

На правах рукописи

Огородников Денис Васильевич

**ОПТИМИЗАЦИЯ ГОРМОНАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ ПРОТОКОЛОВ
ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

**автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Доброхотова Юлия Эдуардовна**

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор **Калинина Елена Анатольевна**
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отделение вспомогательных технологий в лечении бесплодия имени профессора Б.В. Леонова, заведующая отделением

Доктор медицинских наук, профессор **Кузнецова Ирина Всеволодовна**
Негосударственное образовательное частное учреждение последипломного образования "Высшая медицинская школа", руководитель направления Гинекологическая эндокринология"

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии»

Защита диссертации состоится «__» _____ 2021 года в 14:00 часов на заседании Диссертационного совета Д 208.072.15 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, Москва, ул. Островитянова, д.1 и на сайте: <https://rsmu.ru/>

Автореферат разослан «__» _____ 2021г

Ученый секретарь Диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор  **Хашукоева Асият Зульчифовна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

При использовании антагонистов ГнРГ (антГнРГ) в рамках стимуляции суперовуляции (ССО) часто наблюдается умеренный рост сывороточной концентрации прогестерона (Lin Yu-Ju, et al., 2015). 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 (Lin Yu-Ju, et al., 2015). В свою очередь, повышение сывороточной концентрации прогестерона в конце фазы индукции протокола ЭКО, признаваясь частым явлением, имеет принципиальное клиническое значение, негативно влияя на результат (Калинина Е.А. и соавт., 2016; Al-Azemi, et al. 2012). 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.

Степень разработанности научной темы

По настоящее время остаются существенные разногласия по ряду определяющих моментов (Кузнецова И.В., 2018), самым принципиальным из которых можно считать неопределенность с критически значимым порогом уровня прогестерона, превышение которого на практике необходимо расценивать, как руководство к действию (Cai Qianfang, et al., 2013). В дополнительной проверке нуждается оценка продолжительности воздействия высокого уровня прогестерона на показатели эффективности ЭКО. Вероятность регистрации высокой концентрации прогестерона в конце первой фазы цикла ЭКО напрямую коррелирует с интенсивностью проводимой стимуляции, прежде всего ФСГ (Bosch, E., et al., 2010; Kolibianakis, E.M., Venetis, C.A., et al., 2012). Роль ЛГ в происхождении фолликулярной гиперпрогестеронемии далеко не так однозначна (Bosch, E., et al., 2010; Griesinger, G., et al., 2013). Необходимо отметить, что мировые наблюдения за уровнем прогестерона в крови в контексте сравнения протоколов ССО с антГнРГ и использованием различных соотношений ЛГ:ФСГ в особенности рекомбинантным ЛГ очень немногочисленные. 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 (Venetis CA, et al., 2015). Однако необходимо отметить, сегодня мы все еще нуждаемся в уточнении эффектов 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. Объективно резюмируя, сегодня в дополнительное оценке нуждается выбор тактики, направленной на снижение сывороточной концентрации прогестерона в конце этапа ССО и стратегии ВРТ в условиях повышенной концентрации прогестерона на высоте индукции.

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 антГнРГ при стимуляции различными гонадотропинами и модифицированных естественных криоциклов.

Научная новизна

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 антГнРГ 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 работы

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 неэффективных 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, 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 (М), среднеквадратическое отклонение (δ), ошибка среднего (m), медиана (Me). При анализе качественных данных определена частота (%). Статистически значимыми считались отличия при Р менее 0,05 (95%-й уровень значимости) и при Р 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. Используемая литература включает 107 источников, из них: 15 – отечественных и 92 – зарубежных.

Материалы и методы исследования

Настоящая работа выполнена за период с 2016 по 2020 годы на кафедре акушерства и гинекологии лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова (заведующая кафедрой - д.м.н., профессор Доброхотова Ю.Э.). Подбор пациенток произведен в медицинском центре репродукции и генетики Нова клиник (ООО МедИнСервис, Москва, главный врач - Ващенко И.М.).

Результаты исследования и их обсуждение

Всего было обследовано 367 пациенток, в период с января 2016г по декабрь 2018г.

Критерии включения. Возраст - менее 36 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. Каждая пациентка имела установленные показания для процедуры ВРТ, а так же выразила информированное согласие на манипуляции и исследования.

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 (сальпингостомия), 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 5 млн/мл; подвижность меньше 10%; морфология менее 1%), отсутствие бластоцист хорошего качества на момент переноса в полость матки при предыдущей попытке ЭКО.

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

1 группу составили 246 женщин (67,0%), проходящих ССО гонадотропинами в фиксированной ежедневной дозе 150Ме (по ФСГ) 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 уровня 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%), которые получали рФСГ, 1А2 группа - 52 пациентки (38,2%) получали одновременно рФСГ и рЛГ в соотношении 2:1, и 1А3 группа - 43 пациентки (31,6%), 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 по показаниям. В свою очередь данная группа была так же разделена на три подгруппы в зависимости от использования препарата для стимуляции суперовуляции: 1Б1 группа (рФСГ) - 30 пациенток (27,3%), 1Б2 группа (рФСГ:рЛГ в соотношении 2:1) - 36 пациенток (32,7%), и 1Б3 группа (ЧМГ) - 44 пациентки (40,0%).

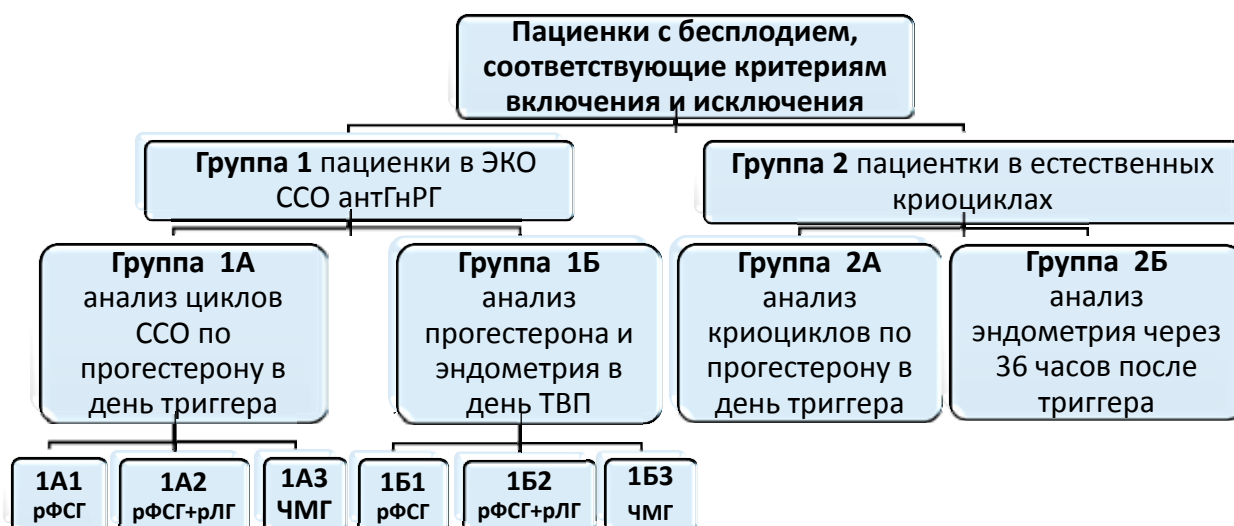


Рисунок 1- Дизайн исследования

Во 2 группу вошла 121 женщина (33,0%), наблюдавшихся в модифицированных естественных криоциклах. Данная группа была разделена на 2 группы: 2А группа- 67 женщин (55,4%), у которых оценивали уровень прогестерона в день введения триггера овуляции, и которым проводили перенос одного эмбриона, 2Б группа- 54 пациентки (44,6%), без переноса эмбриона, и у которых оценивали уровень прогестерона в крови в день введения триггера и состояние эндометрия через 36 часов после введения триггера овуляции.

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.

Общеклинические методы исследования. При сборе анамнеза особое внимание акцентировано на детальной оценке менструальной функции, репродуктивном анамнезе пациентки и ее супруга. Уделено внимание гинекологическому анамнезу, наследственным заболеваниями, соматическому статусу и хроническим соматическим заболеваниям, а также оперативным вмешательствам на других органах. Проведен анализ ранее выполненных циклов ВРТ, в том числе клинические и эмбриологические параметры.

Гормональные методы исследования. Выполнены в ООО «Научно-методический центр клинической лабораторной диагностики Ситилаб», г.Москва. Концентрации гормонов (ЛГ, ФСГ, Эстрадиол, АМГ, Пролактин, Тестостерон, Тиреотропный гормон, Т4 свободный, ХГЧ, Прогестерон) в сыворотке крови определены с применением иммуноферментных тест-систем «Hoffmann La Roche» на автоматическом анализаторе Elecsys 2010 этой же компании (Швейцария), а также хемилюминесцентных систем «DPC» на анализаторе Immulite (USA).

Гистологическое и иммуногистохимическое исследования эндометрия. Гистологическое и ИГХ исследования эндометрия проведены в лаборатории патоморфологии ООО МЦ ФертиЛаб, Москва. Забор эндометрия выполнен 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. Гистологическое исследование эндометрия, оценку процента клеток поверхностного эпителия с наличием зрелых пиноподий, ЛИФ (фактор, ингибирующий лейкемию) выполняли в световом микроскопе при увеличении x400 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 Noeyes. ИГХ реакции проводили на депарафинированных срезах толщиной 3-4 мкм по общепринятым методикам. Анализ результатов ИГХ реакций для ЭРα и PR-A 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 ЭРа 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% ($\pm$) – 0,5 баллов, менее 20% (+) – 2 балла, от 20 до 40% (++) – 4 балла, более 40% (+++) – 6 баллов.

Ультразвуковое исследование органов малого таза. Трансвагинальные ультразвуковые исследования (УЗИ) выполняли с использованием сканера Mindray DC4 (Mindray Company, Китай), кавитальный полостной датчик 6-10 МГц, в режимах серошкальной эхографии (2D). Исследования и описания исследований выполняли по стандартным методикам.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

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 (от 26 до 35 лет), во 2 группе – $30,1 \pm 3,3$ лет (от 23 до 35 лет), 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, в том числе гинекологического, значимых отличий у пациенток 1 и 2 групп так же обнаружено не было (таблица 1).

Таблица 1- Частота гинекологических заболеваний и эндокринных нарушений в 1 и 2 группах

Гинекологические заболевания	1 группа	2 группа
Аденомиоз I-II степени	44 (17,9%)	22 (18,2%)
Миома матки	31 (12,6%)	21 (17,4%)
Хронический сальпингоофорит	69 (28,1%)	40 (33,1%)
ВДКН, неклассическая форма	13 (5,2%)	5 (4,1%)
СПКЯ	11 (4,5%)	4 (3,3%)

Обе группы характеризовались сопоставимой частотой регистрации первичного (114 (46,3%) пациенток 1 группы, и 52 (43,0%) пациентки 2 группы) и вторичного (71 (28,9%) в 1 группе, 36 (29,8%) во 2 группе) бесплодия, мужского фактора в структуре бесплодия (58 (23,6%) в 1 группе, 32 (26,4%) во 2 группе) а так же самопроизвольного аборта на малом сроке беременности (45 (18,3%) в 1 группе, 20 (16,5%) во 2 группе). 81 (32,9%) пациентка 1 группы и 47 (38,8%) 2 группы ранее перенесли лапароскопию и/или гистероскопию с целью эндоскопического обследования органов малого таза и полости матки.

Результаты лабораторного обследования на определение уровня гормонов крови у пациенток на 2-5 дни менструального цикла находились в референтных пределах и достоверно не различались (таблица 2).

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

Гормоны (интервал нормы)	1 группа	2 группа
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
Эстрадиол (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
Пролактин (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
Тиреотропный гормон (0,44-3,63 мкМЕ/мл)	2,1±0,9	2,8±0,8
Т4 свободный (0,97-1,58нг/дл)	1,2±0,2	1,1±0,2

Одной из задач исследования явилось проведение сравнительного анализа уровня прогестерона в день триггера овуляции у пациенток 1 и 2 групп. С помощью методов статистической обработки при определении уровня прогестерона мы определяли среднее значение со стандартной ошибкой с определением доверительного интервала (95%) [рисунок 2].

Нами установлено, что в группе пациенток 1А1 (ССО рФСГ), уровень прогестерона в день триггера составил 0,9 нг/мл (95% ДИ 0,8 - 1,04) и колебался от 0,4 до 1,9 нг/мл. В группе пациенток 1А2 (ССО рФСГ+рЛГ), уровень прогестерона составил 0,6 нг/мл (95% ДИ 0,5 – 0,6), колебался от 0,3 до 1,5 нг/мл. В группе пациенток 1А3 (ССО ЧМГ), уровень прогестерона 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.

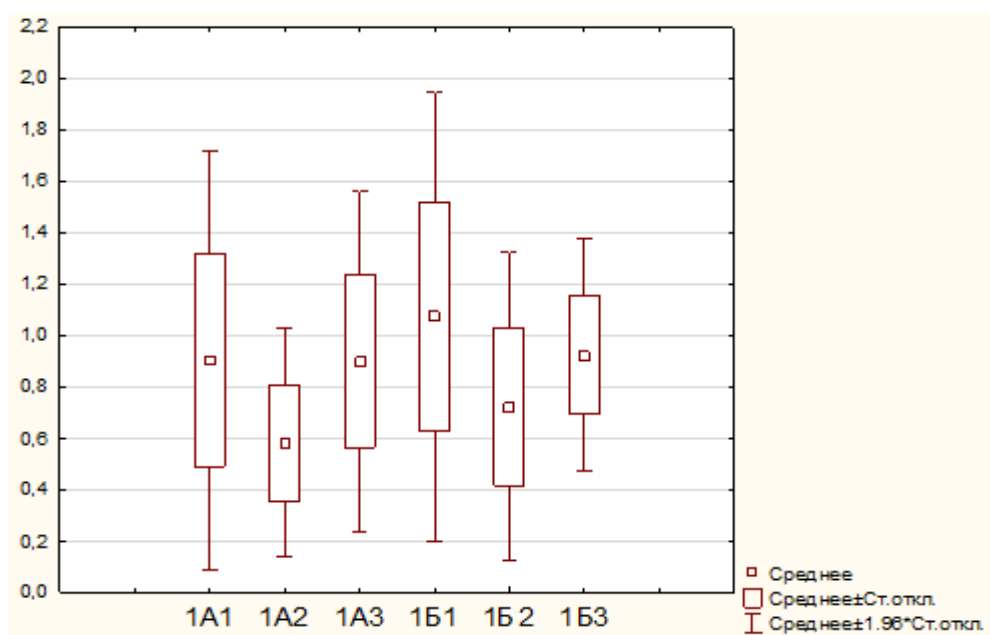


Рисунок 2- Сравнительный анализ уровня прогестерона в группах 1A1, 1A2, 1A3, 1B1, 1B2, 1B3

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. В группе 1Б1 уровень прогестерона составил 1,0 нг/мл (95% ДИ 0,9 – 1,2), колебался от 0,4 до 2,1 нг/мл. В группе 1Б2 уровень прогестерона составил 0,7 нг/мл (95% ДИ 0,6 – 0,8), колебался от 0,3 до 1,6 нг/мл. В группе 1Б3 уровень прогестерона составил 0,9 нг/мл (95% ДИ 0,8 – 1,0), колебался от 0,6 до 1,7 нг/мл.

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.

В нашем исследовании мы попытались выявить оптимальный пороговый уровень прогестерона, при котором частота наступления беременности будет высокой. Оказалось, что относительный риск (RR), 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 RR 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 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 уровне 1,5 нг/мл

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

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 ($p < 0,05$).

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 (рФСГ), повышение уровня прогестерона выше порогового наблюдалось у 10 (9,1%) пациенток, в 1Б2 группе (рФСГ+рЛГ) – у 3 (2,7%) пациенток. В группе 1Б3 (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 $p < 0,05$).

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

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

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. В 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 (ССО рЛГ), что оказалось достоверно выше ($p < 0,001$) [рисунок 3].

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.

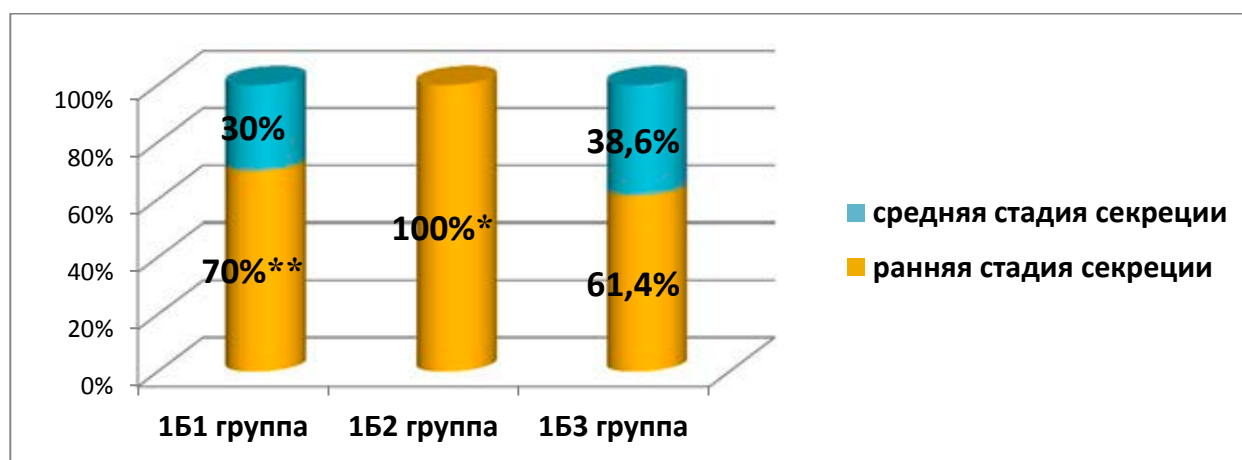


Рисунок 3 - Частота разной степени созревания эндометрия в 1Б группе

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

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

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.

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.

При анализе рецепторного аппарата эндометрия пациенток группы 1Б и 2Б в ходе нашего исследования были получены результаты, представленные на рисунке 4.

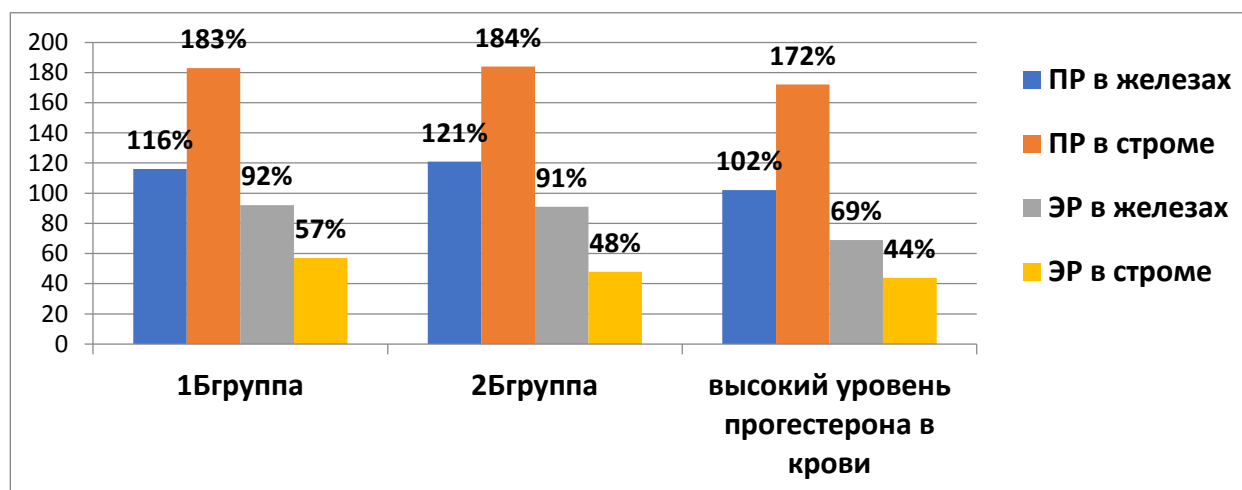


Рисунок 4 - Экспрессия ПР и ЭР в железах и строме при проведении ИГХ эндометрия в день введения триггера овуляции у пациенток 1Б и 2Б групп

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.

Анализируя представленные 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.

В ходе исследования изучали фолликулярный ответ на введение различных препаратов используемых для ССО, количество полученных ооцитов и эмбрионов, данные представлены на рисунке 5.

Нами 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.

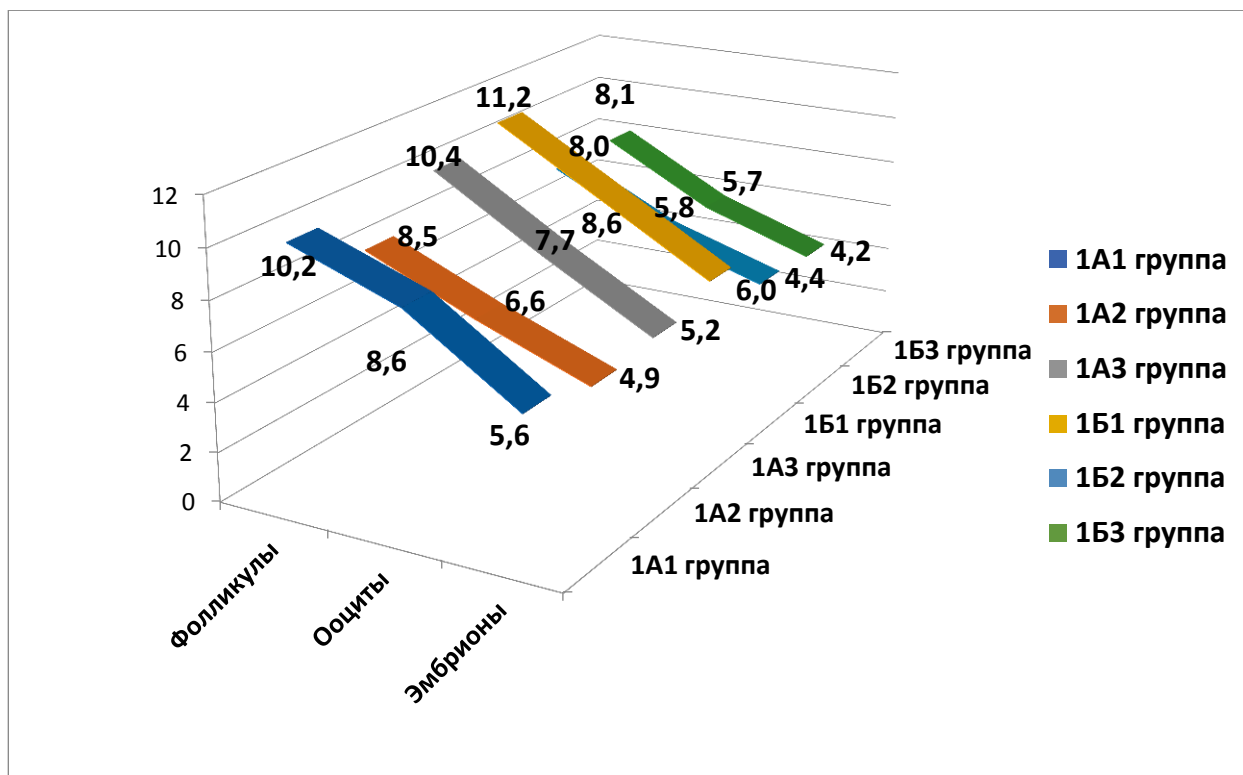


Рисунок 5 - Графическое изображение фолликулярного ответа на введение различных препаратов, используемых для стимуляции овуляции, количества полученных ооцитов и эмбрионов у пациенток 1Б и 2Б групп

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 2,0), 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 1А1 группе отмечается умеренная положительная корреляционная связь – 0,64, в 1А2 группе отмечается та же положительная корреляционная связь, однако в меньшей

степени – умеренная – 0,50, в 1А3 группе получена заметная положительная корреляционная связь – 0,60 между уровнем прогестерона и количеством полученных фолликулов. В 1Б1 группе была получена, так же, как и в группе 1А1, 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 1Б3 группе, в 1Б2 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.

При проведении сравнительного анализа между уровнем прогестерона в крови, количеством полученных преовуляторных фолликулов и размером полученного максимального фолликула были получены результаты, представленные в таблице 3.

Таблица 3 - Сравнительный анализ между уровнем прогестерона в крови, количеством фолликулов и размером 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 от 16 до 24 мм, средний размер $18,2 \pm 1,4$ мм. В 1А3 группе от 17 до 25 мм, средний размер $19,7 \pm 2,1$ мм. В 1Б1 группе от 17 до 25 мм, средний размер $20,0 \pm 2,5$ мм. В 1Б2 группе от 17 до 25

мм, средний размер $19,1 \pm 2,1$ 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 так же от 17 до 25 мм, средний размер $19,4 \pm 2,2$ мм.

Между уровнем прогестерона в крови и диаметром максимального фолликула в группе 1 выявлена высокая положительная корреляционная связь от 0,80 до 0,90 (средняя 0,84). При сравнении количества полученных преовуляторных фолликулов с максимальным фолликулом зарегистрирована положительная умеренная и заметная корреляционная связь от 0,40 до 0,70 в группах, где проводилась ССО (средняя - 0,54).

Нами определено, 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 фолликулов и количеством ооцитов, между количеством преовуляторных фолликулов и количеством эмбрионов, между уровнем прогестерона в крови и количеством полученных эмбрионов. Были получены следующие данные, представленные в таблице 4.

Таблица 4 - Сравнительный анализ между уровнем прогестерона в крови, количеством полученных преовуляторных фолликулов, количеством ооцитов и эмбрионов у 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

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; 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 (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 ходе исследования было обнаружено, что при пороговом значении прогестерона выше 1,2 нг/мл беременность у пациенток разных групп наступила у 12 пациенток (5,9%), при пороговом значении прогестерона ниже 1,2 нг/мл – у 73 пациенток (36,0%) (уровень значимости $p < 0,001$).

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

Достоверным является факт того, 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.

Таким образом, проведенное нами исследование позволило определить практически значимый уровень прогестерона (1,2 нг/мл) в день назначения овуляторной дозы рХГЧ в протоколах с антГнРГ для пациенток с исходно хорошим прогнозом эффективности ЭКО. Нами показано, что пролонгация фолликулярной фазы является наиболее важным фактором патологического роста концентрации прогестерона, а применение рЛГ в соотношении рЛГ:рФСГ – 1:2 характеризуется снижением риска увеличения уровня прогестерона и получением большего количества blastocyst при сравнении с циклами стимуляции без применения рЛГ и циклами с применением ЧМГ.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Результаты проведенного исследования дают основу для дальнейшей разработки стратегии циклов ВРТ. Целесообразно продолжить исследования в отношении практически значимого порога уровня прогестерона, в частности его индивидуальной коррекции применительно к значимым характеристикам пациентки, таким как возраст, ИМТ, фактор бесплодия, прогноз ответа яичников, качество эмбрионов и методологии самого анализа.

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 опубликованных работ по теме диссертации

1. Огородников, Д.В. Высокий уровень прогестерона в процессе контролируемой овариальной стимуляции протокола ЭКО. Что страдает — яйцеклетка или эндометрий? /Д.В. Огородников, Ю.Э. Доброхотова// **Проблемы репродукции.**- 2016.-№22(5).- С. 51-55.
2. Огородников, Д.В. Влияние гиперпрогестеронемии в процессе контролируемой овариальной стимуляции на исход попытки ЭКО (обзор литературы). /Д.В. Огородников, Ю.Э. Доброхотова// **Проблемы репродукции.**- 2016.-№22(6).-С. 78-83.
3. Огородников, Д.В. Профили прогестерона в фолликулярной фазе естественного и индуцированного циклов. /Д.В. Огородников, Ю.Э. Доброхотова// **Проблемы репродукции.**- 2017.-№23(2).-С. 14-21.
4. Огородников, Д.В. Влияние фолликулярной гиперпрогестеронемии на эффективность циклов экстракорпорального оплодотворения в протоколах с антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона. /Д.В. Огородников, И.Ю. Ильина, Ю.Э. Доброхотова// **Проблемы репродукции.**- 2019.-№25(2).-С. 67-77.
5. Огородников, Д.В. Влияние фолликулярной гиперпрогестеронемии на состояние эндометрия в циклах ЭКО. /Д.В. Огородников, И.Ю. Ильина, Ю.Э. Доброхотова// **Проблемы репродукции.**- 2019.-№25(4).-С. 61-68.

6. **.В. Огородников Патент на полезную модель №185028 "Устройство для переноса эмбриона"/Д.В. Огородников; Заявка №2018117350, 10.05.2018; Приоритет:10.05.2018г. Зарегистрировано в Федеральной службе по интеллектуальной собственности 19.11.2018г.**
7. **.В. Огородников Патент на полезную модель №187500 "Инструмент для эмбриотрансплантации"/Д.В. Огородников; Заявка № 2018134924, 03.10.2018; Приоритет:10.05.2018г. Зарегистрировано в Федеральной службе по интеллектуальной собственности 11.03.2019г.**