, отражает степень созревания фолликулов и их лютеинизацию [86].

1.2.2 Ведение лютеиновой фазы индуцированного цикла

Необходимость медикаментозной поддержки лютеиновой фазы (ЛФ) индуцированного цикла в настоящее время остается предметом дискуссий. Впервые о необходимости поддержки ЛФ было заявлено в исследовании, проведенном Edwards et al. (1980), в котором показано, что дефицит ЛФ наблюдается во всех стимулированных циклах. В различные периоды времени существовали гипотезы, пытающиеся объяснить этиологию недостаточности ЛФ, однако ни одна из них не была подтверждена к настоящему времени [110].

Первоначально считалось, что удаление большого количества клеток гранулезы в процессе пункции ооцитов приводит к снижению синтеза прогестерона желтыми телами, что приводит к дефекту лютеиновой фазы [77]. Однако эта гипотеза была опровергнута, когда было установлено, что пункция фолликула в

естественном цикле не приводит к снижению уровня гормонов и сокращению ЛФ [111]. Также было предложено, что введение ХГЧ для окончательного созревания яйцеклетки в стимулированных циклах ЭКО может потенциально привести к дефициту ЛФ, подавляя выработку ЛГ по механизму обратной связи. Тем не менее, назначение ХГЧ не влияет на секрецию ЛГ в лютеиновой фазе нестимулированных циклов [148].

Внедрение антГнРГ в клиническую практику сопровождалось ожиданием, что быстрое восстановление функций гипофиза устранило бы необходимость медикаментозной поддержки ЛФ. Тем не менее, различные исследования с антГнРГ продемонстрировали противоположные результаты. S. Gizzo и A. Andrisani показали, что несмотря на быстрое восстановление функций гипофиза в протоколах с антГнРГ, поддержка ЛФ является обязательной [77]. По мнению авторов, одной из главных причин дефицита лютеиновой фазы в стимулированных циклах являются супрафизиологические уровни стероидов, секретируемых большим количеством желтых тел, которые непосредственно ингибируют высвобождение ЛГ по механизму отрицательной обратной связи [154].

Впервые Csapo et al. (1972, 1973) продемонстрировали важность прогестерона в начале беременности - авторы показали, что удаление желтого тела до 7 недель беременности приводит к потере беременности. Тем не менее, они обнаружили, что беременность может быть сохранена даже после удаления желтого тела при назначении прогестерона. Прогестерон стимулирует секреторную трансформацию эндометрия в лютеиновой фазе, индуцируя эти изменения после воздействия E₂, повышает рецептивность эндометрия. Снижение рецептивности эндометрия считается одной из наиболее важных причин низкой частоты имплантации при ЭКО [91]. Прогестерон также способствует местной вазодилатации и расслаблению мускулатуры матки, индуцируя синтез оксида азота в децидуальной ткани [32].

В настоящее время препараты прогестерона доступны в оральной, вагинальной, ректальной и внутримышечной форме введения. Оральный микронизированный

прогестерон был впервые использован для поддержки ЛФ в конце 1980-х годов. Впоследствии было выявлено отсутствие секреторной трансформации эндометрия у пациенток, получавших микронизированный прогестерон по сравнению с пациентками, получавшими инъекционную форму препарата [62]. Эти данные показали, что пероральное введение снижает биологическую доступность гормона. Для решения этой проблемы был введен дидрогестерон, который обладает хорошей биодоступностью, является биологически активным метаболитом прогестерона и имеет антиэстрогенный эффект на эндометрий, для достижения его секреторной трансформации [159]. Интравагинальное введение прогестерона получило широкое применение в качестве основного режима лютеиновой поддержки в программах ЭКО, в основном за счет удобства пациенток и эффективности. После интравагинального введения прогестерона быстро достигается высокая концентрация прогестерона в матке с низкими концентрациями в сыворотке крови за счет всасывания прогестерона в анатомически близкие кровеносные сосуды [180].

Эффективность внутримышечного введения прогестерона была впервые оценена в 1985 году Leeton et al., которые продемонстрировали удлинение лютеиновой фазы стимулированного цикла пациенток, получавших 50 мг прогестерона внутримышечно. Дозы прогестерона, по данным разных авторов, варьируют между 25 и 100 мг/день без существенной разницы в отношении исхода [132]. Это путь введения часто ассоциируется с рядом побочных эффектов, в том числе болезненных инъекций и сыпью, в результате чего появилось много противников этого метода лечения. В дополнение к этому, инъекции прогестерона в масле, также могут вызывать воспалительные реакции и абсцессы. Кроме того, было описано несколько случаев, когда у пациенток, получавших прогестерон в виде инъекций для внутримышечного введения, развивалась острая эозинофильная пневмония [192]. Таким образом, вагинальное введение прогестерона является хорошей альтернативой для инъекционной формы введения, которая связана с большим количеством побочных эффектов. На основании представленных доказательств, внутримышечное введение

прогестерона не рекомендуется в качестве терапии первой линии для поддержки ЛФ в стимулированных циклах [182].

Вопрос о необходимости назначения E2 для поддержки ЛФ в настоящее время является недостаточно изученным. В проспективном рандомизированном исследовании, проведенном Т.А. Gelbaya и М. Kyrgiou (2008) была оценена эффективность добавления эстрадиола-валерата 6 мг перорально ежедневно с вагинальным микронизированным прогестероном (600 мг в день) у 378 женщин, получавших лечение с антГнРГ. Частота наступления беременности была статистически неразличима в обеих группах (29,2% с сопутствующим лечением E2 и 29,5% с прогестероном) [75]. Кроме того, другие авторы также не выявили никаких преимуществ в добавлении 2 мг эстрадиола-валерата к прогестерону для поддержки ЛФ. Мета-анализ, проведенный Pritts и Atwood (2002) показал, что добавление E2 может улучшить показатели имплантации [150]. Тем не менее, авторы основываются на результатах только одного исследования, подтверждающего положительный эффект E2 в лютеиновой фазе [82].

В настоящее время считается, что наиболее важной причиной дефицита ЛФ в стимулированных циклах ЭКО являются супрафизиологические уровни стероидов. Это подтверждает необходимость пересмотра подходов к стимуляции яичников в сторону более мягких протоколов для снижения частоты дефицита ЛФ и улучшения эффективности процедуры ЭКО [91].

1.3 Способы программирования индуцированного цикла в протоколах с антагонистами ГнРГ

1.3.1 Предварительная терапия оральными контрацептивами

Несмотря на очевидные преимущества использования антГнРГ в настоящее время препаратами выбора в большинстве программ ЭКО остаются аГнРГ. Потенциальным недостатком протоколов с антГнРГ является то, что, классически, стимуляция начинается на 2 или 3 день менструального цикла, что затрудняет планирование стимуляции и проведение лабораторных исследований [181]. Протоколы с антГнРГ являются более комфортными для пациенток, однако,

возможность программирования начала стимуляции функции яичников в протоколах с антГнРГ весьма ограничена, таким образом перед врачами становятся жесткие временные рамки и не дают возможность выбрать удобную дату начала стимуляции гонадотропинами и дату трансвагинальной пункции яичников [156].

Одной из распространенных гипотез, объясняющих причины снижения частоты наступления беременности в протоколах стимуляции с антГнРГ является предположение о том, что высокие концентрации ЛГ, эстрадиола и прогестерона в начале стимуляции неблагоприятно сказываются на качестве полученных ооцитов и, соответственно, на частоте имплантации и наступления беременности [82].

В связи с этим, в настоящее время ведется активный поиск эффективных методов программирования индуцированного цикла с антГнРГ. В течение многих лет с этой целью были использованы оральные контрацептивы (КОК) и синтетические прогестагены. Эстрогены оказывают ингибирующее действие на секрецию ФСГ, тогда как гестагены, в основном, участвует в контроле секреции ЛГ [123]. В нескольких исследованиях изучалась роль предварительной терапии КОК перед началом стимуляции функции яичников. Полученные результаты оказались противоречивыми с точки зрения частоты наступления беременности [156]. Тем не менее, в недавнем мета-анализе, который подвел итоги 6-ти рандомизированных контролируемых испытаний, установлено, что частота наступления беременности у пациенток с нормальным ответом на стимуляцию существенно ниже при назначении КОК в цикле перед программой ЭКО. По мнению авторов, полученные результаты обусловлены негативным воздействием гестагенного компонента КОК на эндометрий, а также снижением уровня ЛГ, что приводит к ухудшению качества полученных ооцитов и эндометрия [82]. Кроме того, предполагается, что предварительное лечение КОК приводит к значительному подавлению секреции ЛГ и ухудшению фолликулогенеза в последующих циклах ЭКО [191].

Важно отметить, что несмотря на полученные убедительные данные, в исследовании, проведенном E.E. Nauzman и A. Zapata (2013) в котором был использован КОК в течение 14 дней менструального цикла перед ЭКО не было выявлено каких-либо существенных различий в частоте наступления беременности и показателях живорождения [88]. Сходные результаты были получены и в более ранних исследованиях. L. Rombauts и D. Healy (2006) провели первое систематическое изучение эффективности предварительного назначения КОК перед программой ЭКО с участием 234 пациенток из 10-ти медицинских центров в период с 2000 по 2002 год [156]. Протокол исследования отличался от других тем, что стимуляция гонадотропинами начиналась на 2-ой день после отмены КОК. Оценивалось количество полученных зрелых ооцитов, уровни гормонов в плазме крови, а также риск развития синдрома гиперстимуляции яичников и безопасность лечения. Показано, что количество ооцитов (13,1 против 11,5), количество эмбрионов хорошего качества (5,1 против 5,0) и показатель наступления беременности (16% против 20%) статистически значимо не различались в обеих группах. Авторы пришли к выводу, что, несмотря на большую продолжительность стимуляции и расход гонадотропинов, предварительная терапия КОК перед программой ЭКО может успешно применяться для программирования индуцированного цикла [197].

В исследовании, проведенном J.A. Huirne и A.C. van Loenen, (2006) продемонстрировано, что предварительное лечение КОК приводит к значительному снижению уровней ФСГ, ЛГ и эстрадиола ($p < 0,001$) и истончению эндометрия ($p < 0,0001$) в начале стимуляции. Кроме того, авторами отмечено увеличение длительности стимуляции (11,6 против 8,7 дней, $p < 0,0001$), количества фолликулов в день введения ХГЧ (15,4 против 12,5, $p = 0,02$) и полученных ооцитов (13,5 против 10,2, $p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой [93].

Предположение о том, что предварительная терапия КОК перед программой ЭКО может улучшать результаты у пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию за счет снижения ФСГ и количества дней, необходимых для

созревания фолликулов, было впервые высказано [102]. Авторами показано, что клиническая частота наступления беременности в группе пациенток, получавших предварительное лечение КОК, была даже выше по сравнению контрольной группой (33% и 25%), также как и частота рождения живых детей (30% и 21% соответственно). На основании полученных результатов был сделан вывод, что предварительная терапия КОК является самым простым методом программирования цикла и может быть успешно использована у пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию за счет уменьшения количества вводимых гонадотропинов и количества дней, необходимых для стимуляции яичников [102].

Влияние предварительной терапии КОК перед проведением ЭКО на рецептивность эндометрия было впервые изучено в работе А. Vermejo и С. Iglesias (2014). Авторами была изучена экспрессия генов, ответственных за рост эндометрия у пациенток, которым проводилась контролируемая стимуляция яичников по протоколу с анТГнРГ в присутствии или в отсутствие предварительной терапии КОК. При анализе полученных результатов, было выявлено, что экспрессия только 1-ого гена (ТН) увеличилась у пациенток в основной группе по сравнению с контрольной, но это увеличение не было статистически значимым [20]. Белковый продукт данного гена катаболизирует преобразование тирозина в фенилаланин, который является предшественником дофамина. Важно отметить, что увеличение экспрессии гена ТН во время имплантации было описано ранее другими авторами в естественном цикле [55].

Кроме того, в секреторную фазу цикла отмечено дополнительное изменение экспрессии генов, связанное с наличием пика прогестерона. Эти изменения свидетельствуют о том, что эндометрий становится более восприимчивым. Повышенная экспрессия некоторых генов в середине секреторной фазы обеспечивает подготовку к имплантации, также они участвуют в процессах, связанных с клеточной адгезией, обменом веществ, реакцией на внешние раздражители, сигнализацией, иммунным ответом и негативной регуляцией пролиферации эндометрия [176].

Регуляция некоторых биологических процессов была значительно изменена у пациенток, получавших предварительное лечение КОК по сравнению с контрольной группой. Некоторые из них связаны с обменными процессами, один был связан с сигнальными функциями. Все эти процессы также наблюдаются в естественном цикле во время окна имплантации [158]. Другие ключевые процессы имплантации эмбриона, такие как клеточная адгезия, врожденный иммунный ответ и реакция на стресс и травму не были изменены в эндометрии пациенток из основной группы.

Функциональный анализ генов показал, что наиболее значимыми являются процессы, связанные с иммунным ответом, цитоскелетом белков, необходимых для реконструкции эндометрия, деятельностью оксидоредуктазы, связыванием углеводов и рецепторов [55]. Ни один из этих биологических процессов, которые характеризуют восприимчивость эндометрия, не были изменены в основной группе пациенток [20].

Эстрогенный и гестагенный компоненты КОК, как было показано, влияют на секрецию ФСГ и ЛГ, соответственно [146]. Однако дозы эстрогена в КОК, используемых в различных исследованиях в значительной степени варьируют от 15 до 50 мг. Кроме того, в разных исследованиях варьировал и интервал времени после отмены КОК до начала стимуляции от 2 до 5 дней, при изменении длительности предварительного лечения между 10 и 21 днями [202]. В данном исследовании всем пациенткам назначался один и тот тип КОК на срок от 12 до 16 дней для предотвращения чрезмерного ингибирования ФСГ. Авторами не было выявлено никаких существенных различий в частоте наступления беременности, имплантации или живорождения между группами. Показано, что суммарная доза использованных гонадотропинов была несколько выше в основной группе. Кроме того, отмечались высокие уровни P в начале цикла, что может снижать вероятность наступления беременности. Однако этот эффект остается спорным, потому что последние публикации не подтвердили эти выводы [65].

На основании полученных результатов, авторы сделали вывод, что использование КОК в качестве предварительной терапии в течение не более 16

дней с интервалом 5 дней перед проведением ЭКО по протоколу с антГнРГ не оказывает отрицательного влияния на рецептивность эндометрия [20].

1.3.2 Предварительная терапия эстрогенами

Использование оральных эстрогенов с середины лютеиновой фазы цикла, предшествующего стимуляции яичников было предложено не так давно в целях программирования индуцированного цикла на основе ингибирующего эффекта эстрадиола на рост фолликула по механизму отрицательной обратной связи. Впервые эффективность назначения 17β -эстрадиола перед проведением процедуры ЭКО по протоколу с антГнРГ была изучена R. Fanchin и J.S. Cunha-Filho (2003). Авторы предположили, что эстрадиол может способствовать синхронизации роста антральных фолликулов, что увеличит количество полученных ооцитов у пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию [60].

В крупном рандомизированном исследовании, проведенном Cedrin-Durnerin и A. Guivarc'h-Leveque (2012) в период с 2006 по 2010 год, было проведено сравнение эффективности назначения 17β -эстрадиола в дозе 4 мг/сут в течение 7 дней до начала менструации. Стимуляция овуляции начиналась через 1 день после отмены 17β -эстрадиола (на 2-ой день менструации). Статистически значимых различий в количестве полученных ооцитов ($10,9 \pm 5,7$ против $10,2 \pm 5,6$ в контрольной группе) и эмбрионов ($4,8 \pm 3,7$, соответственно) получено не было. Авторы пришли к выводу, что предварительная терапия эстрогенами ассоциирована с необходимостью введения более высоких доз ФСГ и большей продолжительностью стимуляции без существенного увеличения количества полученных ооцитов. Тем не менее, эстрогены не оказывают влияния на исход цикла и, следовательно, могут быть использованы в клинической практике [41].

По мнению E.E. Nauzman и A. Zapata (2013), полученные результаты обусловлены тем, что интервал между отменой эстрогена и началом стимуляции овуляции был слишком коротким, что привело к значительному подавлению секреции ФСГ. Таким образом, авторами было проведено исследование с участием 100 пациенток, которым рандомизированно назначались КОК и

эстрадиола валерат перед проведением процедуры ЭКО по протоколу с антГнРГ. В обеих группах стимуляция овуляции была начата через 5 дней после отмены препаратов. Полученные результаты не были статистически значимо различимы в отношении исходов между обеими группами, что обусловлено малым размером выборки. Тем не менее, это первое исследование, в котором непосредственно сравнивались 2 метода планирования цикла ЭКО с антГнРГ [88].

1.3.3 Предварительная терапия антагонистами ГнРГ

В последние годы из наиболее обсуждаемых подходов для программирования начала программы ЭКО является кратковременное назначение антГнРГ в раннюю фолликулярную фазу до начала стимуляции функции яичников. Предполагается, что быстрое подавление секреции гонадотропных гормонов приводит к снижению продукции половых гормонов, что, таким образом, способствует синхронизации роста фолликулов перед началом стимуляции яичников [88].

В пилотном исследовании, проведенном С. Blockeel и А. Riva (2011) было показано, что назначение антГнРГ со 2 по 4 день цикла приводит к увеличению показателей имплантации 26,5% [95% ДИ, 17.1-35.9], частоты наступления беременности на цикл 39,7% [95% ДИ, 30.1-50.8] и на перенос эмбриона 42,4% [95% ДИ, 32.3-53.1] [22]. Кроме того, авторами были отмечены значительно более низкие уровни E2 и P после предварительной терапии антГнРГ по сравнению с контрольной группой. Статистически значимого снижения уровня ФСГ выявлено не было, однако наблюдалась тенденция к снижению уровня ЛГ. В группе пациенток, получавших пертитмент с антГнРГ было выявлено значительное повышение уровня E2 в день введения ХГЧ, что, по мнению авторов, обусловлено большим количеством растущих фолликулов, однако супрафизиологические концентрации E2 и P в сыворотке крови могут привести к нарушению рецептивности эндометрия и преждевременному устареванию эндометрия [27].

Сходные результаты были получены в рандомизированном исследовании, проведенном J.S. Younis и S. Soltsman (2010). Авторами показано, что назначение

антГнРГ в раннюю фолликулярную фазу с 1 по 3 день приводит к значительному улучшению показателей мейотического деления и оплодотворения полученных ооцитов. Кумулятивный показатель зрелых ооцитов в этом исследовании был значительно выше в основной группе по сравнению с контрольной группой (93% и 85%, соответственно). Кроме того, оплодотворение клеток было достигнуто в 85% и 69% в основной и контрольной группах, соответственно. С другой стороны, было отмечено увеличение продолжительности лечения и суммарной дозы рФСГ в среднем на 300 МЕ [193].

Важно отметить, что исследование было проведено на небольшой выборке пациенток и не обладает достаточной статистической мощностью, чтобы оценить влияние предварительного лечения антГнРГ на частоту наступления беременности, тем не менее оно свидетельствует об увеличении числа зрелых ооцитов, а также частоты оплодотворения. Полученные результаты могут способствовать улучшению результатов ЭКО у пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию. Результаты, представленные в отношении частоты наступления беременности в этом исследовании, относятся к свежим циклам, авторы предполагают, что замораживание эмбрионов с последующим криопереносом может дополнительно увеличить кумулятивную частоту наступления беременности [105].

Исследование гормональных показателей сыворотки крови в течение фолликулярной фазы показало, что назначение антГнРГ на 1-3 день цикла приводит к снижению уровня ФСГ от $7,2 \pm 1,9$ МЕ/л до $6,1 \pm 2,4$ МЕ/л, а уровень ЛГ от $5,6 \pm 2,7$ МЕ/л до $2,4 \pm 1,6$ МЕ/л. [92].

По мнению авторов, выявленные особенности проведения такого модифицированного протокола могут способствовать его эффективности. Во-первых, начало стимуляции с более низким уровнем эндогенного ФСГ позволяет оптимально синхронизировать рост когорты фолликулов. Во-вторых, поддержание стабильно низких уровней ЛГ и Р в течение фолликулярной фазы приводит к увеличению рецептивности эндометрия и улучшению условий для имплантации [99]. Таким образом, в проведенном исследовании было

продемонстрировано снижение уровня ФСГ в раннюю фолликулярную фазу, что способствовало значительному улучшению показателей мейотического деления и оплодотворения полученных ооцитов. Авторы также считают, что модификация цикла привела к оптимизации фолликулярного пула. Кроме того, в начале фолликулярной фазы уровень ЛГ значительно снизился и сохранялся таким на протяжении всей фазы. Однако в этом исследовании не было продемонстрировано значительного увеличения частоты наступления беременности, что возможно, обусловлено небольшой выборкой пациенток [193].

Таким образом, необходимо проведение более крупных исследований для обоснования преимуществ предварительного назначения антГнРГ. В настоящее время изучается влияние повышения концентрации прогестерона в начале фолликулярной фазы цикла более 1 пг/мл, что является результатом остаточной активности желтого тела [106].

На сегодняшний день, имеется мало литературных данных о влиянии повышенных концентраций Р в начале фолликулярной фазы цикла ЭКО. J.A. Sims и H.J. Seltman (1994) было впервые показано, что у 85% пациенток с риском плохого ответа на стимуляцию после предварительной терапии антГнРГ и введения высоких доз ФСГ наблюдается рост Р в сыворотке крови в течение 2-6 дня цикла, однако существенной разницы в частоте наступления беременности выявлено не было [170]. В другом исследовании, в котором предварительная терапия антГнРГ не проводилась, высокая концентрация Р на 2-й день цикла наблюдалась у 5% пациенток [107]. По мнению авторов, повышение концентрации Р при в протоколах с антГнРГ, может быть также обусловлена синтезом Р за счет расщеплением боковой цепи цитохрома P450, который определяется в избытке в желтом теле, клетках теки растущего фолликула и коре надпочечников. Все эти ткани, таким образом, являются потенциальными источниками синтеза Р [170].

В исследовании, проведенном Y. Tang, F. Gong (2007), было выявлено, что у 32% пациенток наблюдались повышенные концентрации Р (>1 пг/мл) на 4-й день стимуляции в рамках протокола с антГнРГ, что оказывает неблагоприятное

воздействие на частоту наступления беременности. По мнению авторов, негативное воздействие прогестерона в значительной мере обусловлено влиянием на рецептивность эндометрия [177].

М. Al-Azemi и D. Kyrou (2012) было показано, что при росте концентрации сывороточного Р (>1,1 пг/мл) до введения ХГЧ клиническая беременность не наступает. Высокие концентрации ЛГ увеличивают синтез Е2, который, в свою очередь, может привести к раннему появлению рецепторов Р в эндометрии и преждевременному возникновению секреторных изменений в нем [92]. Выявлено, что уровень ЛГ подавляется в большей степени, чем уровень ФСГ [154].

Таким образом, в настоящее время убедительно показано, что уровень прогестерона в начале стимуляции яичников имеет важное значение для наступления беременности.

Снижение уровня Е2 скорее всего, обусловлено механизмом его биосинтеза. В более ранних исследованиях показано, что подавление секреции эндогенного ЛГ в начале инициирования антГнРГ приводит к снижению стимуляции тека-клеток, и, следовательно, уменьшению образования андрогенов и их конверсии в эстрогены [142]. Важно отметить, что раннее и быстрое увеличение Е2 может само по себе вызвать более частые пики ЛГ, чего не наблюдается при назначении предварительного лечения антГнРГ. Тем не менее, появление паразитарных пиков ЛГ может происходить и по другим механизмам, таким как супрафизиологические концентрации эстрадиола [131]. В свою очередь, это может привести к преждевременной лютеинизации фолликулов и увеличению уровня Р [177].

О. Hamdine и F.J. Broekmans (2013) выявили, что назначение антГнРГ в раннюю фолликулярную фазу приводит к статистически значимому увеличению количества полученных ооцитов и частоты наступления беременности несмотря [86].

В нескольких исследованиях было показано, что высокая концентрация Р в сыворотке крови может оказывать неблагоприятное воздействие на эндометрий,

что приводит к снижению показателей имплантации и наступления беременности [120]. В исследовании, проведенном R. Li, J. Qiao, (2011) был проведен анализ экспрессии генов в эндометрии с помощью микроРНК в биоптатах слизистой полости матки, полученных на 6-й день после трансвагинальной пункции яичников у 19 пациенток в программах ЭКО без переноса эмбрионов в полость матки. Авторами выявлено, что у пациенток в высоком уровне прогестерона в сыворотке крови после введения ХГЧ, наблюдается снижение экспрессии остеопонтинина и сосудистого эндотелиального фактора роста, которые являются важными факторами, участвующими в процессе имплантации. Таким образом, полученные данные объясняют причины снижения частоты наступления беременности у пациенток с повышенным уровнем P, создавая тем самым новые ориентиры для совершенствования методов лечения [8; 120].

1.4. Имплантация эмбриона и рецептивность эндометрия.

Несмотря на улучшение клинических и лабораторных методов ЭКО, частота беременности по-прежнему составляет примерно 30 % за цикл (ESHRE, 2013). Тенденция к переносу одного эмбриона также мотивирует исследование путей к увеличению эффективности программ ЭКО [67]. Хотя ключевым фактором удачной имплантации является качество эмбриона, для молекулярной коммуникации между маткой и эмбрионом, приводящей к нормальной имплантации, необходимы созревание и рецептивность эндометрия.

1.4.1 Процесс имплантации эмбриона.

Известно, что процесс имплантации эмбриона – это сложный и многоэтапный процесс, осуществляющийся при помощи межмолекулярных и межклеточных процессов.

Ключевым моментом успешной имплантации эмбриона является формирование двунаправленного диалога между бластоцистой и материнским эндометрием, который происходит только в «окно имплантации», а точнее на 7 день после пика

лютеинизирующего гормона [39]. В этот период эндометрий подготавливается к принятию эмбриона.

В ходе децидуализации происходит прикрепление эмбриона и протекают последующие этапы, необходимые для успешного наступления беременности [12].

Таким образом, в циклах ЭКО, наряду с отбором эмбрионов хорошего и отличного качества, нужно определить время, максимальной рецептивности эндометрия для проведения переноса эмбрионов в полость матки с целью достижения максимальной частоты имплантации и наступления беременности [155].

В настоящее время репродуктологи рекомендуют культивировать эмбрионы *in vitro* до стадии бластоцисты, так как это способствует росту показателя успешных имплантаций [3; 116]. Для того, чтобы оценить морфологическое развитие эмбриона целесообразно осуществлять культивирование эмбрионов *in vitro* до стадии бластоцисты, что позволяет синхронизировать «окно переноса» и «окно имплантации» [7].

1.4.2 Иммунологические маркеры рецептивности эндометрия.

В 1993 году Том Вегман представил иммунологическую теорию имплантации [184]. Тем не менее, в настоящее время иммунологические процессы в период имплантации остаются малоизученными.

В настоящее время выявлен целый ряд цитокинов и факторов роста в ткани эндометрия, а также на поверхности бластоцисты и децидуальной ткани, что подтверждает их роль в процессе децидуализации и имплантации [87]. Так называемый «crosstalk» между бластоцистой и эндометрием осуществляется за счет выработки ряда цитокинов, хемокинов, факторов роста и молекул адгезии клетками, что приводит к миграции бластоцисты [169]. В то время как дисбаланс выработки цитокинов и рецепторов к ним приводит к нарушению фолликулогенеза, отсутствию овуляции и оплодотворения, а также к нарушению

развития эмбриона и имплантации, а так же может приводить самопроизвольному выкидышу или фето-плацентарной недостаточности [85].

Таким образом одним из условий рецептивного эндометрия является адекватно функционирующая иммунная система, инициирующая имплантацию эмбриона.

LIF и его роль в процессе имплантации

Одним из важных факторов регуляции процесса имплантации эмбриона является LIF (лейкемия ингибирующий фактор, leukemia inhibitory factor).

LIF является провоспалительным цитокином, оказывающим влияние на пролиферацию, дифференцировку и функционирование клетки, и взаимодействующим с рецептором LIF- β R. В матке сигнализация LIF- β R преимущественно происходит через STAT3 [103]. Следует отметить, что экспрессия STAT3 возможна только в определенный период восприимчивости матки. Такая ограниченная сигнализация STAT3 не зависит от концентрации или сродства рецептора LIF (LIF-R), то есть использование сигнального пути LIF-R изменяется во времени, по-видимому, в зависимости от метаболического состояния эндометрия в ходе менструального цикла [45].

LIF экспрессируется в люминальном эпителии в дни 18–28 менструального цикла (средняя-поздняя секреторная фаза), что подтверждает его роль в имплантации [57]. В секреторной фазе рецепторы LIF- β R обнаруживаются на люминальном эпителии. Децидуальные стромальные клетки также синтезируют LIF [57].

На экспрессию LIF влияет несколько молекул. LIF связан с воспалительными путями через IL-1; TNF- α (фактор некроза опухолей α) и лептин могут стимулировать синтез LIF. IGF (инсулин-подобный фактор роста) и TGF- β (трансформирующий фактор роста β) также индуцируют секрецию LIF в дозозависимой манере [103].

Предполагается, что LIF выполняет в эндометрии несколько функций. LIF может регулировать долю и количество иммунных клеток в эндометрии во время имплантации [103]. В нокаутных по LIF мышах число эндометриальных макрофагов значительно снижено, когда как концентрация NK-клеток и

эозинофилов повышена, то есть LIF может рекрутировать макрофаги и ограничивать миграцию эозинофилов и маточных NK-клеток [57]. Помимо этого, LIF может опосредовать взаимодействия между децидуальными лейкоцитами и вторгающимся трофобластом [57]. Более того, LIF контролирует статус эндометрия через эндометриальную сигнализацию LIF-R. В экспериментах на нокаутных мышах было показано, что LIF необходим для успешной имплантации бластоцисты, но не влияет на ее жизнеспособность [173]. В мышах, лишенных гена LIF, помимо других изменений, нарушены экспрессия гликанов на поверхности клетки и формирование пиноподий [103].

Что интересно, LIF влияет не только на эндометрий; существуют данные, указывающие на то, что LIF оказывает воздействие на эмбрион. При культивировании *in vitro* бластоциста экспрессирует LIF-R [43]. Точная функция «эмбрионального» LIF-R неизвестна; предполагается, что LIF опосредует сигналы между иммунными клетками в децидуальной эндометрии и трофобласте [166]. Более того, коммуникация между бластоцистой и эндометрием происходит в обоих направлениях. Бластоциста также синтезирует LIF, таким образом контролируя материнский эндометрий [199]. Помимо этого, будущий эмбрион способен регулировать эндометриальный синтез LIF. Существуют данные, указывающие на существование положительной обратной связи между хорионическим гонадотропином человека (ХГЧ), выделяемым бластоцистой, и синтезом LIF в эндометрии. Такая коммуникация дает бластоцисте дополнительную возможность повлиять на восприимчивость эндометрия [50].

Исследования фертильности, в которых сравнивался синтез LIF у женщин с бесплодием и без него, показали, что LIF необходим для успешной имплантации. Однако полученные результаты противоречивы, и однозначных данных *in vitro* для людей до сих пор нет [57]. Недавние исследования макак-резус показывают, что введение в матку анти-LIF моноклональных антител приводит к уменьшению числа беременностей [163]. Анализ влияния функциональных мутаций гена LIF указывает на то, что у людей отсутствие функционального LIF приводит к снижению фертильности [108].

Интерлейкин-6 и имплантация

Интерлейкин-6 (IL-6) представляет собой провоспалительный цитокин, синтезирующийся (преимущественно) в эндометриальном эпителии и стромальных клетках во время имплантации [49]. IL-6 циклически синтезируется люминальным эпителием; максимальный уровень наблюдается в период имплантационного окна и менструации [50]. Исследования показали, что концентрация IL-6 относительно мала в пролиферативной фазе и постепенно возрастает в секреторной фазе. В поздней секреторной фазе концентрация IL-6 снова падает (но остается выше, чем в пролиферативной фазе); эти флуктуации могут управляться стероидами, но известно, что здесь также задействована аутокринная обратная связь [175]. Эндометрий и трофобласт несут рецепторы для IL-6 [166]. Экспрессия IL-6 контролируется несколькими факторами, включая IL-1 [50]. Более того, стероидные гормоны, особенно, эстроген, индуцируют экспрессию IL-6 [175]. С другой стороны, ХГЧ и TGF- β ингибируют производство IL-6 [50].

Рецепторы IL-6 были обнаружены на человеческих эмбрионах, начиная со стадии бластоцисты и далее [166]. Эмбриональный ХГЧ не только усиливает синтез LIF эндометрием, но и ингибирует эндометриальное выделение IL-6, что, в свою очередь, влияет на рецепторы трофобласта и приводит к высвобождению ХГЧ. Таким образом, ХГЧ служит «двусторонним» модулятором выделения цитокинов. Посредством ХГЧ бластоциста может усиливать воспаление, стимулируя выработку LIF, и одновременно сдерживать его путем ингибирования IL-6 [50].

Недавние исследования показали, что низкий уровень синтеза мРНК IL-6 связан с повторными выкидышами. Возможно, это объясняется тем, что IL-6 меньше участвует в перестройке тканей, децидуализации и развитии плаценты/трофобласта [94]. Однако у женщин с повторными выкидышами также наблюдалось повышенное содержание IL-6 в сыворотке крови; к сожалению, в этом исследовании не производилось измерения концентрации IL-6 в матке [57].

Данные результаты показывают, что как избыток, так и недостаток IL-6 могут приводить к нежелательным исходам имплантации.

Таким образом, IL-6 может играть важную роль в периоде перед имплантацией, хотя некоторые его функции, по-видимому, дублируются другими молекулами. Более того, слишком высокий уровень провоспалительных цитокинов может снизить вероятность успешной имплантации.

Интерлейкин-1 и имплантация

Система цитокинов IL-1, принадлежащих суперсемейству IL-1 β /TLR, также участвует в имплантации эмбриона. Система IL-1 состоит из двух агонистов, IL-1 α и IL-1 β , двух поверхностных клеточных рецепторов, IL-1R1 и IL-1R2, дополнительного белка (IL1RAcP) и естественного антагониста IL-1ra. IL-1 α и IL-1 β обладают одинаковой биологической активностью, и синтезируются в форме молекул-предшественников, которые затем активируются [57]. IL-1R1 встречается в небольшом количестве на разных клетках, тогда как IL-1R2 содержится только в лейкоцитах; считается, что IL-1R2 служит рецептором-антагонистом для IL-1, то есть IL-1R2 оказывает ингибиторное воздействие на активность IL-1 [57]. Сигнализация IL-1 β опосредуется путями MAPK и NF- κ B [118].

IL-1 экспрессируется в течение всего менструального цикла, однако экспрессия IL-1 β в стромальных клетках, макрофагах, лейкоцитах (включая маточные NK-клетки) и эндотелиальных клетках достигает пика в поздней секреторной фазе [57]. IL-1R1 был обнаружен на эпителии эндометрия, причем его концентрация была максимальной в поздней лютеиновой фазы, и на железистом эпителии и стромальных клетках, где его концентрация была максимальной в средней-поздней секреторной фазе [201]. Что интересно, исследователи обнаружили, что IL-1R2, оказывающий ингибиторное воздействие на сигнализацию IL-1, в течение имплантационного окна экспрессируется меньше, что приводит к снятию ингибирования системы IL-1 и, следовательно, повышению активности IL-1 и созданию провоспалительных условий. Содержание IL-1R2 снова повышается в поздней секреторной фазе и при менструации, что восстанавливает

ингибирование IL-1 [28]. Механизмы циклической регуляции синтеза IL-1R2 требуют дальнейшего изучения. В общем случае, экспрессия компонентов системы IL-1 стимулируется в ходе беременности не только компонентами системы IL-1, но и лептином [57]. Более того, IL-11 индуцирует экспрессию РНК IL-1 β при децидуализации. Однако хотя в децидуальных клетках обнаруживается повышенная концентрация про-IL-1 β , это не приводит к образованию активного IL-1 β [79].

В период имплантационного окна IL-1 выполняет несколько функций. Он стимулирует синтез LIF в эндометрии и производство лептина и его рецептора [57]. Более того, IL-1 усиливает экспрессию субъединицы β_3 интегрина, адгезионной молекулы, играющей важную роль в оппозиции и адгезии, что мы опишем ниже. По-видимому, IL-1 также выполняет важные функции при децидуализации [68].

Человеческая бластоциста также отвечает на воздействие IL-1; исследования показывают, что IL-1R1, IL-1 β и IL-1ra экспрессируются в бластоцисте [201]. Было продемонстрировано, что эмбрионы высвобождают ХГЧ в ответ на стимуляцию IL-1 [57]. Более того, эмбрионы сами синтезируют IL-1. Помимо этого, перимплантационные эмбрионы, синтезирующие IL-1ra, чаще задерживаются в развитии. Возможно, эмбрионы используют систему IL-1 для коммуникации с материнскими тканями и воздействия на свойства эндометрия. Следует отметить, что IL-1 также может использоваться для коммуникации на других этапах беременности, например, в ходе инвазии трофобласта и миграции по фаллопиевым трубам [201]. У мышей дефекты системы IL-1 не влияют на размножение, однако было показано, что антагонисты биологической активности IL-1 приводят к неудаче имплантации. Это происходит в результате воздействия на эндометрий, скорее всего, за счет ингибирования экспрессии адгезионных молекул [201].

Факторы роста и имплантации

Факторы роста являются секретлируемыми сигнальными белками, которые индуцируют пролиферацию и дифференцировку клеток,

инициируя сигнальные каскады при клеточных взаимодействиях [179]. Одну из основных ролей в процессе имплантации играют следующие факторы роста: 1) колониестимулирующие факторы (CSFs); 2) трансформирующие факторы роста (TGF- α и β); 3) сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF); 4) гепаринсвязывающий фактор роста (HB-EGF); 5) эпидермальный фактор роста (EGF); инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-1 и IGFBP-2).

Колониестимулирующие факторы (CSF)

Колониестимулирующие факторы (CSF) представляют собой гетерогенную группу факторов роста и дифференцировки миелоидного ростка гемопоэза.

D.Metcalf и соавторы впервые обнаружили медиаторы, стимулирующие рост колоний костномозговых предшественников гемопоэза в 1960-х годах, которые в последствии были названы колониестимулирующими факторами (colony stimulating factors, CSF) [30]. К ним относятся следующие факторы роста: 1) гранулоцитарный колониестимулирующий (G-CSF или CSF-3) для нейтрофильных гранулоцитов, 2) моноцитарный колониестимулирующий (M-CSF или CSF-1) для моноцитов, которые стимулируют дифференцировку, главным образом, соответствующих клеток предшественников, 3) CSF для гранулоцитов и моноцитов (GM-CSF или CSF-2), влияющий на общий предшественник гранулоцитов и моноцитов и на оба ростка после их разделения, 4) IL-3 или мульти-CSF, обладающий более широким спектром биологической активности и активирующий, помимо указанных ростков, еще и другие клетки-предшественники, включая эозинофилы и базофилы на ранних этапах их созревания.

В последние десятилетия исследователи доказали роль колониестимулирующих факторов в фолликулогенезе и процессе имплантации [113], процессе развития эмбриона и бластуляции [100], функции эндометрия [189], а также в течение беременности [186].

Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор роста (G-CSF)

G-CSF инициирует терминальную дифференцировку ряда миеломоноцитарных клеточных линий и образование миелоидных колоний клетками костного мозга [137].

По данным ряда исследователей высокий уровень G-CSF в фолликулярной жидкости положительно коррелирует с эффективностью программы ЭКО [114], и может быть использован как предиктор беременности [160]. В настоящее время, введение G-CSF во второй фазе цикла применяется у женщин с повторными неудачами имплантации в циклах ЭКО [189].

Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор роста (GM-CSF).

GM-CSF был выявлен в 1977 году в легочной ткани у мышей после инъекции им липополисахарида, и является представителем колониестимулирующих факторов, регулирующих созревание клеток миеломоноцитарного ростка кроветворения. Однако, GM-CSF отличается от G-CSF и M-CSF меньшей специфичностью действия, стимулируя пролиферацию и дифференцировку предшественников как гранулоцитов, так и моноцитов [33]. С момента первого деления, эмбрион экспрессирует на своей поверхности рецепторы к GM-CSF.

GM-CSF синтезируется Т-лимфоцитами, моноцитами, гранулоцитами, макрофагами, эндотелиальными и эпителиальными клетками, в том числе клетками гранулезы [196], клетками стромальной и децидуальной ткани, железистым эпителием, клетками маточных труб [195], эпителиальными клетками трофобласта и NK-клетками эндометрия (эндокринная регуляция) [95], а также самим эмбрионом (аутокринная регуляция) [54].

Его экспрессия регулируется эстрадиолом и прогестероном, а также семенной плазмой [167] и хорионическим гонадотропином человека [140].

Максимальная экспрессия GM-CSF достигается в эндометрии в середине секреторной фазы менструального цикла [87].

S.D. Spandorfer с соавторами продемонстрировали на мышинной модели связь GM-CSF с показателями эффективности программы ЭКО при сокультивировании эмбрионов с аутологическими клетками эндометрия [172].

Снижение концентрации GM-CSF в сыворотке зарегистрирован у женщин с привычным невынашиванием, о чем свидетельствует смещение баланса иммунологической реакции с Th2 и Treg в сторону Th1 и Th17 [144], а также в фолликулярной жидкости женщин с идиопатическим бесплодием [36]. В настоящее время существуют данные о положительной корреляции концентрации GM-CSF эпителиальными клетками эндометрия и эффективностью программы ЭКО [172], также добавление факторов роста, в частности GM-CSF, в культуральные среды положительно сказывается на частоте наступления беременности в результате программы ЭКО [198].

Однако по данным других исследователей нет корреляции между экспрессией GM-CSF в ткани эндометрия в цикле, предшествующем ЭКО, и частотой имплантации [164].

В настоящее время активно изучается использование G-CSF для лечения тонкого эндометрия [78] и привычного невынашивания беременности [162]. Так введение GM-CSF (Молграстим) в день переноса эмбрионов приводит к увеличению частоты наступления беременности в программах ЭКО [187].

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF)

Васкуло-эндотелиальный фактор роста (VEGF) [149] является основным медиаторами как физиологического, так и патологического роста и дифференцировки сосудов различных тканей организма [76], также VEGF играет ключевую роль в процессе фолликулогенеза, овуляции и имплантации [85].

На сегодняшний день известно 6 подтипов VEGF: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF -E и плацентарный фактор роста, а так же три их рецептора VEGF (VEGFR), относящиеся к рецепторам тирозинкиназы III типа VEGFR1 (FLT1), VEGFR2 (FLK1, KDR) и VEGFR3 (FLT4) [124].

Наибольшая экспрессия VEGF зарегистрирована во время «окна имплантации» в эпителиальных и стромальных клетках эндометрия [168].

Эти данные подтверждаются результатами В.С. Лее с соавторами (2009), которые продемонстрировали значительное снижение экспрессии VEGF-A в эндометрии средней секреторной фазы цикла у женщин, имеющих в анамнезе

многократные неэффективные попытки ЭКО, по сравнению с фертильными женщинами.

VEGF-A также является возможным маркером рецептивности эндометрия и предиктором успеха циклов ЭКО, так при исследовании эндометрия в период предполагаемого «окна имплантации» в цикле предшествующем программе ЭКО, выявлено значительное повышение экспрессии VEGF-A железистым эпителием у женщин с наступившей беременностью по сравнению с группой женщин, у которых беременность не наступила ($6,0 \pm 3,9$ и $2,9 \pm 3,4$, соответственно)[164]. В то же время, как в смывах из полости матки, полученных в среднюю секреторную фазу у женщин с бесплодием неясного генеза отмечен низкий уровень VEGF по сравнению с фертильными женщинами [87].

Дальнейшие исследования показали, что культивирование эмбрионов мышей в среде с добавлением рекомбинантного VEGF или смывов из полости матки, полученных у фертильных женщин в среднюю секреторную фазу, приводило к улучшению качества эмбрионов по сравнению с группой контроля [87]. Также проводились экспериментальные работы с добавлением в культуральную среду смывов из полости матки фертильных женщин, полученных в среднюю секреторную фазу менструального цикла, или рекомбинантного VEGF, что приводило к значительному повышению адгезивной способности культуры. Таким образом было выявлено, что максимальная секреция VEGF клетками эндометрия осуществляется в период предполагаемого «окна имплантации», а также доказана способность VEGF улучшать качество эмбрионов и рецептивность эндометрия ($p < 0,05$).

Тем не менее, в настоящее время нет препаратов VEGF, внедрённых в клиническую практику.

Следует отметить, что здесь описаны многие активно исследуемые в настоящее время цитокины и факторы роста. Однако менее изученные в данном контексте противовоспалительные цитокины, например, IL-5 и IL-10, также могут быть важны, и их отсутствие в научной литературе не означает отсутствие функции.

1.4.3 Методы оценки эндометрия.

В литературе описано множество методов оценки созревания и рецептивности эндометрия [2; 56]. Однако наиболее широко используется метод Noyes *et al.* (1950), в котором созревание определяется по гистологическим критериям [4; 138]. Субъективная оценка свойств ткани приводит к трудностям интерпретации и значительным различиям между наблюдателями. Эти факторы ограничивают применение метода в клинической практике [133]. В последние годы глобальные исследования экспрессии генов позволили охарактеризовать транскриптом эндометрия на всех стадиях цикла и после стимуляции яичников [98]. Этот подход привел к идентификации нескольких медиаторов, потенциально регулирующих эндометриальную рецептивность и последующую молекулярную коммуникацию между эмбрионом и эндометрием [7; 89]. Однако из-за посттранскрипционных процессов, включая скорость синтеза и обмен белков, между экспрессией генов и реальными концентрациями белков не всегда существует прямая связь. Беременность связана с преимущественно противовоспалительным профилем цитокинов [185]. Однако наблюдаемый сложный профиль цитокинов при взаимодействии плода и матери не согласуется с исключительно про- и противовоспалительной парадигмой. Более того, некоторые провоспалительные цитокины необходимы для успешной имплантации [42]. Благодаря иммуноцитохимическим методам в период окна имплантации была обнаружена последовательная временная экспрессия нескольких медиаторов, например, интегрина V3 и гликоделина, которые могут служить маркерами рецептивности эндометрия [117]. Однако получение репрезентативной выборки для исследования имплантации у человека и взаимодействий между эмбрионом и эндометрием *in vivo* остается непростой задачей, поскольку невозможно провести биопсию эндометриальной ткани в период окна имплантации без нарушения процесса имплантации [56]. Исследования модели донорных ооцитов служат альтернативным подходом к проблеме, но они ограничены отсутствием имплантации как конечной точки, поскольку эмбрион переносится в матку другой женщины. Понимание

имплантации эмбриона у человека можно улучшить при помощи неинвазивного объективного клинического анализа эндометриальной рецептивности, который можно применять в период окна имплантации циклов зачатия [51].

Одним таким методом является анализ секрета эндометрия, аспирированного из полости матки в период окна имплантации. Секрет эндометрия представляет собой внутриматочную среду, с которой взаимодействует эмбрион, и ранее было показано, что аспирацию эндометриального секрета можно производить перед переносом эмбриона без риска снижения вероятности имплантации [72]. Доказано, что данный метод не нарушает процесс имплантации [26]. Цервикальная слизь также представляет секрет эндометрия и частично слизистой цервикального канала. Неоднократно было отмечено присутствие ряда цитокинов в цервикальной слизи [26]. Так в работе Boomsma С.М. с соавторами (2009) показали, что разные цитокины, присутствующие в смывах из полости матки в день переноса эмбрионов у женщин, участвующих в программах ЭКО, так же находятся и в цервикальной слизи, но в меньших концентрациях [26]. К сожалению, оценка цитокинов как маркеров рецептивности эндометрия в естественных циклах и в циклах ЭКО с применением неинвазивных методов оценки, на сегодняшний день, не имеет клинической интерпретации и не применяется в практике [119].

В настоящее время использование цитокинов в качестве критерия рецептивности эндометрия в циклах ЭКО имеет большое значения, как с медицинской, так и с экономической точки зрения, учитывая легкость и доступность их получения из различных биологических жидкостей (смывы из полости матки, цервикальная слизь), в том числе в циклах ЭКО, не прибегая при этом к инвазивным методам исследования [46].

1.5 Заключение

В последнее десятилетие все большую популярность в программах ВРТ приобретают протоколы с анТГнРГ. Удобство и простота их применения, отсутствие неблагоприятных побочных эффектов и низкая стоимость препаратов

все чаще заставляют клиницистов отказываться от привычных протоколов стимуляции овуляции в пользу протоколов с антГнРГ. Однако, несмотря на большую безопасность антГнРГ, во многих современных исследованиях было выявлено снижение частоты наступления беременности, что препятствует их широкому внедрению в клиническую практику.

В настоящее время убедительно показано, что основной причиной неудовлетворительных исходов при применении антГнРГ является отсутствие оптимальных условий для начала стимуляции функции яичников. Высокие концентрации прогестерона, эстрадиола и ЛГ оказывают негативное влияние на качество ооцитов и процесс имплантации. Эти результаты подтолкнули исследователей к поиску методов программирования цикла, которые бы позволили оптимизировать условия для начала стимуляции овуляции.

В течение многих лет с этой целью используются КОК и оральные эстрогены перед вступлением в программу ЭКО, а также кратковременное назначение антагонистов ГнРГ в раннюю фолликулярную фазу цикла. Однако в проведенных к настоящему времени исследованиях получены противоречивые и неоднозначные результаты, что диктует необходимость проведения дальнейших исследований.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материал исследования

В соответствии с целью исследования и поставленными для ее достижения задачами, было проведено обследование 210 женщин репродуктивного возраста, имевших не более 2х безуспешных попыток ЭКО в анамнезе. Все пациентки обращались для лечения бесплодия в 1 гинекологическое отделение (руководитель отделения – к.м.н. Абубакиров А.Н.) ФГБУ «НМИЦ АГ и П им. В.И. Кулакова» Министерства Здравоохранения РФ (директор – академик Сухих Г.Т.) в 2012-2014 гг.

Критериями включения пациенток в исследование явились:

- Возраст < 35 лет
- Базальная концентрация ФСГ < 12 мМЕ/мл
- Регулярный ритм менструаций (25-35 дней)
- ИМТ от 18 до 29 (включительно)
- Не более 2 безуспешных попыток ЭКО в анамнезе
- Стимуляция функции яичников в протоколе с антагонистами ГнРГ в циклах ЭКО или ЭКО+ИКСИ
- Информированное согласие на участие в исследовании

Критериями исключения пациенток из исследования явились:

- СПКЯ
- Наружный и внутренний эндометриоз III-IV стадии
- Интерстициальная или субсерозная миома матки размером более 4 см
- Гидросальпинкс и/или тубоовариальное образование (с одной или обеих сторон) по данным гистеросальпингографии и/или ультразвукового исследования
- Пороки развития внутренних половых органов, включая состояния после хирургической коррекции пороков развития внутренних половых органов;
- Приобретенные деформации полости матки, при которых невозможна имплантация эмбрионов или вынашивание беременности;
- Патозооспермия III-IV степени
- Проведение переноса криоконсервированных/размороженных эмбрионов в цикле, предшествующем циклу стимуляции

- Противопоказания к проведению программы ЭКО или ЭКО+ИКСИ:
 - соматические и психические заболевания, являющиеся противопоказаниями для вынашивания беременности и родов;
 - острые воспалительные заболевания любой локализации;
 - хронические заболевания любой локализации в стадии обострения;
 - кистомы яичников;
 - злокачественные новообразования любой локализации, в том числе в анамнезе.
- Развитие синдрома гиперстимуляции яичников средней или тяжелой степени на фоне стимуляции функции яичников в данном цикле ЭКО
- Пациентки с наличием противопоказаний к ПЭ в данном цикле (СГЯ, воспалительные заболевания, инфекции)

После проведенного обследования при помощи метода блочной рандомизации 210 пациенткам, входившим в исследуемые группы, назначалась предварительная подготовка: I группа – 53 пациентки, получавшие комбинированные оральные контрацептивы (этинилэстрадиол 30 мкг/ гестоден 75 мкг) в режиме 14 дней со второго дня менструального цикла; II группа – 52 пациентки, которые получали эстрогены (эстрадиола валерат 4 мг/сут) с 21-25 дня предыдущего цикла перед стимуляцией функции яичников по протоколу с антагонистами ГнРГ в течение 6-10 дней и с отменой их за день до начала стимуляции функции яичников; III группа – 52 женщины получали антагонисты ГнРГ в раннюю фолликулиновую фазу в течение 3 дней со 2 дня цикла с последующим переходом к стандартной стимуляции гонадотропинами по протоколу с антагонистами ГнРГ с 5 дня цикла. IV группу составили 53 женщины не получавшие предварительную подготовку вошли в группу контроля, стимуляция функции яичников в которой проводилась по стандартному протоколу.

Далее всем пациенткам проводилась программа ЭКО на базе 1 гинекологического отделения ФГБУ «НМИЦ АГ и П им. В.И. Кулакова» Министерства Здравоохранения РФ, включающая в себя следующие этапы:

- Стимуляцию суперовуляции;
- Мониторинг роста и развития фолликулов (ультразвуковой и гормональный);
- Трансвагинальную пункцию фолликулов под контролем ультразвука и получение преовуляторных ооцитов;
- Получение спермы и подготовка ее к инсеминации *in vitro*;
- Инсеминацию ооцитов *in vitro* или проведение процедуры ИКСИ;
- Установление факта оплодотворения ооцитов, установление факта дробления эмбрионов и культивирование эмбрионов;
- Перенос эмбрионов в полость матки;
- Криоконсервация эмбрионов.

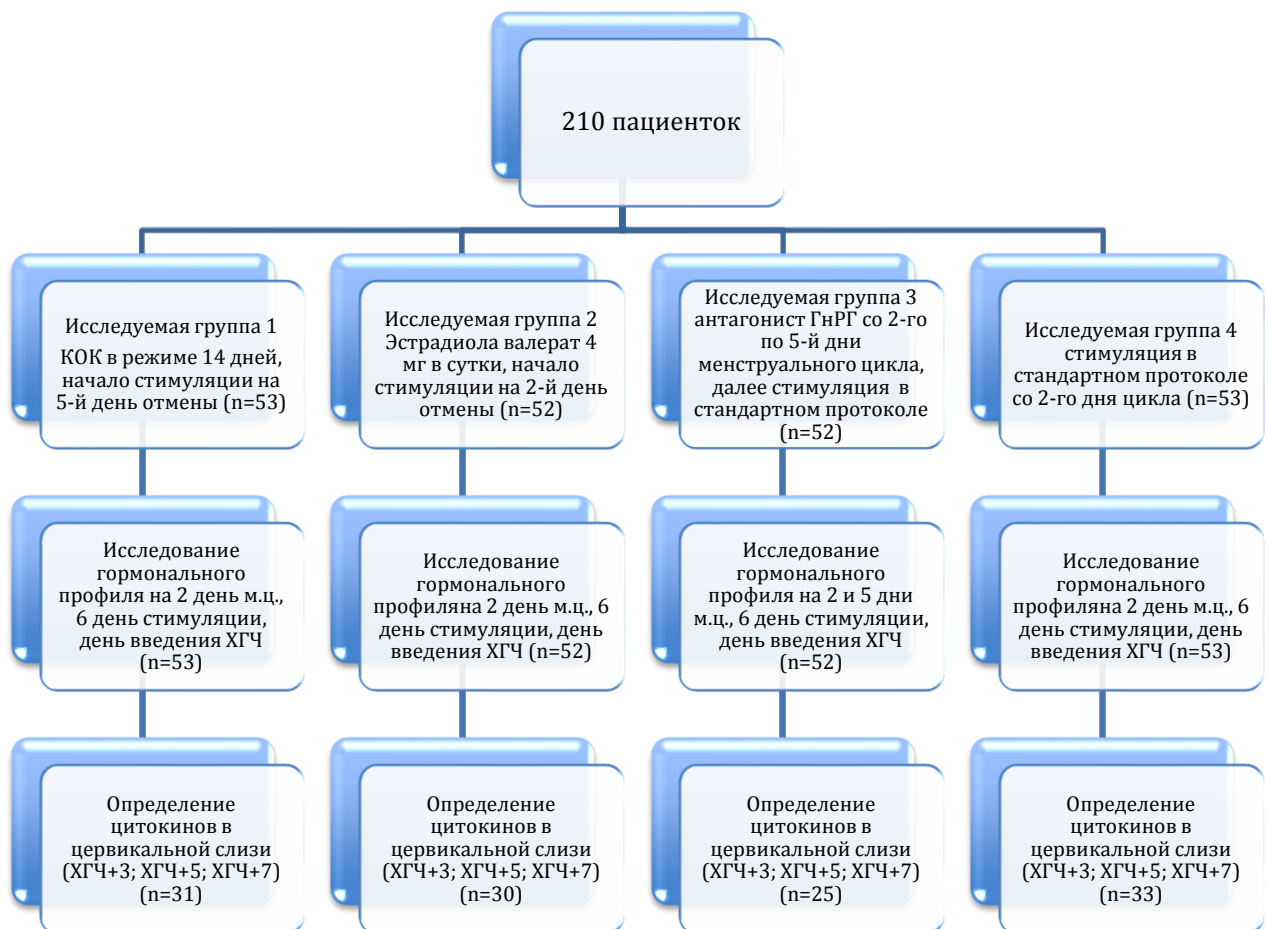


Рисунок 1. Дизайн исследования.

2.2 Методы исследования

Согласно приказу № 107н Минздравсоцразвития России от 30 августа 2012 года «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), противопоказаниях и ограничениях к их применению» в рамках подготовки к программе ЭКО проводилось предварительное обследование супружеских пар с использованием как общеклинических так и специальных методов обследования:

- 1.Общее и специальное гинекологическое обследование ;
- 2.Ультразвуковое исследование органов малого таза;
- 3.Определение группы крови и резус-фактора;
- 4.Клинический анализ крови;
- 5.Гемостазиограмма;
- 6.Анализ крови на ВИЧ, сифилиз, гепатит В и С;
- 7.Исследование на флору из уретры, цервикального канала, влагалища;
- 8.Цитологическое исследование мазков шейки матки, кольпоскопия;
- 9.Инфекционное обследование (хламидиоз, уреаплазмоз, микоплазмоз, вирус простого герпеса, цитомегаловирус, токсоплазмоз, краснуха);
- 10.Гормональное обследование: АМГ, ФСГ, ЛГ, Е2, прогестерон, пролактин, тестостерон, ТТГ, Т3, Т4 св.
- 11.Заключение терапевта о состоянии здоровья;
- 12.Заключение других специалистов по показаниям;
- 13.Проводили обследование супруга пациентки: сбор анамнеза, исследование качества спермы, анализ мазков на наличие хронических инфекций, исследование крови на ВИЧ, сифилис, гепатиты В и С; при необходимости – консультация и лечение у андролога;
- 14.По показаниям проводили медико-генетическое консультирование супружеской пары.

2.2.1 Общеклинические методы исследования

У всех пациенток изучали данные соматического, гинекологического и репродуктивного (число и исходы предыдущих беременностей) анамнеза. Особое внимание уделяли оценке менструального цикла (возраст менархе, регулярность и продолжительность цикла, характер менструации), наличию гинекологических заболеваний и оперативных вмешательств на органах малого таза с предоставлением выписки об объеме операции и результатах гистологического исследования.

Также изучали клинические и эмбриологические параметры в предыдущих программах ЭКО. Особое внимание уделяли фолликулогенезу (количество и динамика роста фолликул), детально изучали оогенез (количество и зрелость полученных ооцитов) и эмбриогенез в программах.

Общий осмотр

При общем осмотре пациентки измеряли рост, массу тела, рассчитывали индекс массы тела.

Гинекологический осмотр

Оценивали состояние наружных половых органов, полового оволосения, больших и малых половых губ. При осмотре в зеркалах обращали внимание на емкость влагалища, складчатость, окраску слизистой оболочки, характер выделений. Оценивали состояние шейки матки: цилиндрическая, коническая, субконическая; наличие или отсутствие эрозии. При бимануальном исследовании определяли положение и размеры матки, ее консистенцию, наличие миоматозных узлов, исследовали область придатков. Обращали внимание на размеры яичников, их консистенцию, симметричность, наличие или отсутствие спаечного процесса в малом тазу.

2.2.2. Гормональное исследование

Исследование гормонального статуса пациенток проводилось в рамках научно-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ АГ и П им. В.И. Кулакова» Министерства Здравоохранения РФ (руководитель лаборатории – к.б.н. Иванец

Т.Ю.) посредством радиоиммунологического метода с использованием наборов тест-систем фирмы «Hoffmann – La Roche, Ltd.» (Швейцария).

С целью анализа гормонального фона женщин обследование проводилось на 2-3 день менструального цикла в период ранней фолликулиновой фазы одного из циклов, предшествовавших стимуляции функции яичников. Проводилась оценка концентраций в плазме крови следующих гормонов: ФСГ (фолликулостимулирующий гормон), ЛГ (лютеинизирующий гормон), эстрадиола (Е₂), пролактина (ПРЛ), тестостерона, дегидроэпиандростерона сульфата (ДГЭА-С), кортизола (К), тиреотропного гормона (ТТГ), свободного тироксина (Т₄св). Концентрацию прогестерона (Р) оценивали на 20-21 день менструального цикла в период лютеиновой фазы цикла. Нормативные показатели содержания гормонов в плазме крови женщин репродуктивного возраста представлены в таблице 1.

Таблица 1

Нормативные показатели концентрации гормонов в плазме крови у женщин репродуктивного возраста в I и II фазах менструального цикла.

Показатель	Нормативы (ед. изм.)
ЛГ	3,0-10,0 МЕ/л
ФСГ	3,0-8,0 МЕ/л
Е ₂	150-450 пмоль/л
ПРЛ	120-500 мМЕ/л
Тестостерон	1,0-2,5 нмоль/л
К	200-500 нмоль/л
ДГЭА-С	0,9-11,7 мкмоль/л
ТТГ	1,0-3,0 мМЕ/л
Т ₄ св	10-25 пмоль/л
Р (лютеиновая фаза цикла)	16-95 мкмоль/л
АМГ	1,0 до 2,5 пг/мл

Дополнительно для оценки состояния овариального резерва методом ИФА проводили измерение уровня антимюллерова гормона (АМГ) в плазме крови на 2-3 день менструального цикла.

С целью изучения изменений в гормональном профиле в цикле стимуляции всем пациенткам производили забор крови в день начала стимуляции функции яичников, на 6 день стимуляции функции яичников и в день введения триггера овуляции. Содержание половых гормонов в образцах сыворотки крови определяли методом трехфазного иммунохемилюминесцентного анализа на анализаторе IMMULITE 2000 с использованием тест-систем: ЛГ/LH- Siemens, США, эстрадиол/Estradiol – Siemens, США, прогестерон/Progesteron – Siemens, США.

2.2.3. Ультразвуковое исследование органов малого таза

Предварительное УЗИ органов малого таза производилось на 5-8 день менструального цикла в одном из циклов, предшествовавших проведению стимуляции функции яичников. Исследование выполнялось на аппарате «Brulle Kierre» (Siemens, Германия) с использованием трансвагинального датчика с частотой 7,5 МГц. Измерения проводились при опорожнённом мочевом пузыре с использованием одноразового презерватива.

Оценивались размеры и структура тела матки, эндометрия и яичников, определялось количество антральных фолликулов, диагностировалось отсутствие объемных образований в малом тазу. Частота проведения УЗ- мониторинга в цикле стимуляции определялась выбранной схемой стимуляции овариальной функции.

При применении протокола с ант-ГнРГ УЗ-мониторинг первоначально проводили на 2-3 день менструального цикла в раннюю фолликулиновую фазу; затем на 6-й день стимуляции функции яичников; далее ежедневно с целью контроля динамики роста фолликулов и состояния эндометрия для своевременной возможности коррекции дозы вводимого индуктора, а также с целью определения даты начала введения ант-ГнРГ и до введения овуляторной дозы хорионического

гонадотропина.

2.2.4 Специальные методы исследования. Определение цитокинового профиля цервикальной слизи.

Забор цервикальной слизи проводился в асептических условиях в день трансвагинальной пункции (ЛГ+2), на 3-е сутки после ТВП (ЛГ+5) и в день переноса эмбрионов (ЛГ+7) при помощи урогенитального велюр-зонда «Соран», Италия, MDD-CE 0344 после предварительной очистки влагалищной части шейки матки сухим стерильным ватным тампоном. Зонд помещался в наружный зев шейки матки и находился там в течение 1 минуты. Далее в течение 10-15 минут проба транспортировалась в лабораторию для дальнейшей обработки. В лабораторных условиях кончик зонда опускался в пробирку с 1 мл фосфатно-солевого буфера (PBS, pH 7,2 – 7,4) и отрезался. Затем проба вортировалась в течение 30-40 секунд. Далее из пробы извлекался кончик зонда и проба центрифугировалась при 7500 об/мин. в течение 3 минут. Надосадочную жидкость переносили в маркированные пробирки и помещали на хранение при -70⁰С до момента исследования.

Исследование цервикальной слизи проводилось в лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ АГ и П им. В.И. Кулакова» Министерства Здравоохранения РФ (руководитель – д.м.н. Кречетова Л.В.). Определение концентрации цитокинов: IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, FGF, eotaxin, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , IP-10, MCP-1 (MCAF), MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF-BB, RANTES, TNF- α , VEGF в цервикальной слизи проводилось мультиплексным методом с использованием стандартной 27-плексной тест-системы Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex Assay, а LIF и MIF – с использованием дуплексной тест-системы Bio-Plex Pro Human Cytokine, Group II (Bio-Rad, США) на проточном лазерном иммуноанализаторе Bio-Plex 200 System (Bio-Rad, США) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя и последующей обработкой полученных результатов с использованием приложения Bio-Plex Manager 6,0 Properties (Bio-

Rad, США). Содержание цитокинов в цервикальной слизи выражали в пикограммах в миллилитре (пг/мл).

2.3. Схемы назначения предварительной подготовки к стимуляции функции яичников

Для предварительной подготовки с целью синхронизации созревания фолликулов перед вступлением в протокол стимуляции функции яичников с антагонистами ГнРГ использовались комбинированные оральные контрацептивы (этинилэстрадиол 30 мкг/ гестоден 75 мкг) в режиме 14 дней с второго дня менструального цикла. Стимуляция функции яичников начиналась на 5 день отмены контрацептивов. Пациентки, получившие данную подготовку вошли в I группу.

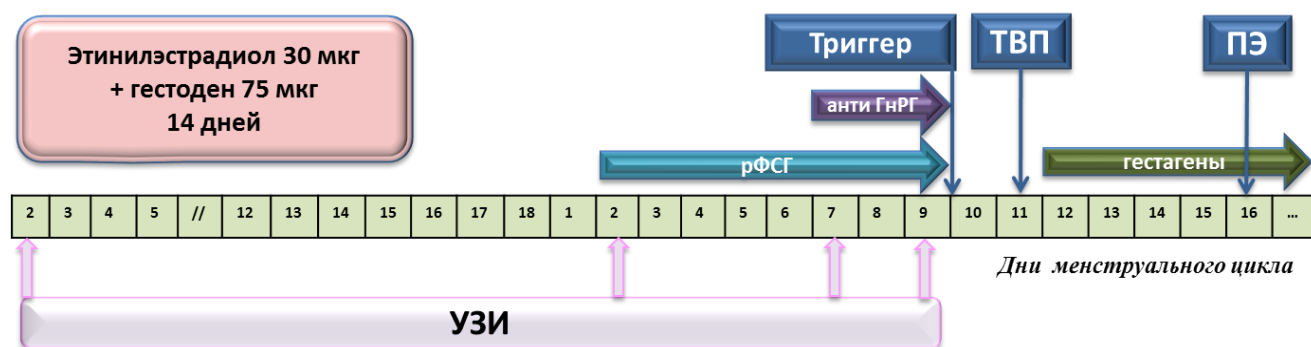


Рисунок 2. Протокол с антагонистами ГнРГ с предварительной подготовкой КОК.

Во вторую группу вошли пациентки, которым с 21-25 дня предыдущего цикла перед стимуляцией функции яичников по протоколу с антагонистами ГнРГ назначались эстрогены (эстрадиола валерат 4 мг/сут). Отменяли их за день до начала стимуляции функции яичников.

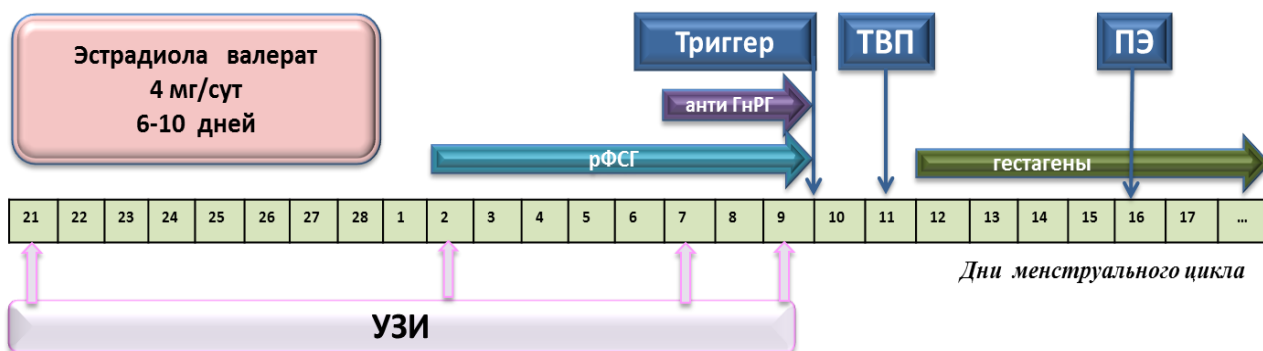


Рисунок 3. Протокол с антагонистами ГнРГ с предварительной подготовкой эстрадиол валератом.

Пациенткам, вошедшим в III группу, с целью программирования цикла назначались антагонисты ГнРГ в раннюю фолликулиновую фазу (2 день цикла) с последующим переходом к стандартной стимуляции гонадотропинами по фиксированному протоколу с антагонистами ГнРГ с 5 дня цикла.

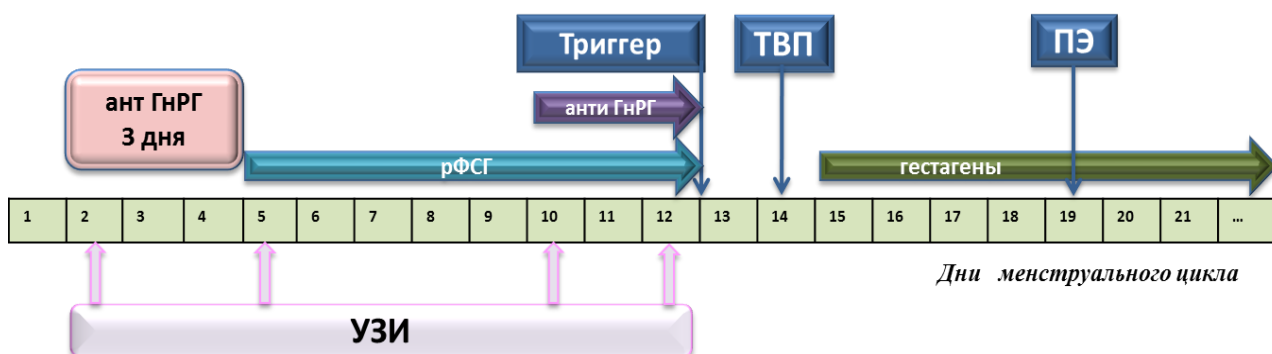


Рисунок 4. Протокол с предварительной подготовкой антагонистами ГнРГ

В IV группу вошли пациентки, стимуляция функции яичников которых проводили по стандартному протоколу без назначения предварительной терапии.

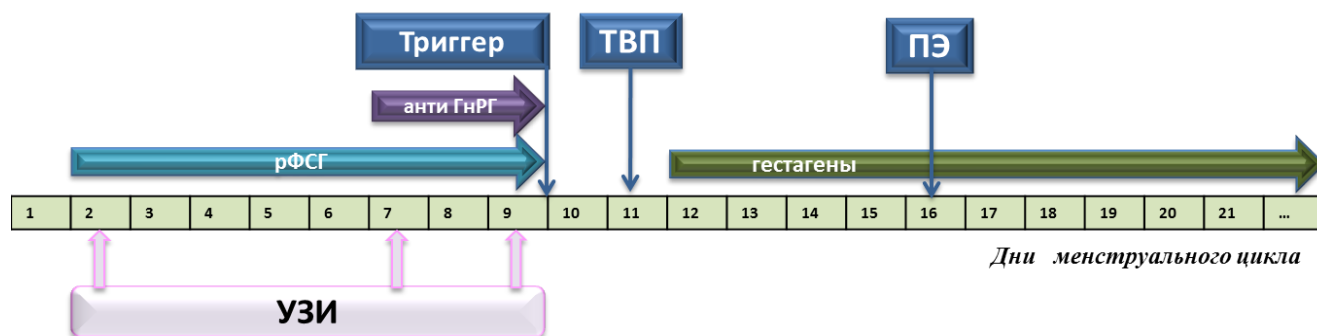


Рисунок 5. Стандартный протокол с антГнРГ.

2.4 Этапы программы ЭКО и ПЭ

2.4.1 Стимуляция суперовуляции

Стимуляция функции яичников проводилась по фиксированному протоколу с антагонистами ГнРГ. Введение гонадотропинов начинали: в I группе - на 5 дней после отмены КОК; во II группе - на следующий день после отмены эстрадиола; в III группе - с 5 дня менструального цикла; в IV группе - с 2-3 дня менструального цикла. Стартовая доза во всех группах была одинаковой и составила 225 МЕ в сутки. На 6 день стимуляции с целью подавления преждевременного пика ЛГ всем пациенткам вводили антагонист ГнРГ (цетрореликс) в дозе 0,25 мг в сутки в течение 2-4 дней до достижения критериев, необходимых для введения овуляторной дозы ХГЧ.

Длительность стимуляции суперовуляции, кратность и дозу вводимых препаратов определяли на основании данных гормонального и УЗ-мониторинга до дня введения «овуляторной» дозы хорионического гонадотропина (ХГЧ).

Назначение триггера овуляции производили при достижении лидирующим фолликулом по данным УЗИ диаметра не менее 17 мм. В качестве триггера овуляции использовался препарат ХГЧ в дозировке 10000 ЕД в/м. После этого через 35-36 часов производили ТВП фолликулов и аспирацию ооцитов.

2.4.2 Трансвагинальная пункция яичников

Трансвагинальную пункцию яичников производили через 35-36 часов после введения триггера овуляции в условиях малой операционной под кратковременным внутривенным наркозом и ультразвуковым контролем посредством вакуумной аспирации фолликулов под трансвагинальным ультразвуковым мониторингом с использованием одноразовых игл (система Cook IVF). Аспират помещался в подогретые стерильные пробирки, содержащие среду с гепарином (0,5мл), предотвращающую образование кровяных сгустков. Пробирки незамедлительно передавались эмбриологу. Содержимое каждой из доставленных пробирок помещалось в чашку Петри, изучалось на предмет

присутствия ооцит-кумулюсного комплекса, оценивалась степень зрелости полученных ооцитов. Полученные ооциты оплодотворяли методом инсеминации *in vitro* или, при необходимости, ИКСИ.

2.4.3. Оценка морфологии и зрелости полученных ооцитов.

Оценку зрелости полученных ооцитов производили по состоянию комплексов ооцит-кумулюс на основании следующей классификации.

Очень незрелый ооцит (GV - *germinal vesicle stage*) – клетки *cumulus* плотно упакованы вокруг ооцита. Иногда можно увидеть ядро ооцита – зародышевый пузырек. Такой ооцит находится на стадии профазы первого деления мейоза, на которой происходит блок мейоза в процессе оогенеза. Полярное тельце еще не сформировано.

Незрелый ооцит (MI) – клетки *corona radiata* все еще плотно примыкают к ооциту, *cumulus* незначительно увеличился. Такой ооцит находится на стадии метафазы первого деления мейоза, блок мейоза уже снят, однако формирование полярного тельца еще не произошло.

Зрелый ооцит (MII) - клетки *corona radiata* расходятся лучами от ооцита, *cumulus* разросшийся, но имеет клеточную структуру. Ооцит находится на стадии метафазы второго деления мейоза. Полярное тельце уже сформировано.

Перезрелый ооцит – присутствует небольшое количество клеток *corona radiata*, уже не примыкающих плотно к ооциту, который хорошо просматривается. *Cumulus* разросшийся, но все еще имеет клеточную структуру. Полярное тельце хорошо видно.

Лютеинизированный ооцит - вокруг ооцита клетки *cumulus* образуют скопления (комки), остальной *cumulus* представляет собой желеобразную массу с небольшим количеством клеток.

Дегенеративный ооцит - несколько клеток гранулезы окружают ооцит, *cumulus* отсутствует или очень маленький. Ооцит обычно темноокрашен (цитоплазма светло-коричневого цвета).

Для оплодотворения использовали зрелые ооциты M II.

Оплодотворение ооцитов проводилось путем инсеминации при нормозооспермии или посредством ИКСИ при патозооспермии I-II ст. Через 16-18 часов наличие двух четко различимых пронуклеусов (2PN) свидетельствует о нормально оплодотворившемся ооците. Аномально оплодотворившийся ооцит содержит 3 и более PN.

Оценка развития и морфологии эмбрионов осуществлялась ежедневно. На 3-и сутки эмбрионы, не имевшие никаких морфологических аномалий получали максимальную оценку в 3,5 балла. Каждое отклонение от нормальных параметров в морфологии эмбриона снижало оценку на 0.5 балла. При переносе на 3-и сутки выбирались 8-миклеточные эмбрионы с оценкой не менее 2,5 баллов (эмбрионы высшего качества).

Оценку бластоцист производили на основании классификации эмбрионов, разработанной Gardner D.K. и Schoolcraft W.B. в 1999 году, которая учитывает размеры бластоцисты и степень «вылупления» (hatching), а также выраженность внутренней клеточной массы и клеток трофэктодермы [74].

Стадии развития бластоцисты:

0 - Не бластоциста.

1 - Ранняя бластоциста: бластоцель составляет менее 50% от объема всей бластоцисты.

2 - Ранняя бластоциста: бластоцель составляет 50-80% объема всей бластоцисты.

3 - Полностью развитая бластоциста, большая бластоцель.

4 - Экспандированная бластоциста - более чем полностью развитая бластоциста, тонкая zona.

5 - Бластоциста, начавшая хетчинг, то есть трофэктодерма бластоцисты начинает прорывать ZP.

6 - Бластоциста, закончившая хетчинг, то есть полностью вышедшая из ZP.

Внутриклеточная Масса (ВКМ):

A - Плотное упакованное большое количество клеток.

B - Свободно сгруппированное небольшое количество клеток.

С - Очень мало клеток или практически не определяется.

Трофэктодерма (ТФЭ):

А - Много клеток, регулярное строение.

В - Немного клеток, нерегулярное строение.

С - Очень мало клеток и поврежденные клетки.

Для переноса на 5-е сутки использовали 2ВВ бластоцисты или бластоцисты высшего качества, т.е. имеющие оценку не менее 3ВВ.

Культивирование эмбрионов осуществляли в средах ISM1 и BAOrigio (Дания). До второго дня эмбрионы культивировали без использования понижения концентрации O_2 . Культивирование эмбрионов до стадии бластоцисты проводили в инкубаторах со сниженной концентрации O_2 до 5 %.

2.4.4. Метод оплодотворения и культивирования дробящихся эмбрионов *in vitro*

Ооциты идентифицировались сразу же после аспирации фолликулов при помощи диссекционного микроскопа на нагретой поверхности. Постоянно поддерживались необходимые температурные условия и рН среды. Качество и степень зрелости ооцитов оценивались непосредственно после аспирации, клетки преинкубировались *in vitro* в течение 2-3 часов при температуре 37 С в атмосфере с 5% CO_2 .

Выбор метода оплодотворения главным образом зависел от показателей подвижности сперматозоидов, соотношения числа подвижных и неподвижных сперматозоидов, объема эякулята, наличия агглютинации. Каждый образец спермы подвергался центрифугированию, обработке в специальной среде.

В случае нормозооспермии (ВОЗ, 2010) преовуляторные ооциты инсеминировались, т.е. каждый ооцит переносился в каплю, содержащую подвижные сперматозоиды в концентрации примерно 100 000 на 1 мл. До переноса в инсеминационную каплю каждый ооцит изучался, при необходимости производилось иссечение больших скоплений гранулезных клеток, сгустков крови и т.д.

При необходимости применялся метод ИКСИ, состоящий из нескольких этапов:

1. подготовка ооцита к инъекции, удаление кумулюса и лучистого венца;
2. культивирование клеток в NEPES-забуферной среде в течение часа до микроманипуляции;
3. выбор сперматозоида и иммобилизация посредством раздавливания жгутика;
4. аспирация выбранного сперматозоида в инъекционную пипетку;
5. при помощи микроинструмента производился поворот ооцита с целью локализации полярного тельца;
6. инъекция сперматозоида с аспирированной ооплазмой в ооцит.

Оценка оплодотворения производилась на 17-20й час после инсеминации (16-18й час в случае ИКСИ). Цитоплазма клетки исследовалась на предмет наличия 2 пронуклеусов и 2 полярных телец, что свидетельствовало о нормальном оплодотворении.

2.4.5. Перенос эмбрионов в полость матки

Перенос эмбрионов в полость матки осуществлялся на 5 сутки после оплодотворения *in vitro*. В асептических условиях эмбрионы переносились в полость матки в небольшом объеме культуральной среды в просвете гибкого одноразового стерильного катетера. Количество переносимых эмбрионов не превышало двух.

2.4.6. Поддержка посттрансферного периода и диагностика наступления беременности

Методом выбора являлось назначение в посттрансферном периоде программы ЭКО и ПЭ микронизированным прогестероном в дозе 200 мг 1х3 раза в день со следующего дня после пункции, с целью поддержания функции желтого тела, секреторной трансформации эндометрия и подготовки его к имплантации, дальнейшей гормональной поддержки ранних сроков беременности.

Через 14 дней после проведения переноса эмбрионов в полость матки оценивалась концентрация бета-субъединицы ХГЧ в крови пациенток. Положительной считалась концентрация бХГ > 20 МЕ/л. УЗИ беременности производилось на 21 день после ПЭ в полость матки с целью визуализации плодного яйца в полости матки. Ультразвуковая диагностика сердцебиения плода проводилась в 5-6 недель беременности.

2.5. Статистический анализ полученных данных

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

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

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

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Соответственно поставленной цели и задачам было обследовано 210 пациенток, находившихся на лечении в ФГБУ «НМИЦ АГ и П им. В.И. Кулакова» Министерства Здравоохранения РФ за период с 2011 по 2014 гг. Пациентки были разделены на 4 группы.

3.1 Клинико-anamнестическая характеристика пациенток

Возраст пациенток, включенных в исследование колебался от 19 до 36 лет и составил в среднем $31,3 \pm 3,6$ и не различался между исследуемыми группами ($p > 0,05$). Стоит отметить, что более половины женщин были среднего репродуктивного возраста, от 30 до 36 лет. Распределение женщин в группах по возрастным градациям представлено в таблице 2.

Таблица 2

Распределение пациенток в группах по возрасту, n (%).

Группы исследования	19-25 лет %(n)	26-30 лет %(n)	31-36 лет %(n)	Средний возраст, лет (M ±m)
I КОК (n=53)	5,6% (3)	34% (18)	60,4% (32)	31,4±4,1
II E2 (n=52)	3,8% (2)	32,8% (17)	63,4% (33)	31,4±3,2
III антГнРГ (n=52)	7,7% (4)	27% (14)	65,3% (34)	31,0±3,5
IV станд. (n=53)	7,6% (4)	32% (17)	60,4% (32)	31,3±3,3

Примечание: P > 0,05

Из представленных данных видно, что пациентки всех групп были сопоставимы по возрасту.

Также при анализе массо-ростовых параметров у вошедших в исследование пациенток статистически достоверных отличий не выявлено (таблица 3).

Таблица 3

Росто-весовые параметры обследованных женщин

Группы исследования	Средний рост, см	Средний вес, кг	ИМТ, кг/м ²
I КОК (n=53)	166,2 ±6,3	63,5 ±10,5	23,0 ±3,7
II E2 (n=52)	165,5 ±5,0	61,5 ±12,7	22,6 ±3,7
III ант (n=52)	166,4 ±6,2	60,8 ±9,5	21,9 ±3,9
IV станд. (n=53)	168,3 ±5,1	63,7 ±9,7	22,5 ±3,7

Примечание: P > 0,05

Средний возраст наступления менархе в группах был сопоставим и составил в среднем 13,1±0,9 лет. Средняя продолжительность менструации составила 29,0±2,0 дня. Длительность ее составила 5,3±1,2 дня. Средний возраст начала половой жизни в группах 18,2±1,1 лет. Сведения о возрасте наступления менархе и продолжительности менструального цикла в исследуемых группах представлены в таблице 4.

Таблица 4

Характер менструального цикла у пациенток, включенных в исследование

Характер менструального цикла	I КОК (n=53)	II E2 (n=52)	III антГнРГ (n=52)	IV станд. (n=53)
Средний возраст менархе (M ±m)	13,1 ±0,7	13,0 ±1,1	13,2 ±0,9	13,2 ±1,0
Продолжительность менструального цикла				

28-29 дней	58,4% (31)	67,3% (35)	65,4% (34)	68% (36)
30- 35 дней	41,5% (22)	32,7% (17)	34,6% (18)	32,1% (17)
Средняя продолжительность (M ±m)	29,1 ±1,9	28,9 ±1,8	29,1 ±2,1	28,9 ±2,1
Длительность кровотечения				
3 – 5 дней	60,4% (32)	53,8% (28)	46,2% (24)	60,4% (32)
Более 5 дней	39,6% (21)	46,2% (24)	53,8% (28)	39,6% (21)
Средняя длительность (M ±m)	5,2 ±1,2	5,3 ±1,2	5,4 ±1,0	5,1 ±1,1

Примечание: P > 0,05

По данным таблицы 5 длительность бесплодия в группах статистически значимо не различалась.

Таблица 5

Распределение по длительности бесплодия

Длительность бесплодия, годы	I КОК (n=53)	II E2 (n=52)	III антГнРГ (n=52)	IV станд. (n=53)
1 - 4	41,5% (22)	38,5% (20)	48,1% (25)	45,3% (24)
5 - 10	52,8% (28)	50,0% (26)	40,4% (21)	43,4% (23)
11 и более	5,7% (3)	11,5% (6)	9,6% (5)	11,3 % (6)
Средняя длительность бесплодия, M±m	5,5±3,2	6,0±3,4	5,6±3,5	5,9±3,5

Примечание: P > 0,05

В таблице 6 представлено соотношение первичного и вторичного бесплодия во всех группах, которое было сопоставимо и статистически достоверно не отличалось (таблица 6).

Таблица 6

Распределение по типу бесплодия

Параметры	I КОК (n=53)	II E2 (n=52)	III антГнРГ (n=52)	IV станд. (n=53)
Первичное бесплодие	62,3% (33)	65,4% (34)	59,6% (31)	56,6% (30)
Вторичное бесплодие	37,7% (20)	34,6% (18)	40,4% (21)	43,4% (23)

Примечание: P > 0,05

Как видно из таблицы 7 при изучении структуры факторов бесплодия отмечается преобладание трубно-перитонеального и мужского факторов бесплодия. При проведении анализа данных об этиологии бесплодия у обследованных пациенток не были выявлены статистически значимые различия во всех исследуемых группах.

Таблица 7

Структура факторов бесплодия у обследованных пациенток

Факторы бесплодия	I КОК (n=53)	II E2 (n=52)	III антГнРГ (n=52)	IV станд. (n=53)
Трубно-перитонеальный фактор	41,5% (22)	30,7% (16)	40,4% (21)	32,1% (17)
Мужской фактор	30,2% (16)	34,6% (18)	25,0% (13)	34,0% (18)
НГЭ I-Ист	7,5% (4)	11,5% (6)	9,6% (5)	11,3% (6)
Сочетанный (ТПФ+МФ)	20,8% (11)	23,1% (12)	25,0% (13)	22,6% (12)

Примечание: P > 0,05

У 73 пациенток (34,8%) от общей выборки были проведены программы ЭКО и ПЭ в анамнезе. При этом статистически значимых отличий числа проведенных циклов ЭКО и ПЭ не выявлено (таблица 8).

Таблица 8

Количество циклов ЭКО в анамнезе

Цикл ЭКО в анамнезе	I КОК (n=53)	II E2 (n=52)	III антГнРГ (n=52)	IV станд. (n=53)	Всего (n=210)
Циклов ЭКО не проводилось	67,9% (36)	57,7% (30)	65,4% (34)	69,8% (37)	65,2% (137)
1 программа	15,1	25,0%	26,9%	17,0	21,0%

ЭКО в анамнезе	% (8)	(13)	(14)	% (9)	(44)
2 программы ЭКО в анамнезе	17,0 % (9)	17,3% (9)	7,7% (4)	13,2 % (7)	13,8% (29)
Среднее кол-во циклов ЭКО в анамнезе	1,5±0, 5	1,4±0,5	1,2±0,4	1,4± 0,5	1,4±0, 5

Примечание: P > 0,05

В результате проведения предыдущих программ ЭКО и ПЭ беременность наступила у 2,9% пациенток.

При анализе репродуктивного анамнеза, статистически значимых различий по данным показателям в четырех исследуемых группах выявлено не было (таблица 9).

Таблица 9

Исходы предыдущих беременностей у пациенток с вторичным бесплодием

Параметры	I КОК (n=53)	II E2 (n=52)	III антГнРГ (n=52)	IV станд. (n=53)
Роды в срок	3,8% (2)	13,5% (7)	9,6% (5)	13,2% (7)
Преждевременные роды	0	0	1,9% (1)	0
Самопроизвольный выкидыш до 12 недель	15,1% (8)	13,5% (7)	11,5% (6)	9,4% (5)
Неразвивающаяся беременность до 12 недель	17,0% (9)	9,6% (5)	7,7% (4)	7,5% (4)
Внематочная беременность	3,8% (2)	3,8% (2)	1,9% (1)	7,5% (4)
Медикаментозный аборт	15,1% (8)	15,4% (8)	17,3% (9)	22,6% (12)

Примечание: P > 0,05

При изучении структуры гинекологической заболеваемости была отмечена высокая частота воспалительных заболеваний органов малого таза, среди которых преобладали инфекции, передающиеся половым путем, однако при анализе частоты гинекологических заболеваний статистически достоверной разницы между исследуемыми группами не выявлено (таблице 10).

**Частота гинекологических заболеваний в анамнезе у пациенток,
включенных в исследование**

Нозологические формы	I КОК (n=53)	II E2 (n=52)	III антГнРГ (n=52)	IV станд. (n=53)
Заболевания шейки матки	5,7% (3)	9,6% (5)	7,7% (4)	11,3% (6)
Наружно-генитальный эндометриоз I – II ст.	7,5% (4)	11,5% (6)	9,6% (5)	11,3% (6)
Миома матки малых размеров	7,5% (4)	1,9% (1)	1,9% (1)	3,8% (2)
Полип эндометрия	1,9% (1)	3,8% (2)	3,8% (2)	5,7% (3)
Хр. эндометрит	3,8 % (2)	3,8 % (2)	5,7% (3)	3,8 % (2)
Спаечный процесс в малом тазу I – II ст.	5,7% (3)	9,6% (5)	11,5% (6)	9,4% (5)
ИППП	18,9% (10)	23,1% (12)	23,1% (12)	20,8% (11)

Примечание: P > 0,05

Как видно из таблицы 11, почти половина пациенток каждой группы имела в анамнезе оперативные вмешательства на органах малого таза. Основное место в структуре оперативных вмешательств занимают лапароскопии для проведения тубэктомии по поводу внематочной беременности или tuboовариального образования.

Таблица 11

Сведения о перенесенных оперативных вмешательствах на органах малого таза у женщин в исследуемых группах

Оперативные вмешательства	I КОК (n=53)	II E2 (n=52)	III антГнРГ (n=52)	IV станд. (n=53)
Консервативная миомэктомия	7,5% (4)	1,9% (1)	1,9% (1)	5,7 % (3)
Коагуляция очагов эндометриоза	3,8 % (2)	5,8 % (3)	1,9 % (1)	1,9% (1)
Туботомии	0	1,9% (1)	3,8% (2)	1,9% (1)

Тубэктомии	7,6% (4)	13,5% (7)	17,3% (9)	18,8% (10)
Сальпингонеостомия	1,9 % (1)	0	3,8 % (2)	0
Операции на яичнике (резекция одного яичника)	7,6% (4)	15,4% (8)	9,6 % (5)	11,4% (6)
Диагностическая лапароскопия	5,7% (3)	7,7% (4)	15,4% (8)	5,7% (3)
Гистероскопия +РДВ	7,5% (4)	7,7% (4)	11,5% (6)	13,2% (7)

Примечание: P > 0,05

Таким образом, все вышеизложенное позволяет говорить об отсутствии статистически значимой разницы при анализе анамнестических и клинико-лабораторных параметров пациенток исследуемых групп.

3.2 Результаты клинико-лабораторного обследования

3.2.1. Характеристика гормонального профиля исследуемых групп

Всем вошедшим в исследование пациенткам производился гормональный мониторинг. Забор крови был произведен в цикле предшествующем стимуляции функции яичников, непосредственно перед началом стимуляции, на 6-й день стимуляции при начале введения ант-ГнРГ и в день введения триггера овуляции.

Полученные данные были проанализированы. У всех 210 женщин показатели гормонального статуса на 2 день менструального цикла, предшествующего циклу стимуляции, были в пределах нормативных значений и достоверно не различались (табл. 12).

Средняя концентрация АМГ составила: $2,4 \pm 1,3$ в 1 группе; $2,2 \pm 1,1$ во 2 группе; $2,8 \pm 1,6$ в 3 группе и $2,6 \pm 1,2$ в 4 группе, что свидетельствовало о нормальном овариальном резерве.

Таблица 12

Уровни гормонов в цикле, предшествующем стимуляции

Гормон	I КОК (n=53)	II E2 (n=52)	III антГнРГ (n=52)	IV станд. (n=53)
АМГ, нг/мл	2,4±1,3	2,2±1,1	2,8±1,6	2,6±1,2
ЛГ, МЕ/л	5,9±2,0	5,8±1,8	5,6±1,5	5,8±1,9
ФСГ, МЕ/л	7,1±1,9	7,2±1,6	6,7±1,7	6,9±1,8
E2, пмоль/л	129,8±60,7	130,9±66,5	123,5±65,3	120,0±64,5
ПРЛ, мМЕ/л	343,9±67,3	350,5±89,8	336,6±60,2	349,2±75,8
Тестостерон, нмоль/л	1,6±0,7	1,6±0,6	1,2±0,5	1,4±0,6
ТТГ, мМЕ/л	1,9±0,7	2,0±0,6	1,8±0,7	1,7±0,6
Т4 св., пмоль/л	16,1±4,0	15,9±4,2	16,9±3,9	16,4±4,1

Примечание: P > 0,05

При исследовании гормонального профиля непосредственно перед началом стимуляции функции яичников, выявлено, что уровень ФСГ и ЛГ во всех группах статистически не различался (табл. 13). Однако уровень эстрадиола был статистически достоверно ниже в группе с применением КОК для предварительной подготовки по сравнению с другими группами и составил 88,2±64,7 пмоль/л, в то время как в группе с применением эстрогенов концентрация эстрадиола оказалась статистически значимо выше при сравнении с другими группами - 205,6±99,3 пмоль/л (при сравнении группы I и II, $p^* < 0,001$), в группе с использованием антГнРГ - 103,8±68,2 пмоль/л (при сравнении группы I и III, $p^* = 0,04$, при сравнении группы II и III, $p^{**} = 0,011$), и в группе с без предварительной подготовки концентрация E2 составила 135,2±80,6 пмоль/л (при сравнении группы I и IV, $p^* = 0,02$, при сравнении группы II и IV $p^{**} = 0,037$). Концентрация прогестерона была статистически достоверно ниже в I группе по сравнению с группой без предварительной подготовки (0,8±0,6 и 1,9±1,2; $p = 0,034$). Уровень прогестерона во II и III группах составил 1,3±0,9 и 1,1±0,7 нмоль/л соответственно (Табл. 13).

На 6 день стимуляции функции яичников уровни эстрадиола, прогестерона и ЛГ между группами статистически не различались (Табл. 13).

В день введения триггера овуляции гормональный профиль исследуемых групп также статистически значимо не различался (табл. 13).

Таблица 13

Уровни гормонов в цикле стимуляции

Гормон, единица измере- ния	Группы	Динамика концентрации половых гормонов в сыворотке крови		
		В день начала стимуляции	На 6-е сутки стимуляции	В день введения триггера овуляции
ФСГ, МЕ/Л				
	I КОК (n=53)	3,7±2,9	-	-
	II E2 (n=52)	5,1±2,6	-	-
	III ант (n=52)	4,2±2,2	-	-
	IV стан (n=53)	6,2±2,8	-	-
ЛГ, МЕ/Л	I КОК (n=53)	2,8±1,7	3,0±2,1	1,3±1,0
	II E2 (n=52)	3,6±1,4	2,7±2,3	1,7±1,1
	III ант (n=52)	4,4±2,4	4,0±3,1	1,6±1,3
	IV стан (n=53)	5,0±2,3	3,5±3,0	1,9±1,0
Эстра- диол, пмоль/л	I КОК (n=53)	88,2±64,7	2747,6±1344,9	9522,8±2001,3
	II E2 (n=52)	205,6±99,3 (p* < 0,001)	3114,3±1655,9	10085,3±2259,5
	III ант (n=52)	103,8±68,2 (p* = 0,04; p** = 0,011)	3274,4±1724,5	9219,7±2790,9
	IV стан (n=53)	135,2±80,6 (p* = 0,02; p** = 0,037)	2852,8±1244,3	8042,4±2140,1
Прогесте- рон, нмоль/л	I КОК (n=53)	0,8±0,6	1,6±0,9	1,8±1,0
	II E2 (n=52)	1,3±0,9	1,4±1,1	2,1±0,9

	III ант (n=52)	1,1 ±0,7	1,2±1,2	2,0±1,4
	IV стан (n=53)	1,9±1,2 (p*= 0,034)	1,8±0,9	2,3±1,2

Примечание: p* - различия значимы при сравнении значений с I группой; p** - различия значимы при сравнении значений со II группой.

3.2.2. Параметры фолликулогенеза при стимуляции функции яичников

Параметры фолликулогенеза представлены в таблице 14. Первый этап ультразвукового исследования фолликулогенеза проводили на 2–3 д.м.ц. На момент начала стимуляции у всех женщин толщина эндометрия (М-эхо) составляла 2-3 мм.

В таблице 14 представлены параметры овариального ответа на проводимую стимуляцию, анализ которых показал отсутствие статистической разницы между III и IV группой на протяжении стимуляции функции яичников. Однако выявлено увеличение количества антральных фолликулов диаметром 6-9 мм в день начала стимуляции функции яичников, а также числа преовуляторных фолликулов в группе I и II по сравнению с группой без предварительной подготовки и группой с подготовкой антГнРГ.

Таблица 14

Сравнительная характеристика ультразвуковых параметров в исследуемых группах

Параметры	I КОК (n=53)	II E2 (n=52)	III антГнРГ (n=52)	IV станд. (n=53)
Общее количество антральных фолликулов в день начала стимуляции (4-10 мм)	16,8±4,1	15,7±3,8	15,8±4,0	15,6±3,7
Количество антральных фолликулов диаметром 6-9 мм из общего числа	15,2±2,5 (p*=0,021)	14,8±2,4 (p*=0,028)	11,7±2,8	9,2±3,2

Кол-во фолликулов диаметром 13-14 мм на 6 день стимуляции	14,3±3,2 (p*=0,013)	13,8±3,0 (p*=0,024)	10,2±2,8	9,0±1,9
Кол-во преовуляторных фолликулов в день введения триггера	14,3±3,2 (p*=0,013)	13,8±3,0 (p*=0,024)	10,2±2,8	9,0±1,9
Толщина эндометрия на 6 день стимуляции	6,8±2,3	7,1±1,4	7,3±1,5	7,0±1,3
Толщина эндометрия на день введения триггера овуляции	9,8±1,8	10,1±2,1	10,2±1,6	10,4±2,3

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

3.2.3. Характеристика циклов стимуляции суперовуляции у обследованных женщин

Всем обследованным женщинам была проведена стимуляция суперовуляции препаратами рФСГ в рамках фиксированного протокола с антГнРГ со стартовой дозой 225 МЕ в течение первых 5 дней стимуляции, в дальнейшем, на 6 сутки стимуляции, доза вводимого гонадотропина изменялась в зависимости от овариального ответа.

В таблице 15 представлена характеристика протоколов стимуляции функции яичников в программе ЭКО. При анализе стимулированных циклов не выявлено статистических различий в продолжительности стимуляции суперовуляции, средней дозе гонадотропина в сутки и суммарной дозе гонадотропина (таблица 15).

Таблица 15

Сравнительная характеристика основных параметров стимуляции функции яичников в исследуемых группах

Параметры	I КОК (n=53)	II E2 (n=52)	III антГнРГ (n=52)	IV станд. (n=53)
Стартовая доза гонадотропина, МЕ	225	225	225	225

Средняя доза гонадотропина/сутки, МЕ	225±73,4	225±78,5	225± 81,7	225±105,4
Суммарная доза рФСГ, МЕ	2211,1±879,4	2115,7±757,2	2137,8±581,4	2047,9±780,2
Длительность стимуляции, дни	10,2±1,6	9,8±2,1	9,5±1,7	9,1±1,4

Примечание: P > 0,05

3.3 Оценка эмбриологических параметров

Основные параметры сравнительной характеристики эмбриологического этапа в исследуемых группах представлены в таблице 16.

Таблица 16

Сравнительная характеристика эмбриологических данных

Параметры	I КОК (n=53)	II E2 (n=52)	III антГнРГ (n=52)	IV станд. (n=53)
Кол-во ооцитов	12,9±4,4 (p*=0,04)	12,7±3,5 (p*=0,034)	9,7±4,2	8,2±3,9
Зрелые ооциты	11,2±3,7 (p*= 0,028)	9,3±3,9 (p*= 0,026)	8,5±3,8	7,7±3,2
Оплодотворение IVF (%)	24,5 (13/53)	26,9(14/52)	23,1 (12/52)	28,3(15/53)
Оплодотворение ICSI (%)	75,5(40/53)	73,0(38/52)	76,9 (40/52)	69,8(37/53)
Частота оплодотворения (%)	87,9	89,2	78,8	79,8
Количество нормально оплодотворившихся ооцитов (2PN)	9,2±3,1	8,1±2,6	6,2±2,4	5,3±2,9
Кол-во бластоцист	4,8±2,4 (p*= 0,022)	4,2±2,0 (p*= 0,032)	3,2±2,4	2,1±1,6
Кол-во эмбрионов на перенос	1,8±0,2	1,6±0,4	1,4±0,3	1,7±0,2
Количество бластоцист отличного	3,1±0,8 (*p- 0,037)	3,0±0,6 (*p- 0,039)	2,6±0,4	1,2±0,5

качества				
Кол-во криоконсервированных эмбрионов	2,4±1,5 (p*= 0,004)	2,2±1,5 (p*= 0,006)	1,4±1,1	0,9±0,6

Примечание. p* - различия при сравнении с группой IV

Статистически достоверных различий между эмбриологическими исходами в группе контроля и III группе не выявлено.

Однако в группе с предварительной подготовкой эстрогенами статистически значимо больше число полученных (12,7±3,5 и 8,2±3,9 в группе II и IV, соответственно, p=0,044) и зрелых (9,3±3,9 и 7,7±3,2 в группе II и IV, соответственно, p=0,026) ооцитов и, соответственно количества полученных blastocysts (4,2±2,0 и 2,1±1,6 в группе II и IV, соответственно, p=0,032), а также выявлено увеличение количества криоконсервированных эмбрионов (2,2±1,5 и 0,9±0,6 в группе II и IV, соответственно, p=0,004) при сравнении с контрольной группой. Группа с использованием КОК также показала увеличение количества полученных ооцитов (12,9±4,4 и 8,2±3,9 в группе I и IV, соответственно, p=0,042), зрелых ооцитов (11,2±3,7 и 7,7±3,2 в группе II и IV, соответственно, p=0,028), а также количества blastocysts (4,8±2,4 и 2,1±1,6 в группе I и IV, соответственно, p=0,022) и криоконсервированных blastocysts (2,4±1,5 и 0,9±0,6 в группе I и IV, соответственно, p=0,004) при сравнении с группой IV.

У всех женщин, вошедших в исследование перенос эмбрионов был произведен на пятые сутки на стадии blastocysts, что свидетельствует о высоком потенциале развития эмбрионов.

Все вышеизложенное свидетельствует о том, применение оральных контрацептивов в течение 14 дней, эстрадиола валерата во вторую фазу предшествующего цикла, а также при введении антагониста ГнРГ в начале цикла в течение 3 дней позволяет эффективно программировать время вступления в протокол ЭКО и начало стимуляции функции яичников, не оказывая негативного влияния на фолликулогенез, оо- и эмбриогенез. Показатели фолликулогенеза, оо- и раннего эмбриогенеза при различных методах подготовки к программе ЭКО были сопоставимы в III группе и группе контроля (p>0,05), а использование эстрадиола

валерата во второй фазе менструального цикла, а также КОК позволяет позволяет формировать большой пул фолликулов на начало старта стимуляции функции яичников по сравнению с отсутствием претритмента.

3.4 Цитокиновый профиль цервикальной слизи женщин исследуемых групп

Забор цервикальной слизи осуществили у 119 пациенток в день трансвагинальной пункции (ЛГ+2), на 3-е сутки после ТВП (ЛГ+5) и в день переноса эмбрионов (ЛГ+7). Таким образом, были исследованы 31 образец цервикальной слизи пациенток группы I, получавших КОК, 30 образцов женщин из группы II, получавших эстрогены, 25 образцов пациенток из группы III, получавших антагонисты ГнРГ и 33 образца женщин из группы IV, не получавших предварительной подготовки.

Концентрация IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-13, IL-15, MIP-1 α на протяжении всего периода исследования достоверно не изменялась во всех исследуемых группах (таблицы 18, 19,20).

При анализе концентраций факторов роста выявлена тенденция к увеличению значений VEGF от дня ТВП ко дню переноса эмбрионов в группе IV (1032,39 \pm 245,23; 1149,28 \pm 306,84; 1839,71 \pm 271,49 соответственно), однако в I группе, где в качестве подготовки к циклу стимуляции использовали КОК, выявлена обратная динамика – снижение концентрации VEGF от дня ТВП до дня переноса эмбрионов (223,15 \pm 188,34; 503,67 \pm 283,72; 383,09 \pm 212,97 соответственно). Выявлено статистически значимое снижение концентрации VEGF в I группе по сравнению с группой контроля (223,15 \pm 188,34 против 1032,39 \pm 245,23 пг/мл, $p=0,0187$, в I и IV группе соответственно) в день ТВП, а также в день переноса эмбрионов (383,09 \pm 212,97 против 1839,71 \pm 271,49, в I и IV группе соответственно).

Уровень G-CSF статистически достоверно увеличивается во всех группах ко дню ЛГ+5, затем снижается ко дню переноса эмбрионов, однако статистической разницы между исследуемыми группами не выявлена (таблица 17).

Анализ содержания GM-CSF в цервикальной слизи не выявил достоверной разницы в его уровнях на протяжении исследуемого периода, но при сравнении

концентрации GM-CSF между группами зарегистрирована статистически достоверно низкая концентрация в день ТВП в I группе по сравнению с группой контроля ($146,28 \pm 139$ против $653,13 \pm 156,30,14$ в I и в IV группе соответственно, $p=0,0279$).

По нашим данным концентрация FGF в IV, II и III группе повышается от дня ТВП до дня ЛГ+5, затем снижается ко дню ЛГ+7, однако данная динамика статистически не достоверна. В I группе происходит увеличение концентрации FGF от дня ТВП до дня переноса эмбрионов, однако следует заметить, что его концентрация в день ТВП статистически достоверно ниже по сравнению с другими группами и составила $6,32 \pm 0,72$, по сравнению с $34,73 \pm 12,51$ в IV группе ($p=0,046$), $33,51 \pm 14,68$ во II группе ($p=0,017$) и $19,96 \pm 13,26$ в III группе ($p=0,043$).

Прослеживается статистически достоверное увеличение PDEGF-BB на протяжении окна имплантации во всех исследуемых группах.

Таблица 17

Сравнительная характеристика содержания факторов роста в цервикальной слизи

Факторы роста	Группа	ЛГ+2 (трансвагинальная пункция)	ЛГ+5	ЛГ+7 (перенос эмбриона)
VEGF	I КОК (n=31)	$223,15 \pm 188,34$ (* $p=0,0187$)	$503,67 \pm 283,72$ (* $p=0,039$)	$383,09 \pm 212,97$ (* $p=0,0314$)
	II E2 (n=30)	$643,92 \pm 272,53$	$804,18 \pm 348,03$	$1484,58 \pm 236,19$
	III антГнРГ (n=25)	$1118,47 \pm 250,92$	$1198,71 \pm 238,92$	$1986,35 \pm 312,91$
	IVстанд. (n=33)	$1032,39 \pm 245,23$	$1149,28 \pm 306,84$	$1839,71 \pm 271,49$
GM-CSF	I КОК (n=31)	$146,28 \pm 139,14$ (* $p=0,0279$)	$243,17 \pm 165,16$	$224,88 \pm 143,55$
	II E2 (n=30)	$437,28 \pm 201,50$	$354,24 \pm 218,08$	$536,09 \pm 149,70$
	III антГнРГ (n=25)	$601,88 \pm 159,26$	$782,82 \pm 169,19$	$460,62 \pm 177,71$
	IVстанд. (n=33)	$653,13 \pm 156,30$	$534,28 \pm 197,78$	$649,00 \pm 153,60$
FGF	I КОК (n=31)	$6,32 \pm 0,72$ ($p=0,028$) (* $p=0,046$) (** $p=0,017$) (*** $p=0,043$)	$13,96 \pm 3,15$	$21,95 \pm 5,37$
	II E2 (n=30)	$33,51 \pm 14,68$	$39,57 \pm 2,14$	$17,04 \pm 3,73$
	III антГнРГ (n=25)	$19,96 \pm 13,26$	$46,51 \pm 13,66$	$15,63 \pm 3,69$
	IVстанд. (n=33)	$34,73 \pm 12,51$	$37,63 \pm 9,48$	$16,14 \pm 5,31$
G-CSF	I КОК (n=31)	$3675,24 \pm 2305,93$ ($p=0,022$)	$18927,62 \pm 11481,75$	$8388,58 \pm 7511,08$

	II E2 (n=30)	3504,52±3736,35([#] $p=0,002$)	19281,91±7098,56	7149,90±4413,50
	III антГнРГ (n=25)	4108,34±540,63([#] $p=0,036$)	1869,79±1242,21	9684,88±7513,92
	IVстанд. (n=33)	4177,69±316,63([#] $p=0,005$)	15059,39±10139,34	8449,20±5286,26
PDEGF-BB	I КОК (n=31)	7,88±1,38([#] $p=0,028$) (^{##} $p=0,043$)	31,40±8,10	34,57±9,12
	II E2 (n=30)	9,54±2,37([#] $p=0,019$) (^{##} $p=0,006$)	25,88±8,27	37,82±9,00
	III антГнРГ (n=25)	8,65±1,83([#] $p=0,035$) (^{##} $p=0,003$)	20,72±6,05	50,97±20,01
	IVстанд. (n=33)	15,81±7,95 ([#] $p=0,046$) (^{##} $p=0,032$)	27,65±3,07	33,15±7,55

Примечание: p^* - различия при сравнении с группой IV; p^{**} - различия при сравнении с группой II; p^{***} - различия при сравнении с группой III; $p^{\#}$ - различия при сравнении показателя в группе ТВП по сравнению с группой ЛГ+5; $p^{##}$ - различия при сравнении показателя в группе ТВП по сравнению с группой ЛГ+7.

Анализ уровней провоспалительных цитокинов выявил статистически достоверное повышение концентрации IL-6 от дня ТВП до дня переноса эмбрионов в IV, II и III группах (см. таблицу 18), в то время как в I группе происходит снижение уровней IL-6 со дня ЛГ+5 до дня ЛГ+7 (1161,08±389,62 в день ЛГ+5 и 740,11±229,97 в день ЛГ+7, ($p=0,035$)). Концентрация IL-6 на день переноса эмбрионов статистически достоверно ниже в I группе по сравнению с остальными исследуемыми группами ($p=0,044$ при сравнении I и IV группы, $p=0,0126$ при сравнении II и I группы, $p=0,041$ при сравнении III и I группы).

Во всех группах наблюдается интенсивный подъем уровней MIF ко дню переноса эмбрионов, статистически достоверный при сравнении значений полученных в день ТВП по сравнению с днем ЛГ+7 (таблица 18).

В свою очередь концентрация TNF- α в IV и III группе увеличивается на протяжении всего исследуемого периода, в то время как во II и I группе отмечается увеличение концентрации только до дня ЛГ+5 с последующим падением в день ЛГ+7, самая низкая концентрация TNF- α в день ТВП (33,30±22,16) зарегистрирована в I группе, тем не менее, достоверной разницы при сравнении уровней TNF- α между группами не обнаружено.

Содержание LIF статистически достоверно увеличивалось со дня ТВП до дня ЛГ+7 во всех группах кроме I, в которой наблюдалось падение уровня LIF с

26,12±16,41 в день ЛГ+5 до 13,57±3,35 в день переноса эмбрионов, что оказалось статистически достоверно при сравнении с уровнем LIF (41,8±4,6 пг/мл) в IV группе в день переноса эмбрионов ($p=0,023$).

Дальнейший сравнительный анализ провоспалительных цитокинов выявил увеличение концентрации IL-1 β , концентрация которого также увеличивается ко дню переноса эмбрионов во всех группах, кроме I, где отмечается падение его уровня до 10,95±3,26 ко дню ЛГ+7 ($p=0,027$).

Во всех группах наблюдается последовательное снижение концентрации IL-17 на протяжении всего исследуемого периода .

Во всех группах отмечалось статистически достоверное увеличение концентрации IFN- γ ко дню ЛГ+5, далее, ко дню ЛГ+7, колебания уровня IFN- γ были минимальны (см. таблицу 18).

Выявлено повышение концентрации IL-12p70 в II, III и IV группах, в то время как в I прослеживается тенденция к падению концентрации IL-12p70 с ЛГ+5 до дня переноса эмбрионов, а также отмечается самое низкое значение IL-12p70 на момент ТВП (143,98±37,04 и 32,1±25,53 в IV и I группе соответственно ($p=0,0245$), 166,33±41,35 и 32,1±25,53 в III и I группе соответственно ($p=0,0125$)).

Таблица 18

Сравнительная характеристика содержания провоспалительных цитокинов

Цитокины	Группа	ЛГ+2 (трансвагинальная пункция)	ЛГ+5	ЛГ+7 (перенос эмбриона)
LIF	I КОК (n=31)	6,71±1,77 (^{##} $p=0,048$)	26,12±16,41	13,57±3,35 (* $p=0,023$)
	II E2 (n=30)	8,95±2,04 (^{##} $p=0,029$)	16,52±8,67	34,07±24,72
	III антГнРГ (n=25)	12,24±1,94 (^{##} $p=0,037$)	16,29±3,45	37,90±23,69
	IVстанд. (n=33)	14,30±4,20 (^{##} $p=0,044$)	36,16±27,09	41,77±4,69
IFN- γ	I КОК (n=31)	7,65±1,58 ([#] $p=0,029$) (^{###} $p=0,009$)	31,18±6,31	27,79±5,23
	II E2 (n=30)	14,52±2,34 ([#] $p=0,046$) (^{###} $p=0,038$)	24,21±4,85	27,74±3,27
	III антГнРГ (n=25)	12,52±3,32 ([#] $p=0,012$) (^{###} $p=0,001$)	22,67±4,28	24,70±5,15
	IVстанд. (n=33)	11,7±2,3 ([#] $p=0,05$) (^{###} $p=0,048$)	25,84±4,09	26,24±3,74
MIF	I КОК (n=31)	4069,13±1833,09 ([#] $p=0,046$)	6835,38±1717,77	8909,61±1447,32
	II E2 (n=30)	4014,21±1109,90 ([#] $p=0,032$)	7220,79±982,93	10291,20±1904,28

	III антГНРГ (n=25)	2770,73±387,65 ([#] p=0,025)	4275,89±554,02	9559,06±3049,53
	IVстанд. (n=33)	2918,64±753,12 ([#] p=0,05)	6739,96±1386,02	7535,45±2191,55
TNF-α	I КОК (n=31)	33,30±22,16	84,02±25,75	73,30±20,91
	II E2 (n=30)	52,57±20,31	124,26±64,16	63,86±26,48
	III антГНРГ (n=25)	93,52±24,78	127,85±38,23	166,57±40,48
	IVстанд. (n=33)	61,84±14,02	92,74±22,3	130,00±35,71
IL-1β	I КОК (n=31)	4,34±1,93	14,27±5,48 (^{###} p=0,027)	10,95±3,26
	II E2 (n=30)	3,13±1,01	10,04±5,61	12,81±3,77
	III антГНРГ (n=25)	4,91±1,42	13,41±3,99	19,80±8,38
	IVстанд. (n=33)	5,06±2,24	11,13±4,52	15,37±5,89
IL-2	I КОК (n=31)	1,54±0,34	3,34±1,88	2,45±0,50
	II E2 (n=30)	1,90±0,64	2,50±0,41	1,89±0,28
	III антГНРГ (n=25)	1,86±0,75	1,74±0,39	2,35±0,53
	IVстанд. (n=33)	2,17±0,59	1,56±0,33	1,87±0,41
IL-5	I КОК (n=31)	1,83±0,23	2,33±0,78	2,13±0,26
	II E2 (n=30)	1,32±0,22	1,51±0,18	1,75±0,25
	III антГНРГ (n=25)	1,06±0,15	1,43±0,19	1,58±0,19
	IVстанд. (n=33)	1,27±0,14	1,52±0,23	1,44±0,16
IL-6	I КОК (n=31)	123,38±101,73 ([#] p=0,034)	1161,08±389,62 (^{###} p=0,035)	740,11±229,97 (^{##} p=0,019) (*p=0,044) (**p=0,012) (***)p=0,041
	II E2 (n=30)	122,57±65,13 ([#] p=0,028)	1013,57±511,09	1605,75±225,49 (^{##} p=0,008)
	III антГНРГ (n=25)	272,76±99,84 ([#] p=0,025)	1584,41±335,58	1791,82±383,85 (^{##} p=0,012)
	IVстанд. (n=33)	308,13±170,51 ([#] p=0,012)	1068,54±291,14	1297,20±297,20 (^{##} p=0,024)
IL-7	I КОК (n=31)	4,17±0,75	7,60±3,65	7,39±1,70
	II E2 (n=30)	2,97±0,73	3,45±0,88	4,76±1,29
	III антГНРГ (n=25)	3,15±0,87	3,22±0,96	4,52±1,25
	IVстанд. (n=33)	3,32±0,52	4,49±1,07	3,67±0,68
IL-9	I КОК (n=31)	1,51±0,4	4,88±2,96	3,95±0,81
	II E2 (n=30)	1,49±0,39	2,53±1,05	2,55±0,82
	III антГНРГ (n=25)	1,57±0,34	2,65±0,7	3,32±1,12
	IVстанд. (n=33)	1,79±0,3	3,15±0,67	2,82±0,51
IL-12p70	I КОК (n=31)	32,1±25,53 (*p=0,0245) (***)p=0,0125	106,43±60,13	55,74±25,94 (*p=0,0280)
	II E2 (n=30)	79,84±26,96	140,21±82,44	113,26±57,29
	III антГНРГ	166,33±41,35	160,11±33,41	203,29±72,86

	(n=25)			
	IVстанд. (n=33)	143,98±37,04	128,17±47,34	250,94±74,05
IL-15	I КОК (n=31)	1,04±0,26	6,07±4,81	1,77±0,51
	II E2 (n=30)	0,99±0,38	1,19±0,38	1,74±0,46
	III антГнРГ (n=25)	0,35±0,21	0,41±0,26	1,44±0,51
	IVстанд. (n=33)	0,34±0,14	1,20±0,53	0,85±0,39
IL-17A	I КОК (n=31)	55,90±11,70 (^{##} p=0,045)	38,14±14,97	27,74±19,43
	II E2 (n=30)	69,65±33,62 (^{##} p=0,033)	48,84±24,39	32,49±17,3
	III антГнРГ (n=25)	60,65±21,44 (^{##} p=0,046)	28,89±25,78	31,42±9,92
	IVстанд. (n=33)	63,98±25,23 (^{##} p=0,043)	32,76±40,08	31,99±12,31

Примечание: p^* - различия при сравнении с группой IV; p^{**} - различия при сравнении с группой II; p^{***} - различия при сравнении с группой III; $p^\#$ - различия при сравнении показателя в группе ТВП по сравнению с группой ЛГ+5; $p^{\#\#}$ - различия при сравнении показателя в группе ТВП по сравнению с группой ЛГ+7; $p^{\#\#\#}$ - различия при сравнении показателя в группе ЛГ+5 по сравнению с группой ЛГ+7.

При анализе уровней противовоспалительных цитокинов наблюдается подъем уровней IL-1ra ко дню переноса эмбрионов во всех исследуемых образцах.

В нашем исследовании отмечается повышение уровней IL-10 со дня ТВП до дня переноса эмбрионов во всех исследуемых группах, однако наибольшая концентрация в день ТВП наблюдается во II группе (12,34±4,62 во II группе, 4,10±1,29 в IV группе, 5,82±2,48 в III группе, 9,42±1,74 в I группе, $p=0,026$ при сравнении IV и II группы, $p=0,03$ при сравнении II и III группы, при сравнении II и I группы достоверной разницы не выявлено), в дальнейшем концентрации в исследуемых группах сопоставимы (таблица 19).

Таблица 19

Сравнительная характеристика содержания противовоспалительных цитокинов в цервикальной слизи

Цитокины	Группа	ЛГ+2 (трансвагинальная пункция)	ЛГ+5	ЛГ+7 (перенос эмбриона)
IL-1Ra	I КОК (n=31)	8561,67±2297,88	10974,62±1796,45	12679,77±1831,64
	II E2 (n=30)	7922,31±2542,23	12883,87±4360,64	13993,25±3716,51

	III антГнРГ (n=25)	5770,12±1611,09	10476,87±3192,34	13617,88±1898,77
	IVстанд. (n=33)	7253,44±1878,13	8376,30±1987,64	11038,02±2505,60
IL-4	I КОК (n=31)	0,45±0,08	1,24±0,58	1,14±0,17
	II E2 (n=30)	0,50±0,10	0,89±0,21	0,79±0,15
	III антГнРГ (n=25)	0,53±0,1	0,86±0,12	1,01±0,18
	IVстанд. (n=33)	0,53±0,08	0,92±0,16	0,89±0,12
IL-10	I КОК (n=31)	9,42±1,74	20,37±7,18	26,91±2,65
	II E2 (n=30)	12,34±4,62 (* $p=0,026$)	16,62±3,08	23,82±5,91
	III антГнРГ (n=25)	5,82±2,48 (** $p=0,03$)	12,33±3,90	27,18±9,11
	IVстанд. (n=33)	5,10±1,29	12,04±2,45	18,11±5,03
IL-13	I КОК (n=31)	1,52±0,09	3,74±3,78	2,13±0,22
	II E2 (n=30)	1,41±0,12	2,11±0,29	2,21±0,28
	III антГнРГ (n=25)	1,50±0,15	1,83±0,17	2,45±0,39
	IVстанд. (n=33)	1,37±0,07	2,00±0,21	1,96±0,17

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

Также проанализированы концентрации хемокинов в цервикальной слизи. При анализе концентрации MIP-1 β в цервикальной слизи отмечено статистически достоверное увеличение ее со дня ТВП до дня ЛГ+5, затем происходит снижение концентрации ко дню ЛГ+7, однако, это снижение статистически недостоверно, при сравнении его концентрации между группами статистической разницы не выявлено.

Концентрация IL-8 увеличивалась ко дню ЛГ+7 в IV, II и III группе, в группе с использованием КОК наблюдалось статистически достоверное снижение концентрации IL-8 со дня ЛГ+5 до дня ЛГ+7 (2130,09±109,41 и 1381,79±508,29 в день ЛГ+5 и ЛГ+ соответственно, $p=0,017$).

Уровень MСР-1 повышался во всех исследуемых группах на протяжении периода от ТВП до переноса эмбрионов, однако, концентрация MСР-1 была статистически достоверно ниже в день ТВП в группе, где была проведена подготовка эстрадиола валератом при сравнении с группой I и группой IV.

Уровень IP-10 повышался со дня ТВП до дня ЛГ+7, однако она статистической разницы между исследуемыми точками не достоверна.

В нашем исследовании уровень эотаксина статистически достоверно увеличивался на протяжении всего периода исследования, однако разницы между исследуемыми группами не выявлено (см. таблицу 20).

Уровень RANTES статистически достоверно увеличивался ко дню переноса эмбрионов во всех группах.

Таблица 20

Сравнительная характеристика содержания хемокинов в цервикальной слизи

Хемокины	Группа	ЛГ+2 (трансвагинальная пункция)	ЛГ+5	ЛГ+7 (перенос эмбриона)
RANTES	I КОК (n=31)	5,15±1,22 (^{###} p=0,002)	11,71±5,52	14,34±4,51
	II E2 (n=30)	4,79±1,09 (^{###} p=0,046)	7,49±1,72	12,28±3,80
	III антГнРГ (n=25)	3,00±0,47 (^{###} p=0,0012)	6,73±1,25	16,04±17,10
	IVстанд. (n=33)	5,84±1,78 (^{###} p=0,033)	11,07±3,76	18,06±1,68
MIP-1α	I КОК (n=31)	1,60±0,49	7,41±3,80	8,64±1,58
	II E2 (n=30)	1,21±0,24	2,79±0,50	4,07±0,44
	III антГнРГ (n=25)	1,81±0,56	4,23±0,83	5,18±1,10
	IVстанд. (n=33)	2,29±0,69	6,38±2,84	7,49±1,46
MIP-1β	I КОК (n=31)	67,53±36,96 ([#] p=0,026) (^{##} p=0,004)	23779,80±18970,16	15920,60±10591,18
	II E2 (n=30)	56,27±24,93 ([#] p=0,025) (^{##} p=0,002)	23059,59±1863,22	12321,03±998,68
	III антГнРГ (n=25)	269,98±70,78 ([#] p=0,036) (^{##} p=0,008)	22744,37±1541,65	15394,45±12543,61
	IVстанд. (n=33)	891,49±790,06 ([#] p=0,012) (^{##} p=0,034)	23610,89±21360,92	14641,54±1945,51
IL-8	I КОК (n=31)	791,38±277,97	2130,09±109,41 (^{p###} =0,017)	1381,79±508,29
	II E2 (n=30)	696,11±235,29	1051,26±284,49	1450,25±626,67
	III антГнРГ (n=25)	1066,85±216,96	1782,98±497,54	1903,42±733,08
	IVстанд. (n=33)	1243,77±483,89	1852,26±668,81	2125,38±807,39
IP-10	I КОК (n=31)	1025,29±600,56	1475,26±416,92	1663,12±552,24
	II E2 (n=30)	879,07±652,15	1627,16±730,22	1749,94±327,79
	III антГнРГ (n=25)	464,96±157,42	1382,61±187,05	1479,19±523,96
	IVстанд. (n=33)	865,35±643,39	1182,10±819,91	1246,00±487,87
MCP-1	I КОК (n=31)	50,78±20,54 (^{**} p=0,034)	136,33±83,19	150,86±24,37
	II E2 (n=30)	16,53±5,56	96,62±7,02	123,93±71,61
	III антГнРГ (n=25)	76,75±30,35 (^{**} p=0,029)	139,02±13,36	167,96±41,40

Примечание: p^{**} - различия при сравнении с группой II; $p^{\#}$ - различия при сравнении показателя в группе ТВП по сравнению с группой ЛГ+5; $p^{\#\#}$ - различия при сравнении показателя в группе ТВП по сравнению с группой ЛГ+7; $p^{\#\#\#}$ - различия при сравнении показателя в группе ЛГ+5 по сравнению с группой ЛГ+7.

3.5 Оценка исходов программ ЭКО

Сравнительная характеристика эффективности программ ЭКО представлена в таблице 21.

Анализируя данные, представленные в таблице 21 можно отметить, что частота наступления беременности была статистически значимо ниже в группе с предварительной подготовкой КОК и составила 16,98% при сравнении с другими изучаемыми группами (I против II, $p=0,006$, I против III, $p=0,015$, I против IV, $p=0,03$). Также отмечается статистически достоверное снижение частоты наступления клинической беременности при сравнении группы с предварительной подготовкой КОК с группой II и III (I против II, $p=0,008$, I против III, $p=0,02$), частота прогрессирующей беременности была статистически достоверно выше в группе с подготовкой эстрадиолом при сравнении с I группой, однако не выявлено достоверной разницы при сравнении исходов программы ЭКО II группы с III и группой контроля. (таблица 21).

Таблица 21

Клинические исходы в исследуемых группах пациенток

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

прогрессирующей беременности		(**p-0,022)		
Частота многоплодных беременностей	1,9% (1)	5,7% (3)	5,8% (3)	5,7% (3)
Частота родов	15,09% (8)	34,6% (18) (**p-0,037)	30,8% (16)	28,3% (15)

Примечание. p^* - различия при сравнении с группой IV; p^{**} - различия при сравнении с группой I

3.6 Результаты ROC-анализа и бинарной логистической регрессии

Для прогнозирования наступления беременности был проведен ROC анализ цитокинового профиля цервикальной слизи в ранней лютеиновой фазе индуцированного цикла. В ходе исследования определили оптимальное пороговое значение каждого показателя, которое делит общую выборку пациентов на две части по наличию (положительный исход)/отсутствию (отрицательный исход) наступления беременности, так называемую точку отсечки. Площадь ROC-кривой под графиком является интегральным показателем, оценивающим прогностические свойства избранной шкалы. При площади под кривой равной менее 0,6 модель считается неудовлетворительной, чем ближе площадь под кривой приближается к 1, тем большей прогностической ценностью обладает изучаемый фактор. Далее проверка точки отсечки осуществлялась при помощи индекса Юдена. Затем определяли чувствительность и специфичность диагностического теста.

В день ТВП была выявлена связь с факторами роста и частотой наступления беременности.

Так при помощи ROC анализа определено пороговое значение концентрации VEGF, при котором ожидается наступление беременности, которая составила 182,39 пг/мл с чувствительностью 72 % и специфичностью 70%, площадь под кривой составила 0,711 (рисунок 6).

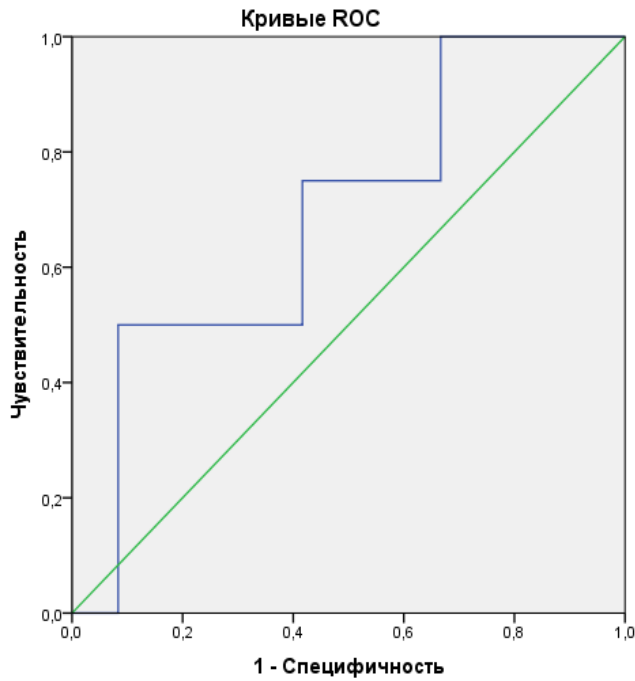


Рисунок 6. ROC кривая для уровня VEGF

А при построении ROC кривой для FGF выявлена точка отсечки 12.08 пг/мл с чувствительностью 86% и специфичностью 60%, площадь под кривой составила 0.783 (рисунок 7).

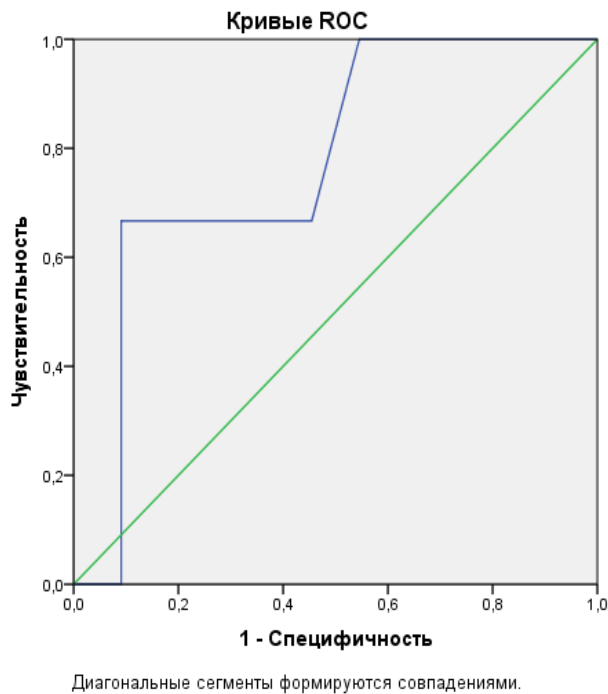


Рисунок 7. ROC кривая для уровня FGF

При построении ROC кривой для GMCSF выявлена точка отсечки 69.56 пг/мл с чувствительностью 75% и специфичностью 68%, площадь под кривой составила 0.764 (рисунок 8).

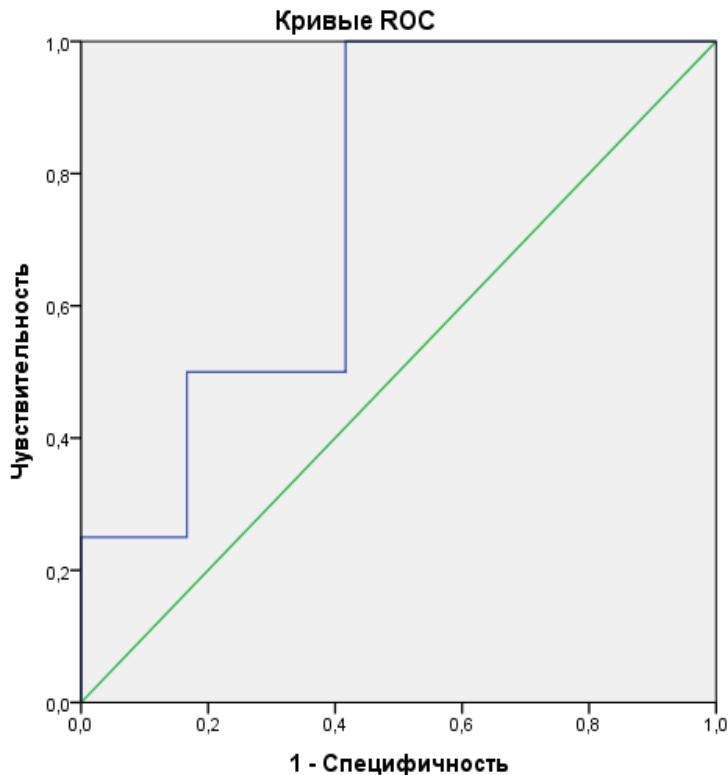


Рисунок 8. ROC кривая для уровня GM-CSF

В день ПЭ была выявлена связь частоты наступления беременности с провоспалительными цитокинами.

Так при построении ROC кривой для уровня ИЛ-6 пороговым значением явилось 535,86 с чувствительностью 82 % и специфичностью 71%, площадь под кривой составила 0,764. Для концентрации LIF точкой отсечки явилась 12.88 пг/мл с чувствительностью 98% и специфичностью 60%, площадь под кривой 0.722 (рисунок 9,10).

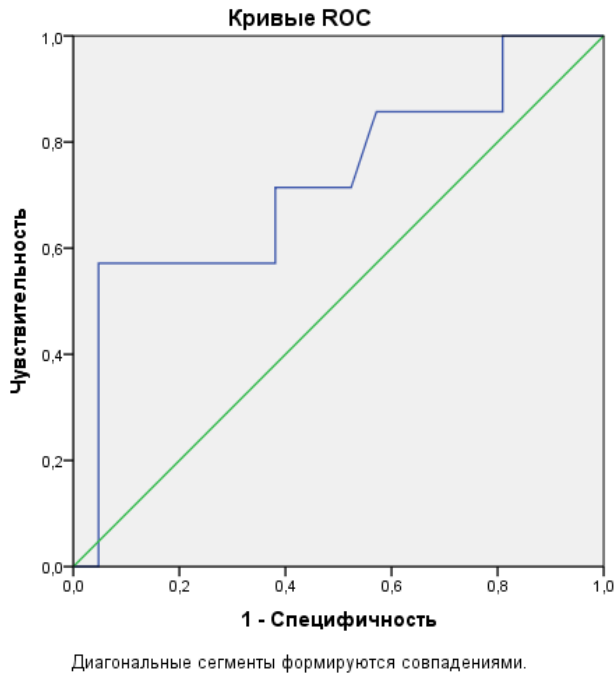


Рисунок 9. ROC кривая для уровня ИЛ-6

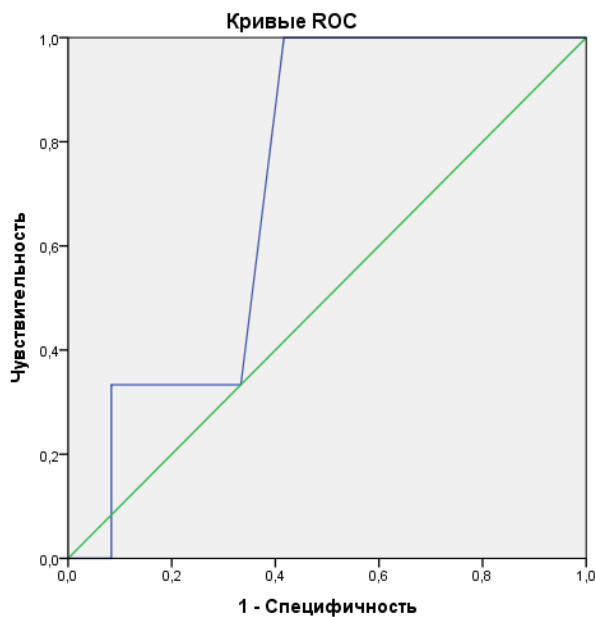


Рисунок 10. ROC кривая для уровня LIF

При проведении ROC анализа для остальных значений прогностической ценности не выявлено, площадь под кривой приближалась к 0,6, что свидетельствует об отсутствии прогностической значимости изучаемых параметров.

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

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

$$Z = -46,151 \times \Pi 12 - 0,003 \times \Pi 6 - 0,217 \times LIF + 1,621 \times VEGF + 22,97 \times E2 - 5,903$$

Формула вероятности наступления беременности:

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

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

ОБСУЖДЕНИЕ

Протоколы с антГнРГ в последние десятилетия становятся все более популярными для стимуляции функции яичников, за счет сокращения времени стимуляции, а также суммарной дозы гонадотропинов, возможности профилактики развития синдрома гиперстимуляции яичников, отсутствия эффектов гипоэстрогемии, возникающей на фоне десенситизации ГГЯ системы в протоколах с аГнРГ, также нет риска начала введения препаратов на фоне возможной беременности и возникновения кист на фоне снижения дозы вводимого аГнРГ. Согласно последнему Кохрановскому метаанализу, частота живорождения при использовании протокола с антГнРГ сопоставима с таковой при использовании протоколов с аГнРГ [200]. Однако лимитирующим фактором при применении протоколов с антГнРГ является зачастую отсутствие оптимальных условий для стимуляции яичников, а также привязанность пациентов и клиницистов ко времени начала стимуляции, которым является 2-3 день менструального цикла, что затрудняет программирование старта программы ЭКО и не позволяет регулировать нагрузку на эмбриологическую лабораторию [88].

Эти наблюдения привели к активному поиску способов программирования индуцированного цикла с целью оптимизации созревания фолликулярного пула в цикле стимуляции суперовуляции, и управления датой начала старта стимуляции функции яичников [193].

В настоящее время существует множество методов программирования начала программы ЭКО, которые позволяют синхронизировать пул антральных фолликулов и регулировать старт стимуляции, и тем самым увеличить число получаемых ооцитов, самыми перспективными из которых являются:- введение комбинированных оральных контрацептивов,- введение препаратов эстрадиола в лютеиновой фазе предшествующего цикла, а также введение антГнРГ в течение 3х дней до старта стимуляции функции яичников [22].

Однако данные по предварительной терапии оральными контрацептивами, эстрогенами, а также антГнРГ перед началом стимуляции яичников весьма противоречивы [106]. Таким образом, эффективность методов программирования индуцированного цикла и необходимость его проведения в настоящее время является дискуссионной.

В соответствии с целью исследования и поставленными задачами нами были обследованы 210 бесплодных пар в дальнейшем проходивших лечение бесплодия методом ЭКО или ЭКО/ИКСИ.

Пациентки при помощи блочной рандомизации были разделены на четыре группы с различными предварительными подготовками:

I группа (n=53), где в качестве предварительной подготовки явились КОК (этинилэстрадиол 35 мкг/гестоден 75 мкг) в течение 14 дней;

II группа (n=52), где с 21-25 дня цикла предшествующего стимуляции функции яичников назначались эстрогены (эстрадиола валерат) в дозе 4 мг/сут с последующей их отменой за день до начала стимуляции функции яичников;

III группа (n=52), где пациенткам назначались антГнРГ (цетрореликс) со 2 дня цикла с дальнейшим переходом к стимуляции функции яичников по фиксированному протоколу с антГнРГ с 5 дня менструально цикла;

IV группа (n=53), где использовался стандартный протокол без назначения какой-либо предварительной подготовки.

Методики обработки материала для выполнения исследования цитокинов и факторов роста в цервикальной слизи были одинаковы для всех пациенток. Для оценки полученных данных использовались стандартные компьютерные системы.

Клинико-anamнестический анамнез показал, что все пациентки сопоставимы по возрасту и массо-ростовым параметрам. Параметры овариального резерва соответствуют женщинам с нормальным овариальным резервом.

Во всех исследуемых группах преобладала частота первичного бесплодия над вторичным. Основными факторами, обуславливающими бесплодие явились трубно-перитонеальный и мужской факторы.

Согласно исследованию Cédric-Durnerin интервал для восстановления уровней эндогенных гонадотропинов после введения КОК составляет 5 дней отмены, для претритмента эстрагенами он более короткий и составляет 1-2 дня, эти данные согласуются с нашими результатами, мы также не отметили статистически достоверного снижения уровней ФСГ и ЛГ после 14 дней приема КОК, однако выявлена статистически достоверная разница в концентрации эстрадиола на день начала стимуляции, которая оказалась ниже в группе I по сравнению с другими исследуемыми группами (концентрация эстрадиола $-88,2 \pm 64,7$ нмоль/л в группе I, $205,6 \pm 99,3$ в группе II, $103,8 \pm 68,2$ в группе III, $135,2 \pm 80,6$ в группе IV, при сравнении группы I и II, $p^* < 0,001$, при сравнении группы I и III, $p^* = 0,04$, при сравнении группы II и III, $p^{**} = 0,011$, при сравнении группы I и IV, $p^* = 0,02$, при сравнении группы II и IV $p^{**} = 0,037$), также в нашем исследовании выявлено достоверное снижение уровня прогестерона на день начала стимуляции ($0,8 \pm 0,6$ и $1,9 \pm 1,2$; $p = 0,034$), что свидетельствует о сохраняющейся супрессии функции яичников [41]. Однако нами не выявлено достоверное увеличение длительности стимуляции функции яичников или суммарной дозы гонадотропинов, которая имеет место быть при более длительном применении КОК, согласно данным метаанализа Griesinger G 2010 года, который показал, что применение КОК в среднем увеличивает длительность стимуляции функции яичников на 1,41 дня

(95% CI: +1.13–1.68), а также увеличивает суммарную дозу гонадотропинов в среднем на 542 МЕ (95% confidence interval [CI]: +127–956), что вероятно связано с более длительной супрессией ГГЯ системы КОК [81].

Была проведена оценка фолликуло-, оогенеза и эмбриогенеза.

Полученные данные позволяют говорить об эффективности применения оральных контрацептивов в течение 14 дней и эстрадиола валерата в лютеиновой фазе предыдущего менструального цикла с целью синхронизации фолликулярного пула, получения большего количества зрелых ооцитов.

При анализе пула фолликулов на день начала стимуляции выявлено, что использование программирования цикла при помощи препаратов эстрадиола и КОК приводит к синхронизации пула фолликулов, за счет увеличения когорты фолликулов диаметром 6-9 мм $15,2 \pm 2,5$ в группе I, $14,8 \pm 2,4$ в группе II, $11,7 \pm 2,8$ в группе III, $9,2 \pm 3,2$ в группе IV, при сравнении группы I и IV $p=0,021$, при сравнении группы II и IV $p=0,028$. Сравнение параметром фолликулогенеза производили Cédric-Durnerin и соавторы, также как и в нашем исследовании они обнаружили увеличение когорты фолликулов диаметром от 6-9мм, однако, выявили, что введение эстрагенов во лютеиновую фазу цикла приводит к увеличению гетерогенности пула антральных фолликулов, в то время как после введения КОК, пул антральных фолликулов был более гомогенным, авторы связывают это с большим подавлением функции яичников после приема КОК, однако количество полученных ооцитов в данном исследовании было сопоставимо в группе с КОК, в группе с использованием подготовки эстрадиолом, в группе подготовки только прогестероном во второй фазе и контрольной группе [40].

Исходя из полученных результатов, выявлено достоверное увеличение числа полученных ооцитов ($12,9 \pm 4,4$ и $8,2 \pm 3,9$ в группе I и IV, соответственно, $p=0,042$) и зрелых ооцитов ($11,2 \pm 3,7$ и $7,7 \pm 3,2$ в группе II и IV, соответственно, $p=0,028$) после претритмента КОК, и соответственно, увеличение количества полученных blastocyst ($4,8 \pm 2,4$ и $2,1 \pm 1,6$ в группе I и IV, соответственно, $p=0,022$) и криоконсервированных blastocyst ($2,4 \pm 1,5$ и $0,9 \pm 0,6$ в группе I и IV,

соответственно, $p=0,004$) в I группе при сравнении с группой IV. В противоположность нашим результатам данные Кохрановского обзора говорят об отсутствии убедительных данных об увеличении числа получаемых ооцитов после претритмента КОК (ОШ 0.44, 95% ДИ -0.11 - 0.99; 6 RCTs; 1077 женщин) [64].

Во II группе выявлено статистически значимо большее число полученных ($11,9\pm 4,0$ и $7,7\pm 3,9$ в группе II и IV, соответственно, $p=0,046$) и зрелых ($8,3\pm 3,9$ и $5,7\pm 3,2$ в группе II и IV, соответственно, $p=0,024$) ооцитов и, соответственно большее количество полученных бластоцист ($4,1\pm 3,4$ и $2,1\pm 1,6$ в группе II и IV, соответственно, $p=0,036$), а также числа криоконсервированных эмбрионов ($2,2\pm 1,5$ и $0,9\pm 0,6$ в группе II и IV, соответственно, $p=0,036$) при сравнении с контрольной группой. Увеличение числа полученных ооцитов при подготовке эстрогенами подтверждается данными Кохрановского обзора (MD 2.23, 95% CI 0.71 to 3.75; 2 RCTs; 139 women; $I^2 = 0\%$) [64].

Согласно полученным результатам, не выявлено негативного влияния на фолликулогенез и эмбриологический этап программы ЭКО при использовании подготовки посредством антагониста ГнРГ, что подтверждается сопоставимым числом полученных ооцитов и эмбрионов в данных группах, что согласуется с данными литературы [64].

Учитывая, что рекрутинг фолликулов осуществляется в лютеиновую фазу предыдущего цикла, введение эстрагенов с 20-25 дня менструального цикла в течение 6-10 дней до начала стимуляции основано на подавлении второй волны ФСГ за счет обратной отрицательной связи [136]. По данным ряда авторов, не выявлено негативного влияния на исходы программ ВРТ при претритменте эстрагенами [63]. Так Blockeel и соавторы продемонстрировали сопоставимую частоту наступления беременности при использовании эстрадиола валерата с 25 дня менструального цикла, которая составила 38,6% по сравнению с контрольной группой -38,1% [23]. По данным Кохрановского обзора за 2017г также не выявлено убедительных доказательств о повышении частоты наступления беременности при использовании препаратов эстрадиола во вторую фазу

предыдущего цикла (OR 0.79, 95% CI 0.53 to 1.17; 2 RCTs; 502 women; I² = 0%) [64].

По данным нашего исследования претритмент эстрадиолом также не оказывал негативного влияния на частоту наступления беременности, которая составила в нашем исследовании 44,2% ($p > 0,05$). Частота ранних репродуктивных потерь составила 9,5%, частота прогрессирующей беременности составила 36,5% ($p > 0,05$). Сопоставимые данные продемонстрировал Shahrokh и соавторы 2018г [135].

По результатам нашего исследования не было выявлено негативного влияния на эффективность программы ЭКО претритмента с использованием антагонистов ГнРГ при сравнении с группой контроля: частота наступления беременности составила 40,38%, частота наступления клинической беременности 36,5% , частота ранних репродуктивных потерь -10,5% , частота прогрессирующей беременности -32,7 % ($p > 0,05$). Что подтверждается данными зарубежных авторов, так по данным Blockeel С использование антГнРГ в течение 3х дней перед началом стимуляции функции яичников приводит к увеличению частоты наступления беременности : 42% в группе с антГнРГ и 33% в группе без подготовки, но выявленная разница не была достоверной. В данном исследовании авторы отмечают увеличение количества получаемых ооцитов в исследуемой группе: $12,8 \pm 7,8$ в группе с антГнРГ и $9,9 \pm 4,9$ в группе без претритмента, однако оно тоже оказалось статистически не достоверным [22]. Схожие результаты демонстрирует Eftekhar M и соавторы: выявлена тенденция к увеличению количества полученных ооцитов, зрелых ооцитов, а также увеличение частоты имплантации и частоты наступления клинической ($P > 0,05$) [129].

Согласно метаанализу за 2010 год [81], использование КОК в предшествующем цикле, ведет к снижению частоты прогрессирующей беременности по сравнению с пациентками, не получавшими оральные контрацептивы в предыдущем цикле (RR 0.80, 95% CI: 0.66–0.97; $P = 0.02$; rate difference: -5%, 95% CI: -10% to -1%; $P = 0.02$; odds ratio 0.74, 95% CI: 0.58–0.96; $P = 0.02$), однако результаты более поздних исследований, свидетельствуют об отсутствии негативного влияния на

эффективность программы ЭКО при условии применения КОК в течение 14 дней и последующем начале стимуляции на 5 день после отмены препаратов [73].

Так Garsia-Velasko с соавт. в 2011 году предложил использовать комбинированные оральные контрацептивы в течение 12-16 дней, а не 21 день. В исследовании приняли участие 115 пациенток, принимавших КОК в течение 12-16 дней и 113 пациенток не принимавших КОК. Различий по следующим показателям не наблюдалось: количество аспирированных ооцитов 10,2 против 11,7; частоты оплодотворения (68,1% против 64,8%), числа полученных эмбрионов (5,9 против 6,2), среднее количество переносимых эмбрионов (1,8 против 1,8), частота имплантации (36% против 39%), частота ранних репродуктивных потерь (8,9% против 17%), частота прогрессирующей беременности (47,8% против 53,9%), а также частоты живорождения (44,3% против 47%) [73].

Однако результаты Кохрановского обзора за 2010 и 2017 год оказались идентичны, и введение КОК перед лечебным циклом статистически достоверно снижает частоту живорождения и частоту прогрессирующей беременности (OR 0.74, 95% CI 0.58 - 0.95; 6 RCTs; 1335 женщин; I² = 0%), что подтверждается данным нашего исследования: частота наступления беременности была статистически значимо ниже в группе с предварительной подготовкой КОК и составила 16,98% при сравнении с другими изучаемыми группами (I против II, p=0,006, I против III, p=0,015, I против IV, p=0,03). Также отмечается статистически достоверное снижение частоты наступления клинической беременности при сравнении группы с предварительной подготовкой КОК с группой II и III (I против II, p=0,008, I против III, p=0,02).

Обращает на себя внимание отсутствие негативного влияния КОК на параметры эмбриогнеза, но при этом достоверное снижение частоты наступления беременности в данной группе, может свидетельствует о пагубном влиянии КОК на эндометрий.

Патогенетическая основа негативного влияния монофазных КОК на клинические исходы остается неизвестной, возможным объяснением является влияние гестагенового компонентов КОК на рецептивность эндометрия, в связи с чем нарушается нормальная пролиферация эндометрия, не происходит его полноценной секреторной трансформации, снижается кровоснабжение [37].

Так, с целью изучения влияния КОК на эндометрий была изучена экспрессия 238 генов в окно имплантации у 10 доноров ооцитов посредством ERA [20]. В нашем исследовании впервые применено исследование цитокинового профиля в цервикальной слизи для оценки влияния методов программирования циклов ЭКО. Ниже проведен подробный анализ, полученных нами данных.

VEGF

При анализе концентраций факторов роста выявлена тенденция к увеличению значений VEGF от дня ТВП ко дню переноса эмбрионов в группе контроля ($1032,39 \pm 245,23$ – $1149,28 \pm 306,84$ – $1839,71 \pm 271,49$), в противоположность этому в I группе, где в качестве подготовки к циклу стимуляции использовали КОК, выявлена обратная динамика – снижение концентрации VEGF от дня ТВП до дня переноса эмбрионов ($223,15 \pm 188,34$ – $503,67 \pm 283,72$ – $383,09 \pm 212,97$). Выявлено статистически значимое снижение концентрации СЭФР в I группе по сравнению с группой контроля ($223,15 \pm 188,34$ против $1032,39 \pm 245,23$ пг/мл, $p=0,0187$, в I и IV группе соответственно) в день ТВП, а также на 3и сутки после пункции ($503,67 \pm 283,72$ против $1149,28 \pm 306,84$, $p=0,039$, в I и IV группе соответственно) и в день переноса эмбрионов ($383,09 \pm 212,97$ против $1839,71 \pm 271,49$, $p=0,0414$, $p=0,024$, в I и IV группе соответственно).

По данным Bourdies A и соавт. за 2016г. концентрация VEGF, RANTES и MIF в период окна имплантации увеличивается [29]. Liang Y и соавт. в 2015г. обнаружили статистически достоверное увеличение IL-6, IL-8, IL-12 p70, IL-13, VEGF и IFN- γ при исследовании аспирата полости матки взятого перед переносом эмбрионов у пациенток, у которых в последующем наступила беременность [121]. Seo WS и соавт. также сообщили о достоверном увеличении концентрации VEGF предвещающим наступлением беременности (6.0 ± 3.9 у

пациенток с наступившей беременностью и 2.9 ± 3.4 в группе с неэффективной попыткой ЭКО) [164]. А в исследовании на животной модели было доказано, что снижение экспрессии VEGF ведет к нарушению процесса имплантации эмбриона [21]. Также о важной роли этого фактора роста свидетельствует исследование Hannan NJ и соавт., выявивших снижение концентрации VEGF в аспирате полости матки в фазу окна имплантации, полученных у пациенток с бесплодием неясного генеза, по сравнению с фертильными пациентками [140].

G-CSF

G-CSF участвует в процессе фолликулогенеза, созревания ооцита, эмбриогенеза и имплантации [188], на сегодняшний день, активно изучается его использование у пациенток с «тонким» эндометрием и повторными неэффективными попытками ЭКО [109]. Концентрация G-CSF статистически достоверно увеличивается ко дню ЛГ+5, затем снижается ко дню переноса эмбрионов.

GM-CSF

Анализ концентрации GM-CSF в цервикальной слизи не выявил достоверной разницы в его уровнях на протяжении исследуемого периода, такие же данные демонстрирует исследование Persson M и соавторы в 2012г.: авторы не обнаружили корреляцию между GM-CSF и IFN- γ и частотой наступления беременности, однако измерение концентрации IFN- γ проводилось в плазме крови, а не в цервикальной слизи, на протяжении всей программы ЭКО и 4 недель после переноса эмбрионов [145]. Противоположные данные демонстрирует исследование A.Salmassi и соавторов, по результатам которого концентрация GM-CSF увеличивается во время проведения стимуляции функции яичников, достигая своего пика в день введения триггера овуляции, затем снижается ко дню переноса эмбрионов, с последующим увеличением при имплантации эмбриона, исследование также проводилось в сыворотке крови пациенток [160]. При сравнении содержания GM-CSF между группами зарегистрировано статистически достоверно низкая концентрация в день ТВП между I и группой контроля ($653,13 \pm 156,30$ и $146,28 \pm 139,14$ в I и в IV группе соответственно, $p=0,0279$).

FGF

Фактор роста фибробластов является одним из основных медиторов, участвующих в процессе адгезии эмбриона и инвазии трофобласта [178], по последним данным секреция FGF усиливается под влиянием эстрадиола и наиболее высокая в пролиферативном эндометрии и ингибируется прогестероном, т.е. снижается в секреторном эндометрии [71]. По нашим данным концентрация FGF в IV, II и III группе повышается от дня ТВП до дня ЛГ+5, затем снижается ко дню ЛГ+7. В IV группе происходит увеличение концентрации FGF от дня ТВП до дня переноса эмбрионов, однако следует заметить, что его концентрация в день ТВП статистически достоверно ниже по сравнению с другими группами и составила $6,32 \pm 0,72$, по сравнению с $34,73 \pm 12,51$ в IV группе ($p=0,046$), $33,51 \pm 14,68$ во II группе ($p=0,017$) и $19,96 \pm 13,26$ в III группе ($p=0,043$). Схожие данные получили Edwards АК и соавторы в 2011 году на животной модели, было обнаружено повышение FGF и снижение концентрации VEGF в эндометрии при повторных выкидышах, авторы сделали вывод, что FGF повышается компенсаторно нивелируя недостаток VEGF [58]. Таким образом тенденция к повышению этого ангиогенного фактора в секреторном эндометрии в I группе возможно свидетельствует о дисфункции эндометрия. В этом же году Paiva P и соавт., используя клеточную линию эпителиальных клеток эндометрия, доказали важную FGF в имплантации бластоцисты и развитии беременности- его концентрация увеличивается на протяжении всего менструального цикла достигая пика в период окна имплантации [140].

PDEGF-BB

Роль PDEGF-BB в процессе имплантации еще изучается, на сегодняшний день известно, что он отвечает за хемотаксис и пролиферацию клеток эндометрия [130] и достигает своей максимальной концентрации в окно имплантации [140]. По нашим данным тоже прослеживается статистически достоверное увеличение PDEGF-BB на протяжении окна имплантации во всех исследуемых группах.

IL-6

Анализ уровней провоспалительных цитокинов выявил статистически достоверное повышение концентрации IL-6 от дня ТВП до дня переноса эмбрионов в IV, II и III группах, в то время как в I группе происходит снижение уровней IL-6 со дня ЛГ+5 до дня ЛГ+7 ($1161,08 \pm 389,62$ в день ЛГ+5 и $740,11 \pm 229,97$ в день ЛГ+7, ($p=0,035$)). Концентрация IL-6 на день переноса эмбрионов статистически достоверно ниже в I группе по сравнению с остальными исследуемыми группами ($p=0,044$ при сравнении I и IV группы, $p=0,0126$ при сравнении II и I группы, $p=0,041$ при сравнении III и I группы).

К семейству IL-6 относится LIF, IL-6 и IL-11, в нашей работе мы рассматриваем только LIF и IL-6. IL-6 регулирует иммунный ответ и гемопоэз, пролиферативная фаза характеризуется его минимальной экспрессией, но во время средней фазы секреции она резко возрастает. По современным данным его низкая концентрация сопряжена с репродуктивными потерями, но и чрезмерно высокий уровень, наблюдаемый при эндометриозе, также ведет к снижению частоты имплантации [37]. Однако оптимальный уровень IL-6 позволивший бы прогнозировать успех программы ЭКО на сегодняшний день не обнаружен.

LIF

Как было сказано выше, LIF- это провоспалительный цитокин, относящийся к классу IL-6, регулирующий имплантацию, пролиферацию и апоптоз децидуальных клеток, по литературным данным, его экспрессия достоверно увеличивается в окно имплантации [157]. Что согласуется с полученными нами результатам: содержание LIF статистически достоверно увеличивалось со дня ТВП до дня ЛГ+7 во всех группах кроме I, в которой наблюдалось падение уровня LIF с $26,12 \pm 16,41$ в день ЛГ+5 до $13,57 \pm 3,35$ в день переноса эмбрионов, что оказалось статистически достоверно при сравнении с уровнем LIF ($41,8 \pm 4,6$ пг/мл) в IV группе в день переноса эмбрионов ($p=0,023$). LIF также играет роль в патогенезе невынашивания беременности, так Comba C и соавт. выявили статистически достоверное снижение уровней LIF и MIF в биоптате эндометрия и крови пациенток с привычным выкидышем по сравнению с фертильными женщинами [47].

MIF

Во всех группах наблюдается интенсивный подъем уровней MIF ко дню переноса эмбрионов, статистически достоверный при сравнении значений полученных в день ТВП по сравнению с днем ЛГ+7, что согласуется с современными данными [29].

IL-1 β

В свою очередь концентрация IL-1 β также увеличивается ко дню переноса эмбрионов во всех группах, кроме I, где отмечается падение его уровня до $10,95 \pm 3,26$ ко дню ЛГ+7 ($p=0,027$). Что согласуется с более низкой частотой наступления беременности в группе, где проводилась подготовка оральными контрацептивами. Vonetti и соавт. В 2010г., при исследовании пациенток, проходивших программу ЭКО, обнаружили, что присутствие IL-1 β в плазме крови в день ТВП прогнозирует имплантацию эмбриона ($p = 0.004$) и увеличивает шанс на наступление беременности в 15 раз [25].

TNF- α

Дальнейший сравнительный анализ провоспалительных цитокинов выявил увеличение концентрации TNF- α в IV и III группе, в то время как во II и I группе отмечается прирост концентрации только до дня ЛГ+5 с последующим падением в день ЛГ+7, самая низкая концентрация TNF- α в день ТВП ($33,30 \pm 22,16$) зарегистрирована в I группе, тем не менее, достоверной разницы при сравнении уровней TNF- α между группами не обнаружено. Voornsma CM и соавт. в 2009 г. выявили достоверную положительную связь между наступлением беременности и концентрацией TNF- α [26].

IL-17

IL-17 продуцируется Th17 хелперами и участвует в патогенезе невынашивания беременности [183]. Известно, что введение IL-17 провоцирует самопроизвольные выкидыши на животной модели [183]. Во всех группах наблюдается последовательное снижение концентрации IL-17 на протяжении всего исследуемого периода, что позволяет исключить влияние IL-17 опосредованной иммунной гиперреакции.: в I группе $-55,90 \pm 11,70$ в день ТВП и

27,74±19,43 в день ЛГ+ 7, $p=0,045$; в II группе -69,65±33,62 в день ТВП и 32,49±17,3 в день ЛГ+ 7, $p=0,033$; в III группе- 60,65±21,44 в день ТВП и 31,42±9,92 в день ЛГ+ 7, $p=0,046$; в IV группе- 63,98±25,23 в день ТВП и 31,99±12,31 в день ЛГ+ 7, $p=0,043$.

IFN- γ

Во всех группах отмечалось статистически достоверное увеличение концентрации IFN- γ ко дню ЛГ+5, далее, ко дню ЛГ+7, колебания уровня IFN- γ были минимальны, связи с наступлением беременности не выявлено. Persson M и соавторы в 2012г. не обнаружили корреляцию между IFN- γ и частотой наступления беременности, однако измерение концентрации IFN- γ проводилось только в плазме крови [145].

IL-12p70

IL-12 - интерлейкин 12 – провоспалительный цитокин, активирует и стимулирует дифференцировку Т-хелперов I типа и НК-клеток, тем самым способствует синтезу IFN- γ , является фактором созревания цитотоксических лимфоцитов [11]. Во всех группах за исключением I выявлен прирост концентрации IL-12p70, в то время как в I прослеживается падение концентрации IL-12p70 с ЛГ+5 до дня переноса эмбрионов, а также отмечается самое низкое значение IL-12p70 на момент ТВП (143,98±37,04 и 32,1±25,53 в IV и I группе соответственно ($p=0,0245$), 166,33±41,35 и 32,1±25,53 в III и I группе соответственно ($p=0,012$)).

IL-1ra

Во всех группах наблюдается подъем уровней IL-1ra ко дню переноса эмбрионов. При исследовании уровней IL-1 и рецепторов к нему на животной модели, выявлено повышение экспрессии рецепторов к IL-1 в период окна имплантации и при наступлении беременности [25].

IL-10

Инвазия трофобласта осуществляется за счет взаимодействия провоспалительных цитокинов, факторов роста и хемокинов, которые регулируют процесс инвазии, адгезии, секреции, а также активируют (TNF, IL-15, IL-6, IL-1)

или ингибируют (TGF β , LIF, IL-10) матриксные металлопротеиназы [38]. К ингибиторам матриксных металлопротеиназ относится IL-10, в нашем исследовании отмечается повышение уровней IL-10 со дня ТВП до дня переноса эмбрионов во всех исследуемых группах, однако наибольшая концентрация в день ТВП наблюдается во II группе ($12,34 \pm 4,62$ во II группе, $4,10 \pm 1,29$ в IV группе, $5,82 \pm 2,48$ в III группе, $9,42 \pm 1,74$ в I группе, $p=0,026$ при сравнении IV и II группы, $p=0,03$ при сравнении II и III группы, при сравнении II и I группы достоверной разницы не выявлено), в дальнейшем концентрации в исследуемых группах сопоставимы.

RANTES

RANTES является провоспалительным хемокином опосредующим ингибирование аллоспецифического цитотоксического ответа. Его концентрация снижается у пациенток с невынашиванием беременности по данным Fraccaroli L [70]. Однако в нашем исследовании мы не увидели такой взаимосвязи – уровень RANTES статистически достоверно увеличивался ко дню переноса эмбрионов во всех группах и не коррелировал с клиническими исходами.

MIP-1 α , MIP-1 β

Анализ динамики концентрации MIP-1 α не выявил значимых изменений на протяжении периода исследования, что согласуется с данными литературы, согласно которым концентрация MIP-1 α не меняется на протяжении всего менструального цикла, исключая фазу десквамации, в период которой происходит дегрануляция MIP-1 α и привлечение макрофагов и моноцитов в эндометрий [15]. При анализе концентрации MIP-1 β в цервикальной слизи отмечена статистически достоверное увеличение ее со дня ТВП до дня ЛГ+5, затем происходит снижение концентрации ко дню ЛГ+7, однако, это снижение статистически недостоверно. MIP-1 β наблюдается во все фазы маточного цикла, но увеличивается в лютеиновую фазу под действием прогестерона, в конце которой происходит выброс данного хемокина и накопление в эндометрии NK киллеров перед ожидаемой менструацией [104], что также согласуется с полученными нами данными.

IL-8

Концентрация IL-8 увеличивалась ко дню ЛГ+7 в IV, II и III группе, в группе с использованием КОК наблюдалось снижение концентрации IL-8 со дня ЛГ+5 до дня ЛГ+7 ($2130,09 \pm 109,41$ и $1381,79 \pm 508,29$ в день ЛГ+5 и ЛГ+ соответственно, $p=0,017$). По данными исследования Sarapik A и соав. 2011 года при анализе концентраций цитокинов в фолликулярной жидкости у пациенток, проходивших программу ЭКО, обнаружено достоверное снижение уровня IL-8 у пациенток с бесплодием неясного генеза, а также обнаружена связь между концентрацией IL-8 и числом полученных ооцитов [161]. Также, согласно исследованию Caballero-Sampedro P уровень IL-8 резко увеличивалась в присутствии бластоцисты при совместном кокультивировании с культурой эндометриальных клеток [35]. Литературных данных по динамике концентраций IL-8 в цервикальной слизи нет.

IP-10

В 2003 году Nagaoka K и соавторы выявили важную роль хемокина IP-10 в процессе инвазии трофобласта [134], а в дальнейшем выявлена положительную связь концентрации IP-10 и частоты наступления беременности нашли при исследовании биоптатов эндометрия в день переноса эмбрионов [97]. По данным нашего исследования уровень IP-10 повышается со дня ТВП до дня ЛГ+7, однако она статистически не достоверна.

MCP-1

Уровень MCP-1 повышался во всех исследуемых группах на протяжении периода от ТВП до переноса эмбрионов, однако, концентрация MCP-1 была статистически достоверно ниже в день ТВП в группе, где была произведена подготовка эстрадиола валератом при сравнении с группой I и контролем. Boomsma SM и соавт. в 2009г. при исследовании смывов с эндометрия, проводимых непосредственно перед переносом эмбрионов также выявили отрицательную связь между концентрацией MCP-1 и частотой наступления беременности [26]. Такие же данные приводит Vuyuk E и соавт. в 2017г.: высокая концентрация MCP-1 снижает частоту наступления беременности, авторы

предложили пороговую концентрацию при превышении которой беременность не наступает, она составила >373 пг/мл [34]. Следует отметить, что в исследование проводилось у пациенток с ожирением, тогда как в нашем исследовании участвовали пациентки с нормальным значением ИМТ. Далее, на мышинной модели выявлено, что концентрация МСР-1 повышается после имплантации эмбриона в первые 2 дня гестации [174]. Таким образом более низкая частота ранних репродуктивных потерь во II группе может быть связана со снижением концентрации МСР-1 после подготовки эстрадиолом.

Eotaxin

Eotaxin вырабатывается функциональным слоем эндометрия и служит для привлечения эозинофилов в эндометрий [96], его концентрация регулируется эстрадиолом и возрастает ко дню менструации [80]. В нашем исследовании уровень эотаксина статистически достоверно увеличивался на протяжении всего периода исследования.

Суммируя вышесказанное, сделан вывод, что использование КОК в течение 14 дней для подготовки к проведению программы ЭКО приводит к снижению концентрации провоспалительных цитокинов (IL-12p70, IL-6, IL-1 β , LIF) и хемокинов (IL-8), а также к дисбалансу проангиогенных факторов (VEGF, FGF, GM-CSF), что может быть результатом негативного влияния КОК на эндометрий в период подготовки. При подготовке к программе ЭКО эстрадиола валератом и микронизированным прогестероном наблюдается статистически достоверное снижение концентрации IL-8 от дня ТВП до дня переноса эмбрионов, а также статистически достоверное снижение МСР-1 в день ТВП возможно, этим объясняется высокая частота наступления беременности в данной группе.

Таким образом, на основании результатов нашего исследования, использование КОК для претритмента при планировании переноса эмбрионов в лечебном цикле не целесообразно. Однако, в этой связи нужно отметить, что в наше исследование входили пациентки с нормальным овариальным резервом и всем пациенткам был произведен перенос в лечебном цикле. В настоящее время изучается использование КОК для подготовки ко вступлению в программу ЭКО с антГнРГ

пациенток с тяжелым генитальным эндометриозом [90], возможно для этой категории пациенток использование КОК в качестве претритмента будет оправдано.

Суммируя результаты проведенного исследования, мы разработали алгоритм индуцированного программирования цикла ВРТ в протоколе с антГнРГ с использованием комбинированных оральных контрацептивов (КОК), эстрогенов и антагонистов ГнРГ, который представлен в Приложении.

ВЫВОДЫ

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

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

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

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

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

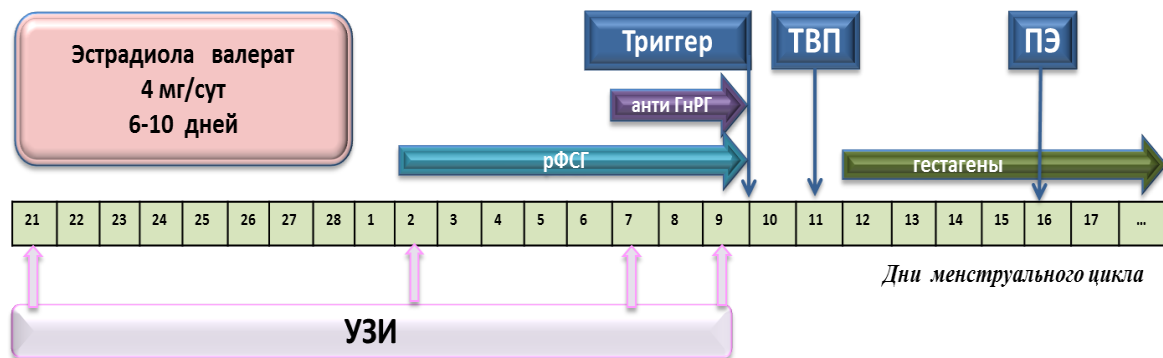
6. Эффективность программ ЭКО в протоколе с антагонистами ГнРГ не страдает при использовании предварительной подготовки эстрадиола валератом и

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

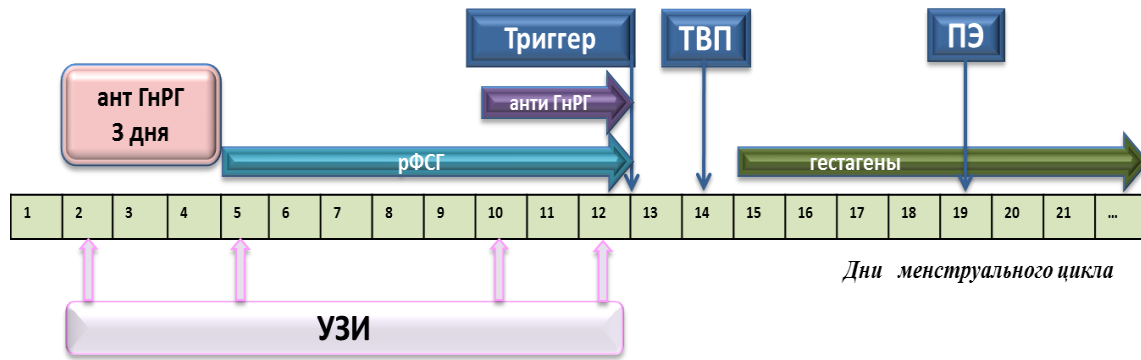
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

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

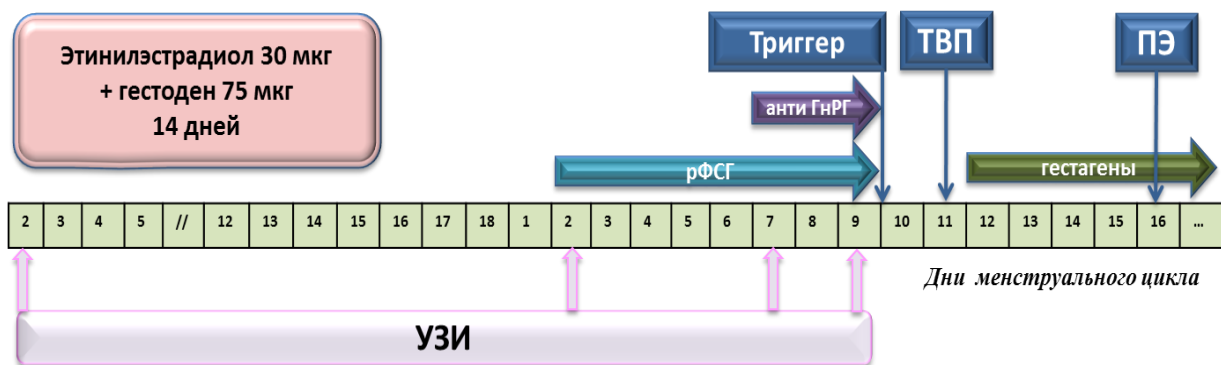
2. При планировании переноса эмбриона в стимулированном цикле возможно применение эстрадиола валерата в лютеиновой фазе предыдущего менструального цикла по схеме:



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



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



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

5. В день ТВП прогностически значимыми являются: VEGF, FGF, GM-CSF. При помощи ROC анализа определено пороговое значение концентрации СЭФР, при котором ожидается наступление беременности, которая составила 182 нг/мл с чувствительностью 72 % и специфичностью 70%, площадь под кривой составила 0,711. При построении ROC кривой для фактора роста фибробластов выявлена точка отсечки 12 нг/мл с чувствительностью 86% и специфичностью 60% при площади под кривой 0,783. При построении ROC кривой для гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора роста выявлена точка

отсечки 69 нг /мл с чувствительностью 75% и специфичностью 68%, площадь под кривой составила 0,764. В день ПЭ выявлена прогностическая ценность концентрации П-6 и LIF, прогнозирующие наступление беременности. Так, при построении ROC кривой для ИЛ-6 пороговым значением явилось 535 нг/мл с чувствительностью 82% и специфичностью 71%, площадь под кривой составила 0,764. Для концентрации LIF точкой отсечки явилась 12 нг/мл с чувствительностью 98% и специфичностью 60% с площадью под кривой 0,722.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ:

АМГ – антимюллеров гормон

ВКМ – внутриклеточная масса

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии

аГнРГ – агонист гонадотропин-рилизинг гормона

антГнРГ – антагонист гонадотропин-рилизинг гормона

ГнРГ – гонадотропин-рилизинг гормон

ГГЯ систем – гипоталамо-гипофизарно-яичниковая система

ДГЭА-С – дегидроэпиандростерона сульфат

E₂ – эстрадиол

ИКСИ – интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида

ИМТ – индекс массы тела

ИППП – инфекции, передаваемые половым путем

ИФА – иммуноферментный анализ

К – кортизол

КОК – комбинированные оральные контрацептивы

ЛГ – лютеинизирующий гормон

ЛФ – лютеиновая фаза

НГЭ – наружный генитальный эндометриоз

ПРЛ – пролактин

ПЭ – перенос эмбриона

РДВ – раздельное диагностическое выскабливание

РКИ – рандомизированное контролируемое исследование

РНК – рибонуклеиновая кислота

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

СГЯ – синдром гиперстимуляции яичников

СПКЯ – синдром поликистозных яичников

Т3 - трийодтиронин

Т4 св – свободный тироксин

ТВП – трансвагинальная пункция

ТТГ – тиреотропный гормон

ТФЭ – трофэктодерма

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

УЗИ – ультразвуковое исследование

ХГЧ – хорионический гонадотропин человека

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

рФСГ – рекомбинантный фолликулостимулирующий гормон

CSF - колониестимулирующий фактор роста

EGF – эпидермальный фактор роста

FGF – фактор роста фибробластов

G-CSF – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор роста

GM-CSF – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

роста

HB-EGF – гепаринсвязывающий фактор роста

IFN- γ – интерферон γ

IGF – инсулин-подобный фактор роста

IL – интерлейкин

IP-10 – индуцируемый белок 10

LIF – лейкемия ингибирующий фактор

LIFR – рецептор лейкемия ингибирующего фактора

MCP – моноцитарный хемоаттрактантный белок

M-CSF – макрофагальный колониестимулирующий фактор

MIF – макрофаг ингибирующий фактор

MIP – макрофагальный воспалительный белок

P – прогестерон

PDEGF – тромбоцитарный фактор роста

SICAM – молекула межклеточной адгезии

STAT3 – сигнальный белок и активатор транскрипции 3

TGF – трансформирующий фактор роста

TNF – фактор некроза опухоли

VCAM – васкулярная молекула клеточной адгезии

VEGF – сосудисто-эндотелиальный фактор роста

VEGFR – рецептор сосудисто-эндотелиального фактора роста

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Смольникова, В. Ю. Принципы и схемы стимуляции суперовуляции в программе ЭКО и ПЭ / В. Ю. Смольникова – , 2005.– 347–367 с.
2. Дюжева, Е. В. Гормональная подготовка эндометрия у пациенток с неэффективными попытками ЭКО в анамнезе / Е. В. Дюжева // дисс. кан. мед. наук – 2010. – 132 с.
3. Гюльмамедова, И.Д. Проблемы имплантации в программе IVF: (обзор лит.) / М. О. К. И.Д. Гюльмамедова // Новости медицины и фармации. Гинекология. – 2008. – Т. 253 – 17–27 с.
4. Дюжева, Е. В. Иммуногистохимическое исследование эндометрия в программах ВРТ / Е. В. Дюжева // Вестник РУДН – 2009. – Т. 6 – 98–104 с.
5. Калинина, Е.А. Модифицированные схемы стимуляции суперовуляции: эффективность и безопасность / Е.А. Калинина // Проблемы репродукции – 2011. – Т. 1 – 67–72 с.
6. Кузьмичев, Л.Н., [и др.] Бесплодный брак / Л.Н. Кузьмичев, Е.А. Калинина – , 2006.– 234 с.
7. Ольховская, М. А. Биомаркеры «имплантационного окна» (обзор литературы) / М. А. Ольховская // Проблемы репродукции – 2007. – Т. 1 – 72–77 с.
8. Митюрина, Е.В., [и др.] Преждевременная лютеинизация в программах вспомогательных репродуктивных технологий в протоколах с аналогами гонадотропин-рилизинг гормона / Е.В. Митюрина, С.Г. Перминова // Акушерство и гинекология – 2012. – Т. 8 – 16–20 с.
9. Назаренко, Т.А. Анализ взаимосвязи между клинико-анамнестическими, клинико-лабораторными данными, особенностями индукции суперовуляции и исходами ЭКО и ЭКО/ИКСИ / Т.А. Назаренко // Проблемы репродукции – 2011. – Т. 1 – 73–77 с.
10. Новицкая, Н.А., [и др.] Синдром гиперстимуляции яичников: течение и исходы беременности / Н.А. Новицкая, О.Н. Курбатская, К.В. Краснопольская // Вестник РГМУ – 2006. – Т. 5 – 21–27 с.
11. Бурменская, О.В. Молекулярно-генетические маркеры иммунного ответа при воспалительных заболеваниях органов женской репродуктивной системы / О.В. Бурменская – 2014. – 50 с.
12. Сотникова, Н.Ю., [и др.] Роль клеток врожденного иммунитета в обеспечении успеха беременности на ранних сроках гестации / Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова // Журнал акушерства и женских болезней – 2013. – Т. 2 – 151–159 с.
13. Сухих, Г.Т. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению. / Г.Т. Сухих – 2010. – 548 с.
14. Назаренко, Т.А. Стимуляция функции яичников / Т.А. Назаренко – 2008. – 243–271 с.
15. Akiyama M. Expression of macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α) in human endometrium throughout the menstrual cycle / M. Akiyama, H. Okabe, K. Takakura, Y. Fujiyama, Y. Noda // BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol. – 1999 – Vol.106(7) –P.725-730

16. Andersen C.Y. Hormonal characteristics of follicular fluid from women receiving either GnRH agonist or hCG for ovulation induction / C. Y. Andersen, P. Humaidan, H. B. Ejdrup, L. Bungum, M. L. Grøndahl, L. G. Westergaard // *Hum. Reprod.* – 2006 – Vol 21(8) – P.2126-2130
17. Aydin Y., Hassa H. I.T. Follicular fluid and serum vascular endothelial growth factor, interleukin (IL)-1 β and glycodelin concentrations: comparison between long-gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-agonist and GnRH-antagonist cycles: a randomized controlled trial / I. T. Aydin Y., Hassa H. // *Gynecol. Endocrinol.* – 2014 – Vol. 30(10) – P.734–738
18. Bancsi L.F.J.M.M. Impact of repeated antral follicle counts on the prediction of poor ovarian response in women undergoing in vitro fertilization / L. F. J. M. M. Bancsi, F. J. M. Broekmans, C. W. N. Looman, J. D. F. Habbema, E. R. Te Velde // *Fertil. Steril.* – 2004 – Vol. 81(1) – P.35–41
19. Ben-Rafael Z. Agonist or antagonist: what is preferable for in vitro fertilization? / Ben-Rafael Z. // *Gynecol. Endocrinol. Endocrinol* – 2012 – Vol. 28 – P.18–21
20. Bermejo A. The impact of using the combined oral contraceptive pill for cycle scheduling on gene expression related to endometrial receptivity / A. Bermejo, C. Iglesias, M. Ruiz-Alonso, D. Blesa, C. Simón, A. Pellicer, J. García-Velasco // *Hum. Reprod.* – 2014 – Vol. 29(6) – P.1271–1278
21. Binder N.K. Endometrial signals improve embryo outcome: Functional role of vascular endothelial growth factor isoforms on embryo development and implantation in mice / N. K. Binder, J. Evans, D. K. Gardner, L. A. Salamonsen, N. J. Hannan // *Hum. Reprod.* – 2014– Vol. 29(10) – P.2278–2286
22. Blockeel C., Riva A. D.V.M. Administration of a gonadotropin-releasing hormone antagonist during the 3 days before the initiation of the in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatment cycle: impact on ovarian stimulation / D. V. M. Blockeel C., Riva A. // *Fertil. Steril.* – 2011 – Vol. 95(5) – P.1714–1719
23. Blockeel C. Oestradiol valerate pretreatment in GnRH-antagonist cycles: A randomized controlled trial / C. Blockeel, S. Engels, M. De Vos, P. Haentjens, N. P. Polyzos, D. Stoop, M. Camus, P. Devroey // *Reprod. Biomed. Online* – 2012 – Vol. 24(3) – P.272–280
24. Bodri D. Gonadotropin-releasing hormone agonists versus antagonists for controlled ovarian hyperstimulation in oocyte donors: A systematic review and meta-analysis / D. Bodri, S. K. Sunkara, A. Coomarasamy // *Fertil. Steril.* – 2011 – Vol. 95(1) – P.164–169
25. Bonetti T.C.S. Cytokine and hormonal profile in serum samples of patients undergoing controlled ovarian stimulation: Interleukin-1 predicts ongoing pregnancy / T. C. S. Bonetti, R. Salomao, M. Brunialti, D. P. A. F. Braga, E. Borges, I. D. C. G. Silva // *Hum. Reprod.* – 2010 – Vol. 25(8) – P.2101–2106
26. Boomsma C.M. Endometrial secretion analysis identifies a cytokine profile predictive of pregnancy in IVF / C. M. Boomsma, A. Kavelaars, M. J. C. Eijkemans, E. G. Lentjes, B. C. J. M.

Fausser, C. J. Heijnen, N. S. MacKlon // *Hum. Reprod.* – 2009 – Vol. 24(6) – P.1427–1435

27. Bosch E. Circulating progesterone levels and ongoing pregnancy rates in controlled ovarian stimulation cycles for in vitro fertilization: Analysis of over 4000 cycles / E. Bosch, E. Labarta, J. Crespo, C. Simón, J. Remohí, J. Jenkins, A. Pellicer // *Hum. Reprod.* – 2010 – Vol. 25(8) – P.2092–2100

28. Boucher A. Cycle-Dependent Expression of Interleukin-1 Receptor Type II in the Human Endometrium1 / A. Boucher, A. Kharfi, M. Al-Akoum, P. Bossù, A. Akoum // *Biol. Reprod.* – 2001 – Vol. 65(3) – P.890–898

29. Bourdieu A. Regulation of inflammatory and angiogenesis mediators in a functional model of decidualized endometrial stromal cells / A. Bourdieu, S. F. Ahmad, A. Lachhab, A. Akoum // *Reprod. Biomed. Online* – 2016 – Vol. 32(1) – P.85 – 95

30. Bradley T.R. The growth of mouse bone marrow cells in vitro. / T. R. Bradley, D. Metcalf // *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* – 1966

31. Broekmans F.J. Prognostic models for high and low ovarian responses in controlled ovarian stimulation using a GnRH antagonist protocol / F. J. Broekmans, P. J. M. Verweij, M. J. C. Eijkemans, B. M. J. L. Mannaerts, H. Witjes // *Hum. Reprod.* – 2014 – Vol. 29(8) – P.1688–1697

32. Bulletti C. Uterine contractility and embryo implantation // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* – 2006 – Vol. 17(3) – P.265–276

33. Burgess A.W. Purification and properties of colony stimulating factor from mouse lung conditioned medium / A. W. Burgess, J. Camakaris, D. Metcalf // *J. Biol. Chem.* – 1977 – Vol. 252(6) – P.1998–2003

34. Buyuk E. Serum and follicular fluid monocyte chemotactic protein-1 levels are elevated in obese women and are associated with poorer clinical pregnancy rate after in vitro fertilization: a pilot study / E. Buyuk, O. A. Asemota, Z. Merhi, M. J. Charron, D. S. Berger, A. Zapantis, S. K. Jindal // *Fertil. Steril.* – 2017 – Vol. 107(3) – P.632–640

35. Caballero-Campo P. Hormonal and embryonic regulation of chemokines IL-8, MCP-1 and RANTES in the human endometrium during the window of implantation / P. Caballero-Campo // *Mol. Hum. Reprod.* – 2002 – Vol. 8(4) – P.375–384

36. Calogero A.E. Macrophage-derived cytokines in the follicular fluids of women with infertility due to immunological causes. Elevated levels of interleukin 6 and low levels of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor / A. E. Calogero, F. Nicoletti, M. A. Palumbo, N. Burrello, M. Di Mauro, M. Lunetta, K. Bendtzen, A. Cianci // *Cytokine* – 1998 – Vol. 10(10) – P.814–818

37. Carlos Simón L.C.G. The endometrial factor. / L. C. G. Carlos Simón – 2017.–P.165

38. Carlos Simón L.C.G. The endometrial factor. A reproductive precision medicine approach / L. C. G. Carlos Simón – 2017.

39. Cavagna M. Biomarkers of endometrial receptivity - A review / *Placenta*. – 2003 – P.39 – 47
40. Cédric-Durnerin I. Effects of oral contraceptive, synthetic progestogen or natural estrogen pre-treatments on the hormonal profile and the antral follicle cohort before GnRH antagonist protocol / I. Cédric-Durnerin, B. Bständig, I. Parneix, V. Bied-Damon, C. Avril, C. Decanter, J. N. Hugues // *Hum. Reprod.* – 2007 – Vol. 22(1) – P.109–116
41. Cédric-Durnerin I. Pretreatment with estrogen does not affect IVF-ICSI cycle outcome compared with no pretreatment in GnRH antagonist protocol: A prospective randomized trial / I. Cédric-Durnerin, A. Guivarc'H-Levêque, J. N. Hugues // *Fertil. Steril.* – 2012 – Vol. 97(6) – P.1359–1364
42. Chaouat G. New insights into maternal-fetal interactions at implantation. / G. Chaouat, S. Zourbas, S. Ostojic, G. Lapprée-Delage, S. Dubanchet, N. Ledée, J. Martal // *Reprod. Biomed. Online* – 2001 – Vol. 2(3) – P.198–203
43. Charnock-Jones D.S. Leukaemia inhibitory factor mRNA concentration peaks in human endometrium at the time of implantation and the blastocyst contains mRNA for the receptor at this time / D. S. Charnock-Jones, A. M. Sharkey, P. Fenwick, S. K. Smith // *J. Reprod. Fertil.* – 1994 – Vol. 101(2) – P.421–426
44. Check J.H. A study to determine the efficacy of controlled ovarian hyperstimulation regimen using a gonadotropin releasing hormone agonist versus antagonist in women of advanced reproductive age with varying degrees of oocyte reserve on outcome following in vitro fe / J. H. Check, J. K. Choe, R. Cohen, C. Wilson // *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* – 2013– Vol. 40(2) – P.191–192
45. Cheng J.G. Dual control of LIF expression and LIF receptor function regulate Stat3 activation at the onset of uterine receptivity and embryo implantation / J. G. Cheng, J. R. Chen, L. Hernandez, W. G. Alvord, C. L. Stewart // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2001 – Vol.98(15) – P.8680–8685
46. Cicinelli E. Detection of chronic endometritis at fluid hysteroscopy / E. Cicinelli, L. Resta, R. Nicoletti, M. Tartagni, M. Marinaccio, C. Bulletti, G. Colafiglio // *J. Minim. Invasive Gynecol.* – 2005 – Vol. 12(6) – P.514–518
47. Comba C. Role of inflammatory mediators in patients with recurrent pregnancy loss / C. Comba, E. Bastu, O. Dural, C. Yasa, G. Keskin, M. Ozsurmeli, F. Buyru, H. Serdaroglu // *Fertil. Steril.* – 2015 – Vol. 104(6) – P.1467–1474
48. Copperman A.B. Optimal usage of the GnRH antagonists: A review of the literature / *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2013
49. Cork B.A. Expression of interleukin (IL)-11 receptor by the human endometrium in vivo and effects of IL-11, IL-6 and LIF on the production of MMP and cytokines by human endometrial cells in vitro / B. A. Cork // *Mol. Hum. Reprod.* – 2002 – Vol. 8(9) – P.841–848
50. d'Hauterive S.P. Human chorionic gonadotropin and growth factors at the embryonic-

endometrial interface control leukemia inhibitory factor (LIF) and interleukin 6 (IL-6) secretion by human endometrial epithelium / S. P. d'Hauterive, C. Charlet-Renard, S. Berndt, M. Dubois, C. Munaut, F. Goffin, M. T. Hagelstein, A. Noël, A. Hazout, J. M. Foidart, V. Geenen // *Hum. Reprod.* – 2004 – Vol. 19(11) – P.2633–2643

51. Damario M.A. Endometrial markers of uterine receptivity utilizing the donor oocyte model / M. A. Damario, T. G. Lesnick, B. A. Lessey, A. Kowalik, E. Mandelin, M. Seppälä, Z. Rosenwaks // *Hum. Reprod.* – 2001 – Vol. 16(9) – P.1893–1899

52. Depalo R. GnRH agonist versus GnRH antagonist in in vitro fertilization and embryo transfer (IVF/ET). / R. Depalo, K. Jayakrishan, G. Garruti, I. Totaro, M. Panzarino, F. Giorgino, L. E. Selvaggi // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2012 – Vol. 13 – P.10–26

53. Devroey P., Aboulghar M. G.-V.J. Improving the patient's experience of IVF/ICSI: a proposal for an ovarian stimulation protocol with GnRH antagonist co-treatment / G.-V. J. Devroey P., Aboulghar M. // *Hum. Reprod.* – 2009 – Vol. 24(4) – P.764–774

54. Díaz-Cueto L. The influence of growth factors on the development of preimplantation mammalian embryos // *Arch. Med. Res.* – 2001 – Vol. 32 (6) – P.619–626

55. Díaz-Gimeno P. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature / P. Díaz-Gimeno, J. A. Horcajadas, J. A. Martínez-Conejero, F. J. Esteban, P. Alamá, A. Pellicer, C. Simón // *Fertil. Steril.* – 2011 – Vol. 95(1) – P.50–60

56. Diedrich K. The role of the endometrium and embryo in human implantation. / K. Diedrich, B. C. J. M. Fauser, P. Devroey, G. Griesinger, Evian Annual Reproduction (EVAR) Workshop Group // *Hum. Reprod. Update* – 2007 – Vol. 13(4) – P.365–77

57. Dimitriadis E. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation. / E. Dimitriadis, C. A. White, R. L. Jones, L. A. Salamonsen // *Hum. Reprod. Update* – 2005 – Vol. 11(6) – P.613–630

58. Edwards A.K. Expression of angiogenic basic fibroblast growth factor, platelet derived growth factor, thrombospondin-1 and their receptors at the porcine maternal-fetal interface / A. K. Edwards, M. J. van den Heuvel, J. M. Wessels, J. LaMarre, B. A. Croy, C. Tayade // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2011

59. Engmann L. The use of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce oocyte maturation after cotreatment with GnRH antagonist in high-risk patients undergoing in vitro fertilization prevents the risk of ovarian hyperstimulation syndrome: a prospective rando / L. Engmann, A. DiLuigi, D. Schmidt, J. Nulsen, D. Maier, C. Benadiva // *Fertil. Steril.* – 2008

60. Fanchin R. Coordination of early antral follicles by luteal estradiol administration provides a basis for alternative controlled ovarian hyperstimulation regimens / R. Fanchin, J. S. Cunha-Filho, L. M. Schonäuer, I. J. Kadoch, P. Cohen-Bacri, R. Frydman // *Fertil. Steril.* – 2003

61. Fanchin R. Coordination of early antral follicles by luteal estradiol administration provides a basis for alternative controlled ovarian hyperstimulation regimens. / R. Fanchin, J. S. Cunha-Filho, L. M. Schonäuer, I. J. Kadoch, P. Cohen-Bacri, R. Frydman // *Fertil. Steril.* – 2003 – Vol. 79(2) – P.316–321
62. Fanchin R. Hormonal manipulations in the luteal phase to coordinate subsequent antral follicle growth during ovarian stimulation / R. Fanchin, D. H. Méndez Lozano, L. M. Schonäuer, J. S. Cunha-Filho, R. Frydman // *Reprod. Biomed. Online* – 2005 – Vol. 10(6) – P.721–728
63. Fanchin R. Luteal estradiol pre-treatment coordinates follicular growth during controlled ovarian hyperstimulation with GnRH antagonists / R. Fanchin, L. Salomon, A. Castelo-Branco, F. Olivennes, N. Frydman, R. Frydman // *Hum. Reprod.* – 2003 – Vol. 18(12) – P.2698–2703
64. Farquhar C. Oral contraceptive pill, progestogen or oestrogen pretreatment for ovarian stimulation protocols for women undergoing assisted reproductive techniques // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2017
65. Fatemi H.M. High ovarian response does not jeopardize ongoing pregnancy rates and increases cumulative pregnancy rates in a GnRH-antagonist protocol / H. M. Fatemi, K. Doody, G. Griesinger, H. Witjes, B. Mannaerts // *Hum. Reprod.* – 2013 – Vol. 28(2) – P.442–452
66. Fatemi H.M. An update of luteal phase support in stimulated IVF cycles / H. M. Fatemi, B. Popovic-todorovic, E. Papanikolaou, P. Donoso, P. Devroey // *Hum. Reprod. Update* – 2007 – Vol. 13(6) – P.581–590
67. Fauser B.C. The early days of IVF // *Hum. Reprod. Update.* – 2005.
68. Fazleabas A.T. Implantation: Embryonic signals and the modulation of the uterine environment - A review / A. T. Fazleabas, J. J. Kim, Z. Strakova // *Placenta* – 2004 – P.26–31
69. Ferraretti A.P. ESHRE consensus on the definition of 'poor response to ovarian stimulation for in vitro fertilization: The Bologna criteria / A. P. Ferraretti, A. La Marca, B. C. J. M. Fauser, B. Tarlatzis, G. Nargund, L. Gianaroli // *Hum. Reprod.* – 2011 – Vol. 26(7) – P.1616–1624
70. Fraccaroli L. Immunomodulatory effects of chemokines during the early implantation window / L. Fraccaroli, J. Alfieri, C. P. Leiros, R. Ramhorst // *Front. Biosci. - Elit.* – 2009 – P.288–298
71. Fujimoto J. Ovarian steroids regulate the expression of basic fibroblast growth factor and its mRNA in fibroblasts derived from uterine endometrium / J. Fujimoto, M. Hori, S. Ichigo, T. Tamaya // *Ann. Clin. Biochem.* – 1997.
72. Gaast M.H. van der Endometrial secretion aspiration prior to embryo transfer does not reduce implantation rates / M. H. van der Gaast, K. Beier-Hellwig, B. C. J. M. Fauser, H. M. Beier, N. S. Macklon // *Reprod. Biomed. Online* – 2003 – Vol. 7(1) – P.105–109
73. Garcia-Velasco J.A. Cycle scheduling with oral contraceptive pills in the GnRH antagonist protocol vs the long protocol: A randomized, controlled trial / J. A. Garcia-Velasco, A. Bermejo, F.

- Ruiz, J. Martinez-Salazar, A. Requena, A. Pellicer // *Fertil. Steril.* – 2011 – Vol. 96(3) – P.590–593
74. Gardner D.K. Culture and transfer of human blastocysts / D. K. Gardner, W. B. Schoolcraft // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* – 1999.
75. Gelbaya T.A., Kyrgiou M. T.I. The use of estradiol for luteal phase support in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles: a systematic review and meta-analysis / T. I. Gelbaya T.A., Kyrgiou M. // *Fertil. Steril.* – 2008 – Vol. 90(6) – P.2116–2125
76. Girling J.E. Regulation of endometrial vascular remodelling: Role of the vascular endothelial growth factor family and the angiopoietin-TIE signalling system // *Reproduction.* – 2009 – Vol. 138(6) – P.883–893
77. Gizzo S. Which luteal phase support is better for each IVF stimulation protocol to achieve the highest pregnancy rate? A superiority randomized clinical trial / S. Gizzo, A. Andrisani, F. Esposito, M. Noventa, S. Di Gangi, S. Angioni, P. Litta, M. Gangemi, G. B. Nardelli // *Gynecol. Endocrinol.* – 2014 – Vol. 30(12) – P.902–908
78. Gleicher N. A pilot cohort study of granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of unresponsive thin endometrium resistant to standard therapies / N. Gleicher, A. Kim, T. Michaeli, H. J. Lee, A. Shohat-Tal, E. Lazzaroni, D. H. Barad // *Hum. Reprod.* – 2013 – Vol. 28(1) – P.172–177
79. Gonzalez R.R. Leptin-induced increase in leukemia inhibitory factor and its receptor by human endometrium is partially mediated by interleukin 1 receptor signaling / R. R. Gonzalez, B. R. Rueda, M. P. Ramos, R. D. Littell, S. Glasser, P. C. Leavis // *Endocrinology* – 2004 – Vol. 145(8) – P.3850–3857
80. Gouon-Evans V. Eotaxin is required for eosinophil homing into the stroma of the pubertal and cycling uterus / V. Gouon-Evans, J. W. Pollard // *Endocrinology* – 2001 – Vol. 142(10) – P.4515–4521
81. Griesinger G. Oral contraceptive pretreatment significantly reduces ongoing pregnancy likelihood in gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles: An updated meta-analysis / G. Griesinger, E. M. Kolibianakis, C. Venetis, K. Diedrich, B. Tarlatzis // *Fertil. Steril.* – 2010 – Vol. 94(6) – P.2382–2384
82. Griesinger G. Luteinizing hormone add-back is it needed in controlled ovarian stimulation, and if so, when? / G. Griesinger, D. B. Shapiro // *J. Reprod. Med.* – 2011 – Vol. 56(7) – P.279–300
83. Grow D. GnRH agonist and GnRH antagonist protocols: Comparison of outcomes among goodprognosis patients using national surveillance data / D. Grow, J. F. Kawwass, A. D. Kulkarni, T. Durant, D. J. Jamieson, M. Macaluso // *Reprod. Biomed. Online* – 2014 – Vol. 29(3) – P.299–304.
84. Guivarc'h-Levêque A. Efficiency of antagonist IVF cycle programming by estrogens / A. Guivarc'h-Levêque, P. Arvis, J. L. Bouchet, P. L. Broux, L. Moy, G. Priou, J. Vialard, D. Colleu // *Gynecol. Obstet. Fertil.* – 2010 – Vol. 38(1) – P.18–22
85. Guzeloglu-Kayisli O. The role of growth factors and cytokines during implantation:Endocrine

and paracrine interactions // *Semin. Reprod. Med.* – 2009 – Vol. 27(1) – P.62–79

86. Hamdine O. Early initiation of gonadotropin-releasing hormone antagonist treatment results in a more stable endocrine milieu during the mid- and late-follicular phases: A randomized controlled trial comparing gonadotropin-releasing hormone antagonist initiation on c / O. Hamdine, F. J. Broekmans, M. J. C. Eijkemans, C. B. Lambalk, B. C. J. M. Fauser, J. S. E. Laven, N. S. Macklon // *Fertil. Steril.* – 2013

87. Hannan N.J. Analysis of fertility-related soluble mediators in human uterine fluid identifies VEGF as a key regulator of embryo implantation / N. J. Hannan, P. Paiva, K. L. Meehan, L. J. F. Rombauts, D. K. Gardner, L. A. Salamonsen // *Endocrinology* – 2011 – Vol. 152(12) – P.4948–4956

88. Hauzman E.E. Cycle scheduling for in vitro fertilization with oral contraceptive pills versus oral estradiol valerate: A randomized, controlled trial / E. E. Hauzman, A. Zapata, A. Bermejo, C. Iglesias, A. Pellicer, J. A. Garcia-Velasco // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2013

89. Horcajadas J.A. Wide genomic analysis of human endometrial receptivity: New times, new opportunities // *Hum. Reprod. Update.* – 2007 – Vol. 13(1) – P.77–86

90. Houwen L.E.E. van der Continuous oral contraceptives versus long-term pituitary desensitization prior to IVF/ICSI in moderate to severe endometriosis: study protocol of a non-inferiority randomized controlled trial / L. E. E. van der Houwen, M. C. I. Lier, A. M. F. Schreurs, M. van Wely, P. G. A. Hompes, A. E. P. Cantineau, R. Schats, C. B. Lambalk, V. Mijatovic // *Hum. Reprod. Open* – 2019 – Vol. 2019(1)

91. Hubayter Z.R. Luteal supplementation in in vitro fertilization: more questions than answers // *Fertil. Steril.* – 2008 – Vol. 89(4) – P.749–758

92. Huirne J.A. Are GnRH antagonists comparable to agonists for use in IVF? // *Hum. Reprod.* – 2007.

93. Huirne J.A.F. Effect of an oral contraceptive pill on follicular development in IVF/ICSI patients receiving a GnRH antagonist: a randomized study. / J. A. F. Huirne, A. C. D. van Loenen, J. Donnez, C. Pirard, R. Homburg, R. Schats, J. McDonnell, C. B. Lambalk // *Reprod. Biomed. Online* – 2006 – Vol. 13(2) – P.235–45

94. Jasper M.J. Reduced expression of IL-6 and IL-1 α mRNAs in secretory phase endometrium of women with recurrent miscarriage / M. J. Jasper, K. P. Tremellen, S. A. Robertson // *J. Reprod. Immunol.* – 2007 – Vol. 73(1) – P.74–84

95. Jokhi P.P. Immunology: Production of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by human trophoblast cells and by decidual large granular lymphocytes / P. P. Jokhi, A. King, Y. W. Loke // *Hum. Reprod.* – 1994.

96. Jones R.L. Identification of chemokines important for leukocyte recruitment to the human endometrium at the times of embryo implantation and menstruation / R. L. Jones, N. J. Hannan, T. J.

Kaitu'u, J. Zhang, L. A. Salamonsen // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2004 – Vol. 89(12) – P.6155–6167

97. Kai K. Expression of interferon-gamma-inducible protein-10 in human endometrial stromal cells / K. Kai // *Mol. Hum. Reprod.* – 2002 – Vol. 8(2) – P.176–180

98. Kao L.C. Global gene profiling in human endometrium during the window of implantation / L. C. Kao, S. Tulac, S. Lobo, B. Imani, J. P. Yang, A. Germeyer, K. Osteen, R. N. Taylor, B. A. Lessey, L. C. Giudice // *Endocrinology* – 2002.

99. Kar S. Current evidence supporting «letrozole» for ovulation induction // *J. Hum. Reprod. Sci.* – 2013 – Vol. 6(2) – P.93–98

100. Kawamura K. Promotion of human early embryonic development and blastocyst outgrowth in vitro using autocrine/paracrine growth factors. / K. Kawamura, Y. Chen, Y. Shu, Y. Cheng, J. Qiao, B. Behr, R. A. R. Pera, A. J. W. Hsueh // *PLoS One* – 2012 – Vol. 7(11) – P.49–328

101. Kaya A. Follicular fluid concentrations of IGF-I, IGF-II, IGFBP-3, VEGF, AMH, and inhibin-B in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation using GnRH agonist or GnRH antagonist / A. Kaya, C. S. Atabekoglu, K. Kahraman, S. Taskin, B. Ozmen, B. Berker, M. Sonmezer // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2012 – Vol. 164(2) – P.167–171

102. Kim C.-H. Comparison of GnRH antagonist protocol with or without oral contraceptive pill pretreatment and GnRH agonist low-dose long protocol in low responders undergoing IVF/intracytoplasmic sperm injection / C.-H. Kim, [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2009 – Vol. 92(5) – P.1758–1760

103. Kimber S.J. Leukaemia inhibitory factor in implantation and uterine biology // *Reproduction.* – 2005 – Vol. 130(2) – P.131–145

104. Kitaya K. Expression of macrophage inflammatory protein-1 β in human endometrium: Its role in endometrial recruitment of natural killer cells / K. Kitaya, [et all.]// *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2003 – Vol. 88(4) – P.1809–1814

105. Kolibianakis E.M. Among patients treated with FSH and GnRH analogues for in vitro fertilization, is the addition of recombinant LH associated with the probability of live birth? A systematic review and meta-analysis // *Hum. Reprod. Update.* – 2007 – Vol. 13(5) – P.445–452

106. Kolibianakis E.M. Effect of oral contraceptive pill pretreatment on ongoing pregnancy rates in patients stimulated with GnRH antagonists and recombinant FSH for IVF. A randomized controlled trial / E. M. Kolibianakis, E. G. Papanikolaou, M. Camus, H. Tournaye, A. C. Van Steirteghem, P. Devroey // *Hum. Reprod.* – 2006 – Vol. 21(2) – P.352–357

107. Kolibianakis E.M. Elevated progesterone at initiation of stimulation is associated with a lower ongoing pregnancy rate after IVF using GnRH antagonists / E. M. Kolibianakis, K. Zikopoulos, J. Smits, M. Camus, H. Tournaye, A. C. Van Steirteghem, P. Devroey // *Hum. Reprod.* – 2004.

108. Kralickova M. Leukemia inhibitory factor gene mutations in the population of infertile women are not restricted to nulligravid patients / M. Kralickova, R. Sima, T. Vanecek, P. Sima, Z. Rokyta, Z. Ulcova-Galova, R. Sucha, P. Uher, O. Hes // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2006 – Vol.127(2) – P.231-235
109. Kunicki M. Granulocyte colony stimulating factor treatment of resistant thin endometrium in women with frozen-thawed blastocyst transfer / M. Kunicki, K. Łukaszuk, J. Liss, P. Skowrońska, J. Szczyptańska // *Syst. Biol. Reprod. Med.* – 2017 – Vol.63(1) – P.49-57
110. Kutlusoy F. Luteal phase support with estrogen in addition to progesterone increases pregnancy rates in in vitro fertilization cycles with poor response to gonadotropins / F. Kutlusoy, I. Guler, M. Erdem, A. Erdem, N. Bozkurt, E. H. Biberoglu, K. O. Biberoglu // *Gynecol. Endocrinol.* – 2014 – Vol. 30(5) – P.363-366
111. Kwan I. Monitoring of stimulated cycles in assisted reproduction (IVF and ICSI) // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2014.
112. Kyrou D. Increased live birth rates with GnRH agonist addition for luteal support in ICSI/IVF cycles: a systematic review and meta-analysis. / D. Kyrou, E. M. Kolibianakis, H. M. Fatemi, T. B. Tarlatzi, P. Devroey, B. C. Tarlatzis // *Hum. Reprod. Update* – 2011 – Vol. 17(6) – P.734–740
113. Lédée N. Endometrial vascularity by three-dimensional power Doppler ultrasound and cytokines: a complementary approach to assess uterine receptivity / N. Lédée, G. Chaouat, V. Serazin, R. Lombroso, S. Dubanchet, P. Oger, N. Louafi, Y. Ville // *J. Reprod. Immunol.* – 2008 – Vol.77(1) – P.57-62
114. Lédée N. Impact of follicular G-CSF quantification on subsequent embryo transfer decisions: A proof of concept study / N. Lédée, V. Gridelet, S. Ravet, C. Jouan, O. Gaspard, F. Wenders, F. Thonon, N. Hincourt, M. Dubois, J. M. Foidart, C. Munaut, S. Perrier D'Hauterive // *Hum. Reprod.* – 2013 – Vol.28(2) – P.406-413
115. Lee J.R. Follicular fluid anti-Müllerian hormone and inhibin B concentrations: comparison between gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist and GnRH antagonist cycles / J. R. Lee, S. H. Kim, S. M. Kim, B. C. Jee, S. Y. Ku, C. S. Suh, Y. M. Choi, J. G. Kim, S. Y. Moon // *Fertil. Steril.* – 2008 – Vol.89(4) – P.860-867
116. Lee S.H. Comparison of the clinical outcomes of day 4 and 5 embryo transfer cycles / S. H. Lee, H. S. Lee, C. K. Lim, Y. S. Park, K. M. Yang, D. W. Park // *Clin. Exp. Reprod. Med.* – 2013 – Vol.40(3) – P.122-125
117. Lessey B.A. Endometrial integrins and the establishment of uterine receptivity. / B. A. Lessey // *Hum. Reprod.* – 1998. – Vol. 13(3) – P. 247–258
118. Lessey B.A. The role of the endometrium during embryo implantation. / B. A. Lessey // *Hum. Reprod.* – 2000.

119. Li M.Q. Ovarian stimulation for in vitro fertilization alters the protein profile expression in endometrial secretion // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2013 – Vol.6(10) – P.1964-1971
120. Li R. Serum progesterone concentration on day of HCG administration and IVF outcome / R. Li, J. Qiao, L. Wang, X. Zhen, Y. Lu // *Reprod. Biomed. Online* – 2008 – Vol.16(5) – P.627-631
121. Liang Y. Effect of Endometrial Injury on Secretion of Endometrial Cytokines and IVF Outcomes in Women with Unexplained Subfertility / Y. Liang, J. Han, C. Jia, Y. Ma, Y. Lan, Y. Li, S. Wang // *Mediators Inflamm.* – 2015.
122. Liu N. Comparison of follicular fluid amphiregulin and EGF concentrations in patients undergoing IVF with different stimulation protocols / N. Liu, Y. Ma, R. Li, H. Jin, M. Li, X. Huang, H. L. Feng, J. Qiao // *Endocrine* – 2012 – Vol.42(3) – P.708-16
123. Loutradis D. Poor responder protocols for in-vitro fertilization: Options and results // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* – 2008 – Vol. 20(4) – P.374-378
124. Maglione D. Two alternative mRNAs coding for the angiogenic factor, placenta growth factor (PlGF), are transcribed from a single gene of chromosome 14 / D. Maglione, V. Guerriero, G. Viglietto, M. Grazia Ferraro, O. Aprelikova, K. Alitalo, S. Del Vecchio, K. J. Lei, J. Yang Chou, M. G. Persico // *Oncogene* – 1993.
125. Mahutte N.G. Role of gonadotropin-releasing hormone antagonists in poor responders // *Fertil. Steril.* – 2007 – Vol. 87(2) – P.241-249
126. Manzanares M.A. Triggering ovulation with gonadotropin-releasing hormone agonist in in vitro fertilization patients with polycystic ovaries does not cause ovarian hyperstimulation syndrome despite very high estradiol levels / M. A. Manzanares, J. L. Gómez-Palomares, E. Ricciarelli, E. R. Hernández // *Fertil. Steril.* – 2010 – Vol. 93(4) – P.1215-1219
127. Marca A. La Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: From theory to practice / A. La Marca, S. K. Sunkara // *Hum. Reprod. Update* – 2014 – Vol.20(1) – P.124-140
128. Marci R. GnRH antagonists in assisted reproductive techniques: A review on the Italian experience // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2013 – Vol. 17(7) – P.853-873.
129. Maryam Eftekhari, Ramesh Baradaran Bagheri, Nosrat Neghab R.H. Evaluation of Pretreatment With Cetrotide in an Antagonist Protocol for Patients With PCOS Undergoing IVF/ICSI Cycles: A Randomized Clinical Trial / R. H. Maryam Eftekhari, Ramesh Baradaran Bagheri, Nosrat Neghab // *JBRA Assist. Reprod.* – 2018 – Vol. 22(3) – P.238–243
130. Matsumoto H. Regulation of proliferation, motility, and contractility of human endometrial stromal cells by platelet-derived growth factor / H. Matsumoto, K. Nasu, M. Nishida, H. Ito, S. Bing, I. Miyakawa // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2005 – Vol.90(6) – P.3560-3567
131. Messinis I.E. Failure of the GnRH antagonist ganirelix to block the positive feedback effect of

exogenous estrogen in normal women / I. E. Messinis, P. Vanakara, A. Zavos, C. Verikouki, P. Georgoulas, K. Dafopoulos // *Fertil. Steril.* – 2010 – Vol.94(4) – P.1554-1556.

132. Mochtar M.H. Recombinant Luteinizing Hormone (rLH) for controlled ovarian hyperstimulation in assisted reproductive cycles // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2007.

133. Murray M.J. A critical analysis of the accuracy, reproducibility, and clinical utility of histologic endometrial dating in fertile women / M. J. Murray, W. R. Meyer, R. J. Zaino, B. A. Lessey, D. B. Novotny, K. Ireland, D. Zeng, M. A. Fritz // *Fertil. Steril.* – 2004 – Vol.81(5) – P.1333-1343.

134. Nagaoka K. Regulation of blastocyst migration, apposition, and initial adhesion by a chemokine, interferon γ -inducible protein 10 kDa (IP-10), during early gestation / K. Nagaoka, H. Nojima, F. Watanabe, K. T. Chang, R. K. Christenson, S. Sakai, K. Imakawa // *J. Biol. Chem.* – 2003.

135. Nejad E.S.T. Comparison of pre-treatment with OCPs or estradiol valerate vs. No pre-treatment prior to GnRH antagonist used for IVF cycles: An RCT / E. S. T. Nejad, F. B. Ghaleh, B. Eslami, F. Haghollahi, M. Bagheri, M. Masoumi // *Int. J. Reprod. Biomed.* – 2018.

136. Nestour L. Role of estradiol in the rise in follicle-stimulating hormone levels during the luteal-follicular transition / L. Nestour, J. Marraoui, N. Lahlou, M. Roger, D. De Ziegler, P. Bouchard // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1993.

137. Nicola N.A. Purification of a factor inducing differentiation in murine myelomonocytic leukemia cells. Identification as granulocyte colony-stimulating factor / N. A. Nicola, D. Metcalf, M. Matsumoto, G. R. Johnson // *J. Biol. Chem.* – 1983.

138. Noyes N, Hertig AT R.J. Daring the endometrial biopsy / R. J. Noyes N, Hertig AT // *Fertil. Steril.* – 1950 – Vol. 1 – P.3–25

139. Orvieto R. GnRH agonist versus GnRH antagonist in ovarian stimulation: An ongoing debate // *Reprod. Biomed. Online.* – 2013 – Vol.26(1) – P.4-8

140. Paiva P. Human chorionic gonadotrophin regulates FGF2 and other cytokines produced by human endometrial epithelial cells, providing a mechanism for enhancing endometrial receptivity / P. Paiva, N. J. Hannan, C. Hincks, K. L. Meehan, E. Pruyers, E. Dimitriadis, L. A. Salamonsen // *Hum. Reprod.* – 2011 – Vol.26(5) – P.1153-1162

141. Pandian Z. Interventions for «poor responders» to controlled ovarian hyper stimulation (COH) in in-vitro fertilisation (IVF) / Z. Pandian, A. R. McTavish, L. Aucott, M. P. Hamilton, S. Bhattacharya // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2010.

142. Papanikolaou E.G. Progesterone rise on the day of human chorionic gonadotropin administration impairs pregnancy outcome in day 3 single-embryo transfer, while has no effect on day 5 single blastocyst transfer / E. G. Papanikolaou, E. M. Kolibianakis, C. Pozzobon, P. Tank, H. Tournaye, C. Bourgain, A. Van Steirteghem, P. Devroey // *Fertil. Steril.* – 2009 – Vol.91(3) – P.949-952

143. Papanikolaou E.G. Incidence and prediction of ovarian hyperstimulation syndrome in women undergoing gonadotropin-releasing hormone antagonist in vitro fertilization cycles / E. G. Papanikolaou, C. Pozzobon, E. M. Kolibianakis, M. Camus, H. Tournaye, H. M. Fatemi, A. Van Steirteghem, P. Devroey // *Fertil. Steril.* – 2006 – Vol. 85(1) – P.112-120
144. Perricone R. GM-CSF and pregnancy: Evidence of significantly reduced blood concentrations in unexplained recurrent abortion efficiently reverted by intravenous immunoglobulin treatment / R. Perricone, C. De Carolis, R. Giacomelli, M. D. Guarino, G. De Sanctis, L. Fontana // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2003 – Vol.50(3) – P.232-237
145. Persson M. Immunological status in patients undergoing in vitro fertilisation: Responses to hormone treatment and relationship to outcome / M. Persson, C. Ekerfelt, B. Jablonowska, Y. Jonsson, J. Ernerudh, M. C. Jenmalm, G. Berg // *J. Reprod. Immunol.* – 2012 – Vol.96(1-2) – P.58-67
146. Pinkas H. The effect of oral contraceptive pill for cycle scheduling prior to GnRH-antagonist protocol on IVF cycle parameters and pregnancy outcome / H. Pinkas, O. Sapir, O. M. Avrech, A. Ben-Haroush, J. Ashkenzi, B. Fisch, J. Farhi // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2008 – Vol.25(1) – P.29-33
147. Polyzos N.P. A systematic review of randomized trials for the treatment of poor ovarian responders: Is there any light at the end of the tunnel? / N. P. Polyzos, P. Devroey // *Fertil. Steril.* – 2011 – Vol.96(5) – P.1058-1061
148. Prapas Y. GnRH antagonist versus long GnRH agonist protocol in poor IVF responders: A randomized clinical trial / Y. Prapas, S. Petousis, T. Dagklis, Y. Panagiotidis, A. Papatheodorou, I. Assunta, N. Prapas // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2013 – Vol.166(1) – P.43-46
149. Print C. Soluble factors from human endometrium promote angiogenesis and regulate the endothelial cell transcriptome / C. Print, R. Valtola, A. Evans, K. Lessan, S. Malik, S. Smith // *Hum. Reprod.* – 2004 – Vol.19(10) – P.2356-2366
150. Pritts E.A. Luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of the randomized trials. / E. A. Pritts, A. K. Atwood // *Hum. Reprod.* – 2002 – Vol. 17(9) – P. 2287-2299
151. Pu D. Comparisons of GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol in poor ovarian responders undergoing IVF / D. Pu, J. Wu, J. Liu // *Hum. Reprod.* – 2011 – Vol.26(10) – P.2742-2749
152. Pundir J. Meta-analysis of GnRH antagonist protocols: Do they reduce the risk of OHSS in PCOS? // *Reprod. Biomed. Online.* – 2012 – Vol.24(1) – P.6-22
153. Ragni G. Comparison of GnRH agonists and antagonists in assisted reproduction cycles of patients at high risk of ovarian hyperstimulation syndrome / G. Ragni, W. Vegetti, A. Riccaboni, B. Engl, C. Brigante, P. G. Crosignani // *Hum. Reprod.* – 2005 – Vol.20(9) – P.2421-2425
154. Ramachandran A. Is there a need for Luteinizing Hormone (LH) estimation in patients undergoing ovarian stimulation with gonadotropin-releasing hormone antagonists and recombinant follicle-stimulating hormone? / A. Ramachandran, K. Jamdade, P. Kumar, S. Kumar Adiga, R. G.

Bhat, S. R. Ferrao // *J. Clin. Diagnostic Res.* – 2014.

155. Richter K.S. Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, based on 1,294 cycles of in vitro fertilization with transfer of two blastocyst-stage embryos / K. S. Richter, K. R. Bugge, J. G. Bromer, M. J. Levy // *Fertil. Steril.* – 2007 – Vol.87(1) – P.53-59

156. Rombauts L. A comparative randomized trial to assess the impact of oral contraceptive pretreatment on follicular growth and hormone profiles in GnRH antagonist-treated patients / L. Rombauts, D. Healy, R. J. Norman, A. Speirs, B. Watkins, J. Yovich, R. Norman, M. Bowman, G. Driscoll, S. Lindenberg, Z. Kilani, P. O. Dale, B. J. Oddens, H. G. van Hooren, B. M. J. L. Mannaerts // *Hum. Reprod.* – 2006 – Vol.21(1) – P.95-103.

157. Rosario G.X. The Multifaceted Actions of Leukaemia Inhibitory Factor in Mediating Uterine Receptivity and Embryo Implantation // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2016 – Vol.75(3) – P.246-255

158. Ruiz-Alonso M. The genomics of the human endometrium / M. Ruiz-Alonso, D. Blesa, C. Simón // *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* – 2012 – Vol.1822(12) – P.1931-1942

159. Salehpour S., Tamimi M. S.N. Comparison of oral dydrogesterone with suppository vaginal progesterone for luteal-phase support in in vitro fertilization (IVF): A randomized clinical trial / S. N. Salehpour S., Tamimi M. // *Iran. J. Reprod. Med.* – 2013 – Vol. 11(11) – P.913–918

160. Salmassi A. Is granulocyte colony-stimulating factor level predictive for human IVF outcome? / A. Salmassi, A. G. Schmutzler, S. Schaefer, K. Koch, J. Hedderich, W. Jonat, L. Mettler // *Hum. Reprod.* – 2005 – Vol.20(9) – P.2434-2440

161. Sarapik A. Follicular proinflammatory cytokines and chemokines as markers of IVF success / A. Sarapik, A. Velthut, K. Haller-Kikkatalo, G. C. Faure, M. C. Béné, M. De Carvalho Bittencourt, F. Massin, R. Uibo, A. Salumets // *Clin. Dev. Immunol.* – 2012.

162. Scarpellini F. Use of granulocyte colony-stimulating factor for the treatment of unexplained recurrent miscarriage: A randomised controlled trial / F. Scarpellini, M. Sbracia // *Hum. Reprod.* – 2009 – Vol.24(11) – P.2703-2708

163. Sengupta J. Monoclonal anti-leukemia inhibitory factor antibody inhibits blastocyst implantation in the rhesus monkey / J. Sengupta, P. G. L. Lalitkumar, A. R. Najwa, D. Ghosh // *Contraception* – 2006 – Vol.74(5) – P.419-425

164. Seo W.S. Expression of endometrial protein markers in infertile women and the association with subsequent in vitro fertilization outcome / W. S. Seo, B. C. Jee, S. Y. Moon // *Fertil. Steril.* – 2011 – Vol.95(8) – P.2707-2710

165. Shanbhag S. Interventions for «poor responders» to controlled ovarian hyperstimulation (COH) in in-vitro fertilisation (IVF) // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2007.

166. Sharkey A.M. Stage-Specific Expression of Cytokine and Receptor Messenger Ribonucleic Acids in Human Preimplantation Embryos1 / A. M. Sharkey, K. Dellow, M. Blayney, M. Macnamee,

S. Charnock-Jones, S. K. Smith // *Biol. Reprod.* – 1995 – Vol.53(4) – P.974-981

167. Sharkey D.J. Seminal plasma differentially regulates inflammatory cytokine gene expression in human cervical and vaginal epithelial cells / D. J. Sharkey, A. M. Macpherson, K. P. Tremellen, S. A. Robertson // *Mol. Hum. Reprod.* – 2007 – Vol.13(7) – P.491-501

168. Shifren J.L. Ovarian steroid regulation of vascular endothelial growth factor in the human endometrium: implications for angiogenesis during the menstrual cycle and in the pathogenesis of endometriosis. / J. L. Shifren, J. F. Tseng, C. J. Zaloudek, I. P. Ryan, Y. G. Meng, N. Ferrara, R. B. Jaffe, R. N. Taylor // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1996 – Vol.81(8) – P.3112-3118

169. Simón C. Paracrine regulators of implantation / C. Simón, J. C. Martín, A. Pellicer // *Bailliere's Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2000 – Vol.14(5) – P.815-826

170. Sims J.A. Early follicular rise of serum progesterone concentration in response to a flare-up effect of gonadotrophin-releasing hormone agonist impairs follicular recruitment for in-vitro fertilization / J. A. Sims, H. J. Seltman, S. J. Muasher // *Hum. Reprod.* – 1994 – Vol.9(2) – P.235-240

171. Sobotka V. Steroids pretreatment in assisted reproduction cycles // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* – 2014 – Vol.139 – P.114-121

172. Spandorfer S.D. Granulocyte macrophage-colony stimulating factor production by autologous endometrial co-culture is associated with outcome for in vitro fertilization patients with a history of multiple implantation failures / S. D. Spandorfer, L. I. Barmat, H. C. Liu, C. Mele, L. Veeck, Z. Rosenwaks // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 1998 – Vol.40(5) – P.377-381

173. Stewart C.L. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor / C. L. Stewart, P. Kaspar, L. J. Brunet, H. Bhatt, I. Gadi, F. Köntgen, S. J. Abbondanzo // *Nature* – 1992 – Vol.359 – P.76-79

174. Bonetti T.C.S. Cytokine and hormonal profile in serum samples of patients undergoing controlled ovarian stimulation: Interleukin-1 predicts ongoing pregnancy / T C S Bonetti, R Salomao, M Brunialti, D P A F Braga, E Borges Jr, I D C G Silva. // *Hum. Reprod.* – 2010 – Vol.25(8) – P.2101-2106

175. Tabibzadeh S. Progressive rise in the expression of interleukin-6 in human endometrium during menstrual cycle is initiated during the implantation window / S. Tabibzadeh, A. Babaknia, L. T. May // *Mol. Hum. Reprod.* – 1995.

176. Talbi S. Molecular phenotyping of human endometrium distinguishes menstrual cycle phases and underlying biological processes in normo-ovulatory women / S. Talbi, A. E. Hamilton, K. C. Vo, S. Tulac, M. T. Overgaard, C. Dosiou, N. Le Shay, C. N. Nezhat, R. Kempson, B. A. Lessey, N. R. Nayak, L. C. Giudice // *Endocrinology* – 2006 – Vol.147(3) – P.1097-1121

177. Tang Y. Early follicular progesterone concentrations and in vitro fertilization pregnancy outcomes / Y. Tang, F. Gong, G. Lin, G. Lu // *Fertil. Steril.* – 2007 – Vol.87(4) – P.991-994

178. Taniguchi F. Paracrine effects of bFGF and KGF on the process of mouse blastocyst implantation / F. Taniguchi, T. Harada, S. Yoshida, T. Iwabe, Y. Onohara, M. Tanikawa, N. Terakawa // *Mol. Reprod. Dev.* – 1998.
179. Tazuke S.I. Growth factors and cytokines in endometrium, embryonic development, and maternal: embryonic interactions. / S. I. Tazuke, L. C. Giudice // *Semin. Reprod. Endocrinol.* – 1996 – Vol. 14(3) – P.231–245
180. Tomic V. Oral micronized progesterone combined with vaginal progesterone gel for luteal support / V. Tomic, J. Tomic, D. Z. Klaic // *Gynecol. Endocrinol.* – 201 – Vol.27(12) – P.1010-1013.
181. Tremellen K.P. Avoidance of weekend oocyte retrievals during GnRH antagonist treatment by simple advancement or delay of hCG administration does not adversely affect IVF live birth outcomes / K. P. Tremellen, M. Lane // *Hum. Reprod.* – 2010 – Vol.25(5) – P.1219-1224
182. Wang L.J. Comparison of the Efficacy of Two Vaginal Progesterone Formulations, Crinone 8% Gel and Utrogestan Capsules, Used for Luteal Support in Blastocyst Stage Embryo Transfers / L. J. Wang, F. J. Huang, F. T. Kung, P. Y. Lin, S. Y. Chang, K. C. Lan // *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.* – 2009 – Vol.48(4) – P.375-379
183. Wang W.J. Adoptive transfer of pregnancy-induced CD4+CD25+ regulatory T cells reverses the increase in abortion rate caused by interleukin 17 in the CBA/J×BALB/c mouse model / W. J. Wang, F. J. Liu, Xin-Liu, C. F. Hao, H. C. Bao, Q. L. Qu, X. M. Liu // *Hum. Reprod.* – 2014 – Vol.29(5) – P.946-952
184. Wegmann T.G. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? // *Immunol. Today.* – 1993 – Vol.14(7) – P.353-356
185. Wegmann T.G. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? / T. G. Wegmann, H. Lin, L. Guilbert, T. R. Mosmann // *Immunol. Today* – 1993 – Vol. 14(7) – P. 353–356
186. Wu Z.M. Pro-inflammatory cytokine-stimulated first trimester decidual cells enhance macrophage-induced apoptosis of extravillous trophoblasts / Z. M. Wu, H. Yang, M. Li, C. C. Yeh, F. Schatz, C. J. Lockwood, W. Di, S. J. Huang // *Placenta* – 2012.
187. Würfel W. Approaches to a better implantation / W. Würfel // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2002 – Vol. 17 – P.2473
188. Würfel W. Treatment with granulocyte colony-stimulating factor in patients with repetitive implantation failures and/or recurrent spontaneous abortions / W. Würfel // *J. Reprod. Immunol.* – 2015 – Vol. 108 – P. 123–135
189. Würfel W. High pregnancy rates with administration of granulocyte colony-stimulating factor in ART-patients with repetitive implantation failure and lacking killer-cell immunoglobulin-like receptors. / W. Würfel, C. Santjohanser, K. Hirv, M. Bühl, O. Meri, I. Laubert, I. von Hertwig, K.

Fiedler, J. Krüsmann, G. Krüsmann // *Hum. Reprod.* – 2010 – Vol. 25(8) – P.2151–2152

190. Xiao J. The effectiveness of gonadotropin-releasing hormone antagonist in poor ovarian responders undergoing in vitro fertilization: A systematic review and meta-analysis / J. Xiao, S. Chang, S. Chen // *Fertil. Steril.* – 2013 – Vol.100(6) – P.1594-1601

191. Xu Y.W. High follicle-stimulating hormone increases aneuploidy in human oocytes matured in vitro / Y. W. Xu, Y. T. Peng, B. Wang, Y. H. Zeng, G. L. Zhuang, C. Q. Zhou // *Fertil. Steril.* – 2011 – Vol.95(1) – P.99-104

192. Yanushpolsky E. Patterns of luteal phase bleeding in in vitro fertilization cycles supplemented with Crinone vaginal gel and with intramuscular progesterone - Impact of luteal estrogen: Prospective, randomized study and post hoc analysis / E. Yanushpolsky, S. Hurwitz, L. Greenberg, C. Racowsky, M. Hornstein // *Fertil. Steril.* – 2011 – Vol.95(2) – P.617-620

193. Younis J.S. Early and short follicular gonadotropin-releasing hormone antagonist supplementation improves the meiotic status and competence of retrieved oocytes in in vitro fertilization-embryo transfer cycles / J. S. Younis, S. Soltsman, I. Izhaki, O. Radin, S. Bar-Ami, M. Ben-Ami // *Fertil. Steril.* – 2010 – Vol.94(4) – P.1350-1355

194. Youssef M.A.F.M. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist-assisted reproductive technology // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2014 – Vol. 31(10)

195. Zhao Y. Human fallopian tube expresses granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) and GM-CSF α and β receptors and contain immunoreactive GM-CSF protein / Y. Zhao, N. Chegini // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1994 – Vol.79(2) – P.662-665

196. Zhao Y. Expression and Selective Cellular Localization of Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) and GM-CSF α and β Receptor Messenger Ribonucleic Acid and Protein in Human Ovarian Tissue / Y. Zhao, H. Rong, N. Chegini // *Biol. Reprod.* – 1995 – Vol.53(4) – P.923-930

197. Ziebe S. Embryo quality in natural versus stimulated IVF cycles / S. Ziebe, S. Bangsbøll, K. L. T. Schmidt, A. Loft, A. Lindhard, A. N. Andersen // *Hum. Reprod.* – 2004 – Vol.19(6) – P.1457-1460

198. Ziebe S. A randomized clinical trial to evaluate the effect of granulocyte- macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) in embryo culture medium for in vitro fertilization / S. Ziebe, A. Loft, B. B. Povlsen, K. Erb, I. Agerholm, M. Aasted, A. Gabrielsen, C. Hnida, D. P. Zobel, B. Munding, S. H. Bendz, S. A. Robertson // *Fertil. Steril.* – 2013 – Vol.99(6) – P.1600-1609

199. Aghajanova L. Leukemia inhibitory factor and human embryo implantation // 2004 – Vol.1034 – P.176-183

200. Al-Inany H.G. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2016 – Vol.29(4)

201. Krüssel J.S. Regulation of embryonic implantation // *European Journal of Obstetrics &*

Gynecology and Reproductive Biology – 2003.

202. Smulders B. Oral contraceptive pill, progestogen or estrogen pre-treatment for ovarian stimulation protocols for women undergoing assisted reproductive techniques // Cochrane Database Syst Rev. – 2010 –Vol.20(1)

Персонализированный алгоритм ведения пациенток < 35 лет с нормальным овариальным резервом, нуждающихся в программировании цикла ЭКО

