

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования "Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова"

На правах рукописи

Огородников Денис Васильевич

ОПТИМИЗАЦИЯ ГОРМОНАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ ПРОТОКОЛОВ
ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

14.01.01- акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Доброхотова Юлия Эдуардовна

Москва – 2021

Оглавление		
	Актуальность темы исследования	4
	Степень разработанности	5
	Цель исследования	7
	Задачи исследования	7
	Научная новизна исследования	8
	Теоретическая и практическая значимость исследования	8
	Методология и методы исследования	9
	Положения диссертации, выносимые на защиту	9
	Степень достоверности результатов исследования	10
	Апробация работы	10
	Личное участие автора	11
	Соответствие диссертации паспорту специальности	11
	Реализация и внедрение полученных результатов практику	11
	Публикации по теме диссертации	12
	Объем и структура диссертации	12
1	Глава 1. Обзор литературы	13
1.1	Введение	13
1.2	Профиль прогестерона в фолликулярной фазе естественного цикла	14
1.3	Профиль прогестерона в фолликулярной фазе стимулированного цикла	18
1.4	Механизм подъема прогестерона в конце фолликулярной фазы стимулированного цикла	20
1.5	Влияние повышения прогестерона на исход ЭКО	23
1.6	Влияние повышенного прогестерона на эффективность ЭКО в категории пациенток с высоким прогнозом	26
1.7	Высокий прогестерон: что страдает яйцеклетка или эндометрий?	27
1.8	Предотвращение повышения прогестерона	31

1.9	Закключение по обзору литературы	32
2	Глава 2. Материал и методы исследования	34
2.1	Материал исследования	34
2.1.1	Критерии включения	35
2.1.2	Критерии исключения	36
2.2	Методы исследования	36
2.2.1	Скрининговое обследование пациентов	36
2.2.2	Общеклинические методы исследования	37
2.2.3	Специальные методы исследования	38
2.3	Этапы программы ВРТ	41
2.4	Статистическая обработка результатов исследования	44
3	Глава 3. Результаты исследования	45
4	Глава 4. Обсуждение результатов исследования	73
	Выводы настоящего исследования	88
	Практические рекомендации	89
	Список сокращений	90
	Список литературы	92

Актуальность темы исследования

До эпохи аналогов гонадотропин-рилизинг гормона (ГнРГ) повышение уровня сывороточного прогестерона признавалось частым событием в течение поздней фолликулярной и преовуляторной фазы стимуляции протокола экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Фактически, указывая на преждевременную лютеинизацию, растущая концентрация прогестерона являлась логичным следствием неконтролируемого пика лютеинизирующего гормона (ЛГ). Важной особенностью ведения стимулированного цикла сегодня является включение в протокол аналогов ГнРГ, в частности антагонистов ГнРГ (антГнРГ), способных если не блокировать, то эффективно ингибировать «паразитарный» всплеск ЛГ, следовательно, преждевременную лютеинизацию фолликулов и опосредованный рост концентрации прогестерона. Тем не менее, сегодня ни для кого не секрет, что и при использовании антГнРГ в рамках стимуляции часто наблюдается умеренный рост сывороточной концентрации прогестерона [10, 68]. Показано, что в абсолютном большинстве случаев рост уровня прогестерона происходит в ответ на проводимую индукцию, без триггерного пика ЛГ и связан с индивидуальными особенностями пациентки и лечебного цикла [10, 68]. В свою очередь, повышение сывороточной концентрации прогестерона в конце фазы индукции протокола ЭКО признаваясь частым явлением, имеет принципиальное клиническое значение, которое, впрочем, продолжает оспариваться [56]. Между тем многие исследователи и обобщающие метаанализы сходятся в консенсусе, что избыточное и преждевременное повышение прогестерона на высоте этапа стимуляции фолликулов может негативно повлиять на исход протокола ЭКО [9, 17, 56].

Признание факта отрицательной ассоциативной связи между повышением прогестерона в конце фолликулярной фазы протокола ЭКО и благополучным его завершением в условиях продолжающихся дискуссий, послужило мотивом к выполнению настоящего исследования, как попытки поиска ответов на принципиальные с практической точки зрения вопросы. Каким образом высокий

прогестерон снижает прогноз успеха в ЭКО? Каков порог концентрации прогестерона в день назначения триггера, максимизирующий и минимизирующий результативность ЭКО? Какое влияние на синтез прогестерона оказывают типы и соотношения гонадотропинов, применяемые для овариальной стимуляции? Какова наилучшая стратегия, направленная на снижение сывороточной концентрации прогестерона в конце этапа ССО? Как лучше завершать протокол в условиях повышенной концентрации прогестерона на высоте индукции?

Степень разработанности

Неоднородность материала и вариативность исследовательских подходов оставляет открытыми важные вопросы. По настоящее время остаются существенные разногласия по ряду определяющих моментов, самым принципиальным из которых можно считать неопределенность с критически значимым порогом уровня прогестерона, превышение которого на практике необходимо расценивать, как руководство к действию [27].

В дополнительной проверке нуждается оценка продолжительности воздействия высокого прогестерона на показатели эффективности ЭКО [99].

Вероятность регистрации высокой концентрации прогестерона в конце первой фазы цикла ЭКО напрямую коррелирует с интенсивностью проводимой стимуляции, прежде всего фолликулостимулирующим гормоном (ФСГ) [25, 56]. Роль ЛГ в происхождении фолликулярной гиперпрогестеронемии далеко не так однозначна. Вопреки ранним представлениям, вполне возможно, что дефицит ЛГ так же способствует накоплению прогестерона или уровень ЛГ вовсе не играет заметной роли в формировании его значений в конце фазы фолликулярной индукции [19, 25, 40].

Некоторые авторы доказывали, что, вопреки ранним представлениям, прогестерон может принимать непосредственное участие в регуляции овуляции [29, 32], когда в основу механизма, запускающего выброс ЛГ, положен принцип

последовательного повышения концентраций эстрадиола и прогестерона в течение фолликулярной фазы естественного менструального цикла [73].

Стоит отметить, что мировые наблюдения за уровнем прогестерона в крови в контексте сравнения протоколов стимуляции суперовуляции (ССО) с анТГнРГ и использованием различных соотношений ЛГ:ФСГ в особенности рекомбинантным ЛГ (рЛГ) очень немногочисленные. В одном из исследований, в котором оценивали ассоциации различных соотношений экзогенных ЛГ:ФСГ с уровнем прогестерона на день назначения ХГЧ авторы пришли к выводу, что протоколы без применения ЛГ имели значительный риск повышения прогестерона более 1,5нг/мл. При этом наименьший риск увеличения концентрации прогестерона наблюдался при соотношении ЛГ:ФСГ 0,30-0,60. Напротив, соотношения менее 0,30 и более 0,60, отражающие пропорционально меньшее и большее использование ЛГ, подвергались равному повышенному риску преждевременного повышения уровня прогестерона. Что примечательно модель наименьшего риска в диапазоне от 0,30 до 0,60 сохранилась для всех циклов, характеризующихся слабым, нормальным и высоким ответом яичников. Авторы исследования пришли к выводу, что отсутствие или недостаточное дозирование ЛГ связано с риском роста фолликулярного прогестерона, исключение из стимуляции ЛГ является ятрогенным, а не физиологическим, и способно ухудшать результаты ЭКО, значительно изменяя эндокринную среду и восприимчивость эндометрия. В заключении отмечено, что очень немногие циклы включали рЛГ, который обладает иной, нежели ЛГ-ЧМГ фармакодинамикой и было бы очень полезно исследование, сравнивающее отдельные результаты [103].

В свою очередь важно понимать какое клиническое влияние высокий уровень прогестерона оказывает на потенциальные характеристики ооцита и раннего эмбриона. Предполагается, что основной механизм реализации патологического влияния высокого прогестерона в фолликулярную фазу проявляется через прямое деструктивное моделирование секреторных процессов

пролиферирующего эндометрия, преждевременно открывая «окно имплантации» и десинхронизируя имплантационную готовность эмбриона и эндометрия [2, 8, 25, 101]. Однако необходимо признать, сегодня мы все еще нуждаемся в объективной оценке влияния высокого прогестерона на потенциальные характеристики ооцита, кроме того вообще очень немногие исследования включали анализ различий пролиферативно-секреторных процессов эндометрия в условиях преждевременного роста уровня прогестерона [8].

Цель исследования

Повысить частоту наступления беременности в протоколах ЭКО при стимуляции различными типами гонадотропинов, а так же в модифицированных естественных криоциклах с переносом эмбрионов после витрификации с учетом уровня прогестерона в фолликулярную фазу.

Задачи исследования

1. Определить практически значимый пороговый уровень прогестерона и оценить вероятность его превышения в день назначения овуляторной дозы рХГЧ в циклах ЭКО с антГнРГ и модифицированных естественных криоциклах с позиций оценки частоты имплантации и регистрации клинической беременности.
2. Уточнить зависимость сывороточной концентрации прогестерона в фолликулярную фазу от среднего диаметра и количества преовуляторных фолликулов, а так же состава применяемых для стимуляции гонадотропинов.
3. Уточнить эффекты повышения уровня прогестерона в фолликулярную фазу циклов ВРТ с позиций оценки качества эмбрионов и эндометрия.

4. Сравнить частоту наступления беременности в циклах ЭКО с анГнРГ при стимуляции различными гонадотропинами и модифицированных естественных криоциклов.

Научная новизна исследования

В исследовании проведена сравнительная параллель между циклами стимуляции и естественными циклами с оценкой уровня прогестерона в день применения равной овуляторной дозы рХГЧ в качестве триггера и комплексной оценкой эндометрия. Определен практически значимый уровень прогестерона и вероятность его превышения в день назначения овуляторной дозы рХГЧ в протоколах с анГнРГ для пациенток с исходно хорошим прогнозом цикла ЭКО. Установлено, что высокий уровень прогестерона сочетается с получением во время пункции фолликулов большего количества зрелых ооцитов, но достоверно не изменяет число качественных бластоцист. Показано, что пролонгация фолликулярной фазы является наиболее важным фактором патологического роста концентрации прогестерона. Показано, что применение рЛГ в соотношении рЛГ:рФСГ – 1:2 характеризуется снижением риска увеличения уровня прогестерона и получением большего количества бластоцист при сравнении с циклами стимуляции без применения ЛГ и циклами с применением ЧМГ.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что на основании полученных данных определены критерии эффективности циклов ВРТ. Практическая значимость состоит в выборе тактики ведения протоколов ВРТ, позволяющей повысить их эффективность и избежать заведомо не эффективных переносов эмбрионов.

Методология и методы исследования

Методология исследования включала оценку особенностей течения циклов ЭКО в протоколах ССО различными типами и соотношениями гонадотропинов и модифицированных естественных криоциклов у пациенток с ожидаемо высокой вероятностью наступления беременности. Исследование выполнено с соблюдением принципов доказательной медицины (отбор пациентов и статистическая обработка результатов), в дизайне открытого проспективного исследования с использованием клинических, инструментальных, лабораторных и статистических методов исследования.

Положения диссертации, выносимые на защиту

1. Превышение прогестероном уровня 1,2 нг/мл в день назначения овуляторной дозы рХГЧ характеризуется снижением частоты наступления беременности в протоколах ЭКО с антГнРГ и в модифицированных естественных криоциклах. Вероятность превышения прогестероном порога 1,2 нг/мл в протоколах ЭКО с антГнРГ составляет 19,0%, в естественных криоциклах – 8,3%.
2. Пролонгирование фолликулярной фазы и количество преовуляторных фолликулов являются наиболее важными факторами подъема уровня прогестерона в фолликулярную фазу.
3. Применение рЛГ в соотношении рЛГ:рФСГ 1:2 характеризуется снижением риска увеличения концентрации прогестерона до момента введения триггера и увеличением количества качественных бластоцист.
4. Высокий уровень прогестерона (более 1,2 нг/мл) в фолликулярную фазу протоколов ВРТ не влияет на количество полученных эмбрионов, так же не отражается на признаках опережающих секреторных изменений эндометрия (по анализу гистологических, ИГХ данных, экспрессии ЛИФ, пиноподий).

5. Вероятность наступления беременности в протоколах ЭКО не зависит от используемого препарата (типа индуктора) и снижается при достижении прогестероном 1,2 нг/мл. Вероятность наступления беременности увеличивается в 1,3 раза при переносе качественного эмбриона в менструальном цикле, свободном от этапа фолликулярной индукции.

Степень достоверности результатов исследования

Статистическая обработка полученных результатов произведена с использованием электронных таблиц «Microsoft Excel» и программы «Statistica» v. 13.3, StatSoft Inc. (США). Для всех количественных данных применен метод вариационной статистики. При анализе каждого количественного параметра оценено среднее значение (M), среднеквадратическое отклонение (δ), ошибка среднего (m), медиана (Me). При анализе качественных данных определена частота (%). Статистически значимыми считались отличия при P менее 0,05 (95%-й уровень значимости) и при P менее 0,01 (99%-й уровень значимости). Проводился дисперсионный анализ, высчитывался критерий Фишера. Определялась чувствительность и специфичность различных методов диагностики, ROC-анализ. Для выявления связи между изучаемыми показателями использован корреляционный анализ с вычислением коэффициента корреляции Спирмена (R).

Апробация работы

Апробация диссертационной работы состоялась на совместной научно-практической конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, сотрудников

гинекологического отделения ГБУЗ города Москвы Городской клинической больницы №1 им. Н.И. Пирогова (03.03.2020г, протокол № 5).

Личное участие автора

Автор самостоятельно выбрал направление и дизайн исследования, сформулировал его цели и задачи, проанализировал и систематизировал современные источники литературы. Диссертант осуществил набор и обследование пациенток, принял непосредственное участие во всех этапах лечебного процесса, обобщении и обработке полученных результатов, их интерпретации, формулировании выводов, заключений и рекомендаций.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

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

Реализация и внедрение полученных результатов в практику

Полученные научные и практические данные внедрены в работу отделений ВРТ Центра репродукции Нова клиник (ООО МедИнСервис), Москва (главный врач - Ващенко И.М.). Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе при подготовке студентов, ординаторов и аспирантов на кафедре акушерства и гинекологии лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский

университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 5 работ – в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ, и 2 патента.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 105 страницах печатного текста, состоит из введения, 4 глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение), выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа иллюстрирована 5 таблицами и 16 рисунками. Использованная литература включает 107 источников, из них: 15 – отечественных и 92 – зарубежных.

1. Глава 1. Обзор литературы

1.1 Введение

Считается, что до четверти всех женщин, нуждающихся в помощи решения проблем с зачатием, сталкиваются с отсутствием овуляции. Между тем, возможность достижения овуляции, путем стимуляции доминирующих фолликулов в условиях ановуляторного гипо и нормогонадотропного состояния- в ситуациях, когда фолликулы в яичниках присутствуют в достаточном количестве, но условий для нормального рекрутинга, развития и овуляции доминирующего фолликула (фолликулогенеза) в женском организме нет, доступна человеку уже век. История управления функцией яичников начиналась с длительной латентной фазы контролируемой индукции фолликулярного ответа в условиях ановуляторной яичниковой дисфункции. Но появившиеся 30 лет назад в практической медицине вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) поставили перед методикой стимуляции яичников совершенно новую задачу активации нескольких фолликулов названную позднее «стимуляцией суперовуляции» или «контролируемой овариальной гиперстимуляцией». Постепенно пришло осознание того, что процедура ССО характеризуется большим риском развития нежелательных последствий приема препаратов, способных оказывать стимулирующее действие на активность яичников, в частности: многоплодная беременность, синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ), перекрут яичников и еще целого ряда серьезных нежелательных клинических состояний. Одно из наиболее типичных состояний характеризуется преждевременным выбросом ЛГ гипофизом в ответ на гиперэстрогению, обусловленную мультифолликулярным ответом. В свою очередь преждевременный выброс ЛГ действует на незрелые фолликулы фатально, вызывая овуляцию, а чаще лютеинизацию ранее положенного срока, именно поэтому в литературе закрепился термин «паразитарный пик ЛГ». По разным данным частота паразитарного пика ЛГ в чистых протоколах ССО гонадотропинами остается довольно высокой, составляя от 30% до 50% [49]. С

целью контроля над когортой развивающихся фолликулов путем подавления эндогенного пика ЛГ ранее нужного дня лечебного цикла в рутинную практику были введены сначала агонисты, а затем и антагонисты ГнРГ [18]. Однако впоследствии замечено, что и при использовании аналогов ГнРГ, в частности антГнРГ в рамках ССО часто наблюдается умеренный рост сывороточной концентрации прогестерона [68]. Показано, что в абсолютном большинстве случаев рост уровня прогестерона происходит в ответ на проводимую индукцию, без триггерного пика ЛГ и связан с индивидуальными особенностями пациентки и лечебного цикла ЭКО [68]. Между тем, клиническое значение этого явления некатегорично, поэтому продолжает оспариваться. Так с 1991 года до сегодняшнего дня многие исследователи сходятся во мнении что избыточное и/или преждевременное повышение прогестерона на высоте этапа стимуляции фолликулов, до момента триггирования овуляции может негативно повлиять на исход протокола ЭКО [23, 24]. Однако, далеко не все так однозначно. С одной стороны в своих отчетах авторы не всегда едины в промежуточных заключениях, с другой стороны имеется большое количество публикаций, с диаметрально противоположными выводами, когда подобное замечено не было [35, 70].

1.2 Профиль прогестерона в фолликулярной фазе естественного цикла

Прогестерон и промежуточное и окончательное соединение стероидного пути трансформации гормонов в яичниках и надпочечниках. Одним из источником синтеза прогестерона являются надпочечники. Продолжая трансформацию прегненолона под контролем 3β -оксистероидов дегидрогеназы (3β HSD) надпочечников, прогестерон может быть преобразован либо в дексокортикостерол, а далее минералокортикоиды, либо в 17ОН -прогестерон, и соответственно глюкокортикоиды и андрогены [32]. Подтверждением вклада надпочечников в общий синтез прогестерона является то, что концентрация прогестерона в адреналовых венах выше, чем в периферических [17]. Однако надпочечники- это дополнительный источник прогестерона, обеспечивающий

основной секреторный вклад в начале фолликулярной фазы естественного менструального цикла здоровых женщин [17, 32].

В яичниках под действием гонадотропинов (ФСГ и ЛГ) прогестерон способен вырабатываться как клетками теки, так и зернистыми клетками. ФСГ активирует зернистые клетки, стимулируя их деление и усиливая конверсию стероидов от холестерина до прогестерона [39]. Пограничный этап внутрифолликулярного синтеза стероидов заключается в отщеплении боковой цепи, после чего холестерин (27 атомов углерода) трансформируется в прегненолон (21 атом углерода) и прогестерон. Согласно двухклеточной двухгонадотропной теории синтеза эстрогенов [74], прогестерон, произведенный клетками гранулезы, перемещается через фолликулярную мембрану к васкуляризированным тека-клеткам, где под действием ЛГ происходит дальнейший уникальный катаболизм прогестерона в андрогены, в частности, 17ОН-прогестерон (19 атомов углерода), с участием C17-гидроксилазы. Вероятнее всего на этом этапе часть синтезированного прогестерона высвобождается в системный кровоток, не достигая тека-клеток. Дальнейший сценарий нормальной физиологии подразумевает, что андрогены вновь пересекая фолликулярную мембрану, возвращаются в зону зернистых клеток, где путем ароматизации андрогены превращаются в эстрогены (18 атомов углерода). Исследования, проведенные с целью измерения сывороточных концентраций стероидов в периферических венах и венах, активного и противоположного яичников, описали похожий характер гормональных профилей эстрадиола и прогестерона в течение естественного менструального цикла, когда регистрируемые концентрации гормонов в периферических венах, и вене, дренирующей неактивный яичник, совпадали в ожидаемом диапазоне цифр (прогестерон менее 6 нмоль/л), тогда как на стороне яичника с доминирующим фолликулом, значительно превосходили (прогестерон более 15 нмоль/л). Регистрация соответствующей активному яичнику сывороточной концентрации прогестерона в периферических венах и венах контралатерального яичника

указывала на овуляцию, демонстрируя, что основной гормон желтого тела в большом количестве поступил в системный кровоток [31].

Характерная особенность прогестерона играть решающую роль в процессе нидации и имплантации эмбриона, инициируя соответствующие морфологические изменения в подготовленном эстрогенами эндометрии [3, 13, 14, 85], с самого начала определила его диагностическую нишу, как наглядного критерия прямой оценки адекватности лютеинизации зернистых клеток желтого тела, настаивая на измерении сывороточных концентраций в течение лютеиновой фазы. Функциональный лютеолиз естественного менструального цикла характеризуется потерей способности желтым телом производить прогестерон и, как правило, его сывороточные уровни достигают своей низшей точки к началу очередной фолликулярной фазы [71]. Повышенные уровни прогестерона на 4-5 дни менструального цикла выявлялись каждой десятой бесплодной пациентки (11,3%), что может быть расценено, как результат неэффективного лютеолиза, и предположительно отрицательно влияет на фертильность [52]. Однако в вопросе о роли прогестерона в течении, и в особенности в конце фолликулярной фазы не все так однозначно. Необходимо отметить, что этот вопрос требует детального рассмотрения. Сам прогестерон, в числе других яичниковых гормонов, в частности эстрадиола и ингибинов, способен самостоятельно моделировать гипоталамо-гипофизарные оси регуляции в течение лютеиновой фазы менструального цикла, например, непосредственно изменяя афинность рецепторов к ГнРГ и характер импульсов ГнРГ, уменьшая частоту импульсов ГнРГ, соответственно напрямую моделируя секрецию ЛГ и ФСГ [29]. Вместе с тем, показано, прогестерон производится зрелыми клетками гранулезы лидирующего фолликула еще до пиковых преовуляторных уровней ЛГ [71]. Некоторые авторы в свою очередь доказывали, что, вопреки ранним представлениям, прогестерон может принимать непосредственное участие в регуляции овуляции [29]. Таким доказательством служит факт того, что введение прогестерона на высоте доминирующего фолликула (более 15 мм) отражается ростом концентрации ЛГ [82]. Высвобождающий ЛГ эффект оказывают и

физиологические для конца фолликулярной фазы концентрации прогестерона после подготовки эстрогенами [30]. Другими словами, в основу механизма положительной обратной связи, в конечном счете, запускающего выброс ЛГ, положен принцип последовательного повышения концентраций эстрадиола и прогестерона в течение фолликулярной фазы естественного менструального цикла [73]. Назначение антагониста прогестероновых рецепторов RU-486 в середине или конце фолликулярной фазы вызывает остановку развития доминантного фолликула и снижение сывороточной концентрации эстрадиола, при отсутствии значимых изменений сывороточных концентраций ЛГ и прогестерона [17].

Описание стероидных каскадов, происходящих в яичниковой ткани наглядно демонстрирует, что прогестерон в фолликулярной фазе, в особенности ее конце, отнюдь не является только промежуточным, а тем более побочным продуктом синтеза эстрогенов, иногда производящемся в избытке, поэтому попадающим в системный кровоток. Он выступает самостоятельным важным агентом с конкретно обозначенной целью. Относительно вольное трактование представленных данных позволяет сделать вывод, что в сложном сценарии гипоталамо-гипофизарно-гонадных взаимодействий в предовуляторный период прогестерону отведена роль синтетайзера, усиливающего триггерный эффект эстрогенов на продукцию ЛГ [73].

Очевидно, что вклад центральных регуляторных структур в концентрацию прогестерона в крови в течение поздней фолликулярной фазы осуществляется путем регуляции функции яичников обоими гонадотропинами. При этом хорошо известна роль ФСГ в отношении функции клеток гранулезы на протяжении всей фолликулярной фазы. Роль же ЛГ значительно более сложная. Тека клетки, конституционально наделенные рецепторами, являются постоянной мишенью ЛГ, основной эффект которого в них реализуется в поддержании активности С17гидроксилазы, трансформирующей прогестерон в 17ОН-прогестерон. Показано, что ЛГ в тека-клетках способен активировать и производство

прогестерона. Этот сбалансированный эффект ЛГ на секрецию прогестерона тека-клетками наблюдается в течение всей фолликулярной фазы [92]. Клетки гранулезы, напротив, приобретают положительный рецепторный статус к ЛГ только на стадии антрального фолликула, с последующим постоянным увеличением плотности рецепторов до момента овуляции. Исследование на культурах «зрелых» зернистых клеток продемонстрировали, что высвобождающий эффект ЛГ в отношении прогестерона в три раза сильнее, чем ФСГ [69].

1.3 Профиль прогестерона в фолликулярной фазе стимулированного цикла

Применение короткого протокола с агонистом ГнРГ и высокими дозами ФСГ у пациенток с низким овариальным резервом характеризуется повышением сывороточной концентрации прогестерона в 85% в течение 2-6 дней цикла [91]. Более поздние исследования принципиально согласились с этим выводом, отметив, что при десенситизации агонистами ГнРГ в коротком протоколе 32% пациенток имели повышенные базальные концентрации прогестерона на 4-й день стимуляции [94]. Тогда как пациенты, получавшие антагонисты ГнРГ для профилактики паразитарного пика ЛГ и рФСГ с целью реализации ЭКО в 4,9% имели высокую концентрацию прогестерона на 2-й день цикла. При этом было показано, что продолжение протокола ЭКО на фоне повышенного уровня прогестерона сопряжено со снижением вероятности наступления беременности [57, 77, 78, 99].

В конце этапа фолликулярной индукции частота регистрации повышенных уровней прогестерона сравнивалась и колебалась между 5% и 35% в стимулированных циклах с агонистами ГнРГ, и между 20% и 38% в циклах с антагонистами ГнРГ [88, 96].

Возникает вполне логичный принципиальный вопрос: Почему повышается концентрация прогестерона? Ведь даже если учесть ненадежность запретительного действия аналогов ГнРГ в редких лечебных циклах, очевидным остается факт повышения прогестерона без пика ЛГ в абсолютном большинстве случаев. Ответ на этот вопрос может быть только один: Рост уровня прогестерона происходит в ответ на проводимую индукцию и, вероятно, связан с индивидуальными особенностями пациентки [62]. Сейчас очевидно, что термин "преждевременная лютеинизация" необъективен в отражении сути явления, например, предлагается его переформулировать в «повышение прогестерона нелютеинового происхождения» [63]. По мнению авторов термин «фолликулярная гиперпрогестеронемия», в привычном понимании и должной степени отражает источник, механизм и целевой временной интервал данного явления.

Между тем, с момента первого сообщения о вероятности повышения сывороточной концентрации прогестерона в последние дни контролируемой овариальной стимуляции прошло уже не одно десятилетие [88], и в течение ряда лет этот постулат доказывался неоднократно. Но, однако, до настоящего момента исследователям не удалось сойтись в консенсусе относительно принципиальных вопросов о причинах, клинической значимости и частоте встречаемости этого события. В частности относительно последнего, мнения авторов сильно разнятся (2-46%) [100]. Во многом это обусловлено отсутствием должной согласованности в определении сути самого понятия преждевременного повышения уровня прогестерона. С.А.Venetis et al. (2013) в систематическом обзоре и мета-анализе 60000 циклов ЭКО обращали внимание, что при использовании исследователями порогового значения преовуляторного прогестерона от 0,4 до 0,6 нг/мл частота встречаемости обсуждаемого события составляет 46,7%, тогда как при верхней границе от 1,9 до 3,0 нг/мл – всего 12,3% [100].

1.4 Механизм подъема прогестерона в конце фолликулярной фазы стимулированного цикла

F.Ubaldi et al (1996) показали связь между абсолютным уровнем прогестерона в конце фолликулярной фазы и площадью под кривой концентрации ФСГ во время стимуляции яичников. Это означает, что повышение уровня прогестерона может быть связано с активностью гранулезных клеток в растущих фолликулах, которые не лютеинизируются, так как повышения уровня лютеинизирующего гормона не происходит [48, 97]. Не исключено, что различные изоформы ФСГ (мочевой/рекомбинантный), разнящиеся в некоторых биологических эффектах, могут иметь различия и в моделировании уровней преовуляторного прогестерона. В частности некоторые авторы [17] предполагают, что пульсационное высвобождение менее кислых изоформ рФСГ вызывает больший рост концентрации прогестерона, чем изоформы мочевого происхождения [17]. Несколько хорошо спланированных исследований продемонстрировали, что вероятность роста концентрации прогестерона в основном зависит от ответа яичников на ФСГ [65], а абсолютное количество сывороточного прогестерона в день триггера прямо коррелировало с плазменной концентрацией эстрадиола и числом извлеченных ооцитов [21, 25, 37, 60, 84]. Результаты дальнейших исследований показали, что высота концентрации прогестерона часто ассоциировалась с суммарной дозой ФСГ, затраченной на протокол стимуляции [25, 105], еще раз проводя параллель между увеличением условной «гранулезной массы» и условной «массы прогестерона», как его источника, в процессе управляемым ФСГ, через призму индивидуальной готовности яичника. H.Fatemi et al. (2013) показали линейную зависимость между вероятностью повышения прогестерона и количеством получаемых ооцитов [37]. A D. Kyrou et al очертили «группу риска». По их мнению, в протоколах с анТГнРГ высокий риск патологического роста прогестерона (выше 1,5 нг/мл) в конце индукции начинается при превышении эстрадиолом порога сывороточной концентрации более 1790,5 пг/мл и/или при регистрации 10 и более лидирующих фолликулов (больше 11 мм в диаметре) на день назначения триггера овуляции

[60]. Кроме того, удлинение фолликулярной фазы является важным фактором патологического роста прогестерона, поскольку отсрочка введения ХГЧ на 2 дня после регистрации 3-х и более фолликулов средним диаметром более 17 мм в протоколах с рФСГ/антГнРГ приводило к повышению концентрации прогестерона [54]. Таким образом, основной механизм, ответственный за рост сывороточной концентрации прогестерона до использования триггера при ССО в условиях десенсибилизации гипофиза аналогами ГнРГ, не овуляторная активность ЛГ, а избыточная доза ФСГ, применяемая с целью ССО [20, 38, 106]. В этой связи с совершенно другой стороны раскрываются выводы проведенных исследований, эмпирически рассчитавшие оптимальное количество фолликулов ответивших на ССО с позиции максимизации результата цикла ЭКО [50, 93].

Между тем роль ЛГ в срезе основного обсуждаемого вопроса остается не такой однозначной, поэтому спорной, что во многом объяснимо неоднородностью опубликованных исследований. R. Fleming (2010г) предположил, что индукция высокими дозами ФСГ, находящая отклик большого количества растущих фолликулов и накопление активной гранулезной массы, ведет к избыточному усилению гранулезоклеточного стероидогенеза. Но в условиях абсолютного дефицита ЛГ, вследствие применения аналогов ГнРГ, произведенный прогестерон не будет дальше метаболизироваться в андрогены и вынужденно попадет в системный кровоток [38]. Развивая свою концепцию, авторы опирались на то, что в фолликуле имеется два источника прогестерона, но лишь один путь его дальнейшего метаболизма (катаболизм в андрогены), который управляется активностью ЛГ. Следовательно, логично предположить, что компенсирование дефицита ЛГ путем добавления ЛГ активности в виде рЛГ или ЧМГ в условиях фонового использования аналогов ГнРГ способно не только не увеличивать, а напротив, понизить уровень прогестерона в течение фазы стимуляции за счет опосредованной ЛГ ускоренной утилизации прогестерона в андрогены [38].

Вместе с тем, систематический обзор нескольких исследований, оценивающий монопротоколы с ФСГ или в комбинации ФСГ с компонентами,

обладающими ЛГ активностью (ЧМГ или ХГЧ) не выявил какого-либо значимого эффекта ЛГ в отношении продукции прогестерона [47]. В одном исследовании оценивали последствия увеличения дозы ХГЧ (от 0 МЕ до 150 МЕ), начиная с 1-го дня стимуляции ФСГ в протоколе с антГнРГ. Авторы отметили постепенное увеличение сывороточных концентраций прогестерона во всех группах ХГЧ по восходящей от 50МЕ до 150МЕ [95]. В исследовании MERIT сравнили частоту клинических беременностей у 731 молодой нормогонадотропной женщины после ЭКО когда проводили стимуляцию яичников ЧМГ (n = 363) или рФСГ (n = 368) в стартовой дозой ФСГ 225МЕ по «длинному» протоколу с агонистами ГнРГ. Пороговым уровнем в качестве критерия повышенного прогестерона в этом исследовании была принята величина 4 нмоль/л, эквивалентная 1,26 нг/мл, в последний день стимуляции. У пациенток, получавших рФСГ, сывороточные концентрации прогестерона были выше, чем у получавших ЧМГ (23% против 11%; $p < 0,001$) [20]. В обеих группах повышенный уровень прогестерона был связан с высоким овариальным ответом и числом полученных яйцеклеток. Отмечено, что у пациенток с повышенным уровнем прогестерона была ниже частота имплантации эмбрионов.

Напротив, в исследовании MEGASET (протокол с антГнРГ и стартовой дозой ФСГ в 150МЕ), значимой разницы между группами зафиксировать не удалось [34], несмотря на то, что, как и в исследовании MERIT, пациентки группы рФСГ характеризовались заметно более интенсивным ответом на проводимую индукцию.

Таким образом, утверждения о том, что добавление ЛГ в протоколах гонадотропной ССО способствует избыточному накоплению прогестерона в плазме крови или, напротив, вызывает его усиленную утилизацию посредством ускорения процессов трансформации в эстрогены, на сегодняшний день пока не выдерживают критики.

1.5 Влияние повышения прогестерона на исход ЭКО

Удивительно, но с первого взгляда простой вопрос влияния повышенного уровня прогестерона на результативность ЭКО остается одним из наиболее дискуссионных на протяжении последних три десятилетий. Простая аналитика, учитывающая количество проведенных исследований со времени первого отчета [36], и к слову сказать их уже более 70, с противоречивыми выводами- прямое тому свидетельство. В то время как некоторые исследователи сообщали о снижении шансов на эффективность ЭКО у пациенток с высокой концентрацией прогестерона в день назначения ХГЧ [20, 22, 25, 26, 44, 56, 65, 76, 105], в одном исследовании авторы указали на благоприятное влияние высокой концентрации прогестерона [35] другие, напротив, не смогли продемонстрировать вообще какие-либо ассоциации [70, 86, 102]. Между тем, с позиции практикующего врача путаницу противоположных выводов усложняет неоднородная методология проводимых исследований, в конечном счете, реализующая субъективное восприятие вопроса с формированием своего собственного индивидуального умозаключения, на основе собственных не всегда объективных- суженых наблюдений и рассуждений. В таком случае, следует учитывать результаты мета-анализов. В 2007г результаты первого мета-анализа, объединившего женщин, перенесших стимуляцию яичников с применением аналогов ГнРГ и гонадотропинов в рамках ЭКО, показали, что существует незначительная отрицательная связь между высотой сывороточной концентрации прогестерона и частотой наступления беременности [102]. Последующие обзоры уже однозначно доказывали негативное влияние высокой концентрации прогестерона с позиции ожидания клинического успеха в ЭКО. Мета-анализ 2012 года объединил 5 исследований, сосредоточенных только на пациентках, проходящих ЭКО по протоколу с антагонистами ГнРГ [56]. Мета-анализ 2013г объединил 26 исследований (около 60000 свежих циклов ЭКО) без дифференцировки аналога ГнРГ на этапе включения в исследования [100]. И если в принципиальном вопросе о негативном влиянии повышенного прогестерона на данный момент более или менее удалось найти консенсус, остается нерешенным еще ряд важных

вопросов. Во первых, имеет значение только плазменная концентрация прогестерона в день триггера или важна еще и длительность воздействия его высокой концентрации до этого дня. Во вторых каждому врачу важно знать клинически-значимый порог концентрации прогестерона.

Осведомленность моделирующего эффекта прогестерона на эндометрий [15] с одной стороны и пагубность такого эффекта при раннем повышении прогестерона в протоколах индукции [9] наводит на логичное предположение о том, что период имплантационного окна может опережать динамику адекватного развития эмбриона, но и, как варианты опережать ее не значительно или фатально, в зависимости от длительности периода экспозиции высокого прогестерона до триггера. Действительно, чем дольше период повышения прогестерона, тем выше риск опережающей лютеинизации эндометрия. Если так, то определение концентрации прогестерона в конечной точке протокола стимуляции яичников не дает достаточно объективных выводов относительно качества эндометрия с позиции его готовности к взаимодействию с эмбрионом. Поэтому было высказано предположение, что однократное определение сывороточного прогестерона в день ХГЧ может быть менее информативным, чем многократная оценка в течение нескольких последних дней стимуляции [45]. С этой целью необходимо учитывать продолжительность периода высокой концентрации прогестерона. В одном проспективном исследовании, включившем пациенток, проходящих протокол ЭКО с анГнРГ было показано, что частота регистрации клинической беременности обратно коррелировала с периодом высокой концентрации прогестерона [58]. В другом ретроспективном исследовании, проанализировавшем пациенток, которым назначали аналог ГнРГ отмечено, что длительность регистрации высокой концентрации прогестерона (более 1 нг/мл) значительно сказывалась на результативности ЭКО, что важно, вне зависимости от протокола, типа и дозы индуктора и даже от интенсивности ответа яичников. При длительности от 1 до 2 дней до назначения триггера, частота наступления беременности снижалась на 10%, и на 20%, когда высокий прогестерон удавалось зарегистрировать за 3 и более дня до триггера [45]. Тем не

менее, небольшой объем доступных наблюдений обращает внимание на то, что этот вопрос нуждается в проведении дополнительного детального анализа.

Между тем стройная логика следующих друг за другом не только отдельных исследований, но и отчетов проведенных мета-анализов заметно прерывается на самом важном, уже с позиции не столько исследователя, сколько практикующего врача, наблюдающего конкретный протокол ЭКО. Анализ концентрации прогестерона в день назначения триггера, который должен предсказать объективные шансы на успех цикла ЭКО. Итак: «Где порог сывороточной концентрации прогестерона?». В попытке ответить на этот принципиальный вопрос, исследователи тестировали разные произвольные отсечки концентрации прогестерона от 0,4 нг/мл до 3нг/мл [100]. В своем исследовании Qianfang Cai et al. (2013), пришли к выводу, что количество качественных эмбрионов и уровень прогестерона на день введения ХГЧ являются двумя важнейшими независимыми предикторами живорождения после цикла ЭКО. При этом перспективы наступления беременности начали снижаться после превышения прогестероном уровня 0,4 нг/мл. [44]. Однако наиболее часто в литературе упоминается цифра около 1,5 нг/мл или 4,77 нмоль/л прогестерона в плазме венозной крови, как оказывающая негативный эффект на результативность ЭКО. Это значение получено на основании анализа более 4000 циклов ЭКО [25]. В дальнейшем на этот порог опирались уже и другие авторы, в том числе и в ряде недавних исследований [32, 44, 65]. Вместе с тем уже упоминавшийся ранее самый крупный на сегодняшний день мета-анализ, включивший 26 исследований (60000 свежих циклов ЭКО), оценивавший влияние концентрации прогестерона на вероятность наступления беременности в различных пороговых точках, отметил отрицательную динамику корреляции обсуждаемых показателей уже с концентрации 0,8 нг/мл. Тем не менее, авторам пришлось согласиться, что негативный эффект значимой силы наблюдался после превышения прогестероном отсечки в 1,5 нг/мл и 1,75 нг/мл [100]. Похожие выводы получены в группе пациенток с эмбриотрансфером бластоцист на 5-ые сутки культивирования. У пациенток с сывороточной концентрацией

прогестерона более 1,75 нг/мл частота регистрации клинической беременности была ниже (31,3% против 41,4%, $p < 0,001$) по сравнению с пациентками, сывороточные уровни прогестерона, которых были ниже 1,75 нг/мл [46].

1.6 Влияние повышенного прогестерона на эффективность ЭКО в категории пациенток с высоким прогнозом

Между тем, несогласованность опубликованных отчетов, зачастую опирающихся на различную методологию, возможно, не только не должна путать, а скорее вскрывать индивидуальную вариабельность и активизировать поиск критериев, актуальных с точки зрения вопроса определения порогового значения прогестерона. На данный момент важно признать, что значимые аспекты расшифрованы нами пока далеко не достаточно. Так, в частности обсуждается вопрос индивидуализации порога прогестерона в зависимости от интенсивности ответа яичников. Xu B. et al. (2012) проведя ретроспективный анализ более чем 10000 циклов пришли к выводу, что всех пациенток необходимо дифференцировать в зависимости от интенсивности ответа яичников на стимуляцию: при бедном ответе (≤ 4 ооцитов)- порог прогестерона- 1,5 нг/мл, при нормальном ответе (5-19 ооцитов)- 1,75 нг/мл, при высоком ответе (больше 20 ооцитов)- 2,25 нг/мл [105].

Griesinger G. в своем исследовании [40] протоколов с применением анТГнРГ показал, что увеличение фолликулярного ответа яичников практически неизбежно сопровождается ростом сывороточной концентрации прогестерона, но клиническое значение этого явления регистрируется только у пациенток с низким и средним ответом, тогда как частота наступления беременности в рамках большого фолликулярного ответа не зависела от превышения прогестероном порога (1,5 нг/мл). В качестве предиктора для прогнозирования исхода цикла ЭКО предлагается оценивать соотношение прогестерона к числу фолликулов [84]. Несмотря на то, что последние опубликованные данные контрастируют с

некоторыми крупными более ранними исследованиями [100] ценное зерно в виде увеличения количества качественных ооцитов, без чего невозможно получить эмбрионы самого высокого качества, имеющих способность лучше адаптироваться к менее восприимчивому эндометрию в них, возможно, имеется. Вместе с тем в других недавних исследованиях показано, что пациентки, имеющие хороший прогноз в связи с хорошей реакцией яичников, и/или хорошим качеством эмбрионов, по-прежнему восприимчивы к отрицательным эффектам повышенного уровня прогестерона и не застрахованы от его негативного влияния на рождаемость [23, 26, 41]. Авторы отметили, что повышение сывороточной концентрации прогестерона в конце стимуляции не следует недооценивать, так как высокий прогестерон открывает «окно имплантации» раньше положенного дня, что сказывается на способности к имплантации всех эмбрионов, вне зависимости от их качества или стадии развития на момент переноса. В другом исследовании циклов ЭКО с трансфером в общей сложности 934 бластоцист и 686 эмбрионов на стадии дробления, продемонстрировано, что возраст пациентов, качество и количество эмбрионов, а так же сывороточная концентрация прогестерона на день ХГЧ были значительно связаны с рождением живого ребенка после цикла ЭКО. При этом более высокие уровни прогестерона были сопряжены с уменьшением шансов живорождения как для пациенток, которым переносили эмбрионы на стадии дробления, так и бластоцисты а кроме этого негативные эффекты принципиально были похожи в группах крайне низкого и высокого фолликулярного ответа. Авторы исследования пришли к выводу, что повышенный уровень сывороточного прогестерона на день введения ХГЧ был негативно связан с рождением живого ребенка, даже у пациенток с хорошим прогнозом [44].

1.7 Высокий прогестерон: что страдает яйцеклетка или эндометрий?

Извечный, но отнюдь не риторический вопрос репродуктивной медицины: эмбрион или эндометрий? В срезе обсуждаемой темы перефразированный, как

ооцит или эндометрий, и в данном случае не теряет своей актуальности. Так, ряд работ показал негативное воздействие высокого прогестерона в преовуляторный период на качество ооцита и соответственно, эмбриона [88, 107]. Однако, в подавляющем большинстве авторы сходились во мнении, что созревающий ооцит интактен к прогестерону и не зависит от его концентрации [43], как и доимплантационный эмбрион. В одном недавнем исследовании продемонстрировано, что сывороточная концентрация прогестерона не связана с качественными характеристиками яйцеклетки или эмбриона, в том числе с оплодотворением и количеством эмбрионов для переноса или криоконсервации [43]. Ранее Kolibianakis EM et al. (2004) оценивали влияние отсрочки введения ХГЧ на частоту наступления беременности у пациенток, получающих рФСГ и антагонисты ГнРГ. По итогам исследования установлено, что продление фолликулярной фазы не влияет на качество яйцеклетки или эмбриона, но связано со значительно уменьшенной частотой регистрации клинической беременности [54]. Вероятнее всего, приводя к снижению потенциала эндометрия и наблюдающейся в норме синхронности развития эндометрия и эмбриона [8, 16, 64]. Дополнительным доказательством утверждения, что ССО, осложненная повышением сывороточной концентрации прогестерона, не оказывает негативного влияния на качество получаемых эмбрионов служат исследования, анализирующие качественные эмбриологические и клинические результаты циклов донации ооцитов, когда превышение прогестероном порога (1,2 нг/мл) не сказывалось на частоте наступления и потери беременности у реципиенток [72]. Объединенные результаты проведенного позднее мета-анализа (8 исследований) показали аналогичные результаты [100]. В исследовании Melo M. и соавт. (2006) продемонстрирован эффект повышенных концентраций прогестерона в донорских программах при стимуляции одного и того же донора в последовательных циклах. Когда в одном протоколе концентрация прогестерона в день триггера была более 1,2 нг/мл, а в другом менее 1,2 нг/мл. Реципиенты распределялись в группы в зависимости от преовуляторной концентрации прогестерона доноров ооцитов. Количество полученных, в том числе зрелых

гамет незначительно различалось в зависимости от уровня прогестерона донора на момент триггера и логично превосходило в группе с уровнем прогестерона более 1,2 нг/мл. Однако различий в частоте оплодотворения, дробления и формирования бластоцист выявлено не было. Идентичными оказались частота имплантации и прогрессирующей беременности у реципиенток обеих групп. Дополнительно необходимо отметить, уникальность данной модели исследования, что гарантированно обеспечивает дифференцированную оценку негативного влияния прогестерона на ооцит/эмбрион и эндометрий, соответственно, так как эмбрион перемещается в полость матки женщины, имеющей иной прогестероновый фон. В чем-то похожий сценарий исследования, оценивающий качественные характеристики эмбриона и частоты наступления беременности в последовательных циклах ВРТ через криоконсервацию эмбрионов, у одной и той же пациентки. Когда на первом этапе производился только получение ооцитов, после контролируемой индукции, а на втором, эмбрионы переносились в полость матки в естественном криоцикле. Объединенные результаты 16-и исследований так же не выявили взаимосвязи концентрации прогестерона в цикле индукции и коэффициентов частоты наступления и потери беременности в последующих циклах оттаивания эмбрионов [100]. В совокупности представленные данные настаивают на том, что едва ли вообще есть практически значимая связь концентрации прогестерона в течение всего протокола ЭКО и качества ооцита/эмбриона [100].

Вместе с тем, возможность реализации деструктивного влияния высокого прогестерона на частоту наступления беременности в ЭКО через эндометрий, наверное, самый очевидный аспект этого вопроса [42, 64]. Всем хорошо известны моделирующие эффекты эстрадиола и прогестерона, зеркально отражающиеся на морфологическом статусе эндометрия [4, 6, 11]. Показано, что обязательное восполнение только этих двух гормонов в циклах тотальной ЗГТ с переносом эмбрионов, в условиях наведенного или естественного климакса оказалось достаточным для нормальной подготовки эндометрия, имплантации и течения беременности [33]. С другой стороны, с позиций логики, опережающий овуляцию

(забор ооцитов) подъем концентрации прогестерона способен запустить опережающую секреторную перестройку эндометрия, что, в конечном счете, может десинхронизировать имплантационную готовность эндометрия и бластоцисты [42, 64] и, как следствие, уменьшить число благополучных исходов, что принципиально важно, при наличии выполненных условий качественного эмбриона и нормального эндометрия. Между тем, действительно надежные с позиции достоверности выводы относительно деструктивного влияния раннего повышения прогестерона возможно получить только путем прямого прицельного исследования эндометрия. И проведенные исследования объективно доказывают состоятельность данной гипотезы. Так исследования эндометрия в соответствии с критериями Нойс в день введения триггера и забора ооцитов продемонстрировали, что стимуляция яичников сопряжена с опережением секреторных изменений эндометрия [55], а при превышении 3-дневного интервала, регистрируется заметная тенденция к снижению частоты имплантации. Кроме того, индукция фолликулов часто сопряжена с изменением рецепторного статуса эндометрия, характеризующегося снижением плотности рецепторов эстрадиола, и увеличением экспрессии рецепторов прогестерона по сравнению с натуральными циклами [42, 79]. Несмотря на то, что ускоренное созревание эндометрия в цикле стимуляции суперовуляции было наглядно продемонстрировано в ряде работ посредством гистологического исследования в день пункции [55, 90, 98] это совершенно не означает, что темпы секреторной перестройки будут критичны, опережая закрытием «окна имплантации» момент адгезии и nidации бластоцисты [80]. В более поздних крупных исследованиях показано, что ранее повышение уровня прогестерона ассоциировано с снижением частоты имплантации и живорождения вне зависимости от длительности культивации эмбрионов до момента трансфера [43, 46]. Очень немногие исследования оценивали влияние концентрации прогестерона в сыворотке крови на морфологическое строение эндометрия [61, 67]. Таким образом, в какой степени нарушается потенциальная готовность эндометрия у пациентов с

высоким уровнем сывороточного прогестерона на момент эмбриотрансфера- вопрос пока открытый.

Признание значимой способности прогестерона прогнозировать исход цикла ЭКО настаивает на необходимости обсуждения с пациенткой факта снижения имплантационной готовности эндометрия в случае регистрации его высоких концентраций, так чтобы она имела возможность самостоятельно выбрать между тем, что бы продолжать или остановить цикл [17], согласно стратегии отложенного переноса [43, 104].

1.8 Предотвращение повышения прогестерона. Практическое применение концепции отрицательного влияния фолликулярной гиперпрогестеронемии

Воспроизводимость высокой предовуляционной сывороточной концентрации прогестерона от цикла к циклу у отдельных пациентов была плохой, демонстрируя, что эти колебания в меньшей степени зависят от индивидуальных клинических особенностей пациентки. Показано, что количество ооцитов- самый важный фактор, связанный с концентрацией прогестерона. Использование более мягких подходов к стимуляции и получение меньшего числа ооцитов в следующем цикле- самая лучшая стратегия преодоления высокой концентрации прогестерона в сыворотке [68]. Принимая во внимание, что количество прогестерона коррелирует с интенсивностью проводимой индукции и дозой ФСГ, логично предположить, что оптимизация ССО до получения 8-15 ооцитов [93] должна минимизировать риск патологической гиперпрогестеронемии в конце фолликулярной фазы цикла ЭКО. Даная рекомендация фактически заключается в индивидуализации начальной и суммарной дозы индуктора (ФСГ), необходимого для стимуляции. Вместе с тем, не исключено, что оптимальным количеством может быть и меньшее число ооцитов, например у пациенток, не обремененных ожиданием негативного прогноза качества ооцитов и эмбрионов, в частности в

парах с исключительно трубно-перитонеальным или мужским бесплодием и возрастом женщины до 35 лет. Логика таких рассуждений настаивает на индивидуализации гонадотропной индукции не только исходя из ожиданий фолликулярного отклика по числу антральных фолликулов и АМГ, но и, вероятно, других клинико-анамнестических характеристик: возраст, ведущая причина бесплодия, наличие экстрагенитальных заболеваний, репродуктивный анамнез. Кроме вопроса определения стартовой дозы ФСГ, вероятно важную роль, определяющую результат могут играть такие аспекты, как протокол индукции, состав гонадотропинов и определение дня триггирования когорты доминирующих фолликулов. С точки зрения приведенного выше рассуждения становится понятно, что каждый из этих нюансов, в конечном счете, способен сказываться на концентрации прогестерона. Несмотря на кажущуюся логичность, доказательной базы по каждому из этих аспектов пока в достаточной мере не накоплено.

1.9 Заключение по обзору литературы

Повышение сывороточной концентрации прогестерона в конце фазы индукции оказывает негативный эффект на частоту наступления беременности в циклах ЭКО. Постепенное осознание того, что механизм повышения уровня прогестерона включается ССО- обязательным этапом классического ЭКО. Последующие научные изыскания, направленные на его расшифровку, продемонстрировали, что риск реализации негативного сценария в виде патологического роста уровня прогестерона, напрямую коррелирует с интенсивностью ССО. Неарифметическая сумма затраченной дозы гонадотропинов, в особенности ФСГ, индуцированного отклика яичников и длительности стимуляции в большей степени определяет вероятность регистрации высокого прогестерона в конце первой фазы цикла ЭКО. Еще одним очевидным фактом можно считать механизм реализации патологического влияния высокого прогестерона на эффективность цикла. Хорошо

спланированные клинические исследования в программах донации ооцитов и с отложенным переносом эмбрионов объективно доказывают, что высокий прогестерон не способен оказывать клинически значимого влияния на потенциальные характеристики ооцита и раннего эмбриона. Убедительно доказывая, что основной негативный эффект прогестерона проявляется через прямое, в данном случае деструктивное моделирование секреторных процессов пролиферирующего эндометрия, преждевременно открывая «окно имплантации» и десинхронизируя имплантационную готовность эмбриона и эндометрия. Между тем, имея ряд однозначных исследований и даже мета-анализов, с практической точки зрения справедливым будет утверждение, что пока нет убедительных доказательств того, что абсолютное количественное значение уровня прогестерона может расцениваться, как безоговорочное указание на целесообразность продолжения протокола ВРТ или, напротив, как указание на необходимость сегментирования цикла ЭКО на эмбриологическом этапе. Ситуация объясняется тем, что по настоящее время остаются существенные разногласия по ряду определяющих моментов, самым принципиальным из которых можно считать неопределенность с критически значимого порога уровня прогестерона, превышение которого на практике необходимо расценивать, как руководство к действию. В дополнительной проверке нуждается оценка продолжительности воздействия высокого прогестерона на показатели эффективности ЭКО. Еще большую неопределенность вносит постепенное осознание того, что порог вероятно должен быть скорректирован индивидуально, не только применительно к уникальным характеристиками пациентки, таким как возраст, ИМТ, ведущий фактор бесплодия, прогноз ответа яичников, качество эмбрионов и др., но и логистических составляющих методологии самого анализа [101]. С позиции осознания нерешенности всех важных вопросов, не удивительно, что тема высокой концентрации прогестерона в процессе ССО ЭКО не утрачивает своей актуальности среди исследователей и практикующих врачей, пытающихся следить за сывороточной концентрацией прогестерона в день ХГЧ.

2. Глава 2. Материал и методы исследования

2.1 Материал исследования

В соответствии с целью и поставленными задачами в ходе исследования всего было обследовано 367 пациенток, проходивших лечение в период с января 2016 г по декабрь 2018г.

1 группу составили 246 женщин (67,0%), проходящих ССО с целью ЭКО, у которых был проведен сравнительный анализ анамнестических, клинических, гормональных, гистологических, иммуногистохимических и эмбриологических данных в зависимости от состава гонадотропинов: рекомбинантный ФСГ (рФСГ), рекомбинантный ФСГ и рекомбинантный ЛГ 2:1 (рФСГ:рЛГ), человеческий менопаузальный гонадотропин (ЧМГ). Данная группа была разделена на 2 группы.

В 1А группу вошли 136 пациенток (55,3%), которым переносили один эмбрион на стадии бластоцисты в полость матки и проводили оценку эффективности по уровню прогестерона в крови на день введения триггера. В свою очередь данная группа была разделена на три подгруппы в зависимости от использования препарата для стимуляции суперовуляции: 1А1 группу составили 41 пациентка (30,2%), которым был назначен рФСГ, 1А2 группа - 52 пациентки (38,2%) получали смесь рФСГ и рЛГ в соотношении 2:1, и 1А3 группа - 43 пациентки (31,6%), которые получали ЧМГ.

В 1Б группу вошло 110 пациенток (44,7%), у которых выполняли анализ уровня прогестерона в крови в день триггера и состояния эндометрия через 36 часов после введения триггера. В данной группе эмбриотрансфер не выполнялся. В свою очередь данная группа была так же разделена на три подгруппы в зависимости от использования препарата для стимуляции суперовуляции: 1Б1 группу составили 30 пациенток (27,3%), которым был назначен рФСГ, 1Б2 группа - 36 пациенток (32,7%) получали препараты рФСГ и рЛГ в соотношении 2:1, и 1Б3 группа - 44 пациентки (40,0%), которые получали ЧМГ.

Во 2 группу вошла 121 женщины (33,0%), наблюдавшихся в модифицированных естественных криоциклах. Данная группа была разделена на 2 группы.

2А группу составили 67 женщин (55,4%), у которых оценивали уровень прогестерона в день введения триггера овуляции, и которым проводили перенос одного эмбриона.

2Б группу составили 54 пациентки (44,6%), у которых эмбриотрансфера не было, и у которых оценивали уровень прогестерона в крови в день введения триггера и состояние эндометрия через 36 ч после введения триггера овуляции.

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

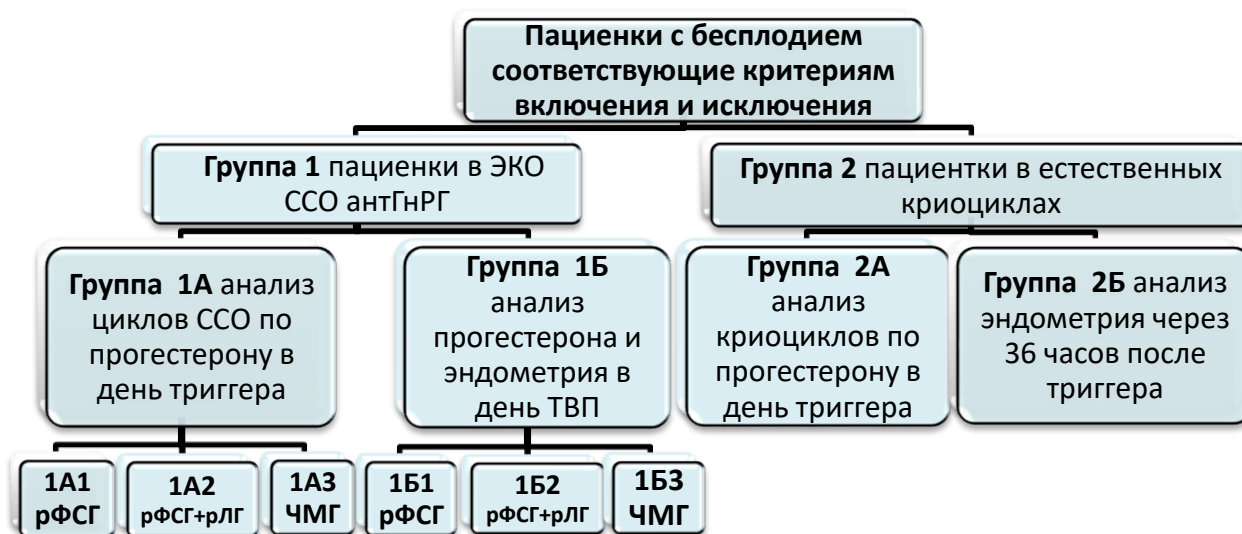


Рисунок 1- Дизайн исследования

2.1.1 Критерии включения

Возраст ≤ 35 лет на момент старта цикла ВРТ, регулярный менструальный цикл 26-35 дней, не более одного установленного факта самопроизвольного прерывания беременности, не более одной безуспешной попытки ЭКО в анамнезе.

У всех пациенток отсутствовали противопоказания для проведения программ ВРТ, а также вынашивания беременности. Каждая пациентка выразила информированное согласие на манипуляции и исследования.

2.1.2 Критерии исключения

Уровень ФСГ выше 9 МЕ/л, распространенные формы наружного генитального эндометриоза, аденомиоз III-IV степени, миома матки 0-2 типов по классификации FIGO, гидросальпинкс, в том числе состояние после нерадикальной оперативной коррекции (сальпингостомии), пороки развития внутренних половых органов, включая состояния после их хирургической коррекции, синехии полости матки, в том числе в анамнезе, выраженная патоспермия у партнера (концентрация меньше 5млн/мл; подвижность менее 10%; морфология ниже 1%), отсутствие blastocyst хорошего качества на момент переноса в полость матки при предыдущей попытке ЭКО.

2.2 Методы исследования

Настоящая работа выполнена на кафедре Акушерства и гинекологии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н. И. Пирогова (руководитель – проф., д.м.н. Доброхотова Ю.Э.). Подбор пациенток произведен в медицинском центре репродукции и генетики Нова клиник (ООО МедИнСервис, гор. Москва) с 2016г по 2019г.

2.2.1 Скрининговое обследование пациентов

Обследование супружеской пары для возможности проведения процедуры ВРТ проведено согласно приказу N107н "О порядке использования

вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению" Министерства здравоохранения РФ от 30 августа 2012г. Дополнительные методы обследования, привлечение к консультированию специалистов других специальностей, в том числе проведение медико-генетического консультирования выполнялось при наличии четких показаний.

2.2.2 Общеклинические методы исследования

При сборе анамнеза особое внимание акцентировано на детальной оценке менструальной функции с момента менархе (возраст менархе и становления менструального цикла, регулярность и характер менструаций), репродуктивном анамнезе пациентки и ее супруга (количество и исходы предыдущих беременностей), наличии указаний на оперативные вмешательства на органах репродуктивной системы, с обязательным анализом выписных эпикризов об объеме и характере вмешательства, его осложнениях, послеоперационном периоде, результатах гистологического и других, представленных пациентами исследований. Кроме того уделено внимание наследственным заболеваниям, соматическому статусу и хроническим соматическим заболеваниям, а также оперативным вмешательствам на других органах.

Проведен анализ ранее выполненных циклов ВРТ у консультируемой пациентки, в частности «свежие» циклы ЭКО и циклы с отсроченным переносом эмбрионов. Детальному анализу подлежали клинические и эмбриологические параметры (выбор гонадотропинов, количество полученных ооцитов и их зрелось, количество эмбрионов высокого качества, перенесенных в полость матки или криоконсервированных).

В рамках гинекологического исследования оценены особенности наружных половых органов, характер оволосения, состояние слизистой влагалища и шейки матки. При бимануальном исследовании внимание уделялось матке и ее

придаткам, в частности размеру, болезненности, подвижности, наличию дополнительных образований.

2.2.3 Специальные методы исследования

Гормональное обследование

Гормональные методы исследования выполнены в ООО «Научно-методический центр клинической лабораторной диагностики Ситилаб», гор. Москва. Концентрации гормонов в сыворотке крови проанализированы с применением иммуноферментных тест-систем «Hoffmann La Roche» на автоматическом анализаторе Elecsys 2010 этой же компании (Швейцария), а также хемилюминесцентных тест-систем «DPC» на анализаторе Immulite (USA).

Гормональный мониторинг цикла ВРТ включал определение уровня прогестерона в день введения триггера овуляции.

Диагностика биохимической беременности произведена методом определения концентрации ХГЧ в венозной крови на 14-й день после эмбриотрансфера, с критической отсечкой концентрации β -субъединицы ХГЧ более 50 МЕ/л.

Гистологическое и иммуногистохимическое исследования эндометрия

Гистологическое и ИГХ исследования эндометрия проведены в лаборатории патоморфологии ООО МЦ ФертиЛаб, гор. Москва. Забор эндометрия выполнен с передней и задней стенок, преимущественно как можно ближе к дну матки с использованием зонда для аспирационной биопсии эндометрия Пайпелль- Pipelle de Cornier («Laboratoire C.C.D.», Франция). Пайпелль- биопсия эндометрия в группе 1Б выполнялась непосредственно после ТВП с целью забора ооцитов. Пайпелль-биопсия эндометрия в группе 2Б выполнялась через 36 часов после введения триггера.

Материалы биоптатов фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина в течение 24 ч. Образцы отбирали по общепринятой стандартной методике и заключали в парафин. Срезы толщиной 3-4 мкм готовили на роторных микротоммах и окрашивали гематоксилином и эозином. Исследование гистологических препаратов выполняли в режиме световой микроскопии при увеличении от х50 до х600.

Гистологическое датирование эндометрия, оценку процента клеток поверхностного эпителия с наличием зрелых пиноподий, ЛИФ (фактор, ингибирующий лейкемию) выполняли в световом микроскопе при увеличении х400 в 5 полях зрения.

Пиноподии оценивали, как избыточные, умеренные и незначительные в зависимости от процента занимаемой ими поверхности эндометрия (более 50%, 20%-50% и менее 20% соответственно). Датирование эндометрия проводили по критериям Noeues.

ИГХ реакции проводили на депарафинированных срезах толщиной 3-4 мкм по общепринятым методикам. Определение стероидных рецепторов осуществляли с использованием мышиных моноклональных антител к эстрогеновым рецепторам (ЭР α) (клон 1D5RTU«DAKO», Дания) и прогестероновым рецепторам (ПР-А) (клон 636RTU«DAKO», Дания). Анализ результатов ИГХ реакций для ЭР α и ПР-А осуществляли с учетом количества окрашенных клеток и интенсивности окраски в железах и строме эндометрия, используя метод гистологического счета H-score по математической формуле: $HS=1a+2b+3c$ (a – процент слабо окрашенных клеток, b–процент умеренно окрашенных клеток, c – процент интенсивно окрашенных клеток; 1,2,3 - интенсивность окрашивания, выраженная в баллах).

Степень интенсивности экспрессии ЭР α и ПР-А оценивали следующим образом: 0-10 баллов – отсутствие экспрессии, 11-100 баллов – слабая экспрессия,

101-200 баллов – умеренная экспрессия, 201-300 баллов – выраженная экспрессия. Кроме того производили расчет коэффициента ПР/ЭР по строке.

Результаты ИГХ реакции для ЛИФ оценивали полуколичественным методом в баллах по общепринятой методике: отсутствие иммуноокрашенных клеток (-) – 0 баллов, менее 5% иммуноокрашенных клеток ($\pm$) – 0,5 баллов, менее 20% иммуноокрашенных клеток (+) – 2 балла, от 20 до 40% окрашенных клеток (++) – 4 балла, более 40% окрашенных клеток (+++) – 6 баллов.

Ультразвуковое исследование органов малого таза

Трансвагинальные ультразвуковые исследования (УЗИ) выполняли с использованием сканера Mindray DC4 (2013г, Mindray Company, Китай), кавитальный полостной датчик 6-10 МГц, в режимах серошкальной эхографии (2D). Исследования проводили на гинекологическом кресле при опорожненном мочевом пузыре с соблюдением правил асептики. Изображения матки и яичников последовательно получали в сагиттальной и поперечной плоскостях. Объем матки и яичников рассчитывали по формуле $0,523abc$, где 0,523- коэффициент для расчета объема круглых тел, а, b, c- взаимно перпендикулярные размеры органа. Ультразвуковое исследование выполняли на 2-3 день менструального цикла, перед началом ССО. В протоколе УЗ исследования выполнялось описание тела и шейки матки с уточнением положения, размеров, формы, эхоструктуры, наличия дополнительных образований и включений; определение яичников с уточнением их расположения, размеров, количества антральных фолликулов, определение и описание дополнительных образований в малом тазу. В процессе УЗ мониторинга ССО оценивали динамику диаметров доминирующих фолликулов и толщины эндометрия.

Клиническую маточную беременность регистрировали при визуализации плодного яйца в полости матки начиная с 20-го дня.

2.3 Этапы программы ВРТ

Протокол ССО и трансвагинальная пункция фолликулов (ТВП)

ССО начиналась во второй-третий день менструального цикла ежедневными подкожными инъекциями гонадотропинов в фиксированной дозе 150МЕ (по ФСГ): GONAL-F® (Follitropin alfa), MERCK SERONO S.p.A. (Италия); PERGOVERIS® (Follitropin alfa + Lutropin alfa), MERCK SERONO S.p.A. (Италия); MENOPUR® (Menotropins), FERRING-LECIVA a.s. (Чешская Республика); MERIONAL® (Menotropins), IBSA Institut Biochimique S.A. (Швейцария). Инъекции гонадотропинов выполнялись, один раз в сутки. С целью профилактики «паразитарного пика ЛГ» использовали антГнРГ по принципу гибкого протокола. Ежедневные подкожные инъекции антГнРГ начинали, когда фолликул достигал диаметра 12,0мм, и продолжали до дня введения ХГЧ. Суточная доза антГнРГ- 0,25мг CETROTIDE® (Cetrorelix), MERCK SERONO S.p.A. (Италия) Когда, по меньшей мере, три фолликула достигали диаметра 17,5мм, под кожу вводили 6500МЕ рекомбинантного ХГЧ (рХГЧ) (OVITRELLE®) MERCK SERONO S.p.A. (Италия). Ооциты были получены через 36 часов. Манипуляция трансвагинальной пункции выполнялась под внутривенным обезболиванием (Diprivan®1,0%, Россия). Для пункции использовали иглы диаметром 16-17G и длиной 330-350 мм, COOK Medical (Австрия).

Эмбриологический этап программы ЭКО/ИКСИ

Инкубация гамет и эмбрионов осуществляли в инкубаторах «PLANER BT37» (США), снабжаемых готовой стандартной газовой смесью (6,0%CO₂, 5,0%O₂, баланс N₂). Преинкубация, оплодотворение ооцитов а также культивирование эмбрионов осуществлено в средах для культивирования «ORIGIO» (Дания).

Оценку степени зрелости ооцитов выполняли по традиционной системе на основании общепринятых критериев. Внимание акцентировали на наличии

морфологических дефектов цитоплазмы (грануляция, вакуолизация), цитоплазматической ориентации ядра внутри клетки. По морфологическим признакам ооциты были разделены на зрелые, незрелые и дегенеративные.

Оплодотворение выполняли методом ЭКО, а в случае мужского бесплодия дополнялось методом ИКСИ. Оплодотворение полученных ооцитов производили через 3-6 часов после пункции. При проведении ЭКО сперматозоиды и яйцеклетки инкубировали вместе в соотношении 50000:1 в среде для оплодотворения в течение 16-18 часов. При оплодотворении методом ИКСИ использовали только живой сперматозоид. Инъекцию сперматозоида выполняли под большим увеличением (x400) инвертированного микроскопа «OLYMPUS». Свободная работа с гаметам обеспечивалась микроманипуляционной гидравлической техникой «NARISHIGE SCIENTIFIC INST. LAB.» (Япония).

Факт оплодотворения устанавливали при регистрации двух пронуклеусов. Оплодотворение расценивали как нормальное в случае наличия двух пронуклеусов через 14-16 часов после инсеминации или инъекции. При отсутствии двух пронуклеусов оплодотворение считали несостоявшимся, а при наличии одного или более двух пронуклеусов – аномальным. Эмбрионы культивировали 5-6 суток до стадии бластоцисты. Этапы формирования бластоцисты характеризовали, как стадии расправленности от Grade 1- ранняя бластоциста, до Grade 6 полностью вылупившаяся из *zonae pellucidae* (зоны пеллюцида) бластоциста. Оценка качества бластоцисты устанавливалась по характеристикам внутренней клеточной массы (ВКМ) и трофобластической оболочки (ТЭ). Большую и компактную ВКМ оценивается индексом «А», а недифференцирующуюся ВКМ- «С». Если ТЭ представлена большим количеством равных клеток, окружающих бластоцель, то бластоцисте присваивали индекс «А», в том случае, если клетки ТЭ имели различный размер и не формировали целостный покров- «С». К эмбрионам хорошего качества относили бластоцисты, соответственно не ниже Grade 1 и индексов «В» по ВКМ и ТЭ.

Отбор эмбриона и эмбриотрансфер

Отбор эмбрионов для переноса в полость матки осуществлен согласно системе морфологической классификации. При этом учитывали количество клеток на каждые сутки культивирования эмбриона, равномерность роста, степень фрагментации. В целом при выборе эмбриона для переноса придерживались стратегии переноса одной бластоцисты наивысшего качества.

При эмбриотрансфере применяли стандартную технику, с обязательным соблюдением правил: строгая стерильность всех расходных материалов и оборудования, контактирующих с биологическими тканями и эмбрионами; контроль эмбриотоксичности материалов, контактирующих с эмбрионами; контроль оптимальной температуры, осмолярности, Ph и газового состава среды с эмбрионами; максимальное ускорение этапов работы с эмбрионами. Для переноса эмбрионов использовали двухкомпонентные катетеры The Tulip (Gynetics Medical Products N.V., Бельгия). Контроль успешности манипуляции производился путем промывания катетеров под микроскопом, а так же ультразвукового сканирования в процессе или после процедуры эмбриотрансфера.

Криоконсервация и размораживание эмбриона

Криоконсервации подвергали эмбрионы на 5-6 сутки и стадии бластоцисты не ниже Grade 1 и индекса «В» по ТЭ и ВКМ. Криоконсервацию и размораживание эмбрионов выполняли по методу витрификации с использованием растворов для витрификации и размораживания фирмы «Kitazato corporation» (VT601/VT602), метод «Cryotop- открытая система» (Япония).

Протокол переноса размороженного эмбриона

Криоперенос одного эмбриона осуществлялся в модифицированном естественном менструальном цикле с программированием овуляции путем подкожного введения триггера финального созревания единственного доминирующего фолликула препаратом рХГЧ (OVITRELLE®) MERCK SERONO S.p.A. (Италия) в дозе 6500МЕ, при достижении им диаметра не менее 17,5 мм.

Манипуляция доставки эмбриона в полость матки (эмбриотрансфер) выполнялась на фоне гормональной поддержки лютеиновой фазы цикла прогестероном Progesterone (UTROGESTAN®) BESINS HEALTHCARE SA (Бельгия), 600мг в сутки, вагинально. Клиническая беременность определялась по наличию плодного яйца в полости матки.

2.4 Статистическая обработка результатов исследования

Статистическая обработка полученных результатов произведена на персональном компьютере с использованием электронных таблиц «Microsoft Excel» и программы «Statistica» v. 13.3, StatSoft Inc. (США).

Для всех количественных данных (анамнестических, клинических, лабораторных и инструментальных) применен метод вариационной статистики. При анализе каждого количественного параметра оценено среднее значение (M), среднеквадратическое отклонение (δ), ошибка среднего (m), медиана (Me). При анализе качественных данных определена частота (%).

Статистически значимыми считались отличия при $p < 0,05$ (95%-й уровень значимости) и при $p < 0,01$ (99%-й уровень значимости).

Проводился дисперсионный анализ, высчитывался критерий Фишера. Определялась чувствительность и специфичность различных методов диагностики, ROC-анализ.

Для выявления связи между изучаемыми показателями использован корреляционный анализ с вычислением коэффициента корреляции Спирмена (R).

3. Глава 3. Результаты исследования

Средний возраст пациенток в группах был сопоставим и составил в 1 группе $30,9 \pm 3,0$ лет (от 26 до 35 лет), во 2 группе – $30,1 \pm 3,3$ лет (от 23 до 35 лет).

В исследование не включались пациенты, у которых были обнаружены отклонения по результатам скринингового обследования супружеской пары.

При сборе анамнеза обращали на себя внимание отклонения в менструальной функции при сравнении с женщинами в популяции, что и объясняет наличие возможных эндокринных причин, приведших к бесплодию у данной категории обследованных. Однако, во 2 группе, где программа ЭКО осуществлялась в естественном цикле, данные изменения отмечались реже в сравнении с пациентками 1 группы. Так средний возраст наступления менархе в 1 группе составил $14,5 \pm 1,5$ лет (от 12 до 17 лет), а во 2 группе $12,5 \pm 1,3$ лет (от 10 до 15 лет). Продолжительность менструации и длительность менструального цикла составила в 1 группе $3,1 \pm 0,9$ дней (от 2 до 5 дней) и $32,3 \pm 2,3$ дней (от 28 до 35 дней), а у пациенток 2 группы: $4,5 \pm 1,0$ дней (от 3 до 6 дней) и $29,9 \pm 2,1$ дней (от 26 до 34 дней) соответственно.

При дальнейшем сборе анамнеза было выявлено, что у 45 (18,3%) пациенток 1 группы был в анамнезе самопроизвольный аборт на малом сроке беременности, во 2 группе у 20 (16,5%) пациенток. Данным пациенткам проводилось индуцированное медикаментозное прерывание данной беременности или вакуумная аспирация содержимого полости матки без осложнений.

При сборе гинекологического анамнеза значимых отличий у пациенток 1 и 2 групп обнаружено не было. Так, аденомиоз I-II степени был обнаружен у 44 (17,9%) пациенток 1 группы и у 22 (18,2%) пациенток 2 группы. Миома матки 3-7 типов по классификации FIGO, с узлами до 3 см, не требующая оперативного лечения, наблюдалась у 31 (12,6%) пациентки 1 группы и 21 (17,4%) пациентки 2 группы. У 69 (28,1%) пациенток 1 группы в анамнезе был хронический двусторонний сальпингоофорит, во 2 группе данное заболевание было у 40

(33,1%) женщин. То есть достоверных отличий по наличию гинекологических заболеваний у пациенток 1 и 2 групп выявлено не было (таблица 1).

Таблица 1- Частота гинекологических заболеваний у пациенток 1 и 2 групп

Гинекологические заболевания	1 группа (246 пациенток)	2 группа (121) пациентки)
Аденомиоз 1-2 степени	44 (17,9%)	22 (18,2%)
Миома матки	31 (12,6%)	21 (17,4%)
Хронический сальпингоофорит	69 (28,1%)	40 (33,1%)

При анализе эндокринных нарушений были получены следующие результаты: у 13 (5,2%) пациенток 1 группы была выявлена функциональная надпочечниковая гиперандрогения (Врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН), неклассическая форма), у 11 (4,5%) женщин - СПКЯ. У пациенток 2 группы ВДКН была у 5 (4,1%) пациенток, и у 4 (3,3%) пациенток – Синдром поликистозных яичников (СПКЯ). Из исследования исключены пациентки с эндокринным бесплодием, которое сопровождалось повышением уровня ФСГ (гипергонадотропный гипогонадизм).

Мужской фактор бесплодия присутствовал у 58 (23,6%) супружеских пар 1 группы и у 32 (26,4%) пар 2 группы.

Первичное бесплодие было у 114 (46,3%) пациенток 1 группы, и у 52 (43,0%) пациенток 2 группы. Вторичное бесплодие наблюдалось у 71 (28,9%) пациентки 1 группы, и у 36 (29,8%) пациенток 2 группы.

Некоторым пациенткам проводилось оперативное вмешательство в объеме диагностической лапароскопии, хромосальпингоскопии, гистероскопии для исключения органических заболеваний и трубно-перитонеального фактора

бесплодия. В 1 группе 81 (32,9%) пациентка подверглись данному оперативному вмешательству, во 2 группе 47 (38,8%) пациенток. По наличию сопутствующих экстрагенитальных заболеваний у пациенток обеих групп выраженных отличий не было.

Анализируя полученные данные, обращает на себя внимание тот факт, что эндокринное бесплодие в 1 группе встречалось не намного чаще в сравнении с пациентками 2 группы. Так СПКЯ и ВДКН (неклассическая форма) чаще наблюдались у пациенток 1 группы. А воспалительные заболевания органов малого таза в анамнезе, встречались чаще у пациенток 2 группы, что и объясняет большую частоту проведения оперативного вмешательства. Однако отличия недостоверные.

При проведении физикального осмотра каких-либо особенностей выявлено не было. Все пациентки имели нормостеническое телосложение. У некоторых пациенток обращал на себя внимание гирсутизм, степень которого оценивалась по шкале Ферримана-Галвея (рисунок 2).

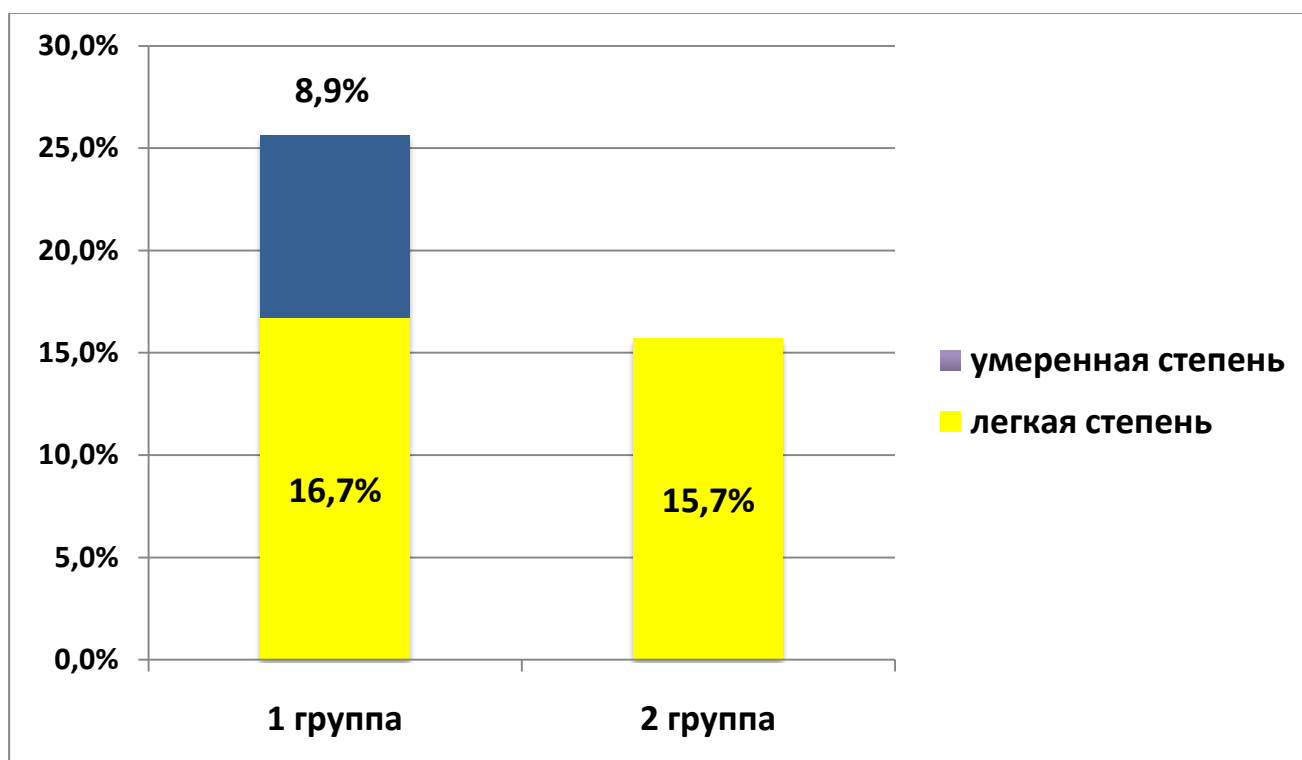


Рисунок 2- Частота встречаемости и степень выраженности гирсутизма у пациенток 1 и 2 групп

В 1 группе у 41 (16,7%) пациентки был выявлен гирсутизм легкой степени выраженности, у 22 (8,9%) – средней степени. Во 2 группе у 19 (15,7%) женщин был выявлен гирсутизм легкой степени выраженности. Данное соотношение свидетельствует о том, что у пациенток 1 группы чаще наблюдались гормональные изменения, которые коррелировали с нарушениями менструального цикла и частотой встречаемости эндокринного фактора в структуре бесплодия.

Результаты лабораторного обследования на определение уровня гормонов крови у пациенток на 2-5 дни менструального цикла представлены в таблице 2.

Таблица 2- Уровень гормонов в крови у обследуемых пациенток 1 и 2 групп

Гормоны (интервал нормы)	1 группа (246 пациентки)	2 группа (121 пациентки)
ЛГ (2,4-12,6мМЕ/мл)	14,8±5,0	8,8±3,1
ФСГ (3,0-9мМЕ/мл)	5,8±1,4	5,2±1,0
Е2 (12,5-166пг/мл)	85,8±33,8	99,0±28,4
АМГ (1,0-5,5нг/мл)	5,1±1,3	4,5±1,4
Прл (4,79-29,9нг/мл)	19,2±5,4	15,5±5,6
Тестостерон (0,084-0,481нг/мл)	0,4±0,2	0,3±0,1
ТТГ (0,44-3,63 мкМЕ/мл)	2,1±0,9	2,8±0,8
Т4св (0,97-1,58нг/дл)	1,2±0,2	1,1±0,2
Кортизол (6,2-19,9мкг/дл)	12,0±4,4	11,6±4,4
17-ОПГ (1,28-4,83нмоль/л)	6,1±2,8	5,6±2,87

Примечание: Е2 (Эстрадиол); АМГ (Антимюллеров гормон); Прл (Пролактин); ТТГ (Тиреотропный гормон); Т4св (Т4 свободный) 17-ОПГ (17-оксипргестерон)

У пациенток обследованных групп результаты гормонов были сопоставимы. У больных 1 группы уровень ФСГ колебался от 3,4 до 8,7 мМЕ/мл, у пациентов 2 группы от 5,1 до 7,2 мМЕ/мл. Уровень ЛГ в 1 группе был от 11,8 до 18,37 мМЕ/мл, во 2 группе от 8,8 до 16,57 мМЕ/мл. Более высокие цифры ЛГ могут быть обусловлены тем, что частота встречаемости СПКЯ у пациенток 1 группы более, чем в 4 раза выше в сравнении с пациентками 2 группы.

То же касается и уровней тестостерона и АМГ в группах. У пациенток 1 группы уровень тестостерона колебался от 0,1 до 0,8 нг/мл, у пациенток 2 группы – от 0,1 до 0,6 нг/мл; у пациенток 1 группы уровень АМГ был от 2,5 до 7,1 нг/мл, у пациенток 2 группы – от 1,7 до 6,3 нг/мл, что, возможно, связано с частотой встречаемости СПКЯ у пациенток 1 группы.

Одной из основных задач данного исследования явилось проведение сравнительного анализа уровня прогестерона в группах обследуемых, мы проводили определение его уровня в крови в день введения триггера овуляции у пациенток, которым проводили стимуляцию суперовуляции, и пациенткам, за которыми наблюдали в естественных циклах. При использовании методов статистической обработки при определении уровня прогестерона у пациенток разных групп мы определяли среднее значение со стандартной ошибкой с определением доверительного интервала (95%) [Рисунок 3].

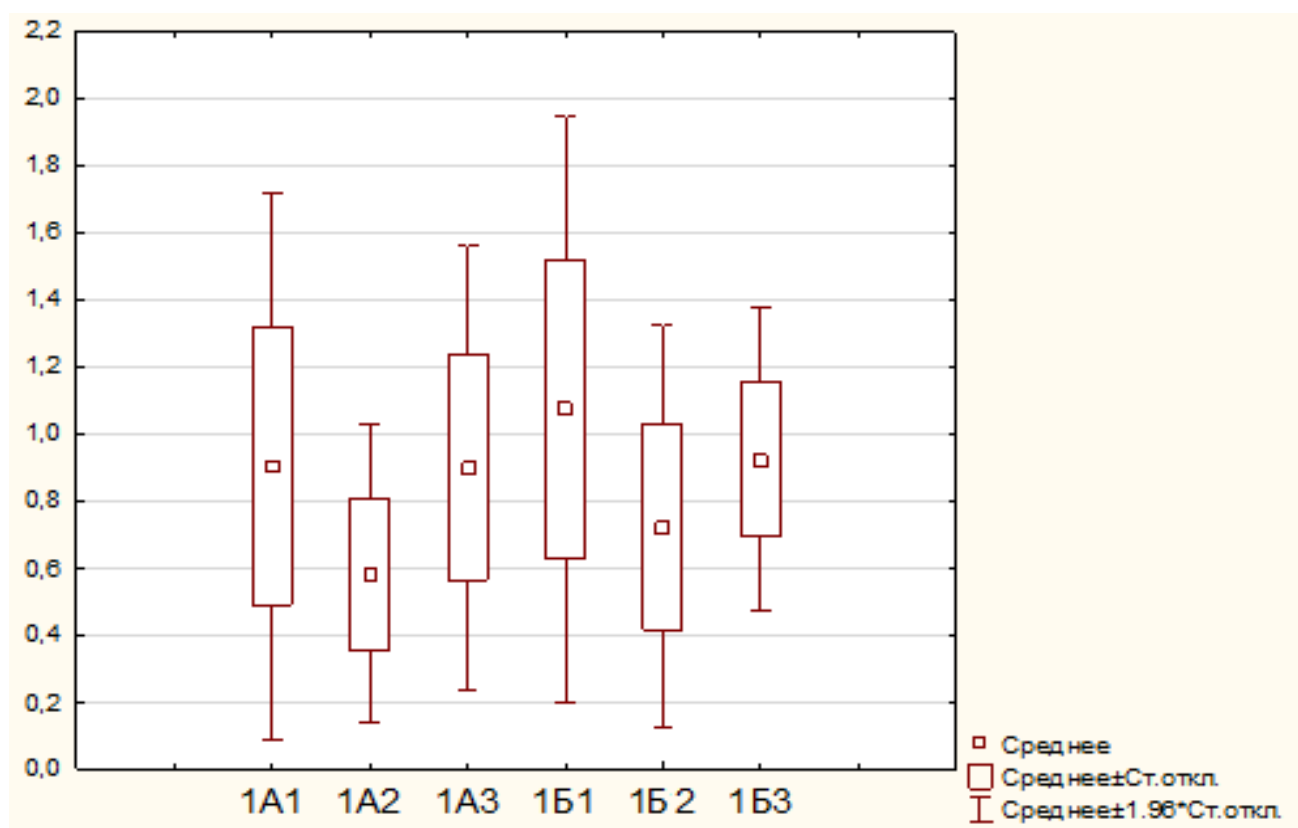


Рисунок 3- Сравнительный анализ уровня прогестерона в группах 1A1, 1A2, 1A3, 1B1, 1B2, 1B3

В группе пациенток 1А1, которым проводили стимуляцию суперовуляции с использованием рФСГ, уровень прогестерона составил 0,9 нг/мл (95% ДИ 0,8 - 1,04) и колебался от 0,4 до 1,9 нг/мл. В группе женщин 1А2, у которых использовали сочетание рФСГ и рЛГ, уровень прогестерона в крови в день введения триггера составил 0,6 нг/мл (95% ДИ 0,5 – 0,6) колебался от 0,3 до 1,5 нг/мл. В группе пациенток 1А3, у которых применяли ЧМГ, уровень прогестерона в крови составил 0,9 нг/мл (95% ДИ 0,8 – 1,0), колебался от 0,6 до 1,8 нг/мл. Надо отметить, что наблюдалась достоверная разница между показателями прогестерона в крови у пациенток, у которых использовали рЛГ по сравнению с другими группами.

В группе пациенток 1Б, где эмбриотрансфер не осуществлялся, наблюдалась та же тенденция, уровень прогестерона в крови достоверно ниже отмечался у пациенток 1Б2 группы, где с целью проведения стимуляции суперовуляции использовался рЛГ. У женщин 1Б1 группы, где использовали рФСГ, уровень прогестерона составил 1,0 нг/мл (95% ДИ 0,9 – 1,2), колебался от 0,4 до 2,1 нг/мл. У пациенток 1Б2 группы, где использовали рЛГ, уровень прогестерона был равен 0,7 нг/мл (95% ДИ 0,6 – 0,8), колебался от 0,3 до 1,6 нг/мл. В группе 1Б3 группы, у которых использовали ЧМГ, уровень прогестерона составил 0,9 нг/мл (95% ДИ 0,8 – 1,0), колебался от 0,6 до 1,7 нг/мл.

При проведении сравнительного анализа оказалось, что достоверно ниже уровень прогестерона был в группах 1А2 и 1Б2, где использовался препарат рФСГ и рЛГ, по сравнению с другими группами, где проводилась стимуляция суперовуляции препаратами рФСГ и ЧМГ.

У пациенток 2 группы, за которыми вели наблюдение в естественных циклах, уровень прогестерона был равен: в 2А группе 0,7 нг/мл (95% ДИ 0,6 – 0,7), колебался от 0,4 до 2,1 нг/мл, и в 2Б группе - 0,8 нг/мл (95% ДИ 0,7 – 0,9), колебался от 0,4 до 2,2 нг/мл (рисунок 4).

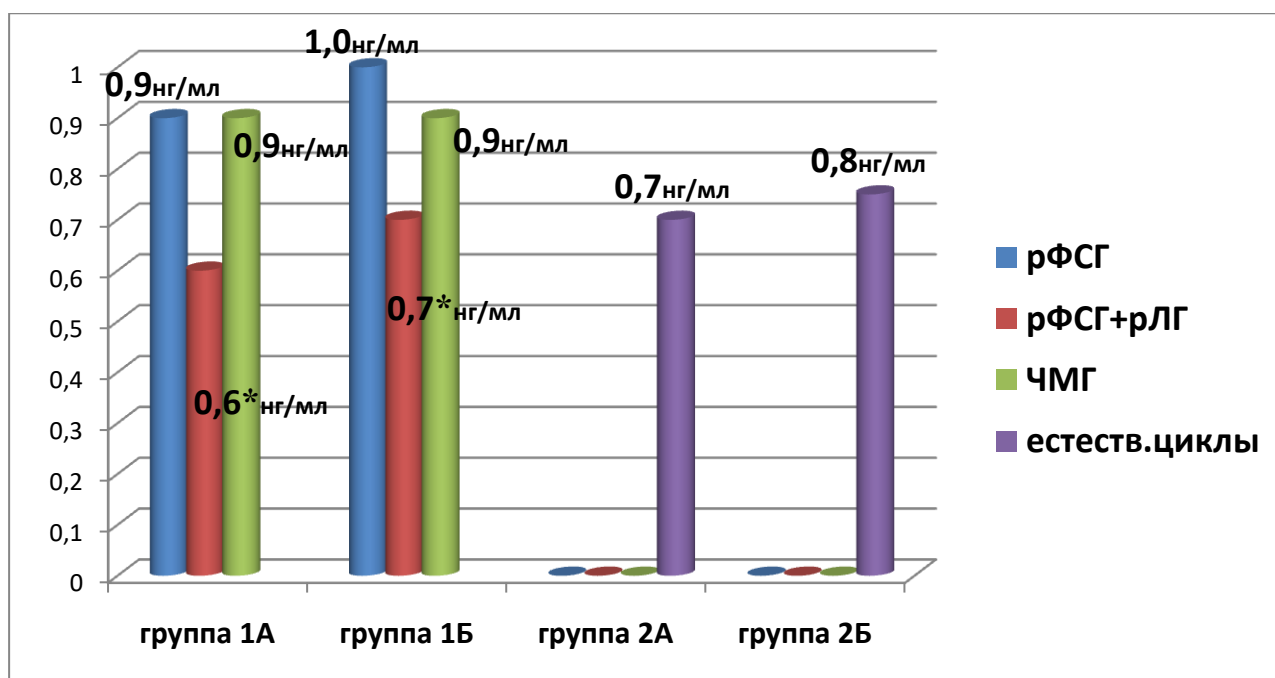


Рисунок 4 - Сравнительный анализ уровня прогестерона в группах

Примечание: * – $p < 0,01$ в сравнении с группами, где использовали рФСГ и ЧМГ

По данным различных авторов [51, 68, 97] успешность проведения ЭКО определялась пороговым значением уровня прогестерона от 1,0 нг/мл до 1,5 нг/мл. В нашем исследовании мы попытались выявить оптимальный пороговый уровень прогестерона, при котором частота наступления беременности будет высокой.

Оказалось, что относительный риск, то есть вероятность наступления беременности при пороговом значении прогестерона 1,5 нг/мл равен 1,4. При пороговом значении уровня прогестерона 1,2 нг/мл относительный риск (RR) был равен 9,3. При пороговом значении прогестерона 1,0 нг/мл – $RR=4,5$. То есть частота наступления беременности при пороговом значении прогестерона 1,2 нг/мл в нашем исследовании была значительно выше, чем при уровне прогестерона 1,5 нг/мл и 1,0 нг/мл.

Чувствительность метода определения уровня прогестерона в прогнозировании наступления беременности при пороговом значении 1,5 нг/мл

равна 58,3%, специфичность – 50,0%. При определении тех же характеристик при пороговом уровне прогестерона 1,2 нг/мл было выявлено, что чувствительность равна 90,3%, специфичность – 60,7%. При пороговом значении прогестерона 1,0 нг/мл чувствительность – 81,8%, специфичность 58,4%. В связи с полученными результатами в нашем исследовании мы все расчеты проводили, исходя из порогового значения уровня прогестерона 1,2 нг/мл (таблица 3).

Таблица 3- Эффективность применения метода определения прогестерона в зависимости от уровня его порогового значения

Уровень прогестерона	Чувствительность %	Специфичность %	RR
менее 1,5нг/мл	58,3	50,0	1,4
менее 1,2нг/мл	90,3	60,7	9,3
менее 1,0нг/мл	81,8	58,4	4,5

В ходе исследования было выявлено, что превышение уровня прогестерона более 1,2 нг/мл в протоколе ССО с антГнРГ ЭКО наблюдалось у 52 (21,1%) пациенток. Так, повышение уровня прогестерона в крови выше 1,2 нг/мл у пациенток 1А группы, где осуществлялся эмбриотрансфер, наблюдалось у 28 (20,5%) пациенток (в 1А1 группе, где использовался рФСГ – у 12 (8,8%) пациенток из 136 женщин 1А группы, в 1А2 группе, где использовали комбинацию рФСГ и рЛГ у 4 (2,9%) пациенток, в группе 1А3, где применяли ЧМГ – у 12 (8,8%) пациенток). При анализе полученных данных, обращает на себя внимание тот факт, что при использовании рЛГ повышение уровня прогестерона выше порогового 1,2 нг/мл наблюдалось в 3 раза реже, чем в других группах (уровень значимости $p < 0,05$) (рисунок 5).

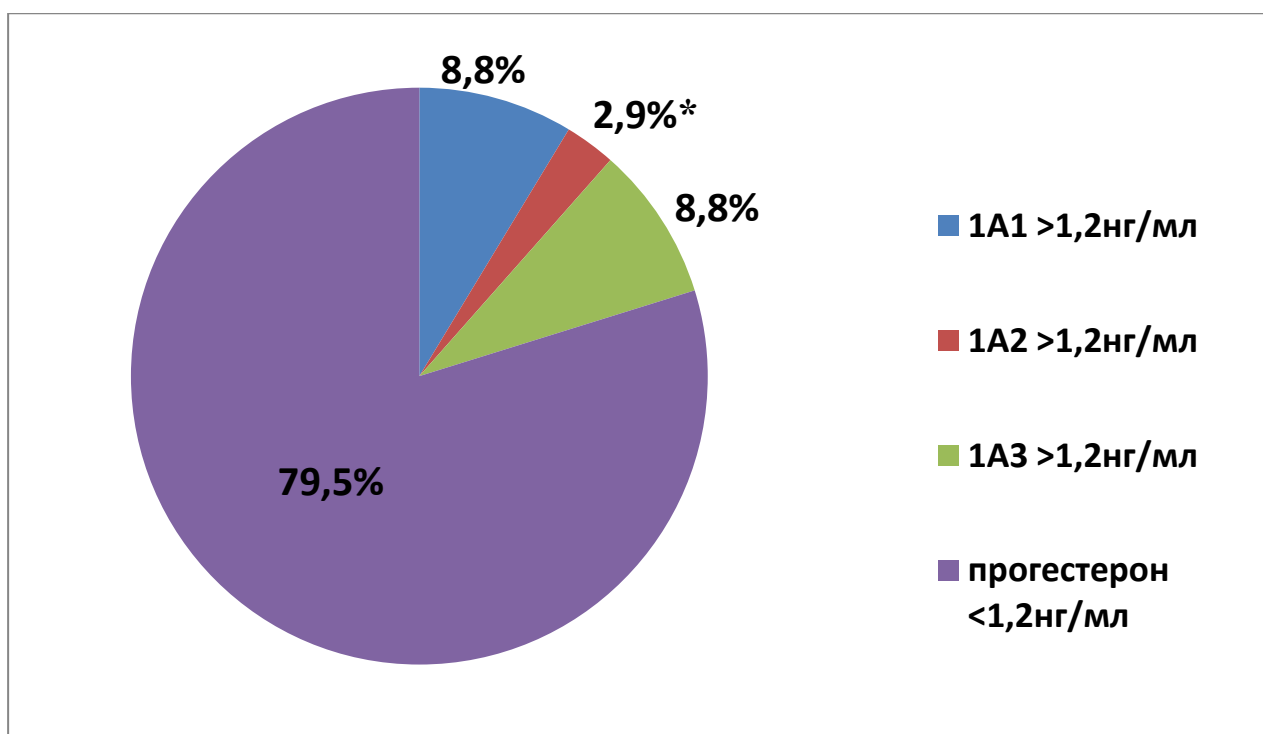


Рисунок 5- Уровень прогестерона относительно порогового значения 1,2 нг/мл у пациенток 1А группы

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с другими группами

Что касается группы 1Б, то здесь наблюдалась схожая тенденция. Всего у 24 пациенток наблюдалось повышение уровня прогестерона выше 1,2 нг/мл- 21,8% от числа пациенток 1Б группы. В 1Б1 группе, где использовался рФСГ, повышение уровня прогестерона выше порогового наблюдалось у 10 (9,1%) пациенток, в 1Б2 группе, где использовали комбинацию рФСГ и рЛГ - у 3 (2,7%) пациенток. В группе 1Б3, где применяли ЧМГ – у 11 (10,0%) пациенток. При использовании рЛГ повышение уровня прогестерона сверх порогового 1,2 нг/мл наблюдалось так же в 3 раза реже, чем в других группах (уровень значимости $p < 0,05$) [рисунок 6].

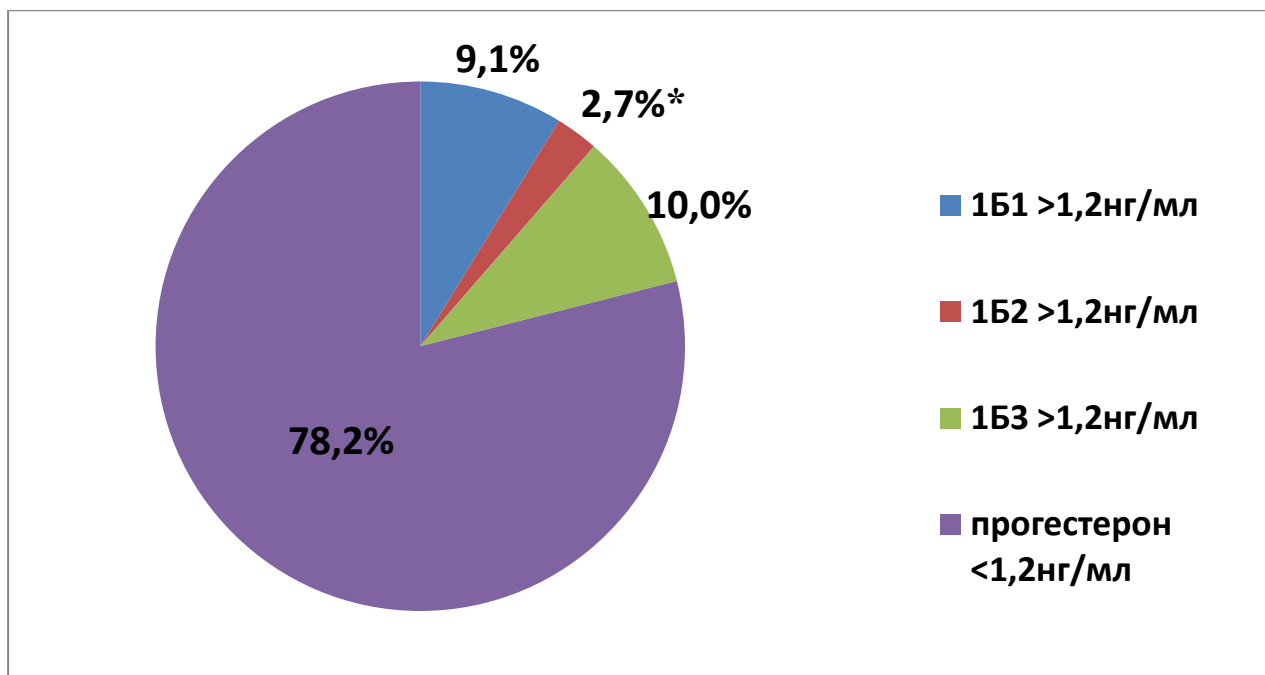


Рисунок 6- Уровень прогестерона относительно порогового значения 1,2 нг/мл у пациенток 1Б группы

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с другими группами

Во второй группе в естественных циклах переноса оттаянного эмбриона на день триггирования овуляции частота повышения уровня прогестерона более 1,2 нг/мл наблюдалось у 10 (8,3%) пациенток.

В группах 1Б и 2Б, где не осуществлялся эмбриотрансфер, через 36 часов после введения триггера проводилась биопсия эндометрия.

Далее мы проводили морфологическую и иммуногистохимическую оценку рецептивности эндометрия у женщин с проведенной стимуляцией овуляции (группа 1Б) и у женщин в естественных циклах после овуляции (группа 2Б) с определением количества клеток поверхностного эпителия с наличием зрелых пиноподий, изучением характера экспрессии рецепторов к стероидным гормонам и ЛИФ.

У 5 (4,5%) пациенток 1Б группы был выявлен феномен преждевременной лютеинизации, при этом уровень прогестерона в крови колебался от 1,5 до 2,0

нг/мл. У пациенток 2Б группы данный феномен наблюдался у 2 (3,7%) пациенток, при этом уровень прогестерона в крови колебался от 1,3 до 2,2 нг/мл.

В период овуляции у всех пациенток отмечалась адекватная ультразвуковая картина эндометрия, соответствующая овуляторному периоду.

В 1Б группе пациенток, где проводилась стимуляция овуляции, при морфологическом исследовании эндометрия было обнаружено, что у 84 (76,4%) пациенток определяется ранняя стадия секреции, а у 26 (23,6%) – средняя стадия секреции. Во 2Б группе пациенток, которым проводилось морфологическое исследование эндометрия в естественном цикле, у 47 (87,0%) пациенток определялась ранняя стадия секреции, а у 7 (13,0%) пациенток – средняя стадия секреции (рисунок 7).

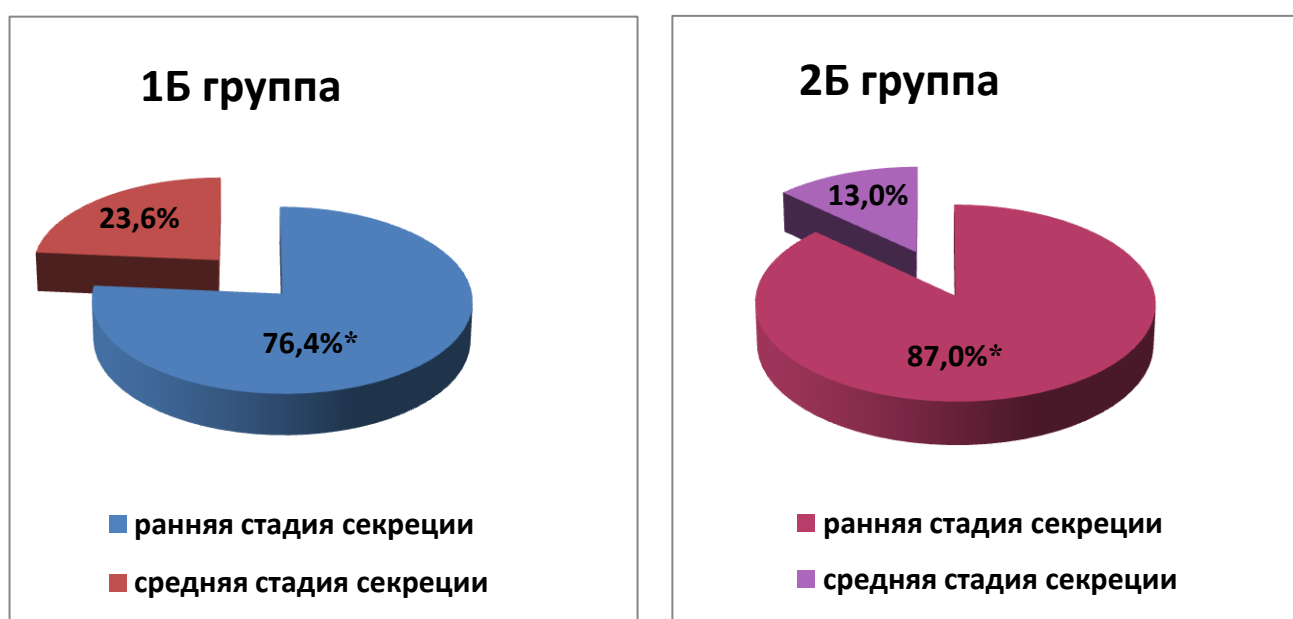


Рисунок 7- Степень выраженности созревания эндометрия в период овуляции у пациенток 1Б и 2Б групп

Примечание: * – $p < 0,01$ в сравнении с частотой встречаемости средней стадии секреции эндометрия

Таким образом, несмотря на то, что у пациенток 1Б группы не наблюдалось достоверно значимых признаков преждевременного созревания эндометрия, состояние эндометрия более часто соответствовало «идеальному окну имплантации» у пациенток 2Б группы в естественных циклах.

При проведении сравнительного анализа между пациентками 1Б группы в зависимости от препарата, назначенного для ССО, обращало на себя внимание, что наиболее благоприятные результаты для имплантации были получены у пациенток 1Б2 группы, где использовали рЛГ, что оказалось достоверно выше (уровень значимости $p < 0,001$) [рисунок 8].

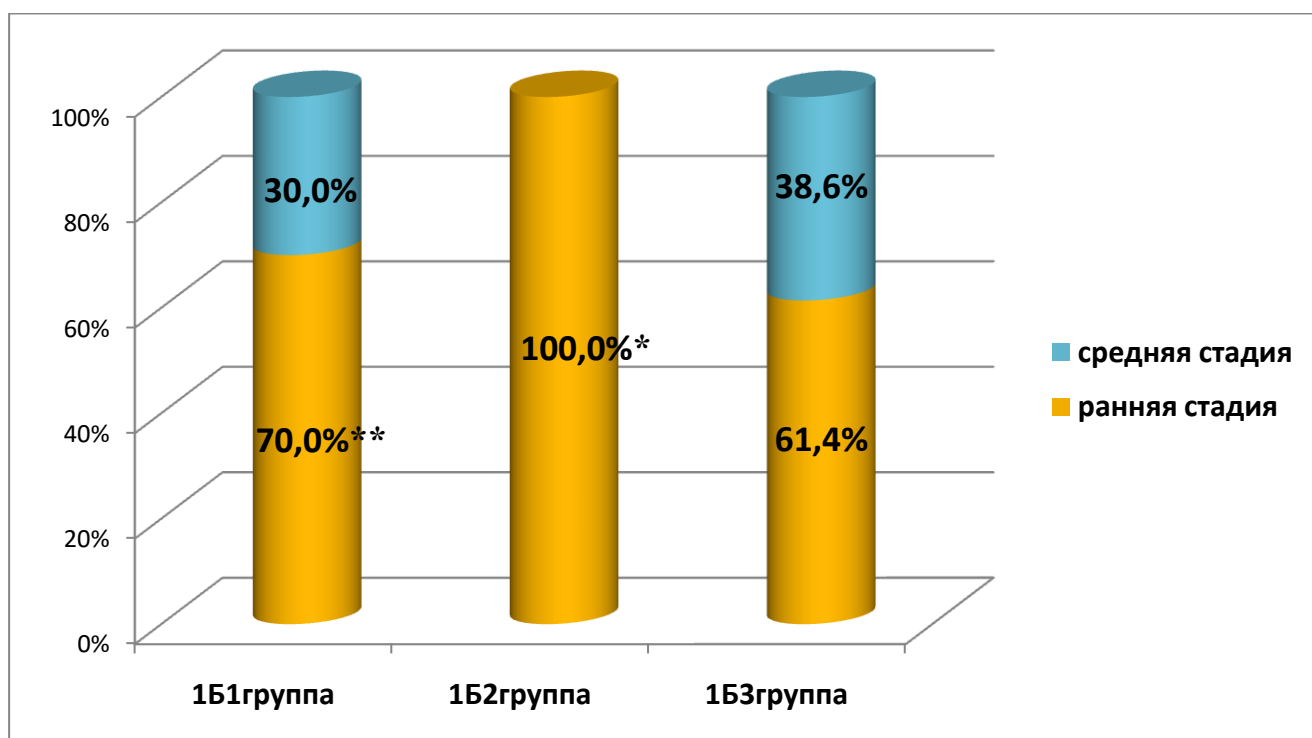


Рисунок 8- Частота встречаемости разной степени созревания эндометрия у пациенток 1Б и 2Б групп

Примечание: * – $p < 0,01$ в сравнении с частотой встречаемости ранней стадии секреции эндометрия в сравнении с другими группами

** – $p < 0,05$ в сравнении с частотой встречаемости средней стадии секреции эндометрия в своей группе

Так у женщин 1Б1 группы, где для стимуляции овуляции использовали рФСГ, у 21 (70,0%) пациентки наблюдалась ранняя стадия секреции, что достоверно выше по сравнению с 9 (30,0%) женщинами, у которых в эндометрии обнаружилась средняя стадия секреции.

У пациенток 1Б2 группы, где применяли рЛГ, у всех 36 (100,0%) женщин отмечалась ранняя стадия секреции.

У пациенток 1Б3 группы, где использовали ЧМГ, у 27 (61,4%) пациенток отмечалась ранняя стадия секреции, у 17 (38,6%) женщин - средняя стадия секреции.

Анализируя полученные результаты, было выявлено, что в ходе нашего исследования между уровнем прогестерона в крови в период овуляции и частотой встречаемости преждевременного созревания эндометрия обнаружена слабая корреляционная связь, что не дало нам возможности однозначно утверждать об опережающем влиянии повышенного уровня прогестерона на степень созревания эндометрия и частоту наступления беременности.

При изучении поверхностного эпителия и оценке процента клеток с наличием зрелых пиноподий были получены следующие результаты: у пациенток 1Б группы были обнаружены клетки поверхностного эпителия в 18,2%, у пациенток 2Б группы в 14,8%. При изучении частоты встречаемости поверхностных клеток со зрелыми пиноподиями в группах пациенток в зависимости от используемых препаратов при проведении стимуляции овуляции, было выявлено, что наименьший процент поверхностных клеток с пиноподиями наблюдался у пациенток 1Б2 группы 19,4%, что указывало на вероятность преждевременного созревания эндометрия в меньшей степени, чем в 1Б1 и 1Б3 группах, где данный показатель составил 16,7% и 18,2% соответственно, где чаще наблюдалось повышение уровня прогестерона в крови сверх порогового значения и чаще наблюдалась средняя стадия секреции эндометрия. Однако полученные данные не были достоверными (рисунок 9).

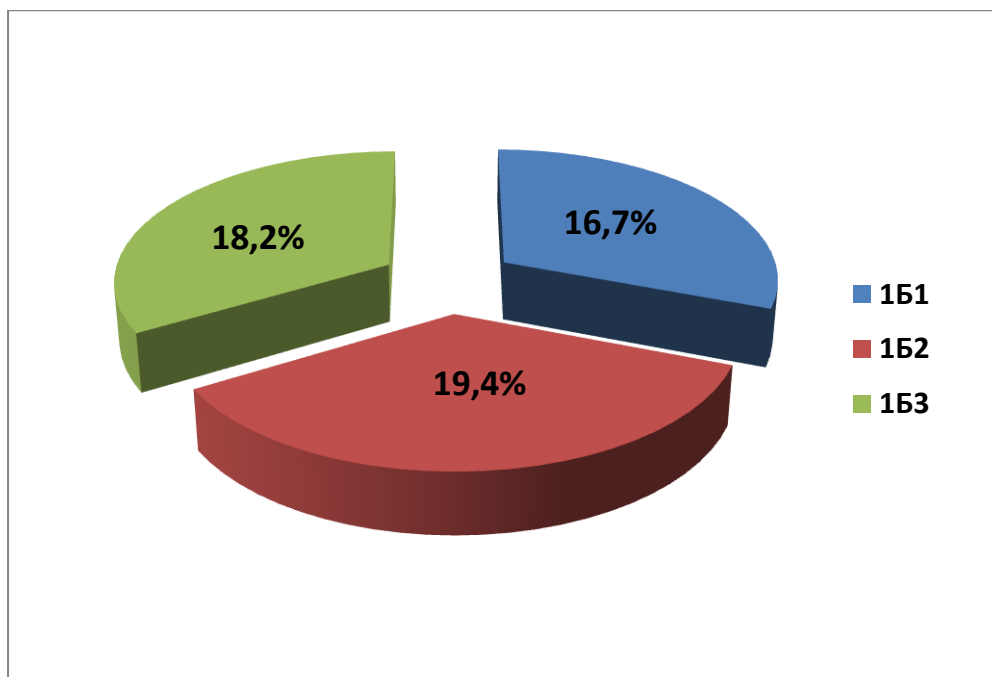


Рисунок 9- Частота встречаемости поверхностных клеток со зрелыми пиноподиями у пациенток 1Б группы в зависимости от используемых препаратов

Так же известно, что повышение уровня преовуляторного прогестерона в индуцированном цикле негативно сказывается на имплантационных свойствах эндометрия, что выражается в снижении качества рецепторного аппарата за счет повышения отношения ПР/ЭР, снижения количества ЭР [42,79].

В ходе нашего исследования были получены следующие результаты: при иммуногистохимическом исследовании эндометрия у пациенток 1Б группы обнаружено, что содержание ПР в железах и строме соответствует умеренной экспрессии и равно $116 \pm 54,2\%$ и $183 \pm 43,0\%$ соответственно. У пациенток 2Б группы, у которых забор эндометрия осуществлялся в естественном цикле, содержание ПР в железах составил $121 \pm 48,0\%$ и строме $184 \pm 37,9\%$. Надо отметить, что при высоком содержании прогестерона в крови данные показатели были несколько ниже и соответствовали $102 \pm 66,4\%$ и $172 \pm 57,2\%$ соответственно, но достоверных отличий выявлено не было (рисунок 10).

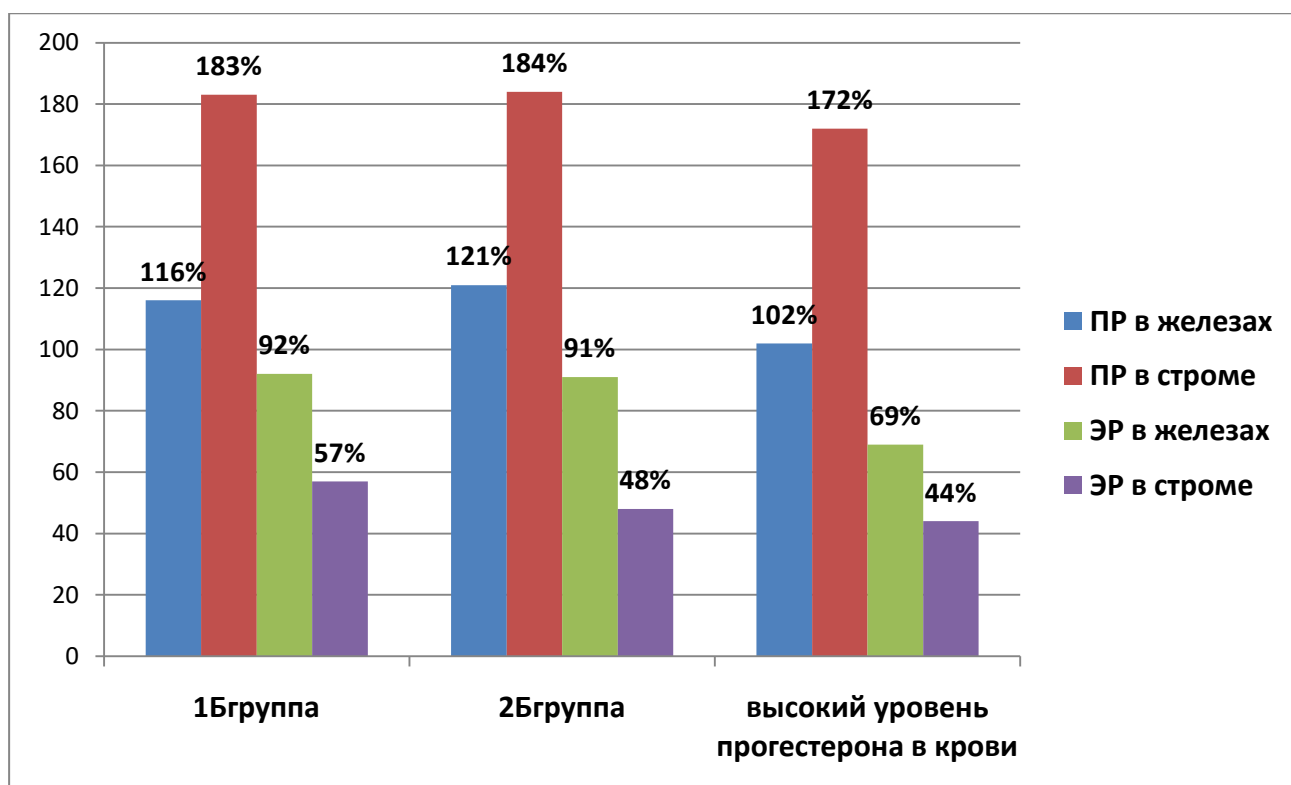


Рисунок 10- Экспрессия ПР и ЭР в железах и строме при проведении иммуногистохимического анализа эндометрия в день введения триггера овуляции у пациенток 1Б и 2Б групп

При изучении экспрессии ЭР было обнаружено, что в железах и строме уровень ЭР составил $92 \pm 51,2\%$ и $57 \pm 42,3\%$, что соответствует слабой экспрессии. У пациенток 2Б группы, у которых забор эндометрия осуществлялся в естественном цикле, содержание ЭР в железах составил $91 \pm 47,8\%$ и строме $48 \pm 34,9\%$. У пациенток с высоким содержанием прогестерона в крови данные цифры были равны $69 \pm 36,2\%$ и $44 \pm 37,9\%$ соответственно.

Достоверных отличий в экспрессии ПР и ЭР в железах и строме эндометрия у пациенток 1Б группы в зависимости от используемого препарата при проведении стимуляции овуляции выявлено не было.

Анализируя результаты, представленные на рисунке 10, между показателями ПР и ЭР в железах и строме при проведении

иммуногистохимического анализа эндометрия в группах 1Б и 2Б достоверных отличий нет. Есть незначительное снижение экспрессии ПР и ЭР в железах и строме у пациенток, у которых отмечалось повышение уровня прогестерона в крови выше порогового, но достоверных отличий выявлено не было.

Как было указано выше, определение ЛИФ в эндометрии является важным прогностическим фактором у пациенток с бесплодием. Для данного контингента больных характерно нарушение экспрессии ЛИФ [7].

В 1Б группе пациенток, где проводилась стимуляция овуляции, экспрессия ЛИФ была: низкой (менее 2 баллов) у 28 (25,5%) пациенток, умеренной (менее 4 баллов) – у 34 (30,9%) пациенток, высокой (выше 4 баллов) – у 48 (43,6%) пациенток. Принципиальных отличий у пациенток 1Б группы в зависимости от используемого препарата при проведении стимуляции овуляции выявлено не было (рисунок 11).

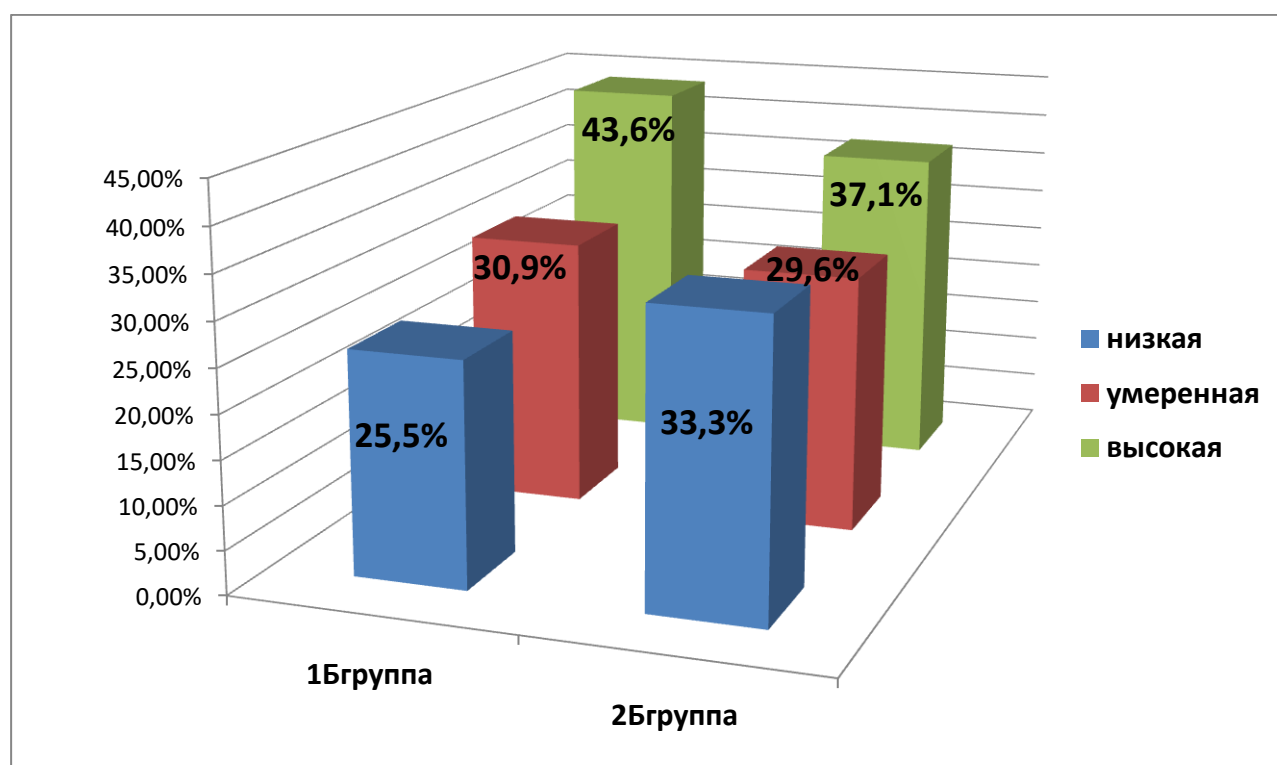


Рисунок 11- Экспрессия ЛИФ в эндометрии в день введения триггера овуляции у пациенток 1Б и 2Б групп

Во 2Б группе пациенток, где исследование эндометрия проводили в естественном цикле, экспрессия ЛИФ распределилась следующим образом: низкая экспрессия (менее 2 баллов) - у 18 (33,3%) пациенток, умеренная экспрессия (менее 4 баллов) – у 16 (29,6%) пациенток, высокая экспрессия (выше 4 баллов) – у 20 (37,1%) пациенток.

При проведении сравнительного анализа данных, представленных на рисунке 11, мы видим, что достоверных отличий в степени экспрессии ЛИФ в эндометрии у пациенток разных групп не выявлено. Кроме того, схожие результаты были получены у пациенток с уровнем прогестерона в крови выше порогового значения. То есть, в показателях ЛИФ у пациенток с высоким и нормальным уровнем прогестерона в крови статистических различий выявлено не было.

При высчитывании относительного риска (RR), то есть определении вероятности повышения экспрессии ЛИФ при уровне прогестерона выше порогового 1,2 нг/мл, оказалось, что при высоком уровне прогестерона только в половине случаев будет выявлена ожидаемая высокая экспрессия ЛИФ (чувствительность 29,4%, специфичность 40,8%). Интересно то, что при высоком уровне ЛИФ в 2 раза чаще определяется высокий уровень прогестерона (RR 2,2, чувствительность 66,7%, специфичность 56,4%).

Таким образом, можно сделать вывод, что повышение уровня преовуляторного прогестерона не влияет на показатели экспрессии ЛИФ.

В ходе исследования изучали фолликулярный ответ на введение различных препаратов используемых для ССО, количество полученных ооцитов и эмбрионов (рисунок 12).

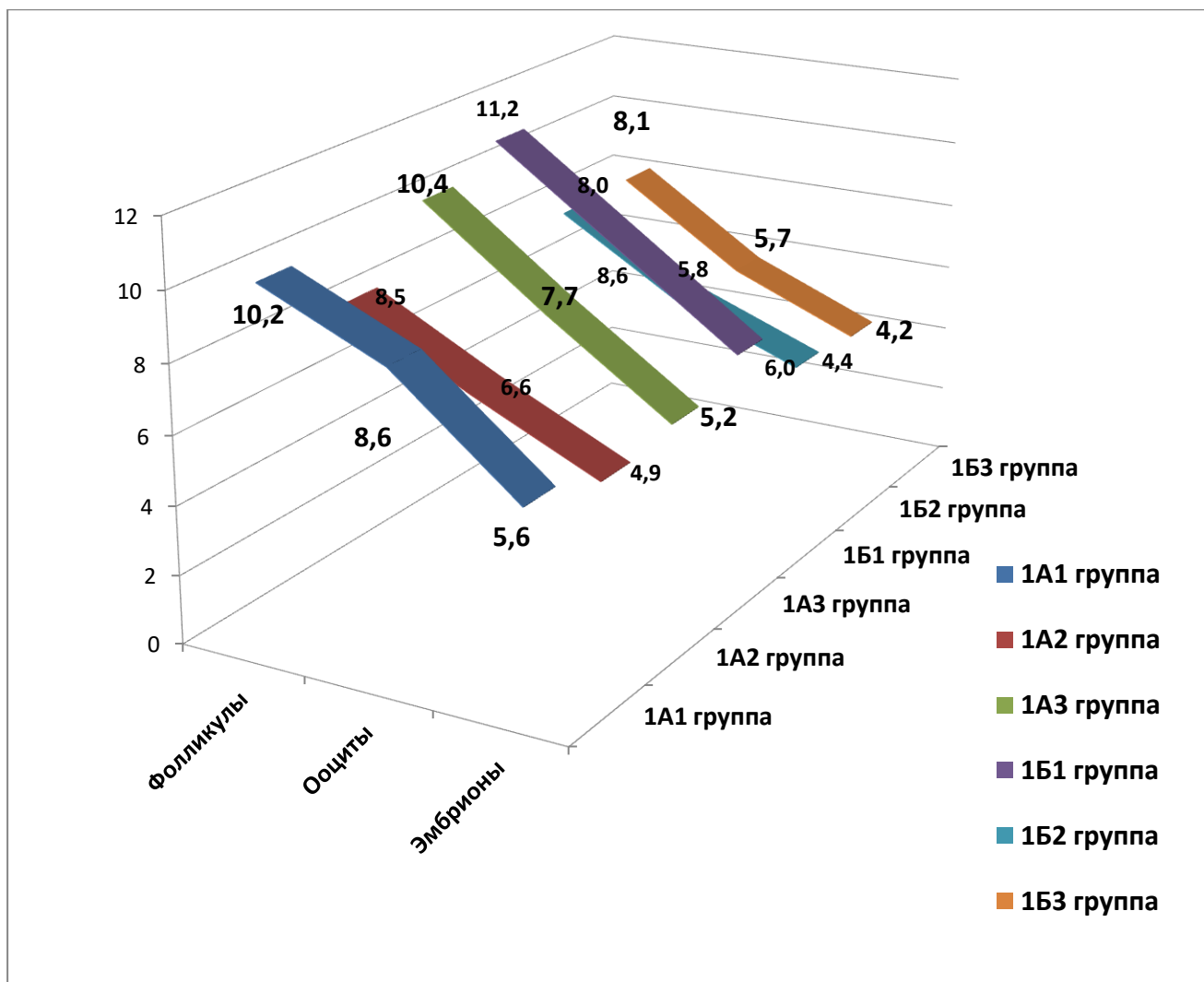


Рисунок 12- Графическое изображение фолликулярного ответа на введение различных препаратов, используемых для стимуляции овуляции, количества полученных ооцитов и эмбрионов у пациенток 1Б и 2Б групп

В 1A1 и 1B1 группах, где использовали рФСГ, при стимуляции овуляции было получено фолликулов $10,2 \pm 3,6$ (от 5 до 20) и $11,2 \pm 3,6$ (от 7 до 20) соответственно.

В 1A2 и 1B2 группах, где применяли рЛГ, было получено фолликулов $8,5 \pm 2,2$ (от 3 до 14) и $8,0 \pm 1,9$ (от 5 до 12) соответственно.

В 1A3 и 1B3 группах, где использовался ЧМГ, было получено фолликулов $10,4 \pm 2,4$ (от 5 до 15) и $8,1 \pm 1,8$ (от 4 до 12) соответственно.

При изучении количества полученных ооцитов были получены следующие результаты, представленные на рисунке 12: в 1А1 и 1Б1 группах, где использовали рФСГ, было получено ооцитов $8,6 \pm 3,2$ (от 2 до 17) и $8,6 \pm 2,8$ (от 5 до 15) соответственно.

В 1А2 и 1Б2 группах, где применяли рЛГ, было получено ооцитов $6,6 \pm 1,8$ (от 2 до 11) и $5,8 \pm 1,7$ (от 3 до 11) соответственно.

В 1А3 и 1Б3 группах, где использовался ЧМГ, было получено ооцитов $7,7 \pm 1,9$ (от 3 до 11) и $5,7 \pm 1,4$ (от 2 до 8) соответственно.

И, наконец, оценивали в группах 1А и 1Б количество полученных эмбрионов. Были получены следующие данные, представленные на рисунке 12. В 1А1 и 1Б1 группах, где использовали рФСГ, было получено эмбрионов $5,6 \pm 1,4$ (от 2 до 8) и $6,0 \pm 1,4$ (от 4 до 8) соответственно.

В 1А2 и 1Б2 группах, где применяли рЛГ, было получено эмбрионов $4,9 \pm 1,5$ (от 1 до 8) и $4,4 \pm 1,3$ (от 1 до 8) соответственно.

В 1А3 и 1Б3 группах, где использовался ЧМГ, было получено эмбрионов $5,2 \pm 1,4$ (от 2 до 8) и $4,2 \pm 1,2$ (от 1 до 7) соответственно.

При анализе полученных данных обращает на себя внимание, что количество полученных ооцитов практически в 1,3 раза меньше от числа полученных преовуляторных фолликулов (от 1,2 до 1,4 в разных группах). А количество полученных эмбрионов в среднем в 1,8 раз меньше от числа полученных фолликулов (от 1,7 до 2,0), причем количество полученных эмбрионов в меньшей степени уменьшается при использовании рЛГ.

Так же в нашем исследовании мы пытались определить корреляционную связь не только между количеством полученных фолликулов, ооцитов и эмбрионов, но так же и между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных фолликулов.

В 1A1 группе пациенток, у которых при стимуляции овуляции использовался рФСГ, отмечается умеренная положительная корреляционная связь 0,64 между уровнем прогестерона и количеством полученных преовуляторных фолликулов (рисунок 13).

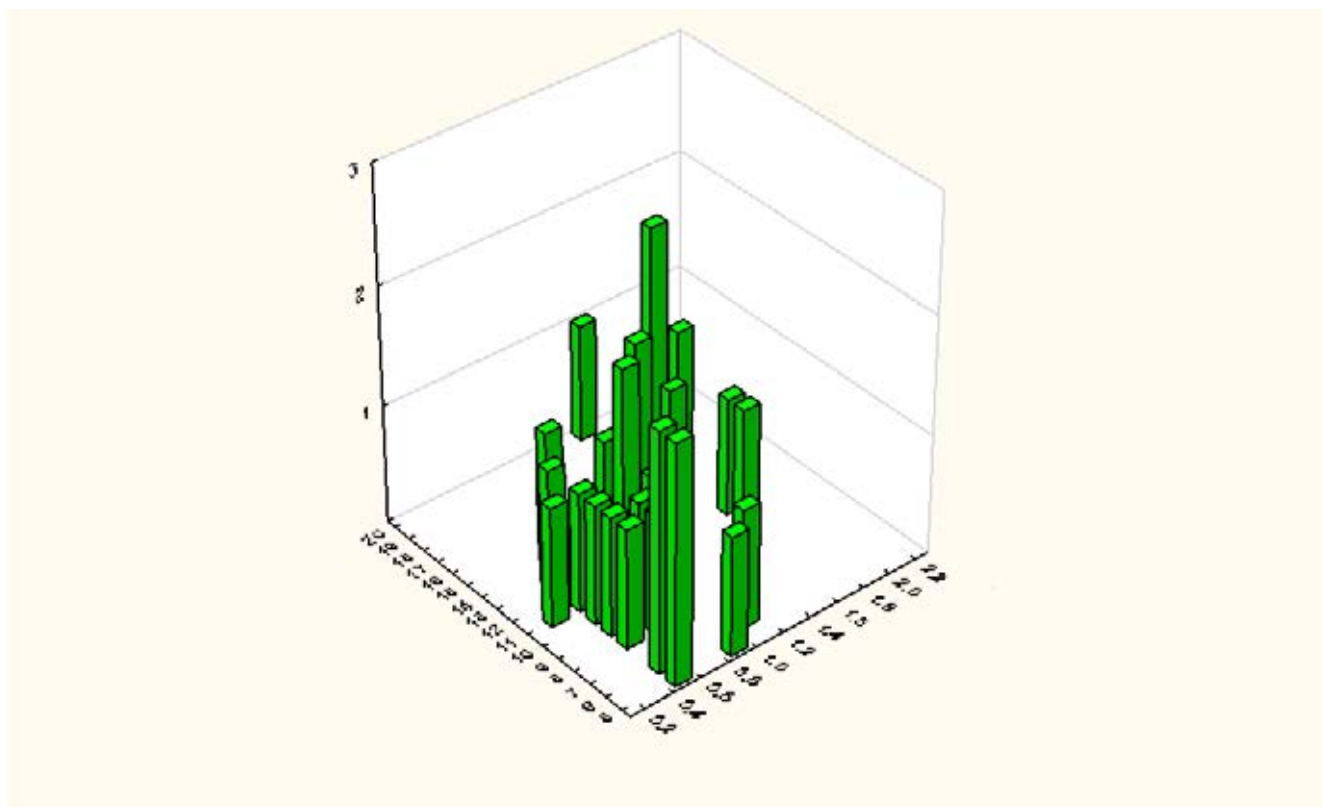


Рисунок 13- Графическое изображение корреляционной связи между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных преовуляторных фолликулов у женщин 1A1 группы

У пациенток группы 1A2, где применялся рЛГ, отмечается та же положительная корреляционная связь, однако в меньшей степени – умеренная 0,50 (рисунок 14).

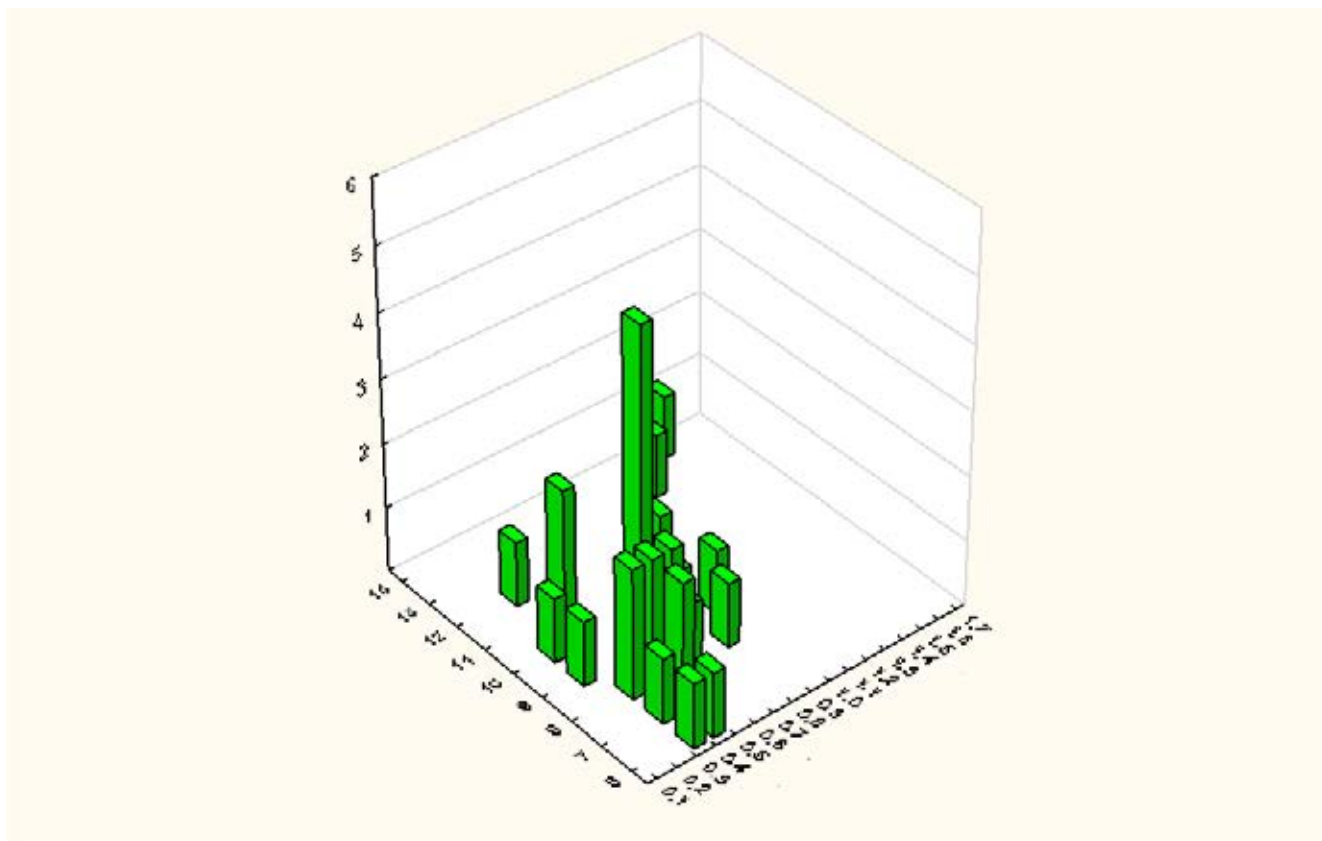


Рисунок 14- Графическое изображение корреляционной связи между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных преовуляторных фолликулов у женщин 1А2 группы

У женщин 1А3 группы при использовании ЧМГ была получена заметная положительная корреляционная связь 0,60 между уровнем прогестерона и количеством полученных фолликулов.

У пациенток 1Б1 группы при использовании рФСГ для стимуляции овуляции при проведении сравнительного анализа между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных преовуляторных фолликулов была получена, так же, как и в группе 1А1, заметная положительная корреляционная связь 0,66. Такая же заметная положительная корреляционная связь 0,60 была выявлена в группе 1Б3 при использовании ЧМГ. В группе пациенток 1Б2, где применялся рЛГ, корреляционная связь была умеренная положительная 0,50 (рисунок 15).

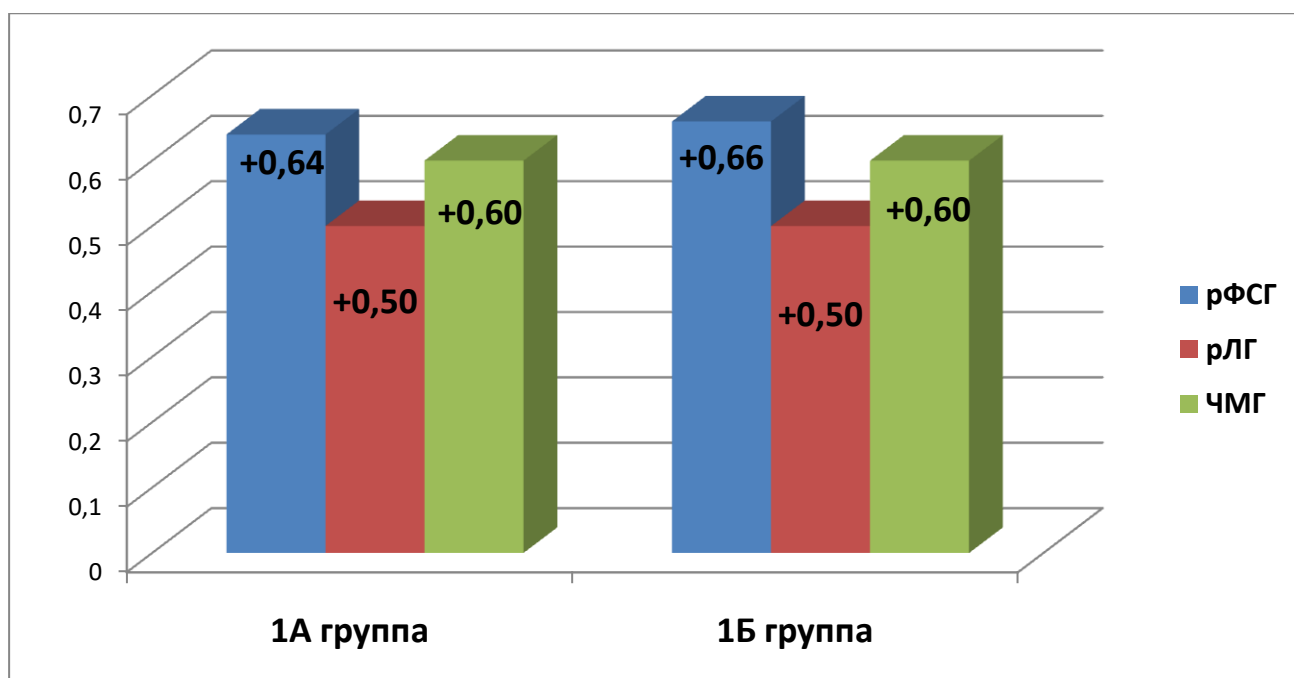


Рисунок 15- Корреляционная связь между уровнем прогестерона и количеством полученных преовуляторных фолликулов при проведении стимуляции различными препаратами у обследуемых женщин 1А и 1Б групп

Надо отметить, что при использовании рЛГ корреляционная связь между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных преовуляторных фолликулов меньше, чем при применении рФСГ и ЧМГ.

При проведении сравнительного анализа между уровнем прогестерона в крови, количеством полученных преовуляторных фолликулов и размером полученного максимального фолликула были получены результаты, представленные в таблице 4.

Таблица 4- Сравнительный анализ между уровнем прогестерона в крови, между количеством преовуляторных фолликулов и размером полученного максимального фолликула, у пациенток 1А, 1Б, 2А, 2Б групп

Группы	Корреляционная связь между уровнем прогестерона в крови и размером максимального фолликула	Корреляционная связь между количеством преовуляторных фолликулов и размером максимального фолликула
1А1	0,80****	0,70***
1А2	0,88****	0,50**
1А3	0,84****	0,40**
1Б1	0,80****	0,63***
1Б2	0,90****	0,40**
1Б3	0,87****	0,46**
	средняя 0,84****	средняя 0,54**
2А	0,83****	
2Б	0,85****	

Примечание: * - слабая корреляционная связь
 ** - умеренная корреляционная связь
 *** - заметная корреляционная связь
 **** - высокая корреляционная связь

В 1А1 группе размер максимального фолликула был от 17 до 24 мм, средний размер $19,2 \pm 2,3$ мм. В 1А2 группе размер максимального фолликула был от 16 до 24 мм, средний размер составил $18,2 \pm 1,4$ мм. В 1А3 группе - от 17 до 25 мм, средний размер - $19,7 \pm 2,1$ мм.

В 1Б1 группе размер максимального фолликула был от 17 до 25 мм, средний размер $20,0 \pm 2,5$ мм. В 1Б2 группе размер максимального фолликула был от 17 до 25 мм, средний размер составил $19,1 \pm 2,1$ мм. В 1Б3 группе - от 17 до 25 мм, средний размер - $19,4 \pm 2,1$ мм.

Во 2А группе размер максимального фолликула был равен от 17 до 25 мм, средний размер $19,0 \pm 1,9$ мм. Во 2Б группе размер максимального фолликула составил так же от 17 до 25 мм, средний размер был равен $19,4 \pm 2,2$ мм.

Между уровнем прогестерона в крови и размером максимального фолликула во всех группах была выявлена высокая положительная корреляционная связь и составила от 0,80 до 0,90 (средняя 0,84). При сравнении количества полученных преовуляторных фолликулов с максимальным фолликулом была обнаружены положительная умеренная и заметная корреляционная связь от 0,40 до 0,70 (средняя- 0,54) в группах, где проводилась стимуляция овуляции. Во второй группе, где пациентки наблюдались в естественном цикле, был получен один доминантный фолликул, потому данные не представлены.

Таким образом, можно сделать вывод, что в большей степени на уровень прогестерона в крови оказывает диаметр максимального фолликула, а количество преовуляторных фолликулов оказывает влияние на уровень прогестерона в крови, но в меньшей степени.

Так же в нашей работе мы проводили сравнительный анализ между количеством полученных преовуляторных фолликулов, количеством ооцитов, эмбрионов и количеством наступивших беременностей. Были получены следующие данные: в 1А1 группе пациенток, где с целью проведения стимуляции овуляции использовали рФСГ, была отмечена высокая положительная корреляционная связь (0,80) между количеством полученных фолликулов и количеством ооцитов. Однако между количеством преовуляторных фолликулов и количеством эмбрионов корреляционная связь была меньше и составила (0,60). Кроме того, при проведении анализа между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных эмбрионов была отмечена слабая положительная корреляционная связь (0,20) [таблица 5].

Таблица 5- Сравнительный анализ между уровнем прогестерона в крови, количеством полученных преовуляторных фолликулов, количеством ооцитов и эмбрионов у обследуемых пациенток 1А и 1Б групп

Группы	Корреляционная связь между количеством фолликулов и ооцитов	Корреляционная связь между количеством фолликулов и бластоцист	Корреляционная связь между уровнем прогестерона в крови и количеством бластоцист
1А1	0,80****	0,60***	0,20*
1А2	0,78****	0,50***	0,48**
1А3	0,80****	0,64***	0,20*
1Б1	0,75****	0,60***	-
1Б2	0,85****	0,70***	0,40**
1Б3	0,90****	0,70***	0,30*
Средняя	0,88****	0,61***	0,27*

Примечание: * - слабая корреляционная связь
 ** - умеренная корреляционная связь
 *** - заметная корреляционная связь
 **** - высокая корреляционная связь

В 1А2 группе пациенток, где применялся рЛГ, отмечалась также высокая положительная корреляционная связь (0,78) между количеством преовуляторных фолликулов и количеством ооцитов. Между количеством фолликулов и количеством полученных эмбрионов у данной категории женщин наблюдалась положительная умеренная связь (0,50). Так же умеренная положительная корреляционная связь (0,48) наблюдалась между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных эмбрионов.

В 1А3 группе женщин, где применялся ЧМГ, отмечалась высокая положительная корреляционная связь между количеством полученных преовуляторных фолликулов и количеством ооцитов (0,80). Заметная положительная корреляционная связь (0,64) наблюдалась между количеством

фолликулов и количеством эмбрионов. При проведении анализа между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных эмбрионов была выявлена слабая положительная корреляционная связь (0,20).

При обследовании пациенток 1Б группы были получены следующие результаты. В 1Б1 группе пациенток, где применяли рФСГ, отмечалась положительная высокая корреляционная связь (0,75) между количеством полученных преовуляторных фолликулов и количеством ооцитов. Между количеством фолликулов и количеством полученных эмбрионов корреляционная связь чуть меньше, (0,60). А между количеством полученных фолликулов и количеством эмбрионов корреляционная связь не отслеживается у пациенток данной группы.

У пациенток 1Б2 группы корреляционная связь между количеством полученных преовуляторных фолликулов и количеством ооцитов была положительная высокая и составила (0,85). Между количеством фолликулов и эмбрионов отмечалась положительная заметная корреляционная связь (0,70). А между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных эмбрионов была выявлена положительная умеренная корреляционная связь (0,40).

И, наконец, в группе 1Б3, где применяли в ходе стимуляции овуляции ЧМГ, между количеством полученных преовуляторных фолликулов и количеством ооцитов была выявлена положительная высокая корреляционная связь (0,90). Между количеством фолликулов и эмбрионов отмечалась положительная заметная корреляционная связь (0,70). А между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных эмбрионов была выявлена положительная слабая корреляционная связь (0,30).

Анализируя полученные данные, представленные в таблице 5, можно сделать вывод, что во всех группах у обследованных пациенток, которым проводили стимуляцию овуляции с использованием различных препаратов, прослеживалась высокая положительная корреляционная связь (от 0,75 до 0,90;

средняя 0,88) между количеством полученных преовуляторных фолликулов и количеством ооцитов.

Так же во всех группах отмечалась заметная положительная корреляционная связь (от 0,50 до 0,70; средняя 0,61) между количеством полученных преовуляторных фолликулов и количеством эмбрионов. То есть количество полученных фолликулов определяло количество полученных эмбрионов, но в меньшей степени, чем ооцитов.

При проведении сравнительного анализа между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных эмбрионов отмечалась слабая и умеренная корреляционная связь (средняя в группе 1 - 0,27). Таким образом, установлено, что высокий уровень прогестерона (больше 1,2 нг/мл) сочетался с получением во время пункции фолликулов большего количества зрелых ооцитов, но достоверно не влиял на количество полученных эмбрионов. Но уровень прогестерона способен оказывать влияние на частоту наступления беременности.

В ходе исследования было обнаружено, что при пороговом значении прогестерона выше 1,2 нг/мл беременность у пациенток разных групп наступила у 12 пациенток (3,3%), при пороговом значении прогестерона ниже 1,2 нг/мл – у 142 пациенток (38,7%) (уровень значимости $p < 0,001$).

В 1А группе беременность наступила у 51 (37,5%) пациентки, причем в группе 1А1, где использовался рФСГ, у 14 (34,1%) женщин. В 1А2 группе, где применяли рЛГ, беременность наступила у 21 (40,4%) пациентки. У женщин 1А3 группы при использовании ЧМГ с целью проведения стимуляции овуляции беременность наступила у 16 (37,2%) пациенток. При анализе представленных данных частота наступления беременности в группах 1А1, 1А2, 1А3 достоверно не различалась.

Во 2А группе беременность была зафиксирована у 34 (50,7%) женщин (рисунок 16).

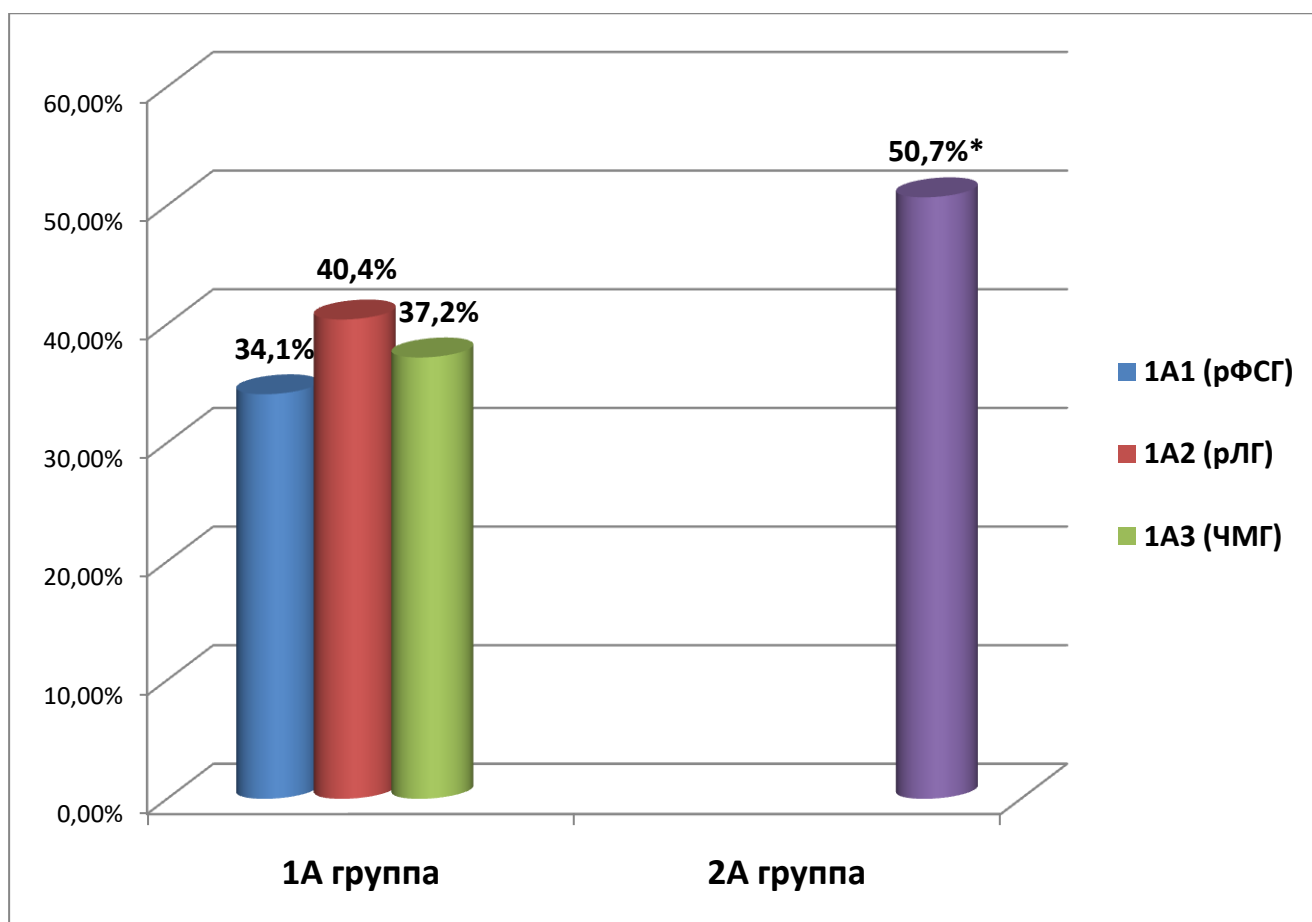


Рисунок 16- Частота наступления беременности в 1А и 2А группах

Примечание: * $-p < 0,01$ в сравнении с каждой из подгрупп 1А группы

Значимым является тот факт, что частота наступления беременности в целом в группе 1А (ССО и ЭКО) более чем в 1,3 раза оказалась ниже и достоверно реже в каждой из групп 1А1, 1А2, 1А3, чем в группе 2А, когда перенос эмбриона осуществлялся в модифицированном естественном менструальном цикле, свободном от этапа фолликулярной индукции.

Согласно дизайну исследования, в 1Б и 2Б группах, где проводилась биопсия эндометрия, эмбриотрансфер не выполнялся, следовательно, факта беременности зафиксировано не было.

Глава 4. Обсуждение результатов исследования

При проведении исследования было выявлено, что пациентки в группах были сопоставимы и выраженных отличий не наблюдалось, так средний возраст пациенток в группах был сопоставим и составил в 1 группе $30,9 \pm 3,0$ лет, во 2 группе – $30,1 \pm 3,3$ лет, средний возраст наступления менархе в 1 группе составил $14,5 \pm 1,5$ лет, а во 2 группе $12,5 \pm 1,3$ лет, продолжительность менструации и длительность менструального цикла составила в 1 группе $3,1 \pm 0,9$ дней и $32,3 \pm 2,3$ дней, а у пациенток 2 группы: $4,5 \pm 1,0$ дней и $29,9 \pm 2,1$ дней соответственно.

При дальнейшем сборе анамнеза, в том числе гинекологического, значимых отличий у пациенток 1 и 2 групп так же обнаружено не было. Обе группы характеризовались сопоставимой частотой регистрации первичного ($46,3\%$ у пациенток 1 группы, $43,0\%$ у пациенток 2 группы) и вторичного ($28,9\%$ и $29,8\%$) бесплодия, мужского фактора в структуре бесплодия ($23,6\%$ в 1 группе, против $26,4\%$ во 2 группе) а так же самопроизвольного аборта на малом сроке беременности ($18,3\%$ против $16,5\%$).

По наличию сопутствующих экстрагенитальных заболеваний у пациенток обеих групп выраженных отличий не было.

Анализируя полученные данные, обращает на себя внимание тот факт, что эндокринное бесплодие в 1 группе встречалось незначительно чаще в сравнении с пациентками 2 группы. Так СПКЯ ($4,5\%$ в 1 группе и $3,3\%$ во 2 группе) и ВДКН ($5,2\%$ в первой группе и $4,1\%$ во второй группе) чаще наблюдались у пациенток 1 группы. А воспалительные заболевания органов малого таза в анамнезе, встречались чаще у пациенток 2 группы ($28,1\%$ в 1 группе и $33,1\%$ во второй группе), что и объясняет большую частоту проведения оперативного вмешательства ($32,9\%$ против $38,8\%$). Однако отличия недостоверные.

При проведении гинекологического осмотра значительных патологических изменений выявлено не было, и пациентки 1 и 2 групп были сопоставимы по результатам данного обследования.

Результаты лабораторного обследования на определение уровня гормонов крови на 2-5 дни менструального цикла были сопоставимы у пациенток 1 и 2 группы.

В связи с тем, что одними из основных задач данного исследования явилось проведение сравнительного анализа уровня прогестерона в группах, мы проводили определение его уровня в крови в день введения триггера овуляции у пациенток, которым проводили ССО, и пациенткам, за которыми наблюдали в естественных циклах. При использовании методов статистической обработки при определении уровня прогестерона у пациенток разных групп мы определяли среднее значение со стандартной ошибкой с определением доверительного интервала (95%). В группе пациенток 1А1, уровень прогестерона составил 0,9 нг/мл (95% ДИ 0,8 - 1,04). В группе 1А2 - 0,6 нг/мл (95% ДИ 0,5 – 0,6). В группе 1А3 - 0,9 нг/мл (95% ДИ 0,8 – 1,0). В группе 1Б1 - 1,0 нг/мл (95% ДИ 0,9 – 1,2), в группе 1Б2 - 0,7 нг/мл (95% ДИ 0,6 – 0,8). В группе 1Б3 - 0,9 нг/мл (95% ДИ 0,8 – 1,0). Необходимо отметить, что зарегистрирована достоверная разница между показателями прогестерона в крови у пациенток, у которых использовали рЛГ (1А2, 1Б2) по сравнению с другими группами. Тогда как в группах рФСГ и ЧМГ (1А1,1А3,1Б1,1Б3) нашего исследования отмечены достоверно сопоставимые отклонения уровней прогестерона, что согласуется с результатам других работ [34].

Мировые наблюдения уровня прогестерона в крови в контексте сравнения протоколов индукции с антГнРГ и использованием рЛГ очень немногочисленны [103]. Опираясь уже на собственные данные мы можем утверждать, что умеренное добавление рЛГ в протоколах гонадотропной стимуляции профилакирует избыточное накопление прогестерона в плазме крови. Исключая избыточную стимуляцию гранулезных и тека клеток молекулами ХГЧ из состава ЧМГ, но адекватно компенсируя возникающий, в условиях фонового использования аналогов ГнРГ, дефицита ЛГ путем взвешенного добавления ЛГ активности в виде рЛГ, возможно не только не увеличивать, а напротив, понижать

уровень прогестерона в течение фазы стимуляции, вероятно за счет опосредованного ЛГ ускорения утилизации прогестерона в андрогены [38].

У пациенток 2 группы, за которыми вели наблюдение в естественных циклах, уровень прогестерона был равен: в 2А группе 0,7 нг/мл (95% ДИ 0,6 – 0,7), в 2Б группе - 0,8 нг/мл (95% ДИ 0,7 – 0,9).

В мировой специализированной литературе в качестве порогового значения прогестерона, программирующего успех полного цикла ЭКО с позиции вероятности наступления беременности, наиболее часто упоминается отсечка в 1,5 нг/мл или 4,77 нмоль/л прогестерона в плазме венозной крови [25]. Однако наиболее крупный мета-анализ, включивший 26 исследований (60000 свежих циклов ЭКО), оценивающий влияние концентрации прогестерона на вероятность наступления беременности в различных точках, отметил отрицательную динамику корреляции обсуждаемых показателей уже с концентрации 0,8 нг/мл [100]. Так же в исследовании Qianfang Cai et al (2013г) указали, что вероятность регистрации клинической беременности снижается уже после превышения прогестероном уровня 0,6 нг/мл. [27].

Принимая во внимание очевидную неопределенность с пороговым значением прогестерона одной из основных задач данного исследования явилось уточнение оптимального порогового уровня прогестерона, при котором частота наступления беременности будет высокой. Оказалось, что относительный риск, то есть вероятность наступления беременности при пороговом значении прогестерона 1,5 нг/мл равен 1,4. При пороговом значении уровня прогестерона 1,2 нг/мл относительный риск (RR) был равен 9,3. При пороговом значении прогестерона 1,0 нг/мл – RR=4,5. Чувствительность метода определения уровня прогестерона в прогнозировании наступления беременности при пороговом значении 1,5 нг/мл равна 58,3%, специфичность – 50,0%. При определении тех же характеристик при пороговом уровне прогестерона 1,2 нг/мл было выявлено, что чувствительность равна 90,3%, специфичность – 60,7%. При пороговом значении прогестерона 1,0 нг/мл чувствительность – 81,8%, специфичность 58,4%. То есть

частота наступления беременности при пороговом значении прогестерона 1,2 нг/мл в нашем исследовании была значительно выше, чем при уровне прогестерона 1,5 нг/мл и 1,0 нг/мл. В связи с полученными результатами все расчеты проводили, исходя из порогового значения уровня прогестерона 1,2 нг/мл.

Относительно частоты регистрации повышенных уровней прогестерона в конце этапа фолликулярной индукции, мнения других авторов разнятся в большом диапазоне (2-46%) [81, 100]. Во многом это обусловлено отсутствием должной согласованности в определении сути самого понятия преждевременного повышения уровня прогестерона. С.А. Venetis et al (2013), в систематическом обзоре и мета-анализе обращают внимание, что при использовании исследователями порогового значения преовуляторного прогестерона от 0,4 до 0,6 нг/мл частота встречаемости обсуждаемого события составляет 46,7%, а при верхней границе от 1,9 до 3,0 нг/мл – всего 12,3% [100].

В ходе данного исследования было выявлено, что превышение уровня прогестерона 1,2 нг/мл в протоколе ССО с антГнРГ ЭКО наблюдалось у 52 (21,1%) пациенток.

Повышение уровня прогестерона выше 1,2 нг/мл у пациенток 1А группы, где осуществлялся эмбриотрансфер, наблюдалось у 28 (20,5%) пациенток. Обращает на себя внимание тот факт, что при использовании рЛГ повышение уровня прогестерона выше порогового 1,2 нг/мл наблюдалось в 3 раза реже, чем в других группах (уровень значимости $p < 0,05$) (1А1 (рФСГ) – 12 (8,8%), 1А2 (рФСГ+рЛГ) - 4 (2,9%), 1А3 (ЧМГ) – у 12 (8,8%) пациенток из 136 женщин 1А группы). Что касается группы 1Б, то здесь наблюдалась схожая тенденция. Всего у 24 пациенток значение прогестерона зарегистрировано выше 1,2 нг/мл- 21,8% от числа пациенток 1Б группы (1Б1 (рФСГ)- 10 (9,1%), в 1Б2 (рФСГ+рЛГ) - 3 (2,7%), 1Б3 (ЧМГ) – 11 (10,0%)).

Во второй группе в естественных криоциклах на день триггирования овуляции повышения уровня прогестерона более 1,2 нг/мл зарегистрировано в 10 (8,3%) случаях, однако частота обсуждаемого события была достоверно ниже при сравнении с первой группой- 52 (21,1%).

Согласно классической двухклеточной двухгонадотропиновой теории синтеза эстрогенов [74], прогестерон, синтезированный клетками гранулезы перемещается через фолликулярную мембрану к тека-клеткам, где под действием ЛГ происходит дальнейший уникальный катаболизм прогестерона в андрогены. Предполагается, что на этом синтезированный прогестерон частично высвобождается в системный кровоток, не достигая тека-клеток. Тогда как теоретически андрогены через фолликулярную мембрану обратно возвращаются в зернистые клетки, где путем последующей ароматизации превращаются в эстрогены. Вместе с тем, некоторые авторы доказывают, что, вопреки прежним представлениям, прогестерон может принимать непосредственное участие в регуляции овуляции [29], когда в основу механизма, запускающего выброс ЛГ, положен принцип последовательного повышения концентраций эстрадиола и прогестерона в течение фолликулярной фазы нормально протекающего менструального цикла [73].

Сегодня предполагается, что предшествующий овуляции или пункции фолликулов подъем концентрации прогестерона способен запустить опережающую секреторную перестройку эндометрия, десинхронизацию имплантационной готовности эндометрия и бластоцисты и, как следствие, снижение вероятности наступления беременности, что принципиально важно, при наличии выполненных условий качественного эмбриона и эндометрия. Однако только действительно надежные с позиции достоверности выводы относительно деструктивного влияния раннего повышения прогестерона возможно получить только путем прицельного анализа состояния эндометрия. Но и этот аспект пока остается дискуссионным, так как очень немногие исследования вообще оценивали влияние концентрации прогестерона в сыворотке крови на морфологическое

строение, эндометрия в момент пункции или во время окна имплантации [67]. Таким образом, в какой степени нарушается потенциальная готовность эндометрия у пациенток с высоким уровнем сывороточного прогестерона на момент эмбриотрансфера- вопрос пока открытый.

В своем исследовании мы проводили морфологическую и ИГХ оценку эндометрия с определением количества клеток поверхностного эпителия с наличием зрелых пиноподий [1] и ЛИФ у женщин с проведенной стимуляцией овуляции (группа 1Б) и у женщин в естественных циклах после овуляции (группа 2Б).

У 5 (4,5%) пациенток 1Б группы был выявлен феномен преждевременной лютеинизации, при этом уровень прогестерона в крови колебался от 1,5 до 2,0 нг/мл. У пациенток 2Б группы данный феномен наблюдался у 2 (3,7%) пациенток, при этом уровень прогестерона в крови колебался от 1,3 до 2,2 нг/мл.

В 1Б группе пациенток в циклах ССО при морфологическом исследовании эндометрия было обнаружено, что у 84 (76,4%) пациенток определяется ранняя стадия секреции, а у 26 (23,6%) – средняя стадия секреции. Во 2Б группе пациенток в естественных циклах, у 47 (87,0%) пациенток определялась ранняя стадия секреции, а у 7 (13,0%) пациенток – средняя стадия секреции.

Таким образом, несмотря на то, что у пациенток 1Б группы не наблюдалось достоверно значимых признаков преждевременного созревания эндометрия, состояние эндометрия более часто соответствовало «идеальному окну имплантации» у пациенток 2Б группы в естественных циклах.

При проведении сравнительного анализа между пациентками 1Б группы в зависимости от препарата, наиболее благоприятные результаты для имплантации были получены у пациенток 1Б2 группы, где использовали рЛГ, что оказалось достоверно выше (уровень значимости $p < 0,001$).

Так у женщин 1Б1 группы (ССО рФСГ), у 21 (70,0%) пациентки наблюдалась ранняя стадия секреции, что достоверно выше по сравнению с 9

(30,0%) женщинами, у которых в эндометрии обнаружилась средняя стадия секреции. У пациенток 1Б2 группы (рЛГ), у всех 36 (100,0%) женщин отмечалась ранняя стадия секреции. У пациенток 1Б3 группы (ЧМГ), у 27 (61,4%) пациенток отмечалась ранняя стадия секреции, у 17 (38,6%) - средняя стадия секреции.

Анализируя полученные результаты, было выявлено, что в ходе нашего исследования между уровнем прогестерона в крови в период овуляции и частотой встречаемости преждевременного созревания эндометрия обнаружена слабая корреляционная связь, что не дало нам возможности однозначно утверждать об опережающем влиянии повышенного уровня прогестерона на степень созревания эндометрия и частоту наступления беременности.

При изучении поверхностного эпителия и оценке процента клеток с наличием зрелых пиноподий были получены следующие результаты: в 1Б группе процент клеток с наличием зрелых пиноподий составил 18,2%, у пациенток 2Б группы - 14,8%. При изучении частоты встречаемости поверхностных клеток со зрелыми пиноподиями в группах пациенток в зависимости от используемых препаратов при проведении ССО, было выявлено, что наименьший процент клеток с пиноподиями наблюдался у пациенток 1Б2 группы 19,4%, что указывало на вероятность преждевременного созревания эндометрия в меньшей степени, чем в 1Б1 и 1Б3 группах, где данный показатель составил 16,7% и 18,2% соответственно. Однако полученные данные не были достоверными.

Так же известно, что повышение уровня преовуляторного прогестерона в индуцированном цикле негативно сказывается на имплантационных свойствах эндометрия, что выражается в снижении качества рецепторного аппарата за счет повышения отношения ПР/ЭР, снижения количества ЭР [45].

В ходе нашего исследования были получены следующие результаты: при ИГХ эндометрия у пациенток 1Б группы обнаружено, что содержание ПР в железах и строме соответствует умеренной экспрессии и равно $116 \pm 54,2\%$ и $183 \pm 43,0\%$ соответственно. У пациенток 2Б группы, содержание ПР в железах

составил $121 \pm 48,0\%$ и строме $184 \pm 37,9\%$. Надо отметить, что при высоком содержании прогестерона в крови данные показатели были несколько ниже и соответствовали $102 \pm 66,4\%$ и $172 \pm 57,2\%$ соответственно, но достоверных отличий выявлено не было.

При изучении экспрессии ЭР было обнаружено, что в железах и строме уровень ЭР составил $92 \pm 51,2\%$ и $57 \pm 42,3\%$, что соответствует слабой экспрессии. У пациенток 2Б группы, содержание ЭР в железах составил $91 \pm 47,8\%$ и строме $48 \pm 34,9\%$. У пациенток с высоким содержанием прогестерона в крови данные цифры были равны $69 \pm 36,2\%$ и $44 \pm 37,9\%$ соответственно. Достоверных отличий в экспрессии ПР и ЭР в железах и строме эндометрия у пациенток 1Б группы в зависимости от используемого препарата при проведении стимуляции овуляции выявлено не было.

Анализируя результаты между показателями ПР и ЭР в железах и строме при проведении ИГХ эндометрия в группах 1Б и 2Б достоверных отличий нет. Незначительное снижение экспрессии ПР и ЭР в железах и строме у пациенток, у которых отмечалось повышение уровня прогестерона в крови выше порогового не было достоверно.

В группе 1Б и 2Б выполнено определение экспрессии ЛИФ в эндометрии. В 1Б (ССО) экспрессия ЛИФ была: низкой (менее 2 баллов) у 28 (25,5%) пациенток, умеренной (менее 4 баллов) – у 34 (30,9%) пациенток, высокой (выше 4 баллов) – у 48 (43,6%) пациенток. Принципиальных отличий у пациенток 1Б группы в зависимости от используемого препарата при проведении ССО не было.

Во 2Б группе пациенток, где исследование эндометрия проводили в естественном цикле, экспрессия ЛИФ распределилась следующим образом: низкая экспрессия (менее 2 баллов) - у 18 (33,3%) пациенток, умеренная экспрессия (менее 4 баллов) – у 16 (29,6%) пациенток, высокая экспрессия (выше 4 баллов) – у 20 (37,1%) пациенток.

При проведении сравнительного анализа данных достоверных отличий в степени экспрессии ЛИФ в эндометрии у пациенток разных групп не выявлено. Кроме того, схожие результаты были получены у пациенток с уровнем прогестерона в крови выше порогового значения. То есть, в показателях ЛИФ у пациенток с высоким и нормальным уровнем прогестерона в крови статистических различий выявлено не было.

При высчитывании относительного риска (RR), то есть определении вероятности повышения экспрессии ЛИФ при уровне прогестерона выше порогового 1,2 нг/мл, оказалось, что при высоком уровне прогестерона только в половине случаев будет выявлена ожидаемая высокая экспрессия ЛИФ (чувствительность 29,4%, специфичность 40,8%). Интересно то, что при высоком уровне ЛИФ в 2 раза чаще определяется высокий уровень прогестерона (RR 2,2, чувствительность 66,7%, специфичность 56,4%).

Таким образом, можно сделать вывод, что повышение уровня преовуляторного прогестерона не влияет на показатели экспрессии ЛИФ.

Ubaldi et al еще в 1996 году показали связь между абсолютным уровнем прогестерона в конце фолликулярной фазы и площадью под кривой концентрации ФСГ во время стимуляции яичников. Это означает, что повышение уровня прогестерона связано с активностью гранулезных клеток в растущих фолликулах, которые, что важно, не лютеинизируются, т. к. повышения уровня лютеинизирующего гормона не происходит [97]. Признавая, что высота прогестерона часто сочетается с суммарной дозой ФСГ, затраченной на протокол стимуляции [25, 105], в задачи нашего исследования не входил анализ связи дозы ФСГ и высоты преовуляторного прогестерона. Напротив, согласно условиям исследования, выбранная стратегия ССО, предполагающая введение стандартной неизменной в течение всего цикла дозы индуктора по 150 МЕ ФСГ в сутки, исключала подобный анализ и в известной степени профилактировала избыточную стимуляцию, как самостоятельный фактор фолликулярной гиперпрогестеронемии.

В ходе исследования мы изучали фолликулярный ответ на введение различных препаратов используемых для ССО, количество полученных ооцитов и эмбрионов.

В 1А1 и 1Б1 группах (ССО рФСГ) было получено фолликулов $10,2 \pm 3,6$ (от 5 до 20) и $11,2 \pm 3,6$ (от 7 до 20) соответственно. В 1А2 и 1Б2 группах (ССО рФСГ+рЛГ) было получено фолликулов $8,5 \pm 2,2$ (от 3 до 14) и $8,0 \pm 1,9$ (от 5 до 12) соответственно. В 1А3 и 1Б3 группах (ССО ЧМГ), было получено фолликулов $10,4 \pm 2,4$ (от 5 до 15) и $8,1 \pm 1,8$ (от 4 до 12) соответственно.

При изучении количества полученных ооцитов были получены следующие результаты: в 1А1 и 1Б1 группах (ССО рФСГ) было получено ооцитов $8,6 \pm 3,2$ (от 2 до 17) и $8,6 \pm 2,8$ (от 5 до 15) соответственно. В 1А2 и 1Б2 (ССО рФСГ+рЛГ), было получено ооцитов $6,6 \pm 1,8$ (от 2 до 11) и $5,8 \pm 1,7$ (от 3 до 11) соответственно. В 1А3 и 1Б3 группах (ССО ЧМГ), было получено ооцитов $7,7 \pm 1,9$ (от 3 до 11) и $5,7 \pm 1,4$ (от 2 до 8) соответственно.

И, наконец, оценивали в группах 1А и 1Б количество полученных эмбрионов. Были получены следующие данные. В 1А1 и 1Б1 группах (ССО рФСГ), было получено эмбрионов $5,6 \pm 1,4$ (от 2 до 8) и $6,0 \pm 1,4$ (от 4 до 8) соответственно. В 1А2 и 1Б2 группах (ССО рФСГ+рЛГ), было получено эмбрионов $4,9 \pm 1,5$ (от 1 до 8) и $4,4 \pm 1,3$ (от 1 до 8) соответственно. В 1А3 и 1Б3 группах (ССО ЧМГ), было получено эмбрионов $5,2 \pm 1,4$ (от 2 до 8) и $4,2 \pm 1,2$ (от 1 до 7) соответственно.

При анализе полученных данных обращает на себя внимание, что количество полученных ооцитов практически в 1,3 раза меньше от числа полученных преовуляторных фолликулов (от 1,2 до 1,4 в разных группах). А количество полученных эмбрионов в среднем в 1,8 раз меньше от числа полученных фолликулов (от 1,7 до 2), причем количество полученных эмбрионов в меньшей степени уменьшается при использовании рЛГ.

Так же в нашем исследовании мы пытались определить корреляционную связь не только между количеством полученных фолликулов, ооцитов и эмбрионов, но так же и между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных фолликулов. В 1A1 группе отмечается умеренная положительная корреляционная связь 0,64, в 1A2 группе отмечается та же положительная корреляционная связь, однако в меньшей степени – умеренная 0,50, в 1A3 группе получена заметная положительная корреляционная связь 0,60 между уровнем прогестерона и количеством полученных фолликулов. В 1B1 группе была получена, так же, как и в группе 1A1, заметная положительная корреляционная связь 0,66 между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных преовуляторных фолликулов, такая же заметная положительная корреляционная связь 0,60 была выявлена в 1B3 группе, в 1B2 группе, корреляционная связь оказалась умеренная положительная 0,50.

Необходимо отметить, что при использовании рЛГ корреляционная связь между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных преовуляторных фолликулов меньше, чем при применении рФСГ и ЧМГ. Иными словами, взгляд на протокол ЭКО с данной позиции указывает на то, что наиболее оптимальной подборкой гонадотропинов, используемой для стимуляции фолликулов в протоколе антГнРГ, является схема, включающая совместное использование ФСГ и рЛГ [87].

Дополнительно при проведении сравнительного анализа между уровнем прогестерона в крови, количеством полученных преовуляторных фолликулов и размером максимального фолликула, были получены результаты, демонстрирующие, что между уровнем прогестерона в крови и размером максимального фолликула во всех группах существует высокая положительная корреляционная связь от 0,8 до 0,9. При сравнении количества полученных преовуляторных фолликулов с максимальным фолликулом была обнаружена заметная и умеренная положительная корреляционная связь от 0,4 до 0,7 в группах, где проводилась стимуляция овуляции. Во второй группе, где в каждом

случае имелся один доминирующий фолликул в естественном цикле, данный анализ не выполнялся. Таким образом, можно сделать вывод, что в большей степени на уровень прогестерона в крови оказывает влияние диаметр максимального фолликула, а количество преовуляторных фолликулов, имеет, в том числе, положительное влияние на уровень прогестерона в крови, однако в меньшей степени. В этой связи необходимо отменить исследование, ранее опубликованное Е.М. Kolibianakis et al (2004). Авторы оценивали влияние отсрочки введения ХГЧ на частоту наступления беременности у пациенток, получающих рФСГ и антГнРГ. По результатам исследования было показано, что продление фолликулярной фазы не влияло на качество яйцеклетки или эмбриона, но связано со значительно меньшей частотой регистрации клинической беременности [54]. Вероятно, определенную негативную роль в данном аспекте играет не столько факт роста сывороточной концентрации прогестерона, сколько длительность его воздействия на пролиферирующий эндометрий. Осведомленность о моделирующем эффекте прогестерона на эндометрий с одной стороны и пагубности такого эффекта при раннем повышении прогестерона в протоколах ССО наводит на логичное предположение о том, что период «имплантационного окна» может в различной степени опережать динамику адекватного эмбриона, в зависимости от длительности периода экспозиции высокого прогестерона до триггера. Действительно, чем дольше длится данный период, тем выше риск опережающей лютеинизации эндометрия. В частности, было показано, что продолжительность повышения преовуляторного прогестерона в течение более 2-х дней до пика ЛГ имела существенное негативное влияние на частоту регистрации клинической беременности (39,4% против 20,7%) [66]. Между тем, на сегодняшний день опубликовано только одно исследование, в единичном контексте оценивавшее диаметр доминирующих фолликулов, уровни преовуляторного прогестерона и показатели эффективности протокола ЭКО [59], которое не выявило никаких существенных различий между группами раннего и позднего введения триггера относительно положительного ХГЧ (46,2% против 50,0%, соответственно) или частоты наступления

клинической беременности (34,6% против 40,7%, соответственно) у пациенток, стимулированных рФСГ с антГнРГ в протоколе ЭКО, несмотря на то, что в группах раннего и позднего триггера статистически достоверно различались сывороточные концентрации эстрадиола (1388 пг/мл против 2040 пг/мл) и прогестерона (0,8 нг/мл против 1,1 нг/мл) на день введения ХГЧ [59].

Приведенные выше данные отражают, что определенной сложностью остается момент выбора оптимального дня для введения триггера овуляции. Результаты нашего и других исследований позволяют предположить, что более раннее введение триггера овуляции не должно существенно влиять на качество когорты ооцитов [51] и положительно сказаться на вероятности благополучного завершения цикла ЭКО.

Так же в нашей работе мы проводили сравнительный анализ между количеством полученных фолликулов и количеством ооцитов, между количеством преовуляторных фолликулов и количеством эмбрионов высокого качества, между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных эмбрионов. Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что во всех группах у обследованных пациенток, которым проводили стимуляцию овуляции с использованием различных препаратов, прослеживалась высокая положительная корреляционная связь (от 0,75 до 0,90) между количеством полученных преовуляторных фолликулов и количеством ооцитов. Так же во всех группах отмечалась заметная положительная корреляционная связь (от 0,50 до 0,70) между количеством полученных преовуляторных фолликулов и количеством эмбрионов. То есть количество полученных фолликулов определяло количество полученных эмбрионов, но в меньшей степени, чем ооцитов. При проведении сравнительного анализа между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных эмбрионов отмечалась слабая и умеренная корреляционная связь. Таким образом, установлено, что высокий уровень прогестерона (более 1,2 нг/мл) сочетался с получением во время пункции фолликулов большего количества зрелых ооцитов,

но достоверно не влиял на количество полученных эмбрионов, однако влиял на частоту наступления беременности.

В подавляющем большинстве авторы сходились во мнении, что созревающий ооцит интактен к прогестерону и не зависит от его концентрации [43]. Дополнительным доказательством утверждения, что ССО, осложненная повышением сывороточной концентрации прогестерона не оказывает негативного влияния на качество получаемых эмбрионов служат результаты исследований, анализировавших качественные эмбриологические и клинические результаты циклов донации ооцитов, при стимуляции одного и того же донора в последовательных циклах. Показано что превышение прогестероном порога (1,2 нг/мл) не сказывалось на частоте оплодотворения, формирования бластоцист, имплантации и потерь беременности у реципиенток, которые распределялись в группы в зависимости от преовуляторной концентрации прогестерона доноров ооцитов [72].

В ходе исследования было обнаружено, что при пороговом значении прогестерона выше 1,2 нг/мл беременность у пациенток разных групп наступила у 12 пациенток (3,3%), при пороговом значении прогестерона ниже 1,2 нг/мл – у 142 пациенток (38,7%) (уровень значимости $p < 0,001$).

В 1А группе беременность наступила у 51(37,5%) пациентки, причем в группе 1А1 (рФСГ) у 14 (34,1%) пациенток, в 1А2 группе (рФСГ+рЛГ) у 21 (40,4%) пациентки, в 1А3 группе (ЧМГ) у 16 (37,2%) пациенток. При анализе представленных данных частота наступления беременности в группах достоверно не различалась. Во 2А группе беременность была зафиксирована у 34 (50,7%) женщин. Согласно дизайну исследования, в 1Б и 2Б группах эмбриотрансфер не выполнялся.

Значимым является тот факт, что частота наступления беременности в целом в группе 1А (ССО и ЭКО) более чем в 1,3 раза оказалась ниже и достоверно реже в каждой из подгрупп группы 1А, чем в группе 2А, когда

перенос эмбриона осуществлялся в модифицированном естественном менструальном цикле, свободном от этапа фолликулярной индукции.

В качестве дополнения необходимо отметить, что проблема состояния эндометрия в индуцированном цикле- крайне актуальный вопрос [5]. Вместе с тем есть еще ряд важным аспектов, в частности: опережающий и более высокий уровень эстрадиола с коротким плато, преждевременным и более резким падением сывороточного уровня, а кроме этого, более высокий уровень прогестерона и после переноса эмбриона в полость матки, также с преждевременным и резким снижением. Вероятно, что не только преждевременный рост концентрации прогестерона, но в целом неадекватное гормональное регулирование состоянием эндометрия, в конечном счете, и реализуется в снижение эффективности циклов ЭКО.

ВЫВОДЫ

1. Пороговый уровень прогестерона в день назначения овуляторной дозы рХГЧ в протоколах ВРТ, характеризующийся снижением частоты наступления беременности менее 1,2 нг/мл ($RR = 9,3$; чувствительность – 90,3%; специфичность – 60,7%). Вероятность повышения уровня прогестерона выше порогового значения может достигать 21,1%.
2. Пролонгирование фолликулярной фазы является наиболее важным фактором роста сывороточной концентрации прогестерона (высокая корреляционная связь). Так же, на уровень прогестерона оказывает влияние количество преовуляторных фолликулов (заметная корреляционная связь).
3. Применение рЛГ в соотношении рЛГ:рФСГ – 1:2 характеризуется снижением риска повышения сывороточной концентрации прогестерона и увеличением выхода качественных бластоцист по сравнению с циклами ССО без применения рЛГ и циклами с применением ЧМГ;
4. Повышение уровня прогестерона в крови (более 1,2 нг/мл) в фолликулярную фазу протоколов ВРТ не влияет на количество полученных эмбрионов (слабая корреляционная связь), так же не отражается признаками опережающих секреторных изменений эндометрия (по анализу гистологических, ИГХ данных, экспрессии ЛИФ, пиноподий).
5. Вероятность наступления беременности в ЭКО не зависит от выбора гонадотропина и снижается при достижении прогестероном 1,2 нг/мл. Вероятность наступления беременности увеличивается (в 1,3 раза) при переносе качественного эмбриона в менструальном цикле, свободном от этапа фолликулярной индукции.

Практические рекомендации

1. Всем пациенткам, которым планируется эмбриотрансфер в циклах ВРТ, рекомендовано тестирование сывороточного уровня прогестерона. Обнаружение концентрации прогестерона более 1,2 нг/мл в день назначения овуляторной дозы рХГЧ необходимо расцениваться как повод к обсуждению с пациентами стратегии отложенного переноса и криоконсервации всех качественных эмбрионов.
2. Подбирать начальную и суммарную дозы индуктора (ФСГ), необходимого для стимуляции. При возникновении сомнения в выборе оптимальной дозы в группе пациенток с хорошим прогнозом следует придерживаться правила выбора меньшей дозы.
3. Обеспечить синхронность развития фолликулярной когорты.
4. Избегать пролонгации этапа ССО протокола ЭКО, при возникновении сомнения в определении дат назначения триггера и пункции, выбирать раннюю дату.
5. Поддерживать необходимое для оптимального фолликулогенеза дозирование ЛГ. Соотношении рЛГ:рФСГ – 1:2 характеризуется оптимизацией риска повышения сывороточной концентрации прогестерона в процессе ССО.

Список сокращений

АМГ - Антимюллеров гормон

антГнРГ - антагонист Гонадотропин-рилизинг гормона

ВДКН - Врожденная дисфункция коры надпочечников

ВКМ - Внутренняя клеточная масса бластоцисты

ВРТ - Вспомогательные репродуктивные технологии

ЗП - Зона пеллюцида бластоцисты

ИГХ - Иммуногистохимическое исследование

ИКСИ - Интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида в ооцит

К - Кортизол

ЛГ - Лютеинизирующий гормон

ЛИФ - Фактор, ингибирующий лейкемию

ПР-А - Прогестероновые рецепторы

Прл - Пролактин

рЛГ -рекомбинантный ЛГ

рФСГ - рекомбинантный ФСГ

рХГЧ - рекомбинантный ХГЧ

СГЯ - Синдром гиперстимуляции яичников

СПКЯ - Синдром поликистозных яичников

ССО - Стимуляция суперовуляции

Т - Тестостерон

ТВП - Трансвагинальная пункция фолликулов

ТТГ - Тиреотропный гормон

ТЭ - Трофозктодерма бластоцисты

УЗИ - Ультразвуковое исследование

цАМФ - циклическая Аденозинмонофосфорная кислота

ЧМГ - Человеческий менопаузальный гонадотропин

ЭКО - Экстракорпоральное оплодотворение

Эмбриотрансфер - Манипуляция доставки эмбриона в полость матки

Эра - Эстрагеновые рецепторы

E2 - Эстрадиол

M - Среднее значение

m - Ошибка среднего

Me - Медиана

R - Коэффициента корреляции Спирмена

δ - Среднеквадратическое отклонение

% - Частота

Список литературы

1. Агаджанова, Л. М. Эндометриальные пиноподии как маркеры имплантации человека (обзор литературы) / Л. М. Агаджанова // Проблемы репродукции.-2004.-№3.-С. 3-5.
2. Амирова, А.А. Факторы, влияющие на исход ЭКО (обзор литературы). / Амирова А.А., Назаренко Т.А., Мишиева Н.Г. // Проблемы репродукции.-2010.-№1.-С. 68-74.
3. Аншина, М.Б. Применение эстрогенов в программах ВРТ. / Аншина М.Б., Исакова Э.В., Калинина Е.А., Корсак В.С., Краснопольская К.В. // Научнопрактические рекомендации. М.: Российская ассоциация репродукции человека.-2015.-С.80.
4. Бурлев, В. А. Функциональная активность эндометрия влияет на результаты ЭКО и перенос эмбрионов: молекулярные механизмы регуляции фертильности. / Бурлев В. А. [и др.] // Проблемы репродукции.-2010.-№2.-С.41-52
5. Корнеева, И.Е. Роль эндометрия в неудачах реализации репродуктивной функции. / И.Е.Корнеева // Проблемы репродукции.-2010.-№2.-С.16-20
6. Крылова, Ю.С. Рецептивность эндометрия: молекулярные механизмы регуляции имплантации. / Крылова Ю.С, Кветной И.М., Айламазян Э.К. // Журнал акушерства и женских болезней.-2013.-№62(2).-С.63-74.
7. Левиашвили, М.М. Лейкемия-ингибирующий фактор и рецептивность эндометрия. / М.М.Левиашвили, Н.Г.Мишиева, Т.А.Назаренко, Е.А. Коган // Проблемы репродукции.-2012.-№3.-С.17-21.
8. Митюрина, Е.В. Морфофункциональное состояние эндометрия в стимулированных циклах программы экстракорпорального оплодотворения. / Митюрина Е.В., Перминова С.Г., Демура Т.А., Галлямова Е.В. // Акушерство и гинекология.-2014.-№11.-С.80-7.
9. Митюрина, Е.В. Рецептивность эндометрия в программе экстракорпорального оплодотворения в зависимости от концентрации

- прогестерона в день введения триггера овуляции. / Митюрина Е.В. и соавт. // Акушерство и гинекология.-2016.-№1.-С.56-62.
10. Митюрина, Е.В. Влияние повышенных концентраций прогестерона в день введения триггера овуляции на исходы циклов ЭКО в протоколах с агонистами ГнРГ. / Митюрина Е.В., Перминова С.Г., Дуринян Э.Р., Иванец Т.Ю., Абубакиров А.Н. // Акушерство и Гинекология.-2014.-№6.
 11. Ольховская, М. А. Биомаркеры «имплантационного окна» (обзор литературы). / М. А. Ольховская // Проблемы репродукции.-2007.-№1.-С.72-77.
 12. Половнева, М.И. Современные методы оценки «окна имплантации» у пациенток, проходящих лечение в программе экстракорпорального оплодотворения. / Половнева М.И., Корнеева И.Е., Бурменская О.В. // Акушерство и гинекология.-2018.-№7.-С.26-30.
 13. Серебренникова, К.Г. Подготовка эндометрия к программам ВРТ у пациенток с бесплодием. / Серебренникова К.Г., Кузнецова Е.П., Ванке Е.С. // Проблемы репродукции.-2014.-№20(4).-С.62-67
 14. Смирнова, А.А. Применение эстрогенов в программах ВРТ (обзор литературы). / Смирнова А.А. // Проблемы репродукции.-2015.-№4.-С.48–59
 15. Шуршалина, А.В. Морфофункциональные перестройки эндометрия в окно имплантации. / Шуршалина А.В., Демур Т.А. // Акушерство и гинекология.-2011.-№7(2).-С.9-13
 16. Achache, H., Revel, A., 2006. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. Hum. Reprod. Update 12, 731–746.
 17. Al-Azemi, M., Kyrou, D., Kolibianakis, E.M., Humaidan, P., Van Vaerenbergh, I., Devroey, P., Fatemi, H.M., 2012. Elevated progesterone during ovarian stimulation for IVF. Reprod. Biomed. Online 24, 381–388.
 18. Al-Inany H, Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Optimizing GnRH antagonist administration: metaanalysis of fixed versus flexible protocol. Reprod Biomed Online 2005; 10: 567–70.

19. Al-Inany H, Abou-Setta AM, Aboulghar MA. Gonadotropin-releasing hormone antagonists for assisted reproduction: a Cochrane review. *Reprod Biomed Online* 2007; 14: 640–9
20. Andersen, A.N., Devroey, P., Arce, J.-C., 2006. Clinical outcome following stimulation with highly purified hMG or recombinant FSH in patients undergoing IVF: a randomized assessor-blind controlled trial. *Hum. Reprod.* 21, 3217–3227.
21. Andersen Y., 2011. Preovulatory progesterone concentration associates significantly to follicle number and LH concentration but not to pregnancy rate. *Reprod. Biomed. Online* 23, 187–195.
22. Ashmita J, Vikas S, Swati G. The Impact of Progesterone Level on Day Of hCG Injection in IVF Cycles on Clinical Pregnancy Rate. *J Hum Reprod Sci.* 2017 Oct-Dec;10(4):265-270. doi: 10.4103/0974-1208.223278. PubMed PMID: 29430153; PubMed Central PMCID: PMC5799930.
23. Bosch, E., M.D. High responders and patients with a good prognosis are not immune to the negative impact on live birth rate of elevated P on the day of triggering. Volume 103, Issue 6, Page 1423 *Fert and Ster*, June 2015.
24. Bosch, E., Valencia, I., Escudero, E., Crespo, J., Simón, C., Remohí, J., Pellicer, A., 2003. Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome. *Fertil. Steril.* 80, 1444–1449.
25. Bosch, E., Labarta, E., Crespo, J., Simón, C., Remohí, J., Jenkins, J., Pellicer, A., 2010. Circulating progesterone levels and ongoing pregnancy rates in controlled ovarian stimulation cycles for in vitro fertilization: analysis of over 4000 cycles. *Hum. Reprod.* 25, 2092– 2100.
26. Bu Z. et al. Serum progesterone elevation adversely affects cumulative live birth rate in different ovarian responders during in vitro fertilization and embryo transfer: a large retrospective study. *Open Access Journal.* – 2014. – Vol. 9 (6). – P. 7

27. Cai Qianfang, Wan Fei, Appleby Dina, Hu Linli, Zhang Hanwang. Quality of embryos transferred and progesterone levels are the most important predictors of live birth after fresh embryo transfer: A retrospective cohort study *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* (Impact Factor: 1.72). 11/2013; 31(2). DOI: 10.1007/s10815-013-0129-4
28. Casarini L, Lispi M, Longobardi S, Milosa F, La Marca A, Tagliasacchi D, et al. LH and hCG action on the same receptor results in quantitatively and qualitatively different intracellular signalling. *PLoS One* (2012) 7 (10): e46682. 10.1371/journal.pone.0046682
29. Chabbert-Buffeta, N., Skinner, D.C., Caraty, A., Bouchard, P., 2000. Neuroendocrine effects of progesterone. *Steroids* 65, 613–620.
30. Couzinet, B., Brailly, S., Bouchard, P., Schaison, G., 1992. Progesterone stimulates luteinizing hormone secretion by acting directly on the pituitary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 74, 374–378.
31. Coutts, J.R.T., Gaukroger, J.M., Kader, A.S., et al., 1981. *Steroidogenesis by the Human Graafian Follicle: Functional Morphology of the Human Ovary*. MTP Press, Lancaster, England, pp. 56–72.
32. De Geyter C, De Geyter M, Huber PR, et al. Progesterone serum levels during the follicular phase of the menstrual cycle originate from the crosstalk between the ovaries and the adrenal cortex. *Hum. Reprod.* 2002; 17:933–9.
33. De Ziegler D, Cornel C, Bergeron C, et al. Controlled preparation of the endometrium with exogenous estradiol and progesterone in women having functioning ovaries. *Fertil Steril* 1991; 56: 851–5.
34. Devroey, P., Pellicer, A., Nyboe Andersen, A., Arce, J.-C., Menopur in GnRH Antagonist Cycles with Single Embryo Transfer Trial Group, 2012. A randomized assessor-blind trial comparing highly purified hMG and recombinant FSH in a GnRH antagonist cycle with compulsory single-blastocyst transfer. *Fertil. Steril.* 97, 561–571.
35. Doldi, N., Marsiglio, E., Destefani, A., Gessi, A., Merati, G., Ferrari, A., 1999. Elevated serum progesterone on the day of HCG administration in IVF is

- associated with a higher pregnancy rate in polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod.* 14, 601–605.
36. Edelstein, M.C., Seltman, H.J., Cox, B.J., Robinson, S.M., Shaw, R.A., Muasher, S.J., 1990. Progesterone levels on the day of human chorionic gonadotropin administration in cycles with gonadotropin-releasing hormone agonist suppression are not predictive of pregnancy outcome. *Fertil. Steril.* 54, 853–857.
 37. Fatemi, H.M., Doody, K., Griesinger, G., Witjes, H., Mannaerts, B., 2013. High ovarian response does not jeopardize ongoing pregnancy rates and increases cumulative pregnancy rates in a GnRH antagonist protocol. *Hum. Reprod.* 28, 442–452.
 38. Fleming R, Jenkins J. The source and implications of progesterone rise during the follicular phase of assisted reproduction cycles. *Reprod Biomed Online* 2010;21:446–9
 39. Fleming, R., 2008. Progesterone elevation on the day of hCG: methodological issues. *Hum. Reprod. Update* 14, 391–392.
 40. Griesinger, G., Mannaerts, B., Andersen, C.Y., Witjes, H., Kolibianakis, E.M., Gordon, K., 2013. Progesterone elevation does not compromise pregnancy rates in high responders: a pooled analysis of in vitro fertilization patients treated with recombinant folliclestimulating hormone/gonadotropin-releasing hormone antagonist in six trials. *Fertil. Steril.* 100, 1622–1628.
 41. Guo, Y. H. Effects of progesterone elevation in late follicular phase on the pregnancy outcomes of day embryo transfer and day 5 blastocyst transfer. *Hum. Reprod.* – 2013. – Vol. 28. – P. 56.
 42. Haouzi Delphine, Bissonnette Laurence, Gala Anna, Assou Said, Entezami Frida, Perrochia Hélène, Dechaud Hervé, Hugues Jean-Noel, and Hamamah Samir. Endometrial Receptivity Profile in Patients with Premature Progesterone Elevation on the Day of hCG Administration. Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International Volume 2014, Article ID 951937, 10 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/951937>

43. Hill, Micah J., D.O., Greene Donald Royster IV, M.D., Mae Wu Healy, D.O., Kevin S. Richter, Ph.D., Gary Levy, M.D., Alan H. DeCherney, M.D., Eric D. Levens, M.D., Geeta Suthar, Eric Widra, M.D., Michael J. Levy, M.D. Are good patient and embryo characteristics protective against the negative effect of elevated progesterone level on the day of oocyte maturation? *Fertil Steril* 2015;103: 1477–84. 2015 by American Society for Reproductive Medicine.
44. Hill MJ, Healy MW, Richter KS, Parikh T, Devine K, DeCherney AH, Levy M, Widra E, Patounakis G. Defining thresholds for abnormal premature progesterone levels during ovarian stimulation for assisted reproduction technologies. *Fertil Steril*. 2018 Sep;110(4):671-679.e2. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.05.007. PubMed PMID:30196964.
45. Huang, C.-C., Lien, Y.-R., Chen, H.-F., Chen, M.-J., Shieh, C.-J., Yao, Y.-L., Chang, C.-H., Chen, S.-U., Yang, Y.-S., 2012. The duration of pre-ovulatory serum progesterone elevation before hCG administration affects the outcome of IVF/ICSI cycles. *Hum. Reprod.* 27, 2036–2045.
46. Huang Yan, Wang En-yin, Du Qing-yun, Xiong Yu-jing, Guo Xiao-yi, Yu Yi-ping, Sun Ying-pu. Progesterone elevation on the day of human chorionic gonadotropin administration adversely affects the outcome of IVF with transferred embryos at different developmental stages. *Reproductive Biology and Endocrinology* 08/2015; 13(1):82. DOI:10.1186/s12958-015-0075-3
47. Hugues, J.N., 2012. Impact of „LH activity“ supplementation on serum progesterone levels during controlled ovarian stimulation: a systematic review. *Hum. Reprod.* 27, 232–243.
48. Hugues, J.N., Massé-Laroche, E., Reboul-Marty, J., Boïko, O., Meynant, C., Cédric-Durnerin, I., 2011. Impact of endogenous luteinizing hormone serum levels on progesterone elevation on the day of human chorionic gonadotropin administration. *Fertil. Steril.* 96, 600–604.
49. Janssens RM, Lambalk CB, Vermeiden JP, et al. Dose-finding study of triptorelin acetate for prevention of a premature LH surge in IVF: a prospective,

- randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Hum Reprod* 2000; 15: 2333–40.
50. Ji J, Liu Y, Tong XH, Luo L, Ma J, Chen Z. The optimum number of oocytes in IVF treatment: an analysis of 2455 cycles in China. *Hum Reprod*. 2013 Oct;28(10):2728-34. doi: 10.1093/humrep/det303. Epub 2013 Jul 25.
 51. Kazum M. [et al.]. Preovulatory progesterone rise during ovarian stimulation for IVF. *Gynecol. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 29 (8). – P. 744–748.
 52. Keck C, Neulen J, Breig-Lauel S, Breckwoldt M. Elevated serum progesterone concentrations during the early follicular phase of the menstrual cycle: clinical significance and therapeutic implications. *Gynecol Endocrinol* 1999;13:161–5.
 53. Keltz, M.D., Stein, D.E., Berin, I., Skorpinski, J., 2012. Elevated progesterone-to-estradiol ratio versus serum progesterone alone for predicting poor cycle outcome with in vitro fertilization. *J. Reprod. Med.* 57, 9–12.
 54. Kolibianakis EM, Albano C, Camus M, et al. Prolongation of the follicular phase in in vitro fertilization results in a lower ongoing pregnancy rate in cycles stimulated with recombinant folliclestimulating hormone and gonadotropin-releasing hormone antagonists. *Fertil Steril* 2004b;82:102–7.
 55. Kolibianakis, E., Bourgain, C., Albano, C., Osmanagaoglu, K., Smitz, J., Van Steirteghem, A., Devroey, P., 2002. Effect of ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone, gonadotropin releasing hormone antagonists, and human chorionic gonadotropin on endometrial maturation on the day of oocyte pickup. *Fertil. Steril.* 78, 1025–1029.
 56. Kolibianakis, E.M., Venetis, C.A., Bontis, J., Tarlatzis, B.C., 2012. Significantly lower pregnancy rates in the presence of progesterone elevation in patients treated with GnRH antagonists and gonadotrophins: a systematic review and meta-analysis. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 13,464–470.
 57. Kolibianakis EM, Zikopoulos K, Smitz J, et al. Elevated progesterone at initiation of stimulation is associated with a lower ongoing pregnancy rate after IVF using GnRH antagonists. *Hum Reprod* 2004;19:1525–9.

58. Kyrou, D., Kolibianakis, E.M., Fatemi, H.M., Camus, M., Tournaye, H., Tarlatzis, B.C., Devroey, P., 2011a. High exposure to progesterone between the end of menstruation and the day of triggering final oocyte maturation is associated with a decreased probability of pregnancy in patients treated by in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil. Steril.* 96, 884–888.
59. Kyrou, D., Kolibianakis, E.M., Fatemi, H.M., Tarlatzis, B.C., Tournaye, H., Devroey, P., 2011b. Is earlier administration of human chorionic gonadotropin (hCG) associated with the probability of pregnancy in cycles stimulated with recombinant follicle-stimulating hormone and gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonists? A prospective randomized trial. *Fertil. Steril.* 96, 1112–1115.
60. Kyrou, D., Al-Azemi, M., Papanikolaou, E.G., Donoso, P., Tziomalos, K., Devroey, P., Fatemi, H.M., 2012. The relationship of premature progesterone rise with serum estradiol levels and number of follicles in GnRH antagonist/recombinant FSH-stimulated cycles. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 162, 165–168.
61. Labarta, E., Martínez-Conejero, J.A., Alamá, P., Horcajadas, J.A., Pellicer, A., Simón, C., Bosch, E., 2011. Endometrial receptivity is affected in women with high circulating progesterone levels at the end of the follicular phase: a functional genomics analysis. *Hum. Reprod.* 26, 1813–1825.
62. La Marca, A., 2014. Reference values in ovarian response to controlled ovarian stimulation throughout the reproductive period. *Gynecol. Endocrinol. Off. J. Int. Soc. Gynecol. Endocrinol.* 30, 66–69.
63. Lai T.H. [et al.] An increased serum progesterone-to-estradiol ratio on the day of human chorionic gonadotropin administration does not have a negative impact on clinical pregnancy rate in women with ovarian reserve with a long gonadotropin hormone agonist protocol. *Fertil. Steril.* – 2009. – Vol. 92. – P. 508-514.

64. Lawrenz B, Melado L, Fatemi H. Premature progesterone rise in ART-cycles. *Reprod Biol*. 2018 Mar;18(1):1-4. doi: 10.1016/j.repbio.2018.01.001. Epub 2018 Jan 6. Review. PubMed PMID: 29317175.
65. Lawrenz B, Fatemi HM. Effect of progesterone elevation in follicular phase of IVF-cycles on the endometrial receptivity. *Reprod Biomed Online*. 2017 Apr;34(4):422-428. doi: 10.1016/j.rbmo.2017.01.011. Epub 2017 Jan 24. Review. PubMed PMID: 28162937.
66. Lee V. C. [et al.]. Effect of preovulatory progesterone elevation and duration of progesterone elevation on the pregnancy rate of frozen – thawed embryo transfer in natural cycles. *Fertil. Steril.* – 2014. – Vol. 101 (5). – P. 1288- 1293.
67. Li R., Qiao J., Wangetal L., “Micro RNA array and microarray evaluation of endometrial receptivity in patients with high serum progesterone levels on the day of hCG administration,” *Reproductive Biology and Endocrinology*, vol.9, article29, 2011
68. Lin Yu-Ju, Lan Kuo-Chung, Huang Fu-Jen, Lin Pin-Yao, Chiang Hsin-Ju and Kung Fu-Tsai. Reproducibility and clinical significance of pre-ovulatory serum progesterone level and progesterone/estradiol ratio on the day of human chorionic gonadotropin administration in infertile women undergoing repeated in vitro fertilization cycles. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2015, 13:41 doi:10.1186/s12958-015-0037-9.
69. Lindeberg, M., Carlström, K., Ritvos, O., Hovatta, O., 2007. Gonadotrophin stimulation of non-luteinized granulosa cells increases steroid production and the expression of enzymes involved in estrogen and progesterone synthesis. *Hum. Reprod.* 22, 401–406.
70. Martínez, F., Coroleu, B., Clua, E., Tur, R., Buxaderas, R., Parera, N., Barri, P.N., Balasch, J., 2004. Serum progesterone concentrations on the day of HCG administration cannot predict pregnancy in assisted reproduction cycles. *Reprod. Biomed. Online* 8, 183–190.
71. McCracken JA, Custer EE, Lamsa JC. Luteolysis: a neuroendocrine mediated event. *Physiol Rev* 1999;79:263–323.

72. Melo M. A. B. [et al.] The significance of premature luteinization in an oocyte-donation programme Hum. Reprod. – 2006. – Vol. 21 (6). – P. 1503-1507.
73. Micevych, P., Sinchak, K., 2008. Synthesis and function of hypothalamic neuroprogesterone in reproduction. Endocrinology 149, 2739–2742.
74. Moon, Y.S., Tsang, B.K., Simpson, C., et al., 1978. 17 Beta-estradiol biosynthesis in cultured granulosa and thecal cells of human ovarian follicles: stimulation by follicle-stimulating hormone. J. Clin. Endocrinol. Metab. 47, 263–267
75. Mochtar M. H. et al. Recombinant luteinizing hormone (rLH) and recombinant follicle stimulating hormone (rFSH) for ovarian stimulation in IVF/ICSI cycles //The Cochrane Library. – 2017
76. Ochsenkühn, R., 2012. Subtle progesterone rise on the day of human chorionic gonadotropin administration is associated with lower live birth rates in women undergoing assisted reproductive technology: a retrospective study with 2,555 fresh embryo transfers. Fertil. Steril. 98, 347–354.
77. Pagliardini L. [et al.]. Use of partial AUC to evaluate progesterone elevation on the day of HCG administration reveals basal progesterone as the main prognostic factor. Hum. Reprod. – 2013. – Vol. 28. – P. 306
78. Papaleo E. [et al.] Basal progesterone levels as the main determinant of progesterone elevation on the day of hCG triggering in controlled ovarian stimulation cycles. Arch. Gynecol. Obstet. – 2014. – Vol. 290 (1). – P. 169- 171.
79. Papanikolaou, E.G., Bourgain, C., Kolibianakis, E., Tournaye, H., Devroey, P., 2005. Steroid receptor expression in late follicular phase endometrium in GnRH antagonist IVF cycles is already altered, indicating initiation of early luteal phase transformation in the absence of secretory changes. Hum. Reprod. 20, 1541–1547.
80. Papanikolaou, E.G., Kolibianakis, E.M., Pozzobon, C., Tank, P., Tournaye, H., Bourgain, C., Van Steirteghem, A., Devroey, P., 2009. Progesterone rise on the day of human chorionic gonadotropin administration impairs pregnancy outcome

- in day 3 singleembryo transfer, while has no effect on day 5 single blastocyst transfer. *Fertil. Steril.* 91, 949–952.
81. Papanikolaou, E.G., Pados, G., Grimbizis, G., Bili, E., Kyriazi, L., Polyzos, N.P., Humaidan, P., Tournaye, H., Tarlatzis, B., 2012. GnRH-agonist versus GnRH-antagonist IVF cycles: is the reproductive outcome affected by the incidence of progesterone elevation on the day of HCG triggering? A randomized prospective study. *Hum. Reprod.* 27, 1822–1828.
 82. Permezel, J.M., Lenton, E.A., Roberts, I., Cooke, I.D., 1989. Acute effects of progesterone and the antiprogesterin RU 486 on gonadotropin secretion in the follicular phase of the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 68, 960–965.
 83. Requena Antonio, Cruz María, Bosch Ernesto, Meseguer Marcos, Antonio García-Velasco Juan High progesterone levels in women with high ovarian response do not affect clinical outcomes: a retrospective cohort study *Reproductive Biology and Endocrinology* 2014, 12:69 doi:10.1186/1477-7827-12-69
 84. Roque Matheus, Valle Marcello, Sampaio Marcos, Geber Selmo, Checa Miguel Angel. Ratio of progesterone-to-number of follicles as a prognostic tool for in vitro fertilization cycles. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics (Impact Factor: 1.72)*. 05/2015; 32(6). DOI: 10.1007/s10815-015-0487-1
 85. Rosario, G., Sachdeva, G., Okulicz, W.C., Ace, C.I., Katkam, R.R., Puri, C.P., 2003. Role of progesterone in structural and biochemical remodeling of endometrium. *Front. Biosci.* 8, s924–s935.
 86. Saleh H. A., Omran M. S. E.-A., and Draz M., “Does subtle progesterone rise on the day of HCG affect pregnancy rate in long agonist ICSI cycles?” *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, vol.26, no.5, pp. 239–242,2009.
 87. Santi, Daniele, et al. "Efficacy of Follicle-Stimulating Hormone (FSH) Alone, FSH+ Luteinizing Hormone, 2017
 88. Schoolcraft, W., Sinton, E., Schlenker, T., Huynh, D., Hamilton, F., Meldrum, D.R., 1991. Lower pregnancy rate with premature luteinization during pituitary suppression with leuprolide acetate. *Fertil. Steril.* 55, 563–566.

89. Silverberg KM, Burns WM, Olive DL, et al. Serum progesterone levels predict success of in vitro fertilization/embryo transfer in patients stimulated with leuprolide acetate and human menopausal gonadotropins. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73:797–803.
90. Simon, C.J. Obery'e, J. Bellver et al., “Similar endometrial development in oocyte donors treated with either high- or standard-dose GnRH antagonist compared to treatment with a GnRH agonist or in natural cycles,” *Human Reproduction*, vol. 20,no.12,pp.3318–3327,2005.
91. Sims JA, Seltman HJ, Muasher SJ. 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. *Hum Reprod* 1994;9:235–40.
92. Sonigo C, Dray G, Roche C, Cédric-Durnerin I, Hugues JN. Impact of high serum progesterone during the late follicular phase on IVF outcome. *Reproductive BioMedicine Online* (2014) 29, 177–186
93. Sunkara, S.K., Rittenberg, V., Raine-Fenning, N., Bhattacharya, S., Zamora, J., Coomarasamy, A., 2011. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum. Reprod.* 26, 1768–1774.
94. Tang Y, Gong F, Lin G, Lu G. Early follicular progesterone concentrations and in vitro fertilization pregnancy outcomes. *Fertil Steril* 2007;87:991–4.
95. Thuesen, L.L., Smits, J., Loft, A., Nyboe Andersen, A., 2013. Endocrine effects of hCG supplementation to recombinant FSH throughout controlled ovarian stimulation for IVF: a dose-response study. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 79, 708–715.
96. Ubaldi F, Albano C, Peukert M, et al. Subtle progesterone rise after the administration of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist cetrorelix in intracytoplasmic sperm injection cycles. *Hum Reprod* 1996;11:1405–7.
97. Ubaldi, F., Smits, J., Bourgain, C., et al., 1996 b. Premature luteinization in in vitro fertilization cycles using gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-

- a) and recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) and GnRH-a and urinary FSH. *Fertil. Steril.* 66, 275–280
98. Van Vaerenbergh, I., Fatemi, H.M., Blockeel, C., Van Lommel, L., In't Veld, P., Schuit, F., Kolibianakis, E.M., Devroey, P., Bourgain, C., 2011. Progesterone rise on HCG day in GnRH antagonist/ rFSH stimulated cycles affects endometrial gene expression. *Reprod. Biomed. Online* 22, 263–271.
99. Venetis CA, Kolibianakis EM, Bosdou JK, Lainas GT, Sfontouris IA, Tarlatzis BC, Lainas TG. Basal serum progesterone and history of elevated progesterone on the day of hCG administration are significant predictors of late follicular progesterone elevation in GnRH antagonist IVF cycles. *Hum Reprod.* 2016 Aug;31(8):1859-65. doi: 10.1093/humrep/dew141. Epub 2016 Jun 14. PubMed PMID: 27301360.
100. Venetis, C.A., Kolibianakis, E.M., Bosdou, J.K., Tarlatzis, B.C., 2013. Progesterone elevation and probability of pregnancy after IVF: a systematic review and meta-analysis of over 60 000 cycles. *Hum. Reprod. Update* 19, 433–457.
101. Venetis CA, Kolibianakis EM, Bosdou JK, Lainas GT, Sfontouris IA, Tarlatzis BC, Lainas TG. Estimating the net effect of progesterone elevation on the day of hCG on live birth rates after IVF: a cohort analysis of 3296 IVF cycles. *Hum Reprod.* 2015 Mar; 30(3):684-91. doi: 10.1093/humrep/deu362. Epub 2015 Jan 12.
102. Venetis, C.A., Kolibianakis, E.M., Papanikolaou, E., Bontis, J., Devroey, P., Tarlatzis, B.C., 2007. Is progesterone elevation on the day of human chorionic gonadotrophin administration associated with the probability of pregnancy in in vitro fertilization? A systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update* 13, 343–355.
103. Werner MD, Forman EJ, Hong KH, Franasiak JM, Molinaro TA, Scott RT Jr. Defining the "sweet spot" for administered luteinizing hormone-to-follicle-stimulating hormone gonadotropin ratios during ovarian stimulation to protect against a clinically significant late follicular increase in progesterone: an analysis

- of 10,280 first in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril*. 2014 Nov;102(5):1312-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.07.766. Epub 2014 Aug 20.
104. Wu, Z., Li, R., Ma, Y., Deng, B., Zhang, X., Meng, Y., Chen, X., Liu, P., Qiao, J., 2012. Effect of HCG-day serum progesterone and oestradiol concentrations on pregnancy outcomes in GnRH agonist cycles. *Reprod. Biomed. Online* 24, 511–520.
105. Xu, B., Li, Z., Zhang, H., Jin, L., Li, Y., Ai, J., Zhu, G., 2012. Serum progesterone level effects on the outcome of in vitro fertilization in patients with different ovarian response: an analysis of more than 10,000 cycles. *Fertil. Steril*. 97, 1321–1327, e1–4.
106. Younis JS. "Premature luteinization" in the era of GnRH analogue protocols: time to reconsider. *J Assist Reprod Genet* 2011;28: 689–92.
107. Yovel, I., Yaron, Y., Amit, A., Peyser, M.R., David, M.P., Kogosowski, A., Lessing, J.B., 1995. High progesterone levels adversely affect embryo quality and pregnancy rates in in vitro fertilization and oocyte donation programs. *Fertil. Steril*. 64, 128–131.