

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.И. ПИРОГОВА
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

РАБАДАНОВА АСИЯТ КУРБАНМАГОМЕДОВНА

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ
РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ У ПАЦИЕНТОК СО
СНИЖЕННЫМ ОВАРИАЛЬНЫМ РЕЗЕРВОМ.**

14.01.01 – акушерство и гинекология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор,

Шалина Раиса Ивановна

Москва - 2018

Оглавление.....	2
ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. Экстракорпоральное оплодотворение при сниженном овариальном резерве (обзор литературы).....	10
1.1. Овариальный резерв и его роль в эффективности циклов ЭКО.....	10
1.2. Методы оценки овариального резерва и возможность прогнозирования исходов после ЭКО.....	12
1.3. Анатомо-физиологические особенности у пациенток со сниженным овариальным резервом.....	20
1.4. Сравнительная характеристика современных методов лечения пациенток со сниженным овариальным резервом.....	29
1.5. Заключение.....	35
ГЛАВА 2. Пациенты и методы.....	38
2.1. Дизайн исследования.....	38
2.2. Характеристика наблюдений.....	42
2.3. Общие принципы проведения лечебно-диагностических мероприятий у пациенток с бесплодием.....	49
2.3.1. Методы исследования.....	49
2.3.2. Инструментальные методы.....	50
2.3.3. Определение антиоксидантной активности фолликулярной жидкости методом кинетической люминол-активированной хемилюминесценции.....	52
ГЛАВА 3. Результаты исследования.....	55
3.1. Особенности течения I триместра беременности с исходно сниженным овариальным резервом перед ЭКО (ретроспективный этап исследования).....	55
3.2. Антиоксидантная активность фолликулярной жидкости (проспективный этап исследования).....	68
3.3. 2D и 3D ультразвуковые маркеры эффективности программы ЭКО (проспективный этап исследования).....	79
ГЛАВА 4. Обсуждение результатов исследования.....	93
ВЫВОДЫ.....	112
Практические рекомендации.....	113
Сокращения.....	114
Литература.....	115

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования.

Особенностью современной социально-экономической ситуации в мире является тот факт, что женщины откладывают деторождение на поздний репродуктивный возраст, отдавая предпочтение получению образования, карьере, решению материально-бытовых проблем. С возрастом уменьшается количество и качество яйцеклеток [6,9,66,79,114,116,141]. С 2006 по 2015 год отмечено смещение деторождения на более поздний репродуктивный период, в котором отмечается высокий уровень общей и гинекологической заболеваемости, увеличение бесплодия в 1,6 раза почти во всех федеральных округах РФ (Регистр ВРТ Отчет за 2015 год).

Репродуктивная система женщины жестко детерминирована во времени, с 27 летнего возраста начинается процесс потери пула примордиальных фолликулов, пик которой наступает в возрасте 35–37 лет [7,10,23]. Важным условием эффективности экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) является достаточный овариальный резерв. Частота встречаемости пациенток с бесплодием и сниженным овариальным резервом обусловлена прежде всего увеличением числа женщин старшего возраста, обращающихся в центры вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), а так же тех пациенток, кто ранее подвергался цистэктомиям [27,39,56,190].

Плохой ответ яичников на стимуляцию суперовуляции с большой вероятностью прогнозируется по уровню антимюллера гормона (АМГ), который является количественным маркером фолликулярного резерва яичников [10,19,21,55]. Его продукция не зависит от уровня фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и не меняется в течение менструального цикла [55, 65,69,112,117]. Но можно ли считать АМГ косвенным показателем качества ооцитов и прогностическим критерием развития осложнений в I триместре беременности остается неясным.

К важным факторам эффективности ЭКО относится состояние эндометрия, и способность его к имплантации. Адекватное кровоснабжение

матки и яичников является необходимым условием сохранности овариального резерва [23,26,39,49,72,80,85,137,138]. Учитывая, что при сниженном овариальном резерве отмечается тенденция к снижению внутриматочной перфузии вопрос о степени выраженности изменений маточного кровотока у таких пациенток остается актуальным.

Снижение овариального резерва свидетельствует о гормональных изменениях, оказывающих влияние на течение беременности, особенно в первом триместре [60]. Данных о течении беременности и количестве осложнений при сниженном овариальном резерве недостаточно.

Учитывая, что когорта пациенток со сниженным овариальным резервом имеет ряд особенностей, влияющих на эффективность цикла ЭКО, изучение данного вопроса является актуальной сферой исследования.

Степень разработанности научной темы

Трудности медикаментозного лечения пациенток со сниженным овариальным резервом привели к поиску новых технологий и возможностей улучшения эффективности программ ЭКО. Низкая эффективность лечебных мероприятий объясняется отсутствием возможности влияния на репродуктивный потенциал.

Эффективность ЭКО в большей мере определяется получением ооцитов хорошего качества и является одной из важнейших задач в ходе выполнения процедур ВРТ. В настоящее время имеется предположение, что одним из принципиальных повреждающих факторов фолликулярной жидкости является оксидативный стресс, который может негативно влиять на формирование эмбриона хорошего качества [52,58,70,142,164]. В связи с чем эффективность протокола ЭКО может быть снижена, а однозначного мнения о роли антиоксидантов в формировании эмбрионов хорошего качества нет.

Учитывая, что пациентки с низким овариальным резервом имеют низкую эффективность программ ЭКО, изучение факторов, влияющих на успех лечебных протоколов является актуальной сферой исследования.

Цель исследования

Разработать критерии эффективности программ ЭКО у пациенток с исходно сниженным овариальным резервом.

Задачи исследования

1. Провести анализ и выявить особенности течения первого триместра беременности после ЭКО и частоту репродуктивных потерь у пациенток со сниженным овариальным резервом.
2. Установить факторы риска осложнений беременности, способствующих неблагоприятным исходам при сниженном овариальном резерве.
3. Оценить степень выраженности антиоксидантной активности фолликулярной жидкости у пациенток с различным овариальным резервом.
4. Соотнести качество эмбрионов с параметрами антиоксидантной активности фолликулярной жидкости у пациенток с различным овариальным резервом и эффективностью протоколов ЭКО.
5. Определить значимость параметров кровотока матки при 3D УЗИ в день переноса эмбриона у пациенток с различным овариальным резервом для эффективности программ ЭКО.

Научная новизна

Впервые на основании изучения антиоксидантной активности (АОА) фолликулярной жидкости и параметров внутриматочного кровотока выявлены критерии эффективности циклов ЭКО при сниженном овариальном резерве.

Установлено влияние АОА фолликулярной жидкости на качество эмбриона: определено, что как окислительный, так и антиоксидантный стресс в 88,9-100% соотносится с эмбрионами плохого качества.

Определены параметры объемного кровотока в матке и эндометрии с захватом субэндометриальной зоны с помощью 3D УЗИ, помогающие объективно оценивать возможность имплантации эмбриона в эндометрий в день переноса.

Выявлено, что сочетание низкого АМГ и позднего репродуктивного возраста у беременных пациенток после ЭКО является предиктором репродуктивных потерь в первом триместре.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что на основании полученных данных определены критерии эффективности циклов ЭКО у пациенток со сниженным овариальным резервом.

Практическая значимость состоит в выборе тактики влечения пациенток со сниженным овариальным резервом в циклах ВРТ, позволяющий повысить эффективность протоколов ЭКО и избежать заведомо не эффективных переносов эмбрионов и перинатальных потерь.

Методология и методы исследования

Методология исследования включала оценку особенностей течения первого триместра беременности после экстракорпорального оплодотворения у пациенток с различным овариальным резервом, а так же факторы, влияющие на эффективность вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток со сниженным овариальным резервом. Исследование выполнено с соблюдением принципов доказательной медицины (отбор больных и статистическая обработка результатов). Работа выполнена в дизайне открытого двухэтапного (ретроспективный и проспективный) исследования с использованием клинических, инструментальных, лабораторных и статистических методов исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. У пациенток со сниженным овариальным резервом частота осложнений и потерь беременности в 1,8 раз выше чем при нормальной функции яичников.
2. Уровень антиоксидантной активности фолликулярной жидкости позволяет предположить о качестве эмбрионов на 5 сутки развития. Как увеличение, так и

снижение уровня антиоксидантной активности коррелирует с плохим качеством эмбриона.

3. Объем эндометрия, параметры кровотока в матке и субэндометриальной зоне по данным 3Д УЗИ являются эффективным предиктором успешности метода ЭКО независимо от овариального резерва.

Степень достоверности результатов исследования

Статистическая обработка материалов проводилась с использованием пакетов прикладных программ «Statistica 7», «MedCalc 11». Различия между группами анализировались с помощью t-критерия Стьюдента, U-критерия Манна-Уитни. В расчетах применялся ROC-анализ. Для получения численного значения клинической значимости теста, а также для сравнения двух тестов, использовался показатель AUC (Area Under Curve).

Апробация работы

Основные результаты работы доложены и обсуждены на: XI международной Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых (Москва, март 2017); 17th World Congress on Human Reproduction (Рим, март 2017); Gynecological Endocrinology - 18th World Congress (Флоренция, март 2018).

Апробация диссертационной работы состоялась на совместной научно-практической конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова, кафедры акушерства и гинекологии факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, врачей ГБУЗ ЦПСИР ДЗМ (протокол №14 от 27 июня 2018).

Личное участие автора

Личное участие автора состоит в организации дизайна исследования в соответствии с его целью и задачами, получении исходных клинических данных, проведении сбора клинического материала. Автором выполнен анализ анамнестических данных, клинических наблюдений и результатов

обследования, а так же проведен забор фолликулярной жидкости и серия экспериментов с обработкой полученных данных. Сделаны 3Д УЗИ исследования всех пациенток проспективного этапа в день переноса эмбриона, выполнена обработка и статистический анализ полученных данных.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.01 – Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 3, 4, 5 паспорта акушерства и гинекологии.

Реализация и внедрение полученных результатов в практику

Результаты исследования внедрены в лечебную практику гинекологических, дородовых и консультативных отделений клинических баз кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России: ГБУЗ «Центр планирования семьи и репродукции» ДЗ г. Москвы (главный врач – к.м.н. О.А. Латышкевич), Перинатального Медицинского Центра (главный врач – Т.О. Нормантович), а так же используются в педагогическом процессе на лекциях и практических занятиях со студентами и ординаторами на кафедре акушерства и гинекологии педиатрического факультета ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» и кафедре акушерства и гинекологии факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова».

Публикации материалов исследования

По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 5 –в изданиях, рекомендованных ВАК Министерством образования и науки РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 136 страницах печатного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, включающего 201 источник: 50 – отечественных и 151 – зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 25 рисунками и 13 таблицами.

ГЛАВА 1. Экстракорпоральное оплодотворение при сниженном овариальном резерве

Обзор литературы

1.1. Овариальный резерв и его роль в эффективности циклов ЭКО.

Овариальный резерв играет одну из определяющих ролей в эффективности программ ЭКО. Несмотря на то, что понятие «овариальный резерв» очень широко применяется в профессиональной и научно-популярной литературе, его четкое и однозначное определение не сформулировано [44]. По определению К.Ю. Боярского овариальный резерв — функциональный запас яичников, определяющий их способность к генерации здорового фолликула с полноценной яйцеклеткой, равно как и возможность адекватного ответа на гормональную стимуляцию в циклах ВРТ. Таким образом, овариальный резерв представляет собой совокупное количество фолликулов, находящихся в яичниках, и напрямую зависит от разнообразных физиологических факторов [10,11,21,32].

Установка достоверного диагноза снижения овариального резерва возможна только с помощью специальных тестов его оценки (в литературе широко используется аббревиатура ORT: Ovarian Reserve Tests). Некоторые из этих исследований обладают высокой предиктивной ценностью, позволяя с большой точностью спрогнозировать полный спектр вариантов ответа яичников на стимуляцию, тогда как другие, напротив, имеют скорее теоретическое значение и фактически не применяются в реальной практике [89, 107,115,127,148]

Основными тестами овариального резерва являются:

- гормональные тесты: уровень антимюллерова гормона (АМГ), базальный уровень ФСГ, соотношение ФСГ/ЛГ, базальный уровень эстрадиола, концентрация ингибина В;
- ультразвуковой метод: определение числа антральных фолликулов, измерение объема яичников

Использование контролируемой стимуляции суперовуляции в циклах ЭКО позволило повысить эффективность программ по лечению бесплодия при сниженном овариальном резерве до 15-20%. Помимо получения оптимального количества ооцитов – большое значение имеет качество ооцитов, так как это напрямую определяет успех ЭКО [3,25,28,32,47,84].

Известно, что наступление беременности не означает рождение ребенка в срок. Согласно отчету Российской Ассоциации Репродукции Человека (РАРЧ), около 30% беременностей, которые наступили в результате ЭКО и ПЭ, ИКСИ не завершается родами. 90% всех потерь при беременности приходится на I триместр [14,60].

В последние годы довольно широко изучается состояние «овариального резерва», подразумевающее оценку репродуктивного потенциала с помощью определенных характеристик, однако, дискуссия о наборе и количественных значениях тех или иных маркеров, далека от разрешения.

При устойчивом снижении способности яичников к продукции функциональных ооцитов говорят о низком овариальном резерве (синонимичные прилагательные – сниженный или бедный) [32,89,199]. Этот процесс может происходить под влиянием физиологических (возрастных) и патофизиологических факторов. К числу первых относится количество примордиальных фолликулов в яичниках девочки к началу полового созревания (в норме 270 000–470 000), а также скорость истощения этого примордиального пула [102,127,128]. Общее количество фолликулов снижается с каждым менструальным циклом. К возрасту 37-38 лет их число уменьшается до порогового значения ~25 000, после чего наступает резкое уменьшение примордиального пула. Считается, что этот феномен является следствием увеличения интенсивности атрезии фолликулов. Патологическими факторами, способствующими снижению овариального резерва, являются воспалительные заболевания органов малого таза, различные интоксикации, курение, генитальный эндометриоз, аутоиммунные заболевания, радиационное воздействие, а также ятрогения [10,32]. При отсутствии четких этиологических

факторов говорят об идиопатическом низком овариальном резерве, который, по мнению большинства экспертов, является следствием генетических аббераций на различных уровнях генома [103].

Низкий овариальный резерв является одной из наиболее актуальных проблем современной репродуктологии с огромной медико-социальной значимостью, поскольку данная патология сопровождается выраженным снижением фертильности и ухудшением исходов беременности по сравнению с женщинами, у которых овариальный резерв сохранен. В этой связи детальное изучение различных аспектов данного феномена (в частности, особенностей течения беременности у пациенток с низким овариальным резерве) в рамках контролируемого клинического исследования является актуальным научным направлением с большим теоретическим и прикладным потенциалом.

1.2. Методы оценки овариального резерва и возможность прогнозирования исходов после ЭКО

Быстрая и корректная диагностика низкого овариального резерва крайне важна с клинической точки зрения, поскольку позволяет своевременно оказать помощь и начать лечебные мероприятия, направленные на достижение и благополучный исход беременности. Вместе с тем, диагностический процесс в данном случае весьма затруднен, поскольку универсальные диагностические критерии этого синдрома не разработаны, равно как и его четкое определение (J. Cohen и др. 2015). При этом важно отличать низкий овариальный резерв от преждевременной яичниковой недостаточности (premature ovarian insufficiency) и недостаточного ответа яичников (poor ovarian response). С одной стороны, эти три нозологии отражают овариальную дисфункцию, но с другой – требуют принципиально различных подходов к стратегии к тактике лечения. Преждевременная (первичная) яичниковая недостаточность, которая также известна под названием преждевременная менопауза, связана с прекращением функции яичников у женщин в возрасте до 40 лет. Данная патология характеризуется триадой признаков: аменорея в течение как минимум 4 месяцев, снижение сывороточной концентрации эстрадиола и повышение

уровня ФСГ (> 40 МЕ/л в минимум двух образцах, взятых с интервалом в две недели) (M. De Vos и др. 2010). Бесплодие на фоне преждевременной яичниковой недостаточности корректируется только при использовании донорских ооцитов.

Согласно Болонским критериям, к пациенткам с повышенным риском бедного ответа относят женщин, у которых присутствуют два из трех нижеперечисленных признаков:

- 1) Поздний репродуктивный возраст (≥ 40 лет) или любой другой известный фактор риска бедного ответа (например, выполнявшиеся в прошлом двусторонняя резекция яичников или гонадотоксичная терапия);
- 2) Подтвержденный бедный ответ в предыдущей попытке ЭКО (получение ≤ 3 ооцитов при применении стандартного протокола стимуляции);
- 3) Отклонения, выявленные при выполнении одного из так называемых тестов оценки овариального резерва (базальное число антральных фолликулов $< 5-7$, объем яичников < 8 см³, концентрация в крови антимюллера гормона (АМГ) $< 1,0$ нг/мл, ингибина В < 40 пг/мл и др.) [89].

При всей кажущейся широте данного определения, оно не охватывает весь пул пациенток с низким овариальным резервом. Например, молодая бесплодная женщина с признаками обеднения овариального резерва, которая при этом никогда ранее не предпринимала попыток ЭКО, не удовлетворяет Болонским критериям [74,75,193]. Последние, таким образом, не являются строго диагностическими для низкого овариального резерва.

С целью разрешения путаницы в определении, Cohen et al. провели систематический обзор публикаций, опубликованных с 1990-го по 2015-й годы, и обнаружили 14 различных понятий низкого овариального резерва. Авторы выделили два ключевых критерия, которые фигурируют в большинстве работ и, таким образом, очерчивают диагностическую концепцию низкого овариального резерва (по их утверждению, впрочем, нуждающуюся в дополнительной проверке): 1) наличие факторов риска снижения овариального

резерва, 2) отклонения при выполнении одного тестов оценки овариального резерва [20,75].

Таким образом, можно утверждать, что установка достоверного диагноза снижения овариального резерва возможна только с помощью специальных тестов оценки овариального резерва (в литературе широко используется аббревиатура ORT: Ovarian Reserve Tests). Некоторые из этих исследований обладают высокой предиктивной ценностью, позволяя с большой точностью спрогнозировать полный спектр вариантов ответа яичников на стимуляцию, тогда как другие, напротив, имеют скорее теоретическое значение и фактически не применяются в реальной практике. При этом следует отметить, что несмотря на их высокую точность, ни один из этих маркеров не дает 100% гарантии корректного диагноза: частота ложноположительных результатов, по данным исследований, не опускается ниже 10-20% даже при использовании самого точного теста овариального резерва [29,149,117,118].

Основными тестами овариального резерва являются уровень антимюллера гормона (АМГ) и число антральных фолликулов, а вспомогательными – базальный уровень ФСГ, концентрация ингибина В и некоторые другие.

АМГ – это димерный гликопротеин, экспрессируемый клетками гранулезы преантральных и ранних антральных фолликулов в течение всего репродуктивного периода жизни женщины. Концентрация этого гормона в крови стремительно достигает максимума после наступления пубертата, после чего начинает прогрессивно снижаться (что отражает истощение общего фолликулярного резерва), достигая неопределяемых значений к моменту начала менопаузы [4,56,92]. Эффективность измерения АМГ при оценке овариального резерва была продемонстрирована в различных клинических исследованиях [67,97]. Так, в работе Buyuk et al. с участием 73 женщин с повышенным уровнем ФСГ было установлено, что концентрация АМГ, измеренная случайным образом в любой временной точке менструального цикла, четко коррелирует с количеством ооцитов, извлеченных в ходе цикла

ЭКО ($11,0 \pm 1,3$ против $5,6 \pm 0,6$ при уровне АМГ < 6 нг/мл, $r = 0,55$). Кроме того, у женщин с пониженным уровнем АМГ было зафиксировано меньшее количество эмбрионов на 3-й день ($3,0 \pm 0,5$ против $5,7 \pm 0,9$) и меньшая частота наступления клинической беременности (14% и 28%, соответственно) [69]. Существенным преимуществом этого маркера является минимальная внутри- и межцикловое колебание концентрации АМГ, которое было описано многими специалистами [69,87,89,118]. С другой стороны, отсутствие единых референсных значений АМГ являются существенным аспектом, который обуславливает гетерогенность имеющейся информации касательно диагностической ценности этого маркера. Отчасти это связано с разнообразием тест-систем, которые применяются в условиях клинических исследований и реальной практики. Так на отчете РАРЧ 2017 года К.Ю. Боярским была освещена проблематика вариабильности показателей АМГ, которая связана с методикой определения этого показателя. На сегодняшний день исследование АМГ выполняется методом ручного полуавтоматического метода иммуноферментного анализа АМН GenII, имеющим ряд особенностей, таких как относительная вариабельность результатов за счет наличия ручных процедур, формата метода и других. Компанией «Beckman Coulter Inc.» был разработан полностью автоматический тест на определение АМГ — Access АМН, который исключал влияние ручных процедур на результаты анализа. Автором проведено исследование, определяющее уровень АМГ двумя методиками, описанными выше. В ходе исследования доказано, что автоматический метод Access АМН может решить проблему вариабельности результатов, улучшить их воспроизводимость, повысить чувствительность тестирования, значительно ускорить время выдачи результата и в конечном счете сделать определение индивидуального овариального резерва женщины более точным. [11]

Впрочем, следует отметить, что несмотря на все ограничения, измерение АМГ обладает значительно большей диагностической ценностью по сравнению с другими гормонами. Так, в исследовании Jamil et al. с участием 160 женщин с

нарушениями фертильности было установлено, что только уровень АМГ, но не ФСГ, позволял дифференцировать категории пациенток с различным количеством фолликулов.

Современные данные все же склоняются к тому, что не совсем верно для оценки степени снижения овариального резерва только один параметр. Использование данных об уровне АМГ целесообразно сочетать с информацией о количестве антральных фолликулов, а так же возрасте. Так Y Lee и соавторы в 2017 году опубликовали данные о том, что именно эти три критерия являются наилучшими прогностическими маркерами эффективности циклов ЭКО и показателями живорожденности. Указано, что по уровню АМГ можно предположить вероятность наступления беременности, однако для определения вероятности рождения здорового ребенка данного параметра не достаточно. В связи с чем авторы определили критерии, при которых вероятность рождения здорового ребенка будет выше: это возраст менее 41 года, количество антральных фолликулов более 3. Если у пациентки со сниженным овариальным резервом аналогичные показатели, то прогностическая вероятность рождения ребенка будет выше, чем у женщин старше 41 года и количестве антральных фолликулов менее 3. [146].

С тем, что использованием только одного параметра для определения сниженного овариального резерва согласны и Hussain M. и соавт [117]. Автор указывает, что определение только количества антральных фолликулов недостаточно, для постановки диагноза, в связи с чем комбинация с определением уровня АМГ является наиболее оправданной.

Базальная концентрация ФСГ, измеряемая на третий день менструального цикла, является одним из наиболее распространенных тестов овариального резерва, который применяется в течение более чем двух десятилетий, однако в последнее время уходит на второй план. Данный показатель отражает выраженность отрицательной обратной связи, реализуемой ингибином В и эстрадиолом в отношении гипофиза [56]. Таким образом, повышение базальной концентрации ФСГ свидетельствует об истощении фолликулярного аппарата

яичников. Безусловными достоинствами этого исследования являются его простота и доступность. Однако эксперты обращают внимание на выраженную суточную и цикловую вариабельность результатов, а также на отсутствие общепринятых пороговых значений, что снижает диагностическую ценность данного метода [139,140]. У женщин с регулярным менструальным циклом ФСГ обладает высокой прогностической ценностью только при достижении очень высоких концентраций, что значительно сужает круг потенциальных пациентов [66]. Установлено, что истощение овариального резерва может предшествовать повышению базальной концентрации ФСГ, и поэтому нормальный уровень этого гормона не исключает диагноз сниженного овариального резерва. Таким образом, несмотря на то, что в определенных клинических ситуациях этот лабораторный метод может находить применение, его диагностическая ценность в общей популяции женщин с нарушениями фертильности является неочевидной [127].

Изолированное измерение концентрации эстрадиола обладает низкой предиктивной ценностью и не рекомендуется к применению в реальной практике, однако сочетанный скрининг ФСГ и эстрадиола характеризуется более высокой чувствительностью по сравнению с каждым из этих двух маркеров по отдельности [175]. В ходе крупного ретроспективного исследования ($n = 2634$ женщины с нарушениями фертильности) было установлено, что у пациенток с уровнем эстрадиола менее 20 или более 80 пг/мл чаще фиксировался сниженный ответ яичников на стимуляцию, однако какая-либо корреляция с частотой достижения беременности отсутствовала [90].

Ингибин В – это гетеродимерный гликопротеин, который продуцируется клетками гранулезы фолликула. Seifer et al. обнаружили, что у женщин с низкой концентрацией этого гормона на третий день менструального цикла (< 45 пг/мл) отмечается снижение ответа на стимуляцию овуляции в ходе ЭКО, а также уменьшение частоты достижения клинической беременности [177,178]. Кроме того, существенным обстоятельством является тот факт, что снижение

концентрации ингибина В хронологически предшествует повышению уровня ФСГ. Вместе с тем, в клинических исследованиях было продемонстрировано отсутствие предиктивной ценности данного метода в качестве маркера овариального резерва [76,108]. Рутинное измерение концентрации этого гормона с целью установления диагноза НОР, таким образом, не рекомендуется.

Большую роль в оценке овариального резерва играют ультразвуковые параметры, один из которых (число антральных фолликулов) рассматривается экспертами в качестве одного из основных маркеров, наряду с АМГ. Этот показатель оценивается с помощью трансвагинального ультразвукового исследования, которое выполняется в течение ранней фолликулярной фазы [127]. При этом специалисты отмечают, что 3D-методики не имеют существенных преимуществ по сравнению с 2D при оценке овариального резерва [123]. Итоговый показатель представляет собой сумму антральных фолликулов обоих яичников. Количество $\geq 8-10$ свидетельствует об удовлетворительном состоянии овариального резерва и считается предиктором нормального ответа на стимуляцию. И напротив, если число антральных фолликулов < 4 , следует ожидать бедный овариальный ответ. Существующей проблемой является отсутствие экспертного консенсуса относительно нормальных размеров антральных фолликулов, которые в различных публикациях определяются по-разному (2-6 и 7-10 мм) [105,106,127]. Другим неоднозначным аспектом является тот факт, что, обладая высочайшей предиктивной ценностью в отношении ответа яичников на стимуляцию, определение числа антральных фолликулов, с другой стороны, отличается не самыми высокими чувствительностью и специфичностью при прогнозировании недостижения беременности [95].

Еще одним параметром, который измеряется в ходе трансвагинального ультразвукового исследования, является объем яичника, рассчитываемый по формуле эллипсоид ($D1 \times D2 \times D3 \times \pi/6$). Для расчета этого показателя, необходимо измерить три перпендикулярных диаметра. По аналогии с числом

антральных фолликулов, итоговое значение представляет собой сумму объемов обоих яичников. В ряде научных публикаций отмечена высокая информативность этого параметра при оценке овариального резерва, однако все эксперты сходятся во мнении, что число антральных фолликулов является значительно более ценным маркером овариального резерва, по этому данный показатель используется редко [113, 139]. Немаловажным аспектом является тот факт, что объемная редукция яичников носит выраженный возраст-зависимый характер, значительно усиливаясь у женщин старше 40 лет, что не позволяет рассматривать данный параметр в качестве универсального маркера овариального резерва в широкой популяции женщин с нарушениями фертильности [21,39,143]. Предиктивная ценность ультразвуковой доплерографии в оценке овариального резерва также является неоднозначной; данный вопрос более детально обсуждается в следующем разделе обзора.

Относительно недавно международная исследовательская группа POSEIDON (Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualize D Oocyte Number) [86,115] предложила новую систему классификации пациенток со сниженным овариальным резервом, которая основывается на трех категориях количественных и качественных параметров, а именно: 1) возраст и ожидаемая частота анеуплоидии, 2) овариальные биомаркеры (например, число антральных фолликулов и АМГ), 3) характеристика овариального ответа. Опираясь на вышеприведенные данные, авторы выделяют четыре подгруппы пациенток:

Группа 1: молодые женщины (<35 лет) с адекватными параметрами овариального резерва (ЧАФ ≥ 5 , АМГ $\geq 1,2$ нг/мл) и ожидаемым бедным либо субоптимальным ответом яичников. В данной группе дополнительно выделено две подгруппы: 1a (< 4 выделенных ооцитов после стандартной овариальной стимуляции) и 1b (4-9 выделенных ооцитов).

Группа 2: женщины более старшего возраста (≥ 35 лет) с адекватными параметрами овариального резерва (ЧАФ ≥ 5 , АМГ $\geq 1,2$ нг/мл) и ожидаемым

бедным либо субоптимальным ответом яичников. Подгруппы: 2a и 2b (аналогичные характеристики).

Группа 3: молодые женщины (<35 лет) с признаками сниженного овариального резерва до стимуляции (ЧАФ < 5, АМГ < 1,2 нг/мл).

Группа 4: женщины более старшего возраста (≥ 35 лет) с признаками сниженного овариального резерва до стимуляции (ЧАФ < 5, АМГ < 1,2 нг/мл).

Данная система предусматривает определение оптимального количества ооцитов, необходимое для получения одного зуплоидного эмбриона для последующего трансфера в случае каждой отдельной пациентки. По мнению авторов и сторонних экспертов классификация POSEIDON позволяет более четко классифицировать женщин со сниженным овариальным резервом, что обеспечивает более эффективный индивидуальный подход к лечению и улучшение клинических исходов ВРТ [115]. Однако данной классификации еще предстоит проверка временем и крупными клиническими исследованиями.

1.3. Анатомо-физиологические особенности у пациенток со сниженным овариальным резервом

Адекватное кровоснабжение яичников является необходимым условием сохранности овариального резерва. Яичники кровоснабжаются овариальными (яичниковыми) артериями, которые отходят от брюшной аорты на уровне поясничных позвонков L1-2. Дополнительным источником перфузии являются яичниковые ветви маточной артерии. Венозный отток осуществляется через овариальные (яичниковые) вены, при этом правая впадает непосредственно в нижнюю полую вену, а левая – в левую почечную вену [36,57,61]. Основными сосудами, обеспечивающими кровоснабжение матки, являются парные маточные артерии. Обычно каждая из них отходит от передней ветви внутренней подвздошной артерии, чаще всего вместе с пупочной артерией; нередко маточная артерия начинается сразу под пупочной артерией, реже она отходит от верхней пузырной, а иногда и от основного ствола внутренней подвздошной артерии. Ветви маточной артерии проникают в матку и следуют параллельно ее внешнему контуру, образуя так называемую чудесную сеть (rete

mirabile) – сосудистое сплетение, которое состоит из сосудов трех типов, различающихся как расположением, так и строением. Самые крупные по диаметру артерии проходят в виде дуги между внешним (продольным) и средним (круговым) мышечными слоями. От дуговой артерии перпендикулярно направлению ее хода отходят многочисленные радиальные сосуды, диаметр которых намного меньше. В свою очередь, радиальные артерии делятся на два типа артериол: прямые артериолы кровоснабжают базальный слой эндометрия, а спиральные артериолы – функциональный слой, их изменения заметны на протяжении менструального цикла [36,64,120].

В исследовании Raba et al. было установлено, что лигирование внутренних подвздошных артерий в ходе хирургического лечения акушерского кровотечения приводит к дилатации яичниковых артерий и реверсированию кровотока в овариальных ветвях маточных артерий (по данным КТ-ангиографии), что в совокупности приводило к снижению овариального резерва [171].

С другой стороны, не вполне понятно, возможно ли достоверное прогнозирование исходов стимуляции яичников с помощью УЗДГ. Giugliano et al. выполняли 2D-доплерографию яичниковых артерий в рамках диагностического обследования перед проведением контролируемой стимуляции яичников и внутриматочной инсеминации. Авторы отметили, что доплерографические параметры были схожими у женщин, достигших и не достигших клинической беременности. Допплерография не предоставляла какую-либо дополнительную ценную информацию относительно овариального резерва испытуемых. Среднее значение индекса резистентности обладало незначительной диагностической ценностью, и его низкая специфичность (53%), по мнению авторов, не позволит рассматривать этот метод в качестве скринингового [96]. В другом исследовании было установлено, что индекс васкуляризации яичников (VI), определяемый с помощью трехмерного энергетического доплера, не являлся существенным предиктором овариального ответа на стимуляцию, тогда как число антральных фолликулов,

напротив, ожидаемо продемонстрировало высокую предиктивную ценность в этом отношении [124]. Данный вопрос, безусловно, заслуживает дополнительного глубокого внимания со стороны научного сообщества.

Маточный кровоток является важным фактором рециптивности эндометрия, которая во многом определяет успех имплантации эмбриона [2,13,16,41,54,59,77,101]. Вместе с тем, данные относительно предиктивной ценности рутинной оценки кровотока в яичниковых и маточных артериях с точки зрения прогнозирования исходов ВРТ неоднозначны. В одноцентровом наблюдательном контролируемом исследовании, выполненным под руководством профессора Puerto, приняли участие 280 пациенток с бесплодием, которым выполнялась 2Д-УЗИ с доплерографией в день переноса эмбриона. Авторы отметили крайне низкую прогностическую ценность ультразвуковых параметров кровотока для прогнозирования исхода цикла при выполнении ЭКО [170]. Kader et al. также не зафиксировали какой-либо связи между доплерографическими индексами и исходами ЭКО/ИКСИ в ходе исследования с участием 100 женщин [51]. В ходе другого исследования изучалась роль доплерографических параметров маточного кровотока, полученных так же с помощью 2Д-УЗИ (индекс резистентности, пульсационный индекс, пиковая систолическая скорость кровотока) в прогнозировании успешной имплантации эмбриона. Ультразвуковое исследование проводилось непосредственно перед переносом эмбриона. Авторы не обнаружили какого-либо влияния вышеупомянутых параметров на вероятность наступления клинической беременности [200]. Аналогичные результаты были получены в ходе другого проспективного исследования с участием 188 женщин, которым выполнялся перенос эмбрионов в рамках ЭКО. Средние значения пульсационного индекса в течение ранней фолликулярной фазы и в день введения триггера овуляции были сопоставимыми у женщин, которых наступила и не наступила беременность ($2,09 \pm 1,15$ против $1,9 \pm 0,95$, $p = 0,385$ и $1,86 \pm 1,12$ против $2,03 \pm 1,0$, $p = 0,192$, соответственно). Статистически достоверные различия при сравнении других

доплерографических показателей также не зафиксированы, исходя из чего авторы сделали вывод об отсутствии прогностической ценности 2D-доплерографии в данной клинической практике [167].

В других публикациях, напротив, были озвучены противоположные выводы касательно прогностической ценности ультразвукового исследования кровотока. Kim et al. анализировали взаимосвязь между импедансом кровотока в стромальных артериях яичника, определяемого с помощью трансвагинального цветового доплера, и исходами ЭКО и переноса эмбриона. Ученые обнаружили, что в подгруппах с большими значениями индекса резистентности частота достижения беременности была значительно ниже ($p < 0,05$); кроме того была зафиксирована статистически достоверная положительная корреляция между значением этого индекса и общей дозой гонадотропинов, используемых для контролируемой стимуляции яичников ($Y = 0,483X + 27,1$, $r = 0,052$, $p < 0,05$; $Y = 0,877X + 26,6$, $r = 0,075$, $p < 0,05$). Авторы высоко оценили прогностическую ценность цветового доплера в данном исследовании [137,138].

В научной работе, выполненной Ivanovski et al, были отмечены статистически значимые отличия индекса резистентности и пульсационного индекса маточных артерий у женщин (по данным 2D-УЗИ), достигших беременности в ходе ЭКО, что по их мнению связано с большей рецептивностью эндометрия у данных пациенток. В заключении ими рекомендовано выполнение рутинного трансвагинального УЗИ с целью оценки маточного кровотока у женщин при использовании ВРТ [120]. Следует отметить, что аналогичные выводы были озвучены и в некоторых более ранних тематических публикациях [72,195]. В другом проспективном исследовании, которое также было посвящено аналогичному вопросу, приняли участие 236 пациенток, которым выполнялась стимуляция яичников по длинному протоколу с применением агонистов ГнРГ и рекомбинантного ФСГ. В день переноса эмбриона всем им выполнялся двухмерный цветовой и трехмерный энергетический доплер. Kim A и соавт. зафиксировали более высокие

значения индекса васкуляризации (VI) в эндометрии, индекса кровотока (FI) и васкуляризационно-поточного индекса (VFI) у пациенток, благополучно достигших беременности, по сравнению с недостижими ($p = 0,001$, $p = 0,000$ и $p = 0,021$, соответственно). По мнению авторов, полученные результаты свидетельствовали о высокой прогностической ценности ультразвуковой оценки кровотока в эндометрии, полученных с помощью 3Д-УЗИ в день переноса эмбриона [138]. Jianing Wang и соавт. по результатам метанализа пришли к выводу, что увеличение кровотока в эндометрии (по данным 2Д УЗ-доплерографии) во время средней лютеиновой фазы по сравнению с предовуляторной фазой является благоприятным прогностическим фактором [126].

Kalmantis и соавторы в 2012 году провели исследование, в ходе которого сравнивали данные о кровоснабжении субэндометриального слоя, полученные с помощью 2Д УЗИ и 3Д УЗИ и соотносили их с рецептивностью эндометрия, которая оценивалась по данным, полученным с помощью пайпель-биопсии. Было выявлено, что 3Д УЗИ обладает большой прогностической способностью, благодаря которому возможно предположить о степени выраженности рецептивности эндометрия благодаря возможности получать более подробную информацию об исследуемых структурах [129].

Еще в 1945 году P.Vigano и соавт. опубликовали данные, ставшие впоследствии афоризмом: «Бластоциста может виртуально имплантироваться в любом месте человеческого организма, кроме нерцептивного эндометрия». Пролиферация и дифференциация эндометрия контролируется стероидными гормонами яичника, отвечающими за активный ангиогенез [32]. В Китае Ernest H.Y.NG и соавторы провели исследование в ходе которого сравнивали параметры кровотоков в миометрии, субэндометрии и эндометрии, полученные с помощью 3Д энергетического доплера в стимулированных и естественных циклах. В ходе проведенного обследования установлено, что кровотоки в миометрии не информативны при описании скровоснабжения эндометрия и субэндометриального слоя. Так же выявлено, что параметры кровотоков в

миометрии у пациенток в стимулированных циклах ниже, чем при естественных циклах, автор связывает - это может быть объяснено вазодилатацией в миометрии, которая является результатом повышенной концентрации в сыворотке эстрадиола после стимуляции яичников. Поток крови к эндометриальной и субэндометриальной регионам будет уменьшен после овариального стимулирования. Именно поэтому измерение маточного кровотока не может отражать степень выраженности кровотока эндометрия, особенно во время стимулированных циклов. [85]

По данным Asifa M и соавт. [61], основным фактором, приводящим к уменьшению овариального резерва является снижение кровотока в яичниках, диагностировать который можно раньше чем повышенный уровень ФСГ.

Таким образом, говоря о целесообразности доплерографического исследования маточного и овариального кровотока для прогнозирования исходов ЭКО, следует отметить, что литературные данные, касающиеся прогностической ценности этих методик, характеризуются значительной разнообразностью, а мнения экспертов по данному вопросу различны, что свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения этой темы в рамках клинических исследований.

Как упоминалось ранее, в клинических исследованиях было установлено, что снижение овариального резерва (в том числе у молодых женщин) может ассоциироваться со снижением частоты достижения беременности и частоты рождения живого ребенка после ВРТ [74,75,192]. Эксперты считают, что данный факт является следствием снижением не только количества ооцитов, обладающих потенциалом к фертилизации, но также и их качества, что приводит к повышению частоты генетических aberrаций, неудачной имплантации и риска развития структурных и/или функциональных дефектов эмбриона [91,157]. Greene et al. провели систематический обзор литературы с целью выявления потенциальных генетических этиологических факторов низкого овариального резерва, которые в том числе могут обуславливать снижение качества ооцитов [103].

Проанализировав содержание 21 статей, авторы выделили следующие генетические aberrации: одну мутацию гена (*FMRI*), три полиморфизма (*GDF9*, *FSHR* и *ESRI*) и семь генов с характеристическими особенностями экспрессии по сравнению с контрольными группами (*AMH*, *LHCGR*, *IGF1*, *IGF1R*, *IGF2R* и *GREM1*). В заключении ученые отметили необходимость более детального изучения данного вопроса в ходе более крупных научных исследований [103]. В исследовании Shahine et al. с участием 239 пациентов с привычным невынашиванием беременности было отмечено, что низкий овариальный резерв ассоциируется с повышенной долей анеуплоидных blastоцист (57% против 49%) и более высокой частотой случаев переноса эмбрионов без эуплоидии (25% против 13%), что свидетельствует об исходном сниженном качестве ооцитов у таких пациенток [179]. Значительно более высокая распространенность анеуплоидных blastоцист у женщин с гормональными признаками низкого овариального резерва была зафиксирована и в более ранней научной работе [134].

Учитывая вышеуказанное, получение ооцитов хорошего качества (в циклах ЭКО) является одной из важнейших задач в ходе выполнения данной процедуры. Одним из принципиальных повреждающих факторов является оксидативный стресс. Эксперты отмечают, что в ходе ВРТ-процедур гаметы неизбежно подвергаются негативному воздействию (как эндогенному, так и экзогенному) реактивных окислительных радикалов [142]. Эти радикалы обнаруживаются в самих ооцитах, кумулюсных клетках и фолликулярной жидкости. По данным различных авторов, в состав фолликулярной жидкости (ФЖ) входят стероидные гормоны, цитокины, ферменты, антикоагулянты, электролиты, метаболиты (аминокислоты, жирные кислоты, липиды), факторы роста, источники активных форм кислорода (АФК), ферментные и неферментные антиоксиданты [88,102]. В современной науке актуальным является вопрос об участии АФК в различных физиологических и патологических процессах, протекающих в организме. Обнаружена роль АФК в функционировании многих систем органов, в том числе репродуктивной. С

начала 2000-х гг. начали появляться работы, в которых предпринимаются попытки найти корреляцию между антиоксидантным статусом ФЖ и исходом процедуры ЭКО.

В числе возможных источников АФК в фолликулярной жидкости рассматривают гранулёзу, нейтрофилы, макрофаги, эндотелиоциты [88,135,198]. Главными источниками АФК в клетках гранулёзы считаются цепь электронного транспорта в митохондриях для окисленных липопротеинов низкой плотности.

ФЖ образуется главным образом из плазмы и содержит похожий набор антиоксидантов: супероксид-дисмутазу (СОД), каталазу, селен-зависимую глутатионпероксидазу и глутатионредуктазу, а также жиро-и водорастворимые антиоксиданты, такие как витамин А, С, Е и глутатион, коэнзим Q10 [135,159,161,176,183,196].

Данные, имеющиеся в литературе, касаются роли прооксидантного статуса ФЖ в исходе ЭКО представляют трудность для сопоставления и осмысления. Это связано с тем, что на результат процедуры, как и на состав ФЖ, влияют такие параметры, как возраст пациенток [161,162,185], причина бесплодия, наличие или отсутствие гормонального вмешательства (ЭКО в стимулированном или естественном цикле), а также образ жизни пациенток. Кроме того, имеют значение параметры, выбираемые исследователями (например, оценка общего статуса или содержания отдельных антиоксидантов и др.). Некоторые исследователи пришли к выводу, что роль окислителей может отличаться на разных этапах репродуктивного цикла и развития эмбриона [12,53,180].

Пристальное внимание научного сообщества привлекает потенциальная сфера применения различных экзогенных антиоксидантов [12,73,196] с целью положительного влияния на репродуктологические исходы, в т.ч. у женщин с низким овариальным резервом, однако доказательная база в этой области является недостаточной. Так, в кокрановском систематическом обзоре с мета-анализом (28 клинических исследований, 3548 женщин) было отмечено, что

применение пероральных антиоксидантов не сопровождалось статистически достоверным увеличением частоты достижения беременности (ОШ = 1,3, 95% ДИ = 0,92-1,85, $p = 0,14$, $I^2 = 55\%$) и частоты рождения живого ребенка (ОШ = 1,25, 95% ДИ = 0,19-8,26, $p = 0,82$, $I^2 = 75\%$) (M.G. Showell и др. 2014). Научный поиск в этом направлении должен быть продолжен. Кроме того, возможно добавление антиоксидантов в культуральную среду с целью протекции выделенных гамет и эмбрионов [156, 188].

Влияние низкого овариального резерва на течение беременности и акушерские исходы является неоднозначным. Так, в ретроспективном исследовании по типу «случай-контроль» за авторством Woldringh et al. было установлено, что сниженный овариальный резерв является независимым маркером развития преэклампсии в течение беременности, достигнутой с помощью ЭКО/ИКСИ [194]. В когортном исследовании с участием 141 пациенток было обнаружено, что у женщин с привычным невынашиванием беременности значительно снижен уровень АМГ ($2,9 \pm 1,7$ нг/мл против $3,6 \pm 1,7$ нг/мл в группе контроля), при этом концентрация АМГ < 1 нг/мл была зафиксирована в 19,7% и 5,7% случаях, соответственно. По мнению авторов, полученные результаты свидетельствуют о том, что сниженный овариальный резерв является одним из факторов развития привычного невынашивания [60]. Pils et al. изучали биохимические маркеры, характерные для женщин с идиопатическим привычным невынашиванием беременности. Ученые обнаружили, что у пациенток с данной патологией уровень АМГ обладает высокой прогностической ценностью (пороговое значение $< 1,9$ нг/мл, чувствительность 72,7%, специфичность 52,6%), что свидетельствует о существовании связи между низким овариальным резервом и риском идиопатического привычного невынашивания [60,165]

С другой стороны, не во всех клинических исследованиях было зафиксировано негативное влияние низкого овариального резерва на течение и исходы беременности. В ходе проспективного исследования, которое было проведено в Нидерландах, при сравнении двух когорт женщин (с

привычным невынашиванием беременности, $n = 72$, и с нормально протекавшей беременностью, $n = 233$) с применением однофакторного и логистического регрессионного анализа не было обнаружено какой-либо связи между состоянием овариального резерва и риском невынашивания [105,106]. Bishop et al. провели многоцентровое ретроспективное когортное исследование с целью выявления связи между низким овариальным резервом и исходами беременности, достигнутой с помощью ЭКО. Состояние овариального резерва оценивалось по количеству антральных фолликулов и концентрации ФСГ. Всего было проанализировано 9489 циклов (8214 пациентов). В итоге авторы не обнаружили какой-либо взаимосвязи между овариальным резервом и риском спонтанного прерывания беременности ни в одной возрастной группе. Кроме того, при оценке частоты анеуплодии в абортусах предрасполагающее влияние низкого овариального резерва также зафиксировано не было [65].

Таким образом, неоднозначность имеющихся научных данных свидетельствует о необходимости продолжения изучения данного вопроса в ходе клинических исследований.

1.4. Сравнительная характеристика современных методов лечения пациенток со сниженным овариальным резервом

Учитывая ограниченную длительность репродуктивного периода у пациенток со сниженным овариальным резервом и объективные сложности в реализации своего репродуктивного потенциала с собственными яйцеклетками достижение беременности, которая должна завершиться благополучным акушерским исходом, является сложной задачей [128,189]. Подавляющее большинство существующих методик подразумевают применение различных протоколов овариальной стимуляции, которая выполняется с целью получения максимального количества ооцитов и главное, эмбрионов высокого качества.

В практике врача-репродуктолога используются различные варианты гонадотропинов. Среди наиболее распространенных препаратов следует отметить человеческий менопаузальный гонадотропин (менотропин), человеческий ФСГ (урофоллитропин), рекомбинантный ФСГ, в том числе

длительного действия (корифоллитропин альфа), человеческий хорионический гонадотропин (ХГЧ) и некоторые другие [28,38,86,144]. Стимуляция с использованием малых доз ФСГ (100-150 МЕ/сутки) является одним из наиболее широко применяемых протоколов. Добавление ЛГ в течение ранней фолликулярной фазы может оказывать благоприятный эффект на ооциты и, как следствие, качество эмбрионов. Вместе с тем, доказательная база относительно целесообразности добавления рекомбинантного ЛГ к ФСГ является весьма неоднозначной [22,31,71,81,130,131,132,147]

Изучалась целесообразность индивидуального подхода к дозированию ФСГ. Van Tilborg et al. в ходе серии рандомизированных когортных исследований с участием 1515 женщин обнаружили, что частота рождения живого ребенка составила 56,3% в группе с индивидуальным подходом и 58,2% в группе стандартной программой (разница рисков -0,019, 95% ДИ = (-0,06)–(-0,02), $p = 0,39$), что свидетельствует об отсутствии статистически достоверных межгрупповых различий. При этом индивидуализированный подход оказался значительно более дорогостоящим. Таким образом, был сделан вывод о нецелесообразности индивидуализированного подхода к дозированию ФСГ перед ЭКО/ИКСИ [186].

Агонисты ГнРГ широко применяются в рамках ЭКО у пациентов с низким овариальным резервом с целью предотвращения всплеска эндогенного ЛГ. При этом длинный протокол с применением аГнРГ ассоциируется с повышением продолжительности стимуляции и суммарной дозы используемых гонадотропинов. Тем не менее, несомненным преимуществом агонистов является дополнительный рекрутинг фолликулов. В этой связи возможно применение короткого протокола, при котором агонист назначается в течение ранней фолликулярной фазы до введения гонадотропинов; подобный подход широко применяется клиницистами при работе с пациентами со сниженным овариальным резервом. Некоторые специалисты предпочитают ультракороткие протоколы с целью минимизации гипофизарной супрессии, однако данный подход не ассоциируется с улучшением клинических исходов [190].

Протоколы ЭКО с применением антагонистов ГнРГ начали активно применяться в лечении пациентов с низким овариальным резервом в течение последнего десятилетия. Эти препараты позволяют добиться эффективного предотвращения преждевременного всплеска ЛГ без сопутствующего увеличения длительности лечения. В двух мета-анализах не были обнаружены какие-либо различия между протоколами с применением антагонистов и агонистов с точки зрения частоты достижения беременности [104,169].

ЭКО в естественном цикле применяется в качестве альтернативной схемы по отношению к высокодозным режимам при низком овариальном резерве с целью снижения гонадотропиновой нагрузки, что потенциально может сопровождаться повышением качества ооцитов, а также снижением сопутствующих финансовых затрат по сравнению с высокодозными режимами. Принимая во внимание преимущества ЭКО в естественном цикле, следует иметь в виду, что частота прерывания цикла при использовании данного протокола достигает 50%, а вероятность успешных родов у пациенток с низким овариальным резервом различных возрастных групп, по данным ряда авторов, является крайне низкой – 6,8-7,9% [166]. В крупном ретроспективном когортном исследовании (947 циклов, 320 пациентов) было установлено, что единственным достоверным прогностическим фактором при проведении ЭКО в естественном цикле является возраст (ОШ = 0,93, 95% ДИ = 0,88-0,98), вне зависимости от овариального резерва [100].

Модифицированный вариант ЭКО в естественном цикле с добавлением антагонистов ГнРГ и малых доз ФСГ, а также минимальная стимуляция с применением перорального летрозола или кломифенцитрата в сочетании с малыми дозами гонадотропинов являются примерами других схем, альтернативных по отношению к высокодозным протоколам у женщин с низким овариальным резервом [128]. Применение протокола с кломифенцитратом закономерно сопровождается снижением количества зрелых ооцитов и, как следствие, меньшими шансами получения жизнеспособных замороженных эмбрионов. Вместе с тем, частота достижения беременности и успешной

имплантации, по данным клинических исследований, являются, по-видимому, сопоставимыми в сравнении с агонист-содержащими протоколами [119,181]. Летрозол также является эффективным препаратом для овариальной стимуляции при кломифен-резистентности. Преимущества летрозола заключаются в следующем: 1) препарат поддерживает адекватную толщину эндометрия (поскольку не приводит к деплеции эстрогеновых рецепторов в организме), 2) препарат не нарушает механизм отрицательной обратной связи в гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси, что приводит к монофолликулярному росту и снижению риска многоплодной беременности [132].

Также перед проведением стимуляции практикуется назначение комбинированных оральных контрацептивов, прогестерона или этинилэстрадиола с целью улучшения фолликулярной синхронизации, предотвращения преждевременной овуляции, а также для планирования циклов. Однако с позиций доказательной медицины целесообразность такого подхода неочевидна: в клинических исследованиях было показано, что предварительное назначение КОК не повышает вероятность успешной имплантации и частоту достижения беременности [111, 128].

Назначение гормона роста является одним из вариантов адъювантной терапии, который применяется в комбинации с контролируемой овариальной стимуляцией с целью повышения выхода ооцитов и частоты достижения беременности у пациентов с низким овариальным резервом, однако данный подход также не обладает убедительной доказательной базой. В систематическом обзоре с мета-анализом за авторством Jevе et al. (семь клинических исследований, $n = 251$) было установлено, что назначение гормона роста женщинам перед стимуляцией яичников ассоциировалось со статистически достоверным улучшением исходов с точки зрения частоты достижения беременности (ОШ = 2,13; 95% ДИ = 1,06-4,28) и ее благополучного исхода (ОШ = 2,96; 95% ДИ = 1,17-7,52). Однако авторы подчеркнули малую численность выборки в каждом отдельном исследовании,

что делает невозможным широкую экстраполяцию результатов мета-анализа [125]. Так же назначение гормона роста в циклах стимуляции сопряжено со значительным увеличением экономических затрат на цикл ЭКО в связи с чем использование данного препарата ставит под сомнение целесообразность использования данной терапии.

Перспективным и многообещающим подходом к решению проблемы сниженного овариального резерва является «эстрогеновый прайминг» — назначение эстрогенов в лютеиновую фазу цикла, предшествующую стимуляции, с целью уменьшения уровня ФСГ. Fanchin et al. [87] впервые успешно применили данную методику в 2003-м году: ученые установили, что эстрогеновый прайминг позволяет добиться статистического достоверного снижения концентрации ФСГ, а также среднего диаметра фолликулов и среднего объема яичников, что в итоге приводит к формированию более гомогенного пула антральных фолликулов и более четкой синхронизации ответа на стимуляцию. Chang и соавт. провели мета-анализ семи клинических исследований, в ходе которых изучалась эффективность эстрогенового прайминга. Суммарная выборочная совокупность состояла из 450 циклов с эстрогенным праймингом и 606 контрольных. Ученые пришли к выводу, что осуществление эстрогенного прайминга увеличивает длительность стимуляции, повышает общее количество полученных ооцитов и количество зрелых ооцитов, а также ассоциируется со снижением частоты прерванных циклов. Авторы также зафиксировали закономерность, свидетельствующую о повышении частоты наступления беременности в результате применения эстрагенового прайминга, однако порог статистической достоверности преодолен не был (ОШ = 1,22, 95% ДИ = 0,89-1,68) [71].

Другой систематический обзор с мета-анализом был опубликован Reynolds et al. в 2013-м году. В него вошли восемь клинических исследований: семь ретроспективных и одно рандомизируемое контролируемое исследование. Эстрогеновый прайминг проводился с применением перорального либо трансдермального эстрадиола. Суммарное количество проанализированных

циклов составило 468 (с праймингом) и 621 (контроль). Авторы зафиксировали пониженный риск прерывания цикла у женщин основной группы по сравнению с контрольной (относительный риск ОР = 0,6, 95% ДИ = 0,45-0,78), а также увеличение вероятности достижения клинической беременности (ОР = 1,33, 95% ДИ = 1,02-1,72). Среди ограничений данного мета-анализа авторы отметили отсутствие универсального определения сниженного овариального резерва, в связи с чем состав выборки в анализируемых исследованиях был неоднородным (К. Reynolds и др. 2013). Принимая во внимание вышесказанное, можно утверждать, что для подтверждения эффективности применения эстрогенного прайминга при подготовке программы в ВРТ, необходимо проведение дополнительных проспективных рандомизированных исследований, которые опирались бы на унифицированные критерии включения и исключения пациенток [41,173].

В репродуктологии для лечения пациенток с НОР/НОЯ применяются и другие варианты прайминга, в том числе с применением антагонистов ГнРГ или андрогенов. Исследование FOLLPRIM было посвящено изучению репродуктологической эффективности различных протоколов фолликулярного стероидного прайминга. С точки зрения дизайна это было одноцентровое открытое рандомизированное контролируемое клиническое исследование с параллельными группами. Основная группа состояла из 66 женщин с подтвержденным низким овариальным резервом, контрольная группа была представлена 99 пациентками с потенциальными нарушениями овариального резерва (в этой группе прайминг перед ИКСИ не применялся). В итоге авторы не обнаружили существенных внутригрупповых различий между протоколами прайминга (тестостерон, эстрадиол, КОК/эстрадиол) с точки зрения количества полученных ооцитов в метафазе II. Однако при межгрупповом сравнении выяснилось, что назначение эстрадиола ассоциируется с увеличением выхода ооцитов ($2,7 \pm 1,7$ против $1,6 \pm 1,2$ в контрольной группе, $p = 0,029$), в то время как применение тестостерона сопровождалось повышением частоты

достижения беременности ($p = 0,003$) и экспрессии рецепторов к андрогенам [150].

Назначение андрогенов в форме перорального дегидроэпиандростерона или трансдермального тестостерона у пациентов с НОР/НОЯ изучалось и в ходе других клинических исследований. Эксперты считают, что данная адьювантная терапия благоприятно воздействует на интрафолликулярную среду и на чувствительность фолликулов к экзогенному ФСГ. Тем не менее, существующие данные свидетельствуют о весьма скромном улучшении различных репродуктологических параметров (как то: количество ооцитов, качество эмбрионов и др.) в результате применения андрогенов. В ранее упомянутом мета-анализе было отмечено, что назначение тестостерона ассоциировалось с улучшением частоты достижения беременности (ОШ = 2,4; 95% ДИ = 1,16-5,04) и ее исхода (ОШ = 2,18; 95% ДИ = 1,01-4,68), при этом применение дегидроэпиандростерона не сопровождалось изменениями со стороны количества ооцитов (средняя разность = 0; 95% ДИ = 1,07-1,07) и частоты достижения беременности (ОШ = 2,10; 95% ДИ = 0,75-5,85) [94,98,125,187].

1.5. Заключение.

Проблема снижения овариального резерва является одним из важнейших нерешенных вопросов современной репродуктологии. Ситуацию усугубляет отсутствие единого универсального определения и диагностических критериев данной патологии. Представленная в прошлом году классификационная система POSEIDON является удачной попыткой рассмотреть проблему, однако ее практическая ценность должна быть подтверждена в ходе клинических исследований и в реальной практике.

Лабораторно-инструментальная диагностика сниженного овариального резерва шагнула далеко вперед за последние годы, и сегодня имеется несколько высокочувствительных и специфичных тестов, важнейшими из которых являются концентрация АМГ и число антральных фолликулов. Вместе с тем, крайне перспективным направлением является дополнительная оценка

различных параметров маточного кровотока с применением различных методик ультразвукового исследования (в т.ч. 3D энергетической доплерографии) с целью прогнозирования исходов ЭКО у пациенток с НОР. Имеющие данные о прогностической ценности доплерографии в этом клиническом контексте являются противоречивыми, что свидетельствует о необходимости продолжения научного поиска в этом направлении.

В клинических исследованиях было подтверждено, что у женщин со снижением овариального резерва отмечается уменьшение не только количества функциональных ооцитов, но также и их качества, что проявляется в высокой частоте генетических aberrаций и может стать причиной неудачной имплантации, невынашивания и (при рождении живого ребенка) развития тяжелых наследственных заболеваний. Одним из патогенетических механизмов снижения качества ооцитов является оксидативный стресс, как экзогенный (связанный с воздействием различных факторов среды на гаметы/эмбрионы *in vitro*), так и эндогенный (связанный с дисбалансом прооксидантных и антиоксидантных систем в организме). Возможными решениями этой проблемы являются применение пероральных антиоксидантов или добавление их в культуральную среду, однако доказательная база в этих сферах является недостаточной, что свидетельствует о необходимости проведения дальнейших исследований.

Лечение пациенток со сниженным овариальным резервом в подавляющем большинстве случаев предусматривает применение контролируемой овариальной стимуляции и ЭКО, и в этом направлении также продолжается проведение клинических исследований с целью определения оптимального протокола, выбора наиболее подходящего гонадотропина и оценки эффективности консервативной терапии. Большое внимание исследователей в последние годы привлекли различные методики фолликулярного прайминга (в первую очередь – эстрогенового), который позволяет сформировать более гомогенный пул антральных фолликулов и синхронизировать ответ яичников на стимуляцию.

Таким образом, подводя итог, следует отметить, что различные аспекты диагностики низкого овариального резерва, лечения и особенностей течения беременности у пациенток с данной патологией нуждаются в дополнительном более детальном изучении, что обуславливает высокую актуальность данной диссертационной работы.

2.1 Дизайн исследования.

Работа была выполнена в течение 2015-2017 гг. на кафедре акушерства и гинекологии педиатрического факультета РНИМУ (зав.кафедрой академик РАН, д.м.н., профессор М.А.Курцер), расположенной на базе Центра планирования семьи и репродукции Департамента здравоохранения г. Москва (главный врач – к.м.н. О.А.Латышкевич) и Перинатального медицинского центра (главный врач – Т.О. Нормантович).

В общей сложности проанализировано 227 лечебных циклов ЭКО, из них 151 беременная пациентка после ЭКО и ПЭ (ретроспективный этап), и 76, находящихся в протоколе ЭКО (проспективный этап).

Дизайн исследования представлен в таблице 1.

На первом этапе производился ретроспективный анализ особенностей течения I триместра беременности у пациенток с исходно сниженным овариальным резервом.

Изучена 151 история беременности пациенток после ЭКО и ПЭ с исходно различным овариальным резервом для выявления особенностей течения первого триместра беременности. Лечение бесплодия методом ЭКО проводилось с 2013 по 2015г в Центре планирования семьи и репродукции и Перинатальном Медицинском центре.

Критерием включения на первом этапе были пациентки:

- с исходно сниженным овариальным резервом;
- с трубно-перитонеальным фактором бесплодия;

Критерием исключения были бациентки с:

- иммунологическим фактором бесплодия;
- мужским фактором бесплодия;
- ановуляторным бесплодием;
- миомой матки различных размеров и локализаций.

Таблица 1 – Дизайн исследования.

Этапы работы	Группы исследований		Количество наблюдений	Всего
Первый этап (ретроспективный)	Беременные пациентки с исходно сниженным овариальный резервом	Ia - < 35 лет	42	151
		Iб - \geq 35 лет	69	
	Беременные пациентки с исходно нормальным овариальный резервом	IIa - < 35 лет	22	
		IIб - \geq 35 лет	18	
Второй этап (проспективный)	Исследование АОА фолликулярной жидкости	Пациентки со сниженным овариальным резервом	26	52
		Пациентки с трубно- перитонеальным фактором	26	
	Исследование показателей объемного кровотока в матке с помощью 3Д УЗИ с функцией энергетического доплера	Пациентки с наступившей беременностью после цикла ЭКО и ПЭ	21	56
		Пациентки с ненаступившей беременностью после цикла ЭКО и ПЭ	35	

Распределение на группы осуществлялось в зависимости от овариального резерва. Первую составили пациентки со сниженным овариальным резервом (111 пациенток), вторую – с хорошим овариальным резервом (40 пациенток) с трубно-перитонеальным фактором бесплодия (Рисунок 1).

Далее в процессе работы мы использовали принцип современной классификации POSEIDON для определения вероятности возникновения осложнения и потерь беременности в зависимости от двух критериев: возраста и овариального резерва. Для этого анализа мы разделили обследованным пациенток на 4 подгруппы: Ia составили пациентки в возрасте < 35 лет и сниженным овариальным резервом, IIa группу - пациентки этой же возрастной группы, но с хорошим овариальным резервом. В Iб группу вошли женщины \geq 35 лет со сниженным овариальным резервом, во IIб - \geq 35 с хорошим овариальным резервом.

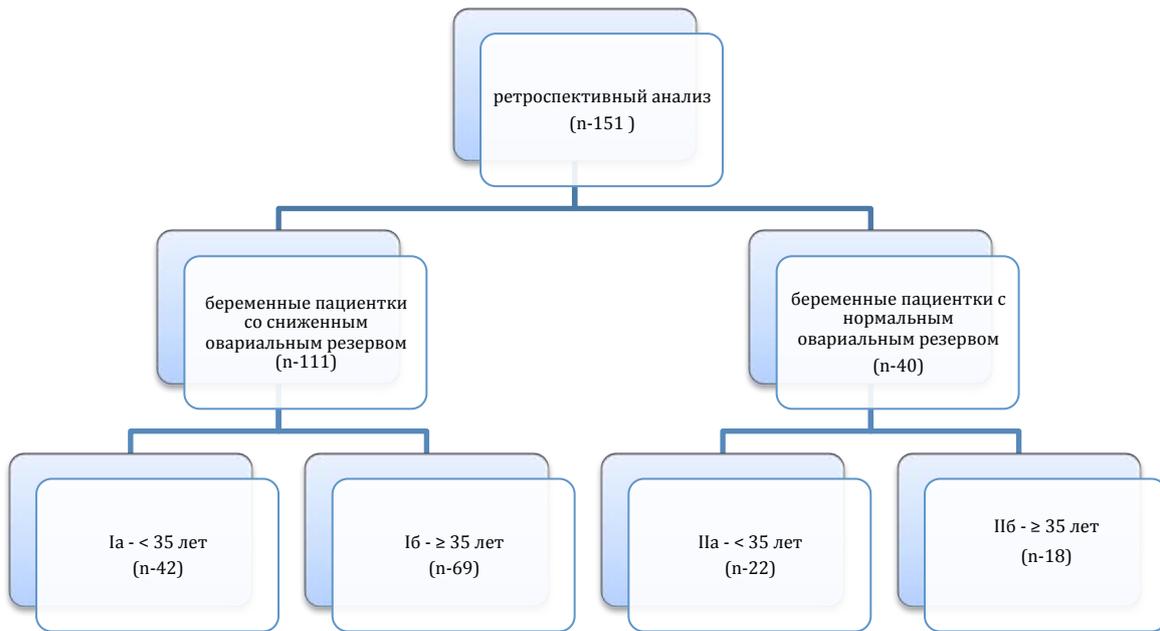


Рисунок 1 – Дизайн исследования ретроспективного этапа.

На втором этапе наши исследования носили проспективный характер в ходе которых определялись параметры, влияющие на эффективность циклов ЭКО у пациенток со сниженным овариальным резервом. В процессе исследования определяли показания для проведения предгравидарной подготовки для повышения эффективности лечения. С этой целью проанализировано 76 пациенток в циклах ЭКО и ПЭ, с различным овариальным резервом (Рисунок 2).

Из 76 пациенток проспективного этапа исследования - у 52 в цикле ЭКО была изучена фолликулярная жидкость для определения антиоксидантной активности и соотношения показателей с качеством эмбрионов и эффективностью цикла.

У 56 из 76 пациенток в день переноса эмбриона производилось исследование кровотоков в матке с помощью 3D УЗИ с функцией энергетической доплерографии. Определялось влияние параметров кровотока на эффективность цикла ЭКО и ПЭ. Разделение на группы осуществлялось в зависимости от эффективности протокола ЭКО. Так в первой группе были 23

пациентки, у которых беременность после ЭКО наступила, во вторую группу вошли 35 пациенток, беременность у которых после ЭКО не наступила.



Рисунок 2 – Дизайн исследования проспективного этапа.

20 пациенткам проспективного этапа выполнялось как исследование АОА фолликулярной жидкости так и определение параметров объемного кровотока в матке.

Критериями включения пациенток на втором этапе исследования были:

- сниженный овариальный резерв;
- трубно-перитонеальный фактор бесплодия;
- возраст 30-40 лет ;

Критериями исключения были пациентки с:

- иммунологическим фактором бесплодия;
- эндометриозом;
- ановуляторными менструальными циклами;
- возрастом менее 30 и более 40 лет;
- миомой матки различных размеров и локализаций;
- наличием функциональных и истинных образований яичников.

При анализе полученных клинических наблюдений учитывали только клинически подтвержденную беременность (наличие плодного яйца в полости матки на 21-28-е сутки после переноса эмбрионов). Показатель частоты ранних репродуктивных потерь рассчитывали по отношению к числу зарегистрированных беременностей.

2.2. Характеристика наблюдений.

При анализе возраста пациенток (n-227) в группе со сниженным овариальным резервом средние значения составили 37.3 ± 3.8 , во второй группе с хорошим овариальным резервом – 34.8 ± 2.1 (здесь и далее все средние численные значения даны как $M+m$) с индивидуальными колебаниями от 30 до 41 года. Среди пациенток со сниженным овариальным резервом (n-137) - 55 (40,1%) были в возрасте до 35 лет (Iа), 82 (59,8%) были в возрасте 35 лет и более (IIа). Среди пациенток с хорошим овариальным резервом (n-90) - 48 (53,3%) в возрасте до 35 лет (Iб), 42 (46,6%) в возрасте 35 лет и более (IIб). Достоверных отличий в группах по возрасту выявлено не было ($p>0,05$). (Рисунок 3).

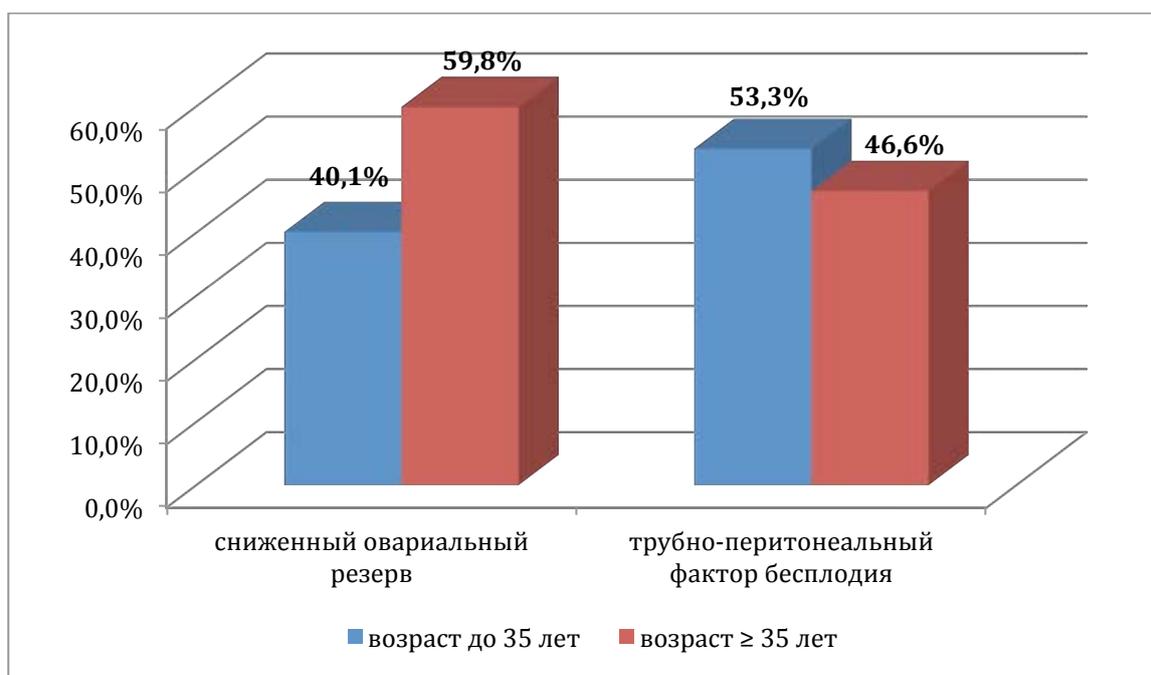


Рисунок 3 – Распределения по возрасту.

Анализируя длительность и характер бесплодия установлено, что первичное чаще встречалось у пациенток со сниженным овариальным резервом. Так до 35 лет первичное бесплодие отмечено у 28 (17,8%) из первой группы в сравнении с 11 (12,2%) из второй, а в возрасте после 35 лет у 23 (14,6%) из первой и у 3 (3,33%) из второй. Скорее всего, это связано с тем, что в группе с хорошим овариальным резервом одним из показаний к проведению циклов ЭКО был абсолютный трубный фактор, основной причиной которого была внематочная беременность в анамнезе (подробнее об этом обсуждается далее).

Вторичное бесплодие чаще отмечено у пациенток с нормальной функцией яичников, а так же при сниженном овариальном резерве в возрасте старше 35 лет (Таблица 2).

В таблице 2 указаны анамнестические данные предыдущих беременностей у пациенток с вторичным бесплодием. Обращает на себя внимание высокий процент внематочной беременности в анамнезе у пациенток с нормальной функцией яичников. А так же большое количество потерь беременностей у пациенток с низким овариальным резервом.

Таблица 2 – Характеристика пациенток двух групп в зависимости от возраста

	Группы	I группа Сниженный овариальный резерв			II группа Нормальный овариальный резерв		
		Возраст		всего	Возраст		всего
		<35 лет	≥35лет		<35 лет	≥35лет	
	n	55	82	137	48	42	90
Первичное бесплодие		26 19,0%	19 13,9%	45 32,9%	11 12,2%	2 2,5%	13 14,7%
Вторичное бесплодие		33 23,8%	62 45,5%	95 69,3%	37 41,1%	40 44,4%	37 84,4%
Роды в анамнезе		7 5,1%	23 16,6%	30 21,7%	2 2,2%	7 7,8%	9 10,0%
Аборты в анамнезе		25 18,3%	12 8,8%	37 27,1%	15 16,7%	-	15 16,7%
Самопроизвольные выкидыши и неразвивающиеся беременности в анамнезе		7 5,4%	24 17,6%	32 23,0%	-	7 7,8%	7 7,8%
Эктопическая беременность		2 1,4%	1 0,7%	3 2,1%	34 37,8%	18 20,0%	52 57,8%
Бесплодие менее 3 лет		13 9,5%	23 17,0%	36 26,5%	27 30,0%	47 52,0%	74 82,0%
Бесплодие более 3 лет		48 35,4%	64 46,9%	113 82,3%	5 5,5%	11 12,2%	16 17,7%
Попытка ЭКО 1-2		36 26,5%	22 16,3%	59 42,8%	40 44,4%	38 42,2%	78 86,6%
Попытка ЭКО 3 и более		26 19,0%	62 44,9%	88 63,9%	8 8,8%	4 4,4%	12 13,2%

Оценивая длительность бесплодия супружеских пар выявлено, что у пациенток со сниженным овариальным резервом (I) стаж infertility составил в среднем $7 \pm 1,5$ лет и был выше в два раза чем во II группе – $3 \pm 0,8$ ($p < 0,01$). При оценке длительности бесплодия в зависимости от возраста отмечено, что длительность бесплодия более 3х отмечалась в большей степени у пациенток со сниженным овариальным резервом старше 35 лет.

Беременность после 1 или 2 попытки ЭКО наступила у 59 (42,8%) из группы со сниженным овариальным резервом (I); в группе с нормальным овариальным резервом (II) частота наступления беременности с 1-2 попытки была в 2 раза выше – у 78 (86,6%). Стоит обратить внимание на то, что при нормальном овариальном резерве в возрасте до 35 лет у 40 (44,4%) и после 35

лет у 38 (42,2%) беременность наступила с 1-2 попытки ЭКО, что указывает на достаточно высокую эффективность циклов ЭКО у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия несмотря на возраст, а так же косвенно судить о снижении результативности ЭКО у пациенток со сниженным овариальным резервом и о необходимости проведения неоднократных циклов стимуляции для достижения беременности. Так более чем у половины пациенток – 88 (63,9%) со сниженным овариальным резервом после 35 лет для достижения беременности протокол ЭКО был третьим и более.

С возрастом увеличивается количество экстрагенитальной патологии, которая может быть одним из важных факторов, определяющих особенности течения и благоприятный исход беременности. Данные, представленные в таблице 3, свидетельствуют об увеличении частоты встречаемости экстрагенитальных заболеваний с возрастом, но учитывая тщательный отбор пациенток для проведения ЭКО и ПЭ их количество не превышал общепопуляционных норм.

Отмечается увеличение частоты сердечно-сосудистой патологии, которая проявлялась в виде гипертензивных расстройств, которые чаще были в виде артериальной гипертензии I степени у 14 (16,3%) из первой группы, у 5 (10,8%) из второй.

При оценке характера гинекологической патологии (таблица 4) в группе со сниженным овариальным резервом отмечается высокий процент перенесенных ранее хирургических вмешательств на яичниках (48,9%). У 67 пациенток отмечались хирургические вмешательства по поводу кистаденом различных размеров – 42 (30,7%), эндометриoidных кисты – 25 (18,2%). В группе с нормальным овариальным резервом оперативные вмешательства проводились по поводу внематочной беременности - 51 (56,7%), хронических сальпингоофоритов – 38 (42,2%). Патология эндометрия наблюдалась во всех группах, но за рамки общепопуляционных значений не выходила. Около трети пациенток II группы отмечали перенесенные ранее инфекции, передающиеся

половым путем: хламидиоз – 18 (20,0%), трихомониаз – 9 (10,0%). В группе со сниженным овариальным резервом ИППП встречались в 3 раза реже.

Таблица 3 – Характер экстрагенитальных заболеваний

	группы	I группа Сниженный овариальный резерв		II группа Нормальный овариальный резерв		в популяции
		<35 лет	≥35лет	<35 лет	≥35лет	
экстрагенитальные заболевания	возраст n	63	84	48	42	
заболевания дыхательной системы		-	2 2,0%	1 1,9%	-	7-10%
заболевания сердечно-сосудистой системы		2 3,4%	14 16,3%	-	5 10,8%	7,4-15,7%
заболевания желудочно- кишечного тракта		2 3,1%	6 6,8%	2 3,9%	4 8,8%	9-18%
заболевания мочевыделительной системы		-	3 3,4%	1 1,9%	2 3,9%	8-20%
заболевания щитовидной железы		1 1,4%	2 2,0%	-	1 1,9%	
нарушение жирового обмена		1 2,0%	6 6,8%	1 2,2%	5 10,8%	0,17

Таблица 4 – Гинекологические заболевания у пациенток с различным овариальным резервом

гинекологическая патология	I группа			II группа		
	Сниженный овариальный резерв			Нормальный овариальный резерв		
	<35 лет n-55	≥35 лет n-82	всего n-137	≥35 лет n-48	<35 лет n-42	всего n-90
цистаденомы яичников	14 (10,2%)	28 (20,5%)	42 (30,7%)	2 (2,2%)	5 (5,5%)	7 (7,7%)
эндометриоидные кисты яичников	8 (5,8%)	17 (12,4%)	25 (18,2%)	2 (2,2%)	2 (2,2%)	4 (4,4%)
всего операций на яичниках	22 (16,1%)	45 (32,8%)	67 (48,9%)	4 (4,4%)	5 (5,6%)	9 (10,0%)
гиперпластические процессы	6 (4,7%)	8 (5,8%)	14 (10,2%)	4 (4,4%)	5 (5,6%)	9 (10,0%)
хронический эндометрит	8 (5,8%)	17 (12,4%)	25 (18,2%)	4 (4,4%)	9 (10,0%)	13 (14,4%)
тубэктомии по поводу воспалительных заболеваний	1 (0,7%)	0	1 (0,7%)	22 (24,4%)	16 (17,8%)	38 (42,2%)
тубэктомии по поводу внематочной беременности	2 (1,4%)	1 (0,7%)	3 (2,1%)	33 (36,7%)	18 (20,0%)	51 (56,7%)
ИППП	4 (2,8%)	12 (8,9%)	16 (11,7%)	9 (10,0%)	18 (20,0%)	27 (30,0%)
заболевания шейки матки	14 (10,2%)	17 (12,4%)	31 (22,6%)	14 (15,5%)	6 (6,7%)	20 (22,2%)

Гормональный статус (Таблица 5) у пациенток с трубно-перитонеальным фактором был в пределах возрастной нормы. У пациенток со сниженным овариальным резервом отмечались высокие значения ФСГ, снижение показателей АМГ и уровня Е2.

Таблица 5 – Гормональный статус беременных пациенток со сниженным овариальным резервом

Гормоны	Референс	I группа n-137	II группа n-90	p
ФСГ на 2-4д.м.ц.	3-8 МЕ/л, хороший овариальный резерв	-	90(100%)	p<0,05
	8-10МЕ/л, умеренно-сниженный овариальный резерв	6 (4,4%)	-	p<0,05
	10-12МЕ/л, низкий овариальный резерв	70 (51,1%)	-	p<0,05
	10-15МЕ/л, очень низкий овариальный резерв	61 (44,5%)	-	p<0,05
ЛГ на 2-4 д.м.ц.	N для фолликулярной фазы (1,1-11,6)	137 (100%)	88 (97,8%)	p>0,05
	<N для фолликулярной фазы (<1,1)	-	-	-
	>N для фолликулярной фазы(>11,6)	-	2 (2,2%)	-
Эстрадиол на 2-4 д.м.ц.	N(73-586)	124 (90,5%)	88 (97,8%)	p>0,05
	<N	13 (9,5%)	2 (2,2%)	p<0,05
АМГ	низкий - ≤1,1нг/мл	137 (100%)	-	p<0,05
	средний - 1,1-2,5нг/мл	-	9 (10,0%)	p<0,05
	нормальный - более 2,5нг/мл	-	81 (90,0%)	p<0,05
ДЭА-С	N	120 (87,5%)	88 (97,8%)	p>0,05
	<N	6 (4,4%)	1 (1,1%)	p>0,05
	>N	11 (8,0%)	1 (1,1%)	p>0,05
тестостерон	N	132 (96,6%)	90 (100%)	p>0,05
	<N	5 (3,6%)	-	p<0,05
	>N	-	-	-
ТТГ	N	124 (90,5%)	88 (97,8%)	p>0,05
	<N	6 (4,4%)	-	-
	>N	7 (5,1%)	2 (2,2%)	p>0,05
Т3 свободный	N	134 (97,8%)	90(100%)	p>0,05
	<N	-	-	-
	>N	3 (2,2%)	-	-
Т4 свободный	N	137 (100%)	90(100%)	p>0,05
	<N	-	-	-
	>N	-	-	-
пролактин	N	127 (93,6%)	88 (97,8%)	p>0,05
	<N	-	-	-
	>N	10 (6,4%)	2 (2,2%)	p>0,05
кортизол	N	137 (100%)	90(100%)	p>0,05
	<N	-	-	-
	>N	-	-	-

Гиперпролактинемия, гиперандрогению, изменения показателей гормонов щитовидной железы отмечались крайне редко, коррекция проводилась совместно с врачом – эндокринологом.

2.3. Общие принципы проведения лечебно-диагностических мероприятий у пациенток с бесплодием.

2.3.1. Характеристика методов исследования.

Выполняя проспективный и ретроспективный этапы работы были использованы различные методы исследования.

Общеклинические методы.

Собирая клинико-статистические данные при ретроспективном и проспективном анализе историй болезни информацию получали благодаря следующей медицинской документации:

- 1.Поликлиническая карта медицинского обследования и наблюдения с информацией о применении методов вспомогательных репродуктивных технологий –
2. Бланк 3Д УЗИ в день переноса эмбриона - у 76
3. журнал учета, хранения и использования витрифицированных эмбрионов при анализе экстрагенитальной патологии учитывались данные о наличии НЖО, заболеваниях сердечно-сосудистой и эндокринной систем. Изучая гинекологический анамнез отмечался фактор и стаж бесплодия, попытка ЭКО, паритет, наличие в анамнезе операций по поводу различных образований яичников, патологии эндометрия.

Для определения степени выраженности снижения овариального резерва и факторов эффективности ЭКО и ПЭ были подробно изучены данные из поликлинических карт.

При анализе течения беременности после эффективного цикла ЭКО и ПЭ оценивались особенности течения первого триместра беременности. Оценивались такие осложнения как угроза прерывания и неразвивающаяся беременность.

Клинико-лабораторные методы. Изучение овариального резерва проводили с помощью определения уровня ФСГ, ЛГ, эстрадиола (Е2) в сыворотке крови с использованием метода ИФА, а также основного маркера овариального резерва – антимюллерова гормона (АМГ), методом иммуноферментного анализа (АМГ Gen II ELISA производства Beckman Coulter, Inc. USA).

2.3.2. Инструментальные методы.

Проводилось 2D и 3D ультразвуковое исследование на аппарате Voluson 730 Expert (GE Healthcare, Zipf, Austria) с использованием объемного 5-9 МГц трансвагинального датчика:

- в начале менструального цикла для решения вопроса о возможности начала стимуляции суперовуляции с помощью 2D УЗИ,
- затем динамическая оценка роста фолликулов в стимулируемом цикле для определения количества растущих фолликулов с использованием 2D УЗИ.
- в день переноса эмбриона для измерения параметров кровотока в матке, субэндометриальной зоне и эндометрии с использованием 3D УЗИ(настройки препарата: Gn -9,0, Frq low, Qual norm, WMF low1, PRF 0.9kHz.
- при положительном анализе крови на в-ХГЧ для определения локализации плодного яйца, установления факта маточной беременности и в последствии для диагностики таких осложнений как анэмбриония, неразвивающаяся беременность, наличие ретрохориальной гематомы – при 2D УЗИ.

В день переноса эмбриона при помощи программы VOCAL (Virtual Organ Computer-aided AnaLysis) определяли объем ткани матки, субэндометрия и эндометрия в ручном режиме (Manual), который включал следующие этапы:

- выбор изображения матки с использованием регулятора Zoom, позволяющего увеличить масштаб изображения;
- выбор угла вращения - 12° при помощи Rotation Step, который должен быть не более 15°, поскольку при малой дискретности сосуды, расположенные рядом с

маткой, могут попадать в объем реконструкции объекта ;

- выбор частоты среза - 1,5 мм, что является достаточным для получения достоверных результатов;

- построение объемного изображения.

Погрешностью при построении считали зазубренный контур в некоторых срезах органа и в целом, несмотря на корректную обводку каждого среза. Далее использовалась программа VOCAL TM, включающая в себя функцию (Color Angio), которая автоматически рассчитывала следующие показатели: индекс васкуляризации (VI), отражающий процентное отношение сосудов в определенном объеме ткани; индекс кровотока (FI) или интенсивность кровотока, определяющего объем клеток крови, перемещающихся в сосудах во время исследования; индекс васкуляризации-потока (VFI), сочетающий в себе информацию о количестве сосудов и величине кровотока путем их перемножения VI и FI. Данные показатели измерялись в матке, эндометрии и эндометрии с захватом субэндометриальной зоны (кнаружи на 5 мм от базального контура эндометрия). На рисунке 4 представлено изображение информационного окна программы VOCAL с исследуемыми данными.

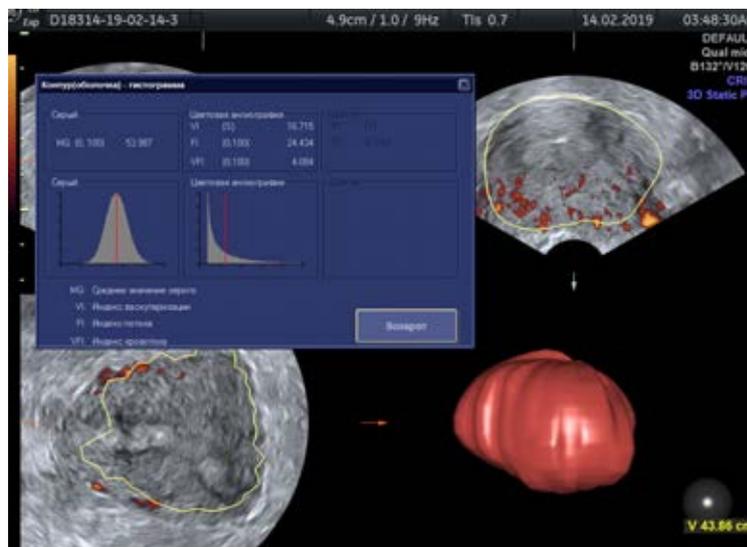


Рисунок 4 – Информационное окно с данными об объеме исследуемой структуры и индексах кровотока.

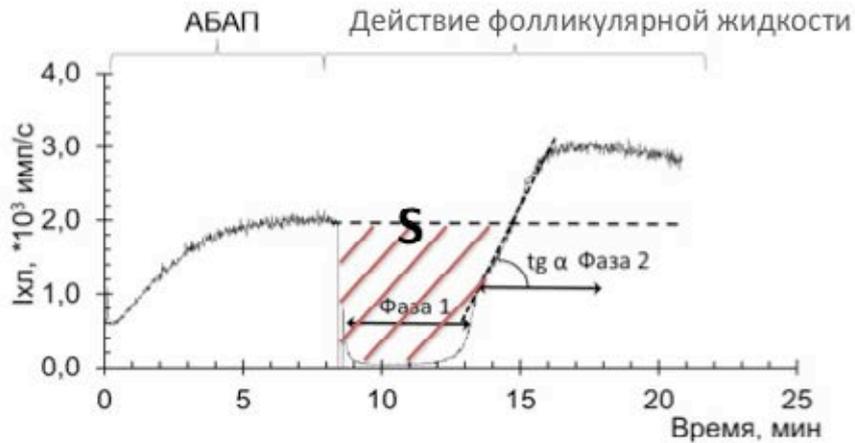
2.3.3. Определение антиоксидантной активности фолликулярной жидкости методом кинетической люминол-активированной хемилюминесценции.

Для оценки антиоксидантной активности фолликулярной жидкости использовали методику, основанную на подавлении хемилюминесценции (ХЛ). В качестве источника свободных радикалов в системе использовали диазосоединение — 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорид — АБАП («Fluka», США). В качестве хемилюминесцентного зонда использовали люминол (5-амино-1,2,3,4-тетрагидро-1,4-фталазиндион, гидразид 3-аминофталевой кислоты, «Sigma-Aldrich»).

Хемилюминесцентный анализ плазмы проводили на однокюветном хемилюминометре SmartLum 100 («ДИСофт», Россия).

В микропробирку объёмом 1,5 мл помещали 50 мкл 50 мМ раствора АБАП и 20,0 мкл 0,1 мМ люминола. Смесь перемешивали в течение двух мин на встряхивателе «Vortex yellow line tts2» при частоте 1400 об/мин и инкубировали 20 мин в темноте при комнатной температуре. Образование свободных радикалов в системе инициировали добавлением в кювету 930 мкл нагретого (37°C) фосфатного буферного раствора (100 мМ KH_2PO_4 , pH 7,4; «Sigma», США) к 70 мкл смеси АБАП и люминола. Помещали пробирку в кюветное отделение хемилюминометра. Регистрировали свечение до достижения стационарного уровня (I_0) при 37°C, затем добавляли 10 мкл фолликулярной жидкости, которую до этого разбавляли в 10 раз. После добавления пробы свечение прекращалось благодаря нейтрализации радикалов антиоксидантами фолликулярной жидкости. После расходования антиоксидантов свечение вновь нарастало и достигало нового стационарного уровня I. Общий объём пробы в кювете составлял 1 мл.

Аналитические сигналы: S (АОА) — площадь над кривой, «вырезаемая» антиоксидантами, tga — угол наклона восходящей части кривой, характеризующий антиоксидантную активность белковой части (рисунок 5).



S -активность сильных антиоксидантов
 $\text{tg } a$ – активность альбумина

Рисунок 5 – Кривая развития хемилюминесценции при исследовании антиоксидантных свойств фолликулярной жидкости.

Учитывая, что данный метод был изначально разработан для исследования АОА плазмы крови, проводилась адаптация разработанного метода к анализу фолликулярной жидкости. Выяснилось, что методика определения АОА может быть без изменений применена для анализа фолликулярной жидкости. Кинетическая кривая хемилюминесценции фолликулярной жидкости аналогична по виду кривой антиоксидантной активности плазмы крови. Активность сильных антиоксидантов так же может быть оценена по площади S , а антиоксидантная активность альбумина — по тангенсу угла наклона второй фазы восходящей части кривой.

Для того чтобы оценить, действительно ли сильный антиоксидант представляет собой мочевую кислоту, в реакционную среду добавляли уриказу в количестве 144 Ед/мл. Такую активность ранее использовали для полной нейтрализации мочевой кислоты в плазме крови. Действительно, в присутствии уриказы исчезает фаза действия сильного антиоксиданта, который, по всей вероятности, является мочевой кислотой. Следовательно, как и в плазме крови, антиоксидантная активность фолликулярной жидкости обусловлена мочевой кислотой и альбумином. Фолликулярную жидкость получали при

трансвагинальной пункции фолликулов, которая производилась в цикле ЭКО через 34-36 часов после применения триггера овуляции.

На пятые сутки производилась оценка качества эмбрионов, которая осуществлялась по классификации Gardnera на 5 сутки после оплодотворения: степень зрелости бластоцисты (1-6), внутриклеточная масса (А-плотно упакованная с большим количеством клеток, В – более свободная группировка среднего количества клеток, С – незначительное количество клеток), трофэктодермальный слой (А- много клеток, формирующих трофэктодерму, В – немного клеток, С – незначительное количество больших клеток).

Статистический анализ полученных данных осуществлялся с помощью программ MedCalc версии 18.5 и Microsoft Excel 2016. Данные были представлены с помощью методов описательной статистики. Количественные значения были представлены как среднее стандартное отклонение ($M \pm SD$) При малой численности групп и отсутствии нормального распределения использовался критерий Манна-Уитни. Критическое значения уровня значимости принимали равным 5% ($p \leq 0,05$). Для определения зависимости исследуемых параметров применяли ROC-анализ, при котором анализировали площадь под кривой, оценивающей качество модели. Чем выше площадь по ROC-кривой, тем лучше качество модели: 0,9-1,0 – отличное; 0,8-0,9 – очень хорошее; 0,7-0,8 – хорошее; 0,6-0,7 – среднее; 0,5 – 0,6 – неудовлетворительное.

ГЛАВА 3. Результаты собственных исследований.

3.1. Особенности течения беременности в первом триместре при сниженном овариальном резерве (ретроспективный этап исследования).

Целью данного этапа работы была оценка особенностей течения первого триместра беременности у пациенток со сниженным овариальным резервом. В ходе исследования была изучена и обработана 151 история пациенток, забеременевших после ЭКО и ПЭ. Распределение пациенток на группы производилось в зависимости от овариального резерва. Первую группу составило 111 пациенток со сниженным овариальным резервом, вторую – 40 с нормальным овариальным резервом.

Оценивая особенности течения первого триместра у пациенток с различной функцией яичников выявлено, что их частота в I триместре чаще встречалась в группе пациенток со сниженным овариальным резервом - 88 (79,3%). При трубно-перитонеальном факторе осложнения были в 1,7 раза реже (17 - 42,5%) ($p < 0,05$). Аналогичные данные получил Suankara и соавт. (2015) которые установили, что пациентки со сниженным овариальным резервом имели более высокие показатели невынашивания беременности [14,24,25,99].

Из осложнений беременности следует отметить начавшийся выкидыш, установленный на основании кровяных выделений из половых путей и тянущих болей внизу живота. У пациенток с трубно-перитонеальным фактором начавшийся выкидыш диагностирован в 1,7 раза реже чем у пациенток со сниженным овариальным резервом: 13 (32,5%) и 65 (58,6%) соответственно ($p < 0,05$). При начавшемся выкидыше отслойка хориона наблюдалась в группе со сниженным овариальным резервом – 51 (45,9%), в группе с трубно-перитонеальным фактором – 11 (27,9%). По данным Стрижакова А.Н. - наличие ретрохориальной гематомы является частым осложнением периода гестации на ранних сроках самопроизвольной беременности, составляя до 18%. По данным Стрельченко М.Б. после ЭКО и ПЭ – до 25-43% . [6,7].

По данным нашего исследования у пациенток с отслойкой хориона в I триместре большой объем ретрохориальной гематомы отмечался у 10 (19,6%) в I группе и только у 2 (18,2%) во II группе. На фоне проводимой терапии беременность у данных пациенток была пролонгирована. Самопроизвольный выкидыш в результате отслойки хориона в I триместре произошел у 10 (47,6%) при небольших ее размерах (10-15мл).

В первой группе потеря беременности отмечена у 20 (18,01%), в структуре потери беременности на долю анэмбрионии - 2 (10,0%), у 8 (40,0%) – неполный самопроизвольный выкидыш, у 10 (50,0%) – неразвивающаяся беременность. Во второй группе потеря беременности была только у 4 (10%) по типу неразвивающейся беременности, что не выходит за рамки общепопуляционных данных ($p>0,05$) (Рисунок 6).

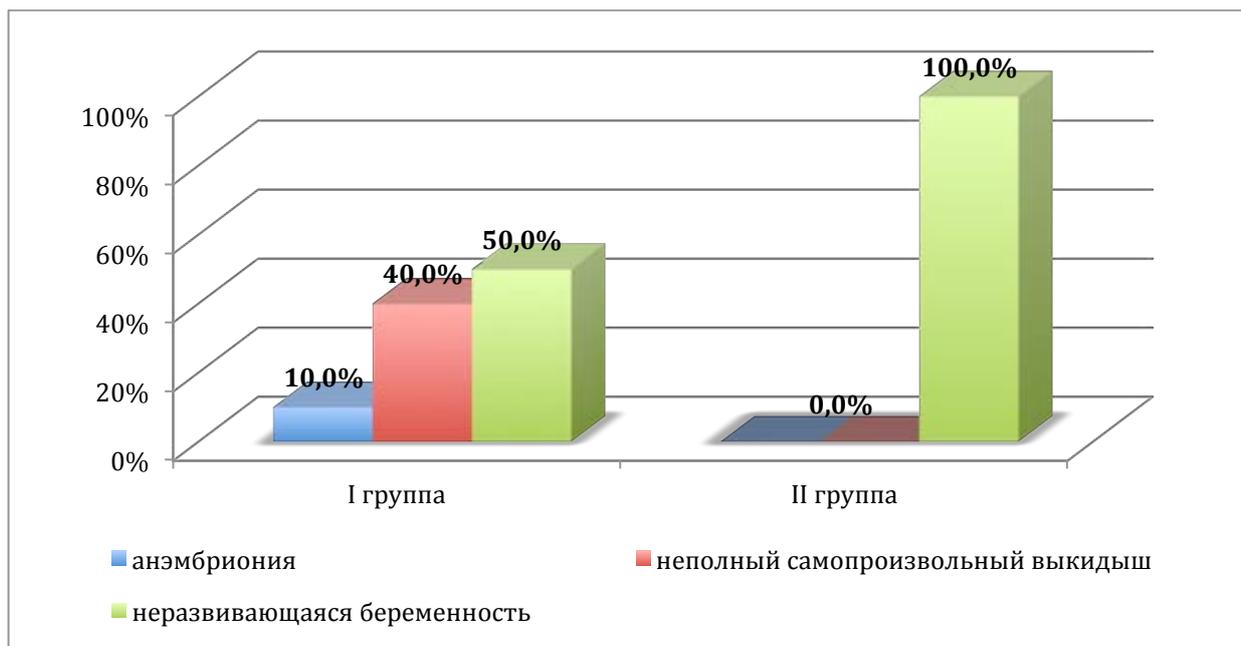


Рисунок 6 – Структура потерь беременности в первом триместре в зависимости от овариального резерва

При цитогенетическом исследовании абортусов хромосомная патология была обнаружена всего у 2 (20%) при сниженном овариальном резерве по типу трисомии (исследовался абортивный материал у пациенток с неразвивающейся беременностью). По данным Никитиной Т.В хромосомная патология при

неразвивающейся беременности в программах ЭКО и ИКСИ носит случайный характер и по своей структуре полностью совпадает с вероятностью возникновения хромосомной аномалии при спонтанной неразвивающейся беременности [34,40,93].

В нашем исследовании у пациенток со сниженным овариальным резервом отмечено, что внематочная беременность наступила у 3 пациенток (2,7%) (в популяции – 1-2%[40]). Данный критерий не сравнивался с контрольной группой, так как абсолютный трубный фактор бесплодия исключал вероятность возникновения внематочной беременности.

Сравнивая частоту возникновения осложнений беременности по возрастным группам (Рисунок 7) отмечено, что наиболее неблагоприятный прогноз течения первого триместра беременности у пациенток в возрасте старше 35 лет при сниженном овариальном резервом. Именно в этой группе отмечается высокая частота начавшегося выкидыша – 65,2%, а так же потерь беременности – 23,2%. Представленные в таблице данные свидетельствуют о том, что в группе со сниженным овариальным резервом в более молодом возрасте (Ia) частота начавшегося выкидыша была ниже в 1,4 раза чем у пациенток Ib подгруппы в более старшем возрасте. В группе с трубно-перитонеальным фактором у более молодых пациенток начавшийся выкидыш диагностировали в 2 раза реже, чем у пациенток после 35 лет.

При сравнении частоты возникновения начавшегося выкидыша (таблица б) у пациенток со сниженным овариальным резервом и трубно-перитонеальным фактором в возрасте <35 лет выявлено, что в Ia подгруппе данное осложнение диагностировано в 2,3 раза чаще чем во IIa подгруппе (p-0.08). При анализе частота возникновения начавшегося выкидыша у пациенток в более старшем возрасте ≥ 35 лет так же выявлена тенденция к увеличению осложнений у пациенток со сниженным овариальным резервом - начавшийся выкидыш диагностирован в 1,5 раза чаще чем у пациенток с трубно-перитонеальным фактором (p-0.079).

Таблица 6 – Уровень АМГ, возраст и осложнения беременности I триместре после ЭКО

Возраст	до 35 лет		35 лет и более		p
Подгруппы	Сниженный овариальный резерв Ia	Нормальный овариальный резерв IIa	Сниженный овариальный резерв Iб	Нормальный овариальный резерв IIб	
Осложнения					
Начавшийся выкидыш	20 47,60%	4 21,10%	45 65,20%	9 42,80%	Ia/IIa = 0.088 Iб/IIб = 0.079 Ia/Iб = 0.076 IIa/IIб = 0.186
Потери беременности	4 9,50%	1 5,20%	16 23,20%	3 14,40%	Ia/IIa = 0.63 Iб/IIб = 0.54 Ia/Iб = 0.079 IIa/IIб = 0.607
Трубная беременность	3 7,10%				
Всего осложнений	27 64,40%	5 21,10%	61 88,40%	12 57,20%	Ia/IIa = 0.011** Iб/IIб = 0.03** Ia/Iб = 0.035** IIa/IIб = 0.105

примечание:

* - соотношения, имеющие достоверные отличия ($p < 0,05$)

При анализе частоты потерь беременности (Рисунок 7) обращает на себя внимание увеличение данного осложнения с возрастом. В более старшем возрасте ≥ 35 лет потери беременности у пациенток со сниженным овариальным резервом Iб были в 2,4 раза чаще чем у более молодых пациенток Ia и в 2,7 раз выше чем у пациенток этого же возраста с трубно-перитонеальным фактором (IIб) ($p=0.054$). Достоверные отличия наблюдались при анализе общего количества осложнений беременности к уровню АМГ и возрасту. Так в возрасте моложе 35 лет отмечается снижение общего количества осложнений при хорошем овариальном резерве в 3 раза ($p=0.011$). В старшей возрастной группе разрыв между общим количеством осложнений был не столь значительный – в 1,5 раза, но различия все же достоверны ($p=0.03$).

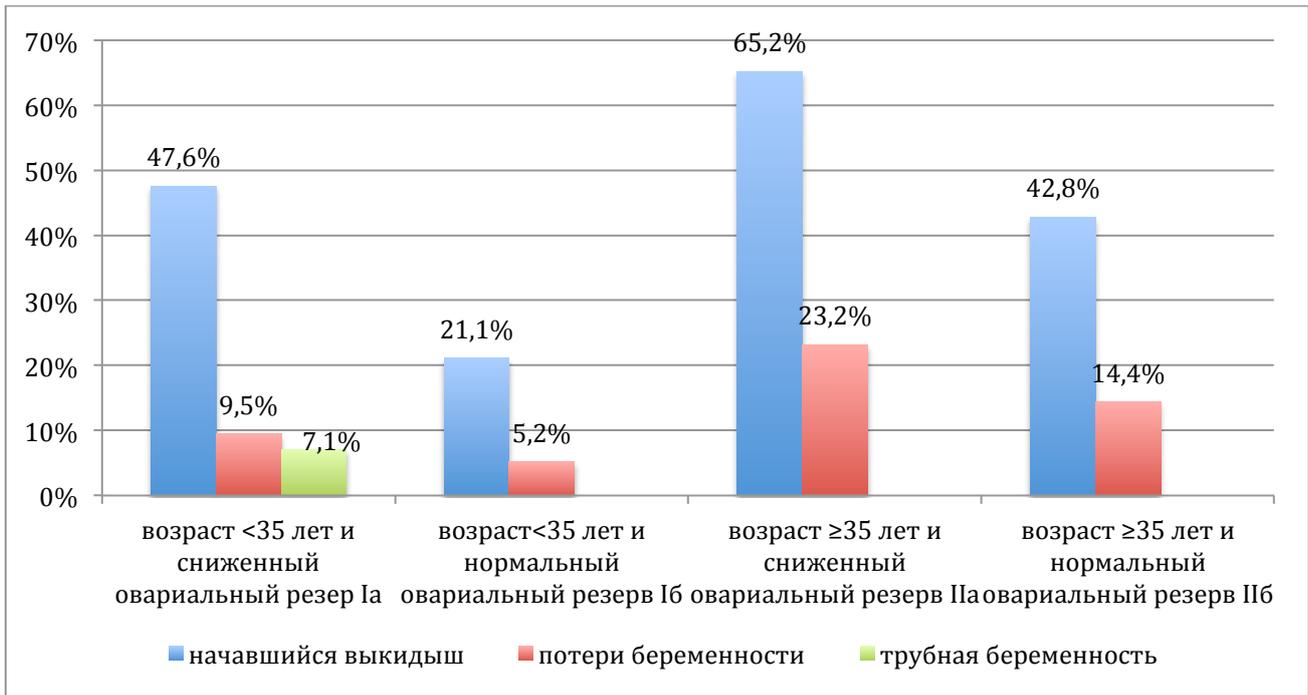


Рисунок 7 – Осложнения 1 триместра беременности у пациенток с различным овариальным резервом и возрастом

Следовательно при сниженном овариальном резерве в I триместре беременности осложнения наблюдаются чаще; выше риск развития начавшегося выкидыша, неразвивающейся беременности особенно в старшей возрастной группе.

Не только возраст, но и овариальный резерв могут выступать в роли прогностического критерия для оценки частоты возникновения осложнений в I триместре беременности. Особое внимание следует уделить пациенткам в возрасте ≥ 35 лет и старше со сниженным овариальным резервом, так как осложнения в данной группе пациенток отмечены чаще.

В современной литературе встречается большое количество исследований, касающихся взаимосвязи уровня АМГ и развития осложнений во время беременности, но данные противоречивы, нет единого мнения [184,].

Исследование Tarasconi и соавт., опубликованное в 2016 году показало, что уровень АМГ отрицательно коррелировал с показателем «take home baby»

после применения вспомогательных репродуктивных технологий: у пациенток с низкими значениями АМГ в 2,5 раза чаще выявляли неразвивающуюся беременность, нежели у пациенток со средними и высокими его показателями (В. Tarasconi et al., 2016). Atasever и соавторы в 2016 году установили, что при уровне ФСГ более 11 нг /мл и при уровне АМГ менее 1нг/мл достоверно чаще возникают выкидыши в первом триметре беременности [60], в то время как Fanchin и соавторы утверждали, что уровень АМГ является плохим прогностическим критерием развития осложнений во время беременности и живорожденности [87].

В нашем исследовании установлено, что уровень АМГ в качестве прогностического критерия можно использовать только в комбинации с возрастом. При анализе частоты осложнений беременности в зависимости от уровня АМГ у пациенток со сниженным овариальным резервом отмечена слабая взаимосвязь в зависимости от уровня данного гормона (площадь под кривой 0,677, чувствительность 93,6%, специфичность 46%) [Рисунок 8].

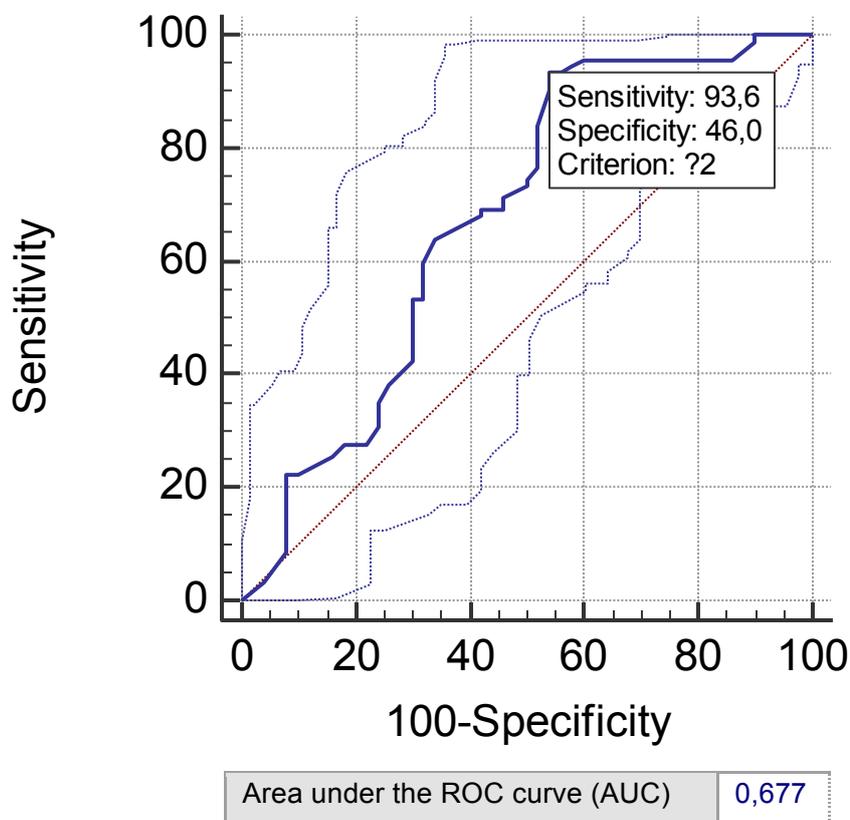


Рисунок 8 – Уровень АМГ и общее количество осложнений

Вероятность возникновения потерь беременности показало небольшую зависимость от уровня АМГ корреляционной связи с уровнем АМГ (площадь под кривой 0,508, чувствительность 8,7%, специфичность 77,7%) [Рисунок 9].

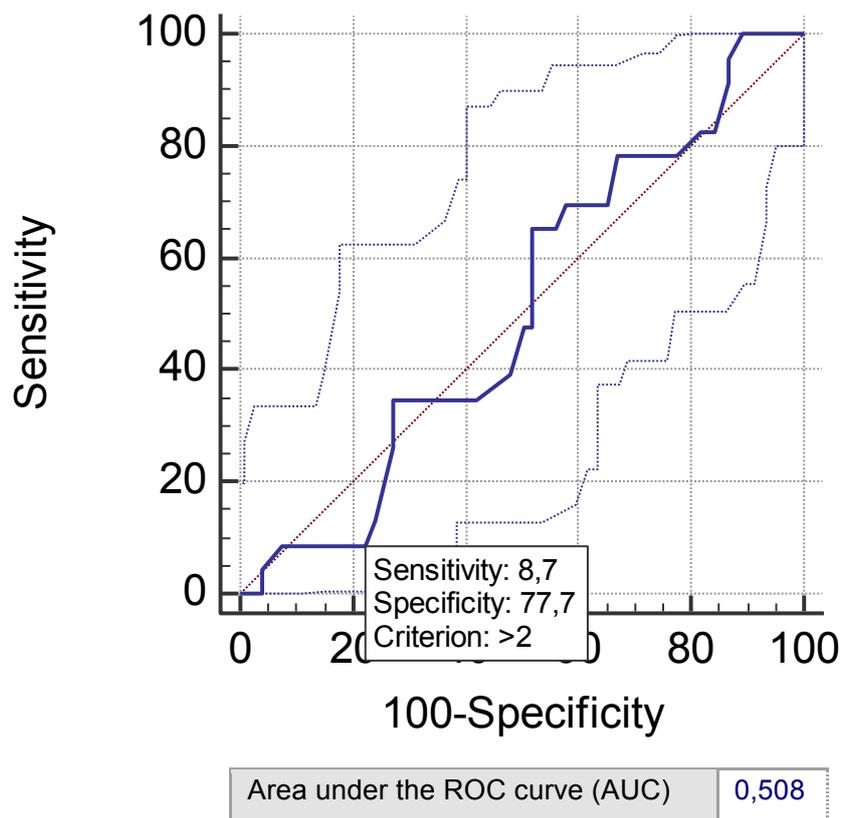


Рисунок 9 – Уровень АМГ и потеря беременности

При выявлении вероятности возникновения начавшегося выкидыша в зависимости от уровня АМГ все же удалось получить зависимость, однако значения были не очень показательными (площадь под кривой 0,644, чувствительность 84,9%, специфичность 42,3%) [Рисунок 10]

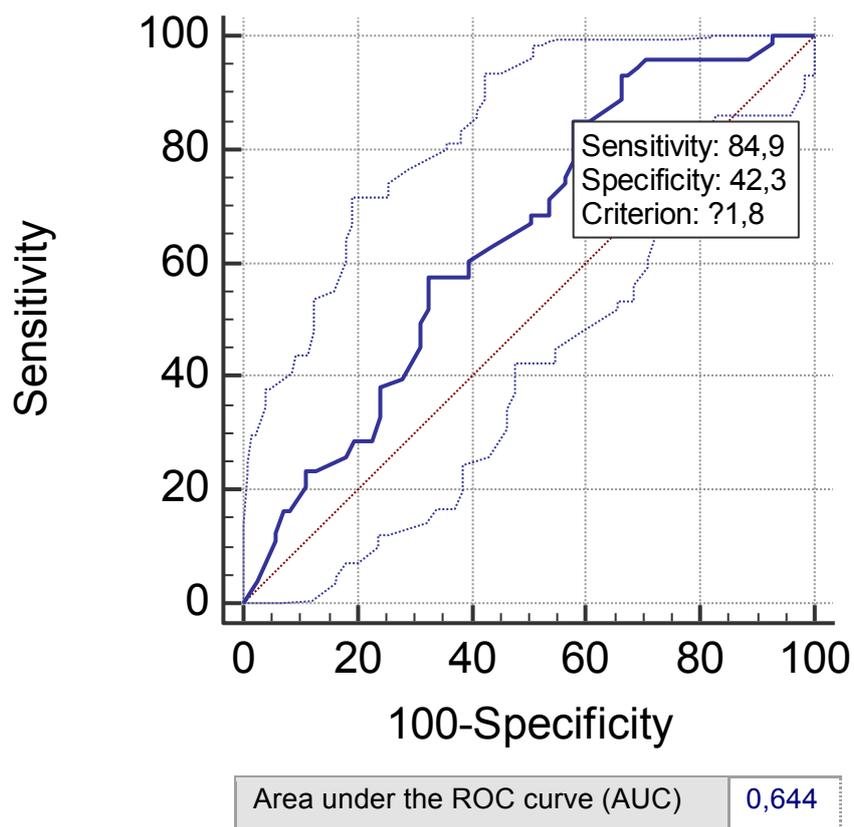


Рисунок 10 – Уровень АМГ и начавшийся выкидыш

При индивидуальном анализе в группе со сниженным овариальным резервом было выделено три диапазона значения уровня АМГ (таблица 7) У 36 содержание данного гормона варьировало от 0,14 нг/мл до 0,4 нг/мл. У 26 – от 0,41 нг/мл до 0,7 нг/мл и у 49 - от 0,71 нг/мл и до 1,1 нг/мл.

Как представлено в таблице 3.2 в группе пациенток со сниженным овариальным резервом в более молодом возрасте (<35 лет) отмечалась тенденция к уменьшению частоты встречаемости начавшегося выкидыша с увеличением уровня АМГ: при уровне АМГ менее 0,4нг/мл данное осложнение диагностировано у 2/3, в то время как при значении АМГ от 0,71 нг/мл до 1,1нг/мл у 1/3 ($p<0.05$). Такая же тенденция отмечена и в более старшей возрастной группе. У пациенток при уровне АМГ (таблица 7) менее 0,4нг/мл начавшийся выкидыш диагностирован у 2/3, в то время как при значении АМГ от 0,71нг/мл до 1,1нг/мл у половины ($p=0.14$).

Таблица 7 – Уровень АМГ, возраст и I триместр беременности после ЭКО

Возраст	<35 лет			≥35 лет		
	(n-42)			(n-69)		
Уровень АМГ	0,4 нг/мл	0,7 нг/мл	1,1 нг/мл	0,4 нг/мл	0,7 нг/мл	1,1 нг/мл
	(n-9)	(n-9)	(n-24)	(n-27)	(n-17)	(n-25)
Осложнения						
Начавшийся выкидыш	7 77,80%	5 56,60%	8 33,30%	21 77,80%	10 58,80%	14 56,0%
Потери беременности		1 11,10%	3 12,50%	6 22,20%	4 23,50%	6 24,0%
Без осложнений	2 22,20%	3 33,30%	10 41,7	-	3 17,60%	5 20,0%

Указанное может быть связано с тем, что АМГ в комбинации с возрастом показывает репродуктивный потенциал, оценивая не только количество, но и качество оставшихся яйцеклеток, так как именно качество может играть одну из ключевых ролей в формировании и дальнейшем развитии эмбриона и течении беременности [9,32,33,42,136,201].

Пациентки в возрасте ≥ 35 лет с уровнем АМГ менее 0,4 нг/мл имеют наименее благоприятный прогноз течения I триместра беременности. ROC-анализ рисунок 11 показал, что наиболее информативным методом оценки вероятности возникновения осложнений в I триместре все же является возраст, а уровень АМГ может рассматриваться как дополнительный маркер репродуктивных потерь (Чувствительность 62,3%, Специфичность 83,4%, площадь под кривой 0,72).

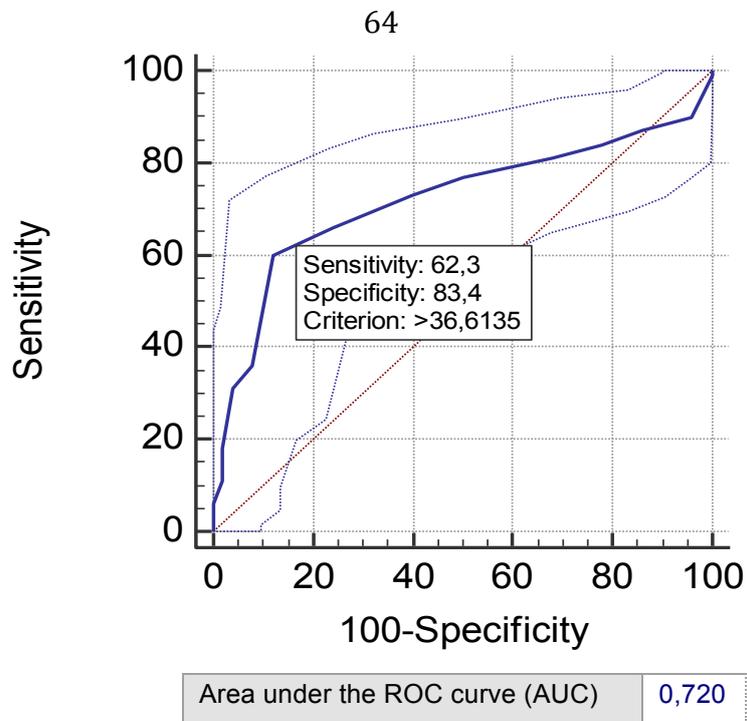


Рисунок 11 – Возраст и частота осложнений

При анализе возникновения потерь в первом триместре беременности и начавшихся выкидышей возраст так же является наиболее информативным чем уровень АМГ. (Рисунок 11,12)

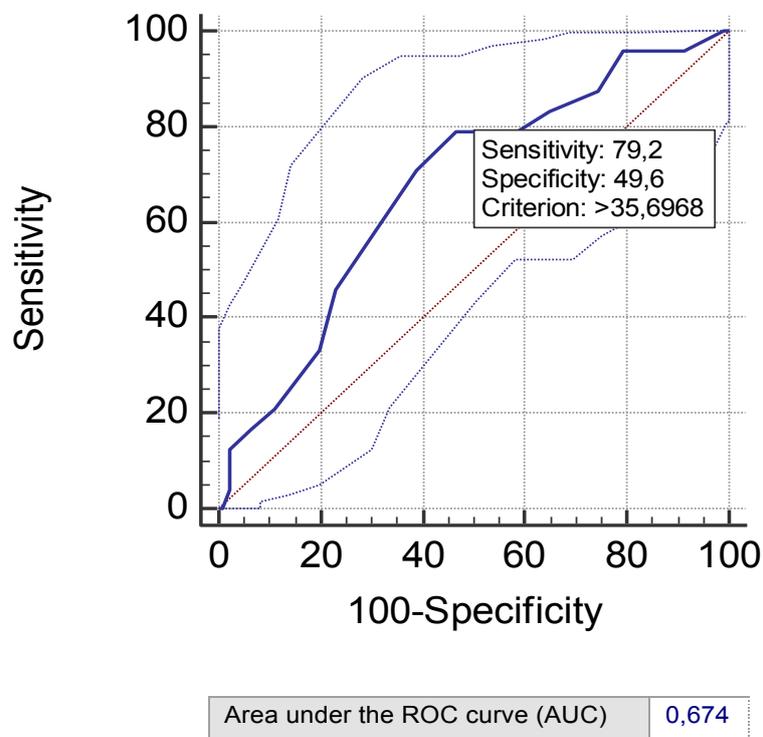


Рисунок 11 – Возраст и потери беременности

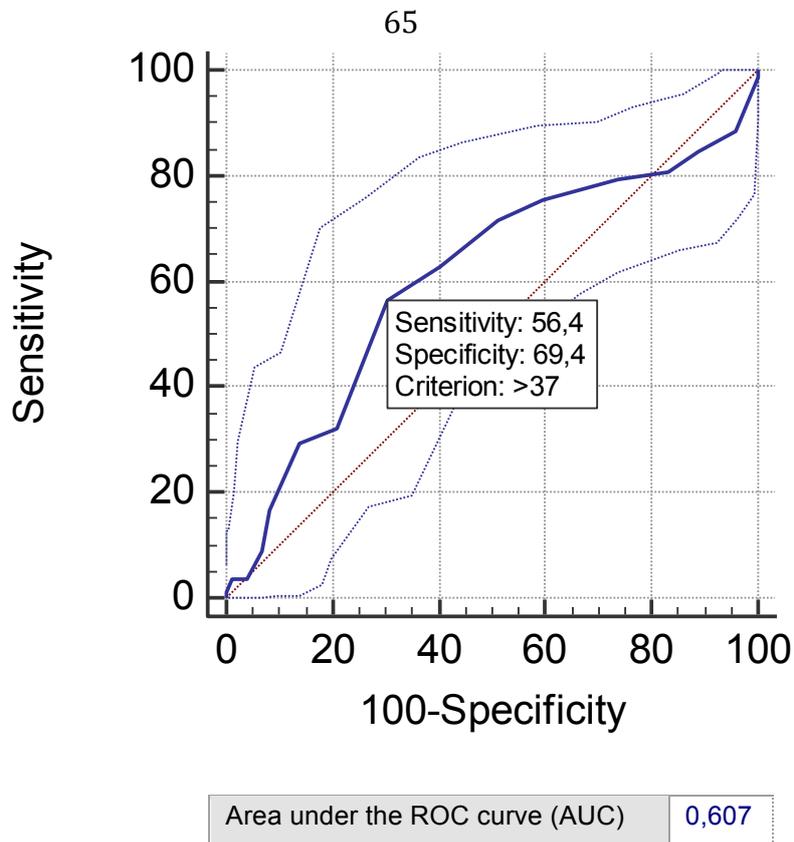


Рисунок 12 – Возраст и начавшийся выкидыш

Сравнивая частоту развития начавшегося выкидыша и метод стимуляции суперовуляции (рисунок 13), установлено, что беременность без осложнений протекала в естественном цикле у 22 (70,9%), а в стимулированном у 29 (43,2%), то есть в два раза реже. Скорее всего это связано с отрицательным влиянием экзогенных гонадотропинов на развитие эндометрия и имплантацию эмбриона у пациенток циклах [5,125]. Рассматривая пациенток с потерей беременности, то 16 из 20 пациенток (70,0%) проходили лечение бесплодия в стимулированном цикле.

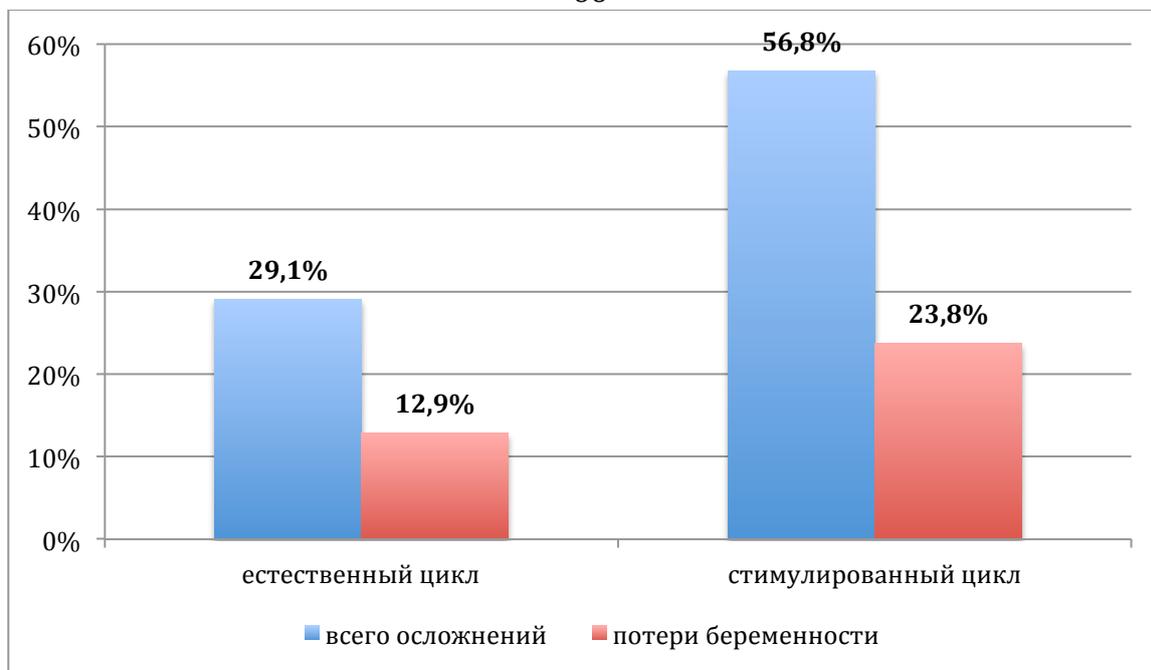


Рисунок 13 – Протокол стимуляции от частота осложнений I триместра беременности у пациенток со сниженным овариальным резервом

По мнению большинства авторов, гормональная подготовка эндометрия при переносе криоконсервированных эмбрионов позволяют достичь лучших результатов в наступлении беременности чем при стимулированных циклах [23,33,39, 50, 151].

При оценке качества переносимых эмбрионов взаимосвязи с частотой неразвивающихся беременностей или начавшегося выкидыша выявлено не было. Все эмбрионы были хорошего качества по классификации D.Gardner и стадия развития бластоцисты не повлияла на исходы беременности.

Так же произведено сравнение исходов беременности в зависимости от получаемой терапии в I триместре. 25 пациенток получали монотерапию одним из препаратов прогестерона и 50 пациенток получали комбинированную терапию дигидрогестерона и микронизированного прогестерона.

При сравнении исходов беременности в зависимости от разновидности использования монотерапии препаратами дигидрогестерона, или микронизированного прогестерона, различий выявлено не было. Поэтому

пациентки, получающие один из вышеперечисленных препаратов были объединены в одну группу.

Установлено, что частота осложнений чаще встречалась у пациенток, которые принимали комбинацию препаратов прогестеронового ряда n-34 (68%), в отличии от тех, кто получал монотерапию либо в виде дигидрогестерона, либо микронизированного прогестерона n-11 (46%) ($p=0.07$) (Табл. 3.3).

Начавшийся выкидыш в группе с монотерапией диагностирован в 1,8 раз реже (у 7-28%), чем в группе с комбинированной (у 27-54%), данные различия явились достоверными ($p<0.05$). При анализе частоты потерь беременности достоверных различий выявлено не было ($p=0.75$).

Таблица 8 – Осложнения беременности в I триместре и терапия препаратами прогестерона

Осложнения	Дигидрогестерон + микронизированный прогестерон	Монотерапия дигидрогестерон или микронизированный прогестерон	p
Начавшийся выкидыш	27 54%	7 28%	0.048*
Потери беременности	7 14%	4 16%	0.75
Всего осложнений	34 68%	11 44%	0.13

Примечание:

*- показатели с достоверными различиями ($p<0,05$)

Наши данные свидетельствует о нецелесообразности назначения 2х препаратов прогестерона у беременных пациенток после применения вспомогательных репродуктивных технологий. Комбинированный прием данных препаратов не улучшает прогноз течения I триместра.

3.2. Антиоксидантная активность фолликулярной жидкости.

(первая часть проспективного этапа)

Проспективная часть исследования состояла из двух этапов. Первый этап включал в себя исследование антиоксидантной активности фолликулярной жидкости у 52 пациентки в цикле ЭКО. На втором этапе производилось исследование маточного кровотока у 56 пациенток с помощью энергетического доплера в день переноса эмбриона и определение информативности данного исследования в прогнозировании эффективности цикла.

В современной литературе активно изучается роль активных форм кислорода в различных физиологических и патологических процессах, протекающих в организме. В начале 2000-х гг. Carbone M.C. и соавт, Paszkowski T. и соавт. и др. начали проводится работы, исследующие влияние антиоксидантной активности (АОА) фолликулярной жидкости на исходы циклов ЭКО [70,164]. Так как на результат процедуры влияет большое количество факторов (возраст, причина бесплодия, образ жизни пациенток), Angelucci S. и соавт. пришли к выводу, что роль окислителей может отличаться на разных этапах репродуктивного цикла и развития эмбриона [58,154,191].

В нашем исследовании изучали антиоксидантные свойства фолликулярной жидкости и взаимосвязь с качеством эмбриона. Образцы фолликулярной жидкости получали при трансвагинальной пункции фолликулов во время забора ооцитов у пациенток со сниженным (I группа) и нормальным (II группа) овариальным резервом. На пятые сутки производили оценку качества эмбрионов после чего сопоставляли данные с параметрами АОА.

Для анализа антиоксидантных свойств фолликулярной жидкости в исследовании использовался метод кинетической люминол-активированной хемилюминисценции. Методика исследования подробно описана в главе 2.

После проведения серии экспериментов и получения результатов исследования произведено сопоставление полученных данных с качеством эмбрионов по шкале Gardner.

Измеряли общую АОА, и АОА, отражающую белковую часть. Был рассчитан параметр площади для АОА, который переводили в единицы концентрации аскорбиновой кислоты и S для измерений с уриказой. Данные представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Антиоксидантная активность у пациенток со сниженным и нормальным овариальным резервом

Группы Параметры	Нормальный овариальный резерв медиана Межквартильный размах	Сниженный овариальный резерв медиана Межквартильный размах	p
общая АОА	11,2	9,9	p >0,05
ед.аск.н.	8,2-22,5	7,3-12,9	
белковая часть АОА	0,29 0,14-0,38	0,27 0,13-0,36	p >0,05

Анализируя полученные данные выявлено, что нормальности распределения при сниженном овариальном резерве не является нормальным ($p=0,004$), в то время как в группе с трубно-перитонеальным фактором распределение было нормальным ($p=0,34$), поэтому для сравнения групп использовали непараметрический критерий.

Сравнение АОА в двух группах наблюдений (с нормальным и сниженным овариальным резервом) по критерию Манна-Уитни показало, что различия между ними статистической значимости не имели ($p=0,34$), но при сниженном овариальном резерве отмечено, что медиана и межквартильный размах в группах со сниженным овариальным резервом были сдвинуты в сторону меньших значений по сравнению с пациентками с нормальным овариальным резервом, у которых была отмечена меньшая корреляция степени выраженности АОА.

Сравнение белковой части АОА в группах со сниженным и нормальным овариальным резервом по критерию Манна-Уитни показало, что различие тоже не было статистически значимым (таблица 9).

В роли основно антиоксиданта при хемилюминисценции была мочевая кислота, которая является естественным антиоксидантом. Учитывая, что площадь под кривой при сниженном овариальном резерве была меньше чем при нормальном, мы можем предположить, что мочевой кислоты в исследуемых образцах было меньше. Данный аспект является одним из причин проявления локального оксидативного стресса в фолликулярной жидкости при сниженном овариальном резерве. Из представленной гистограммы (Рисунок 14) следует, что общая АОА у пациенток с нормальным овариальным резервом относительно выше, а площадь больше, чем при сниженном овариальном резерве.

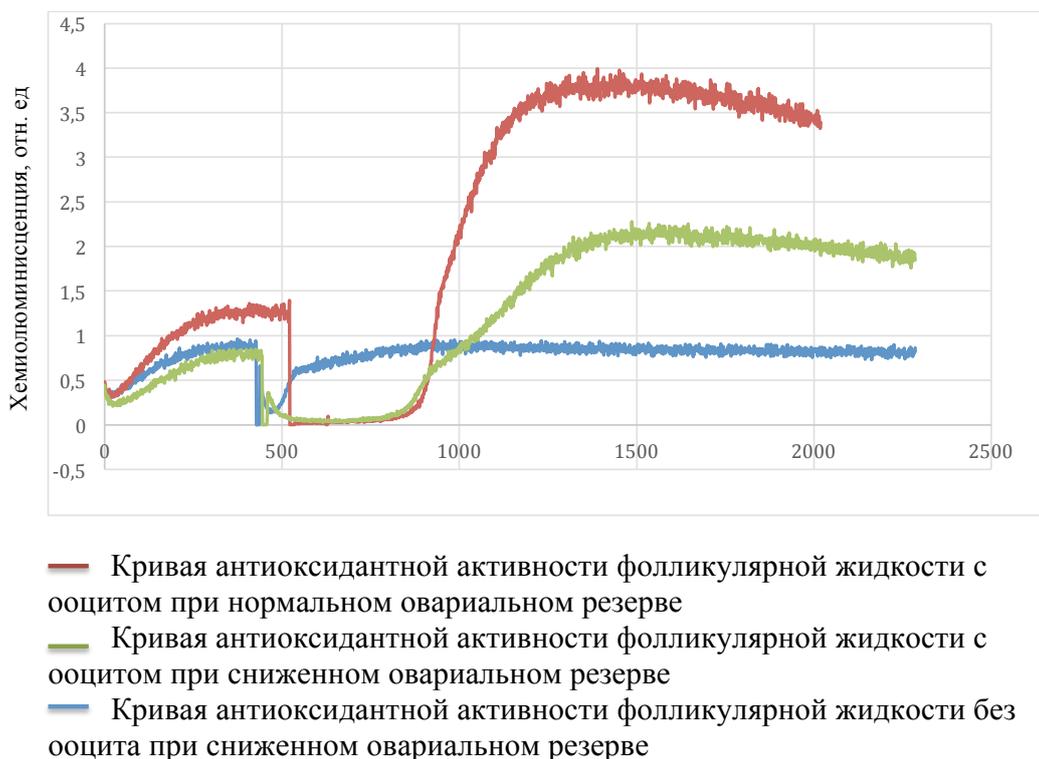
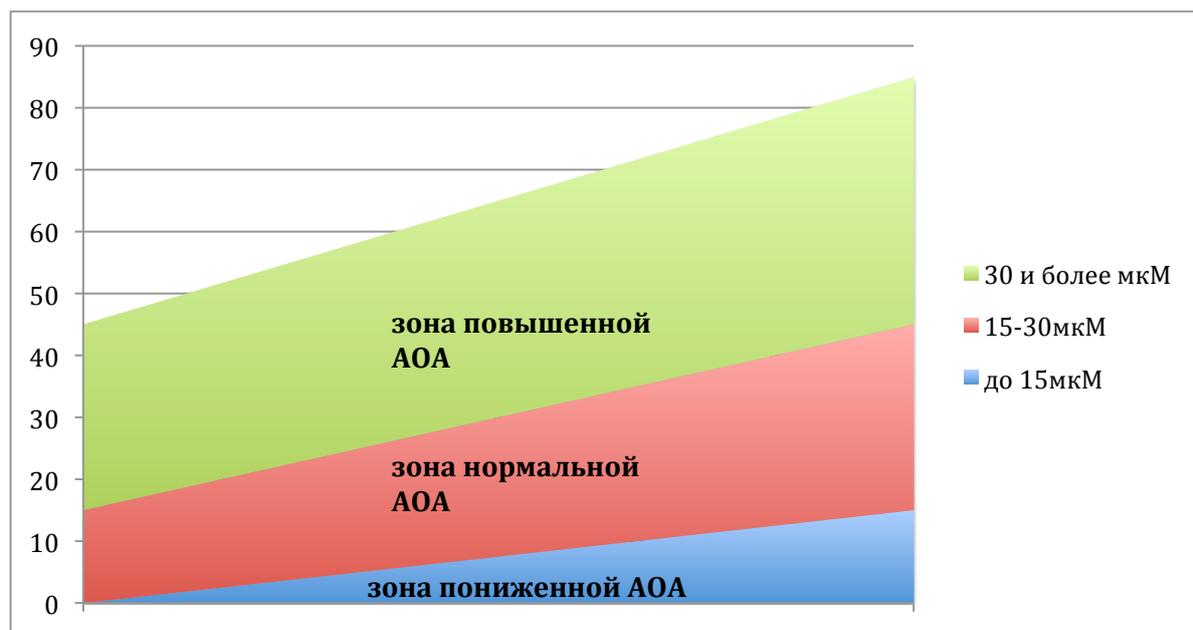


Рисунок 14 – Общая АОА у пациенток с различным овариальным резервом

Учитывая отсутствие достоверных отличий антиоксидантной активности фолликулярной жидкости у пациенток в зависимости от овариального резерва

для дальнейшего анализа они были объединены в одну выборку для сопоставления исследуемых параметров с качеством эмбриона. В ходе интерпретации результата из объединенной выборки было выделено три зоны антиоксидантной активности в зависимости от качества полученных на 5 сутки эмбриона (Рисунок 15).



1. Зона пониженной АОА, которая сопоставима с формированием окислительного стресса (менее 15мкМ) – у данных пациенток были получены эмбрионы плохого качества либо не получены совсем.
2. Зона нормальной АОА (15-30 мкМ) – в эту группу вошли те, у кого качество эмбрионов было хорошее и в последствии наступила беременность.
3. Зона повышенной АОА – антиоксидантный стресс (30 мкМ и более) – у всех пациенток этой группы были эмбрионы плохого качества.

Примечание к рисунку:

Качество эмбриона	Зона пониженной АОА	Зона нормальной АОА	Зона повышенной АОА
Хорошее качество (кол-во)	16 (34,8%)	22 (88,0%)	-
Плохое качество (кол-во)	30 (65,2%)	3 (11,0%)	5 (100%)

Рисунок 15 – Зоны АОА и качество эмбриона

В зоне пониженной АОА, характеризующейся как область с формированием окислительного стресса, отмечено, что только 1/3 эмбрионов были хорошего качества. Так же в этой зоне были показатели АОА с

отсутствием ооцитов (у 3). Это были пациентки со сниженным овариальным резервом и проходящие процедуру ЭКО в естественном цикле. Возраст был более 37 лет. Параметры АМГ менее 0,35нг/мл, ФСГ более 9,2 мМе/л. В цикле у всех рос 1 доминантный фолликул, трансвагинальную пункцию проводили с использованием промывки фолликула буферным раствором. Общая АОА у этих пациенток была низкая в пределах 5,78 – 7,98 соответственно.

Резко сниженная антиоксидантная активность в фолликулярной жидкости свидетельствует о выраженном окислительном стрессе в фолликуле, в котором не произошло развития ооцита. Впервые синдром «пустого фолликула» был описан в 1986 году С.В. Coulam с соавт. Он характеризовал невозможностью аспирации ооцитов из преовуляторных фолликулов в циклах ЭКО [37]. При гормональном и ультразвуковом мониторинге фолликулов в циклах стимуляции суперовуляции прогнозировать развитие синдрома «пустых» фолликулов не представляется возможным, поэтому проводится только ретроспективная диагностика патологического процесса у пациенток, включенных в программы ЭКО [110,163]. Данный синдром в 4 раза чаще встречается в позднем репродуктивном возрасте при сниженном овариальном резерве. Такие пациенты находятся в группе риска по вероятности возникновения синдрома пустого фолликула. *Coulam C. B* и соавторы связывали развитие синдрома «пустых» фолликулов с особенностями состава фолликулярной жидкости. Зависимость условий роста и созревания ооцитов от биохимического состава фолликулярной жидкости подтверждается нарушением при синдроме пустого фолликула ее гормонального профиля (уменьшением количества прогестерона, лютеинизирующего гормона, нарушение соотношения эстрадиола и прогестерона). Факторы риска возникновения синдрома пустого фолликула схожи с факторами развития низкого овариального резерва, что может указывать на то, что в этиологию данного синдрома могут быть вовлечены сходные процессы, связанные со старением яичников.

Наши исследования так же показали, что при повышении АОА отмечается снижение качества получаемых эмбрионов. В группе с повышенной АОА не отмечено ни одного эмбриона хорошего качества.

При анализе зависимости качества ооцитов и овариального резерва было отмечено, что наименьшие значения определялись у пациенток со сниженным овариальным резервом и плохим качеством ооцита (рисунок 16), что указывает на более выраженный оксидативный стресс у пациенток со сниженным овариальным резервом и большую вероятность получения эмбрионов более плохого качества ввиду более низких значений АОА.

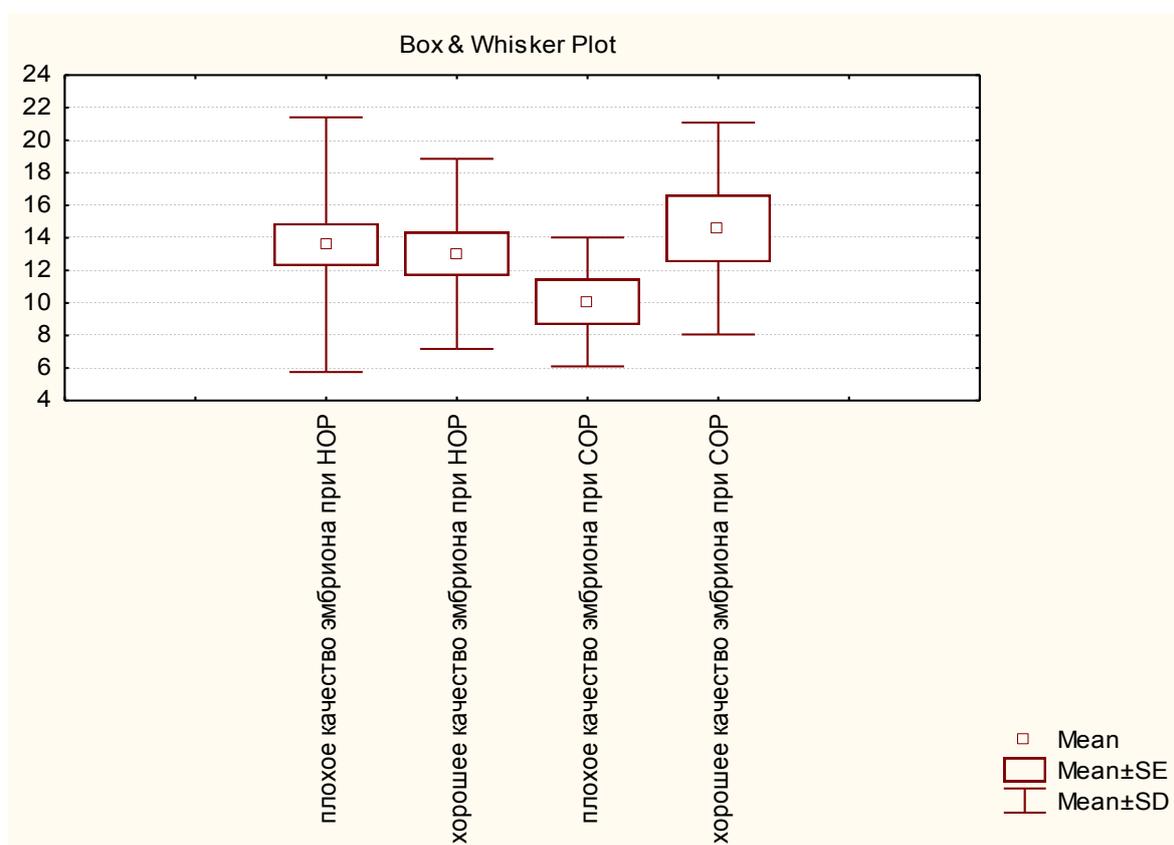
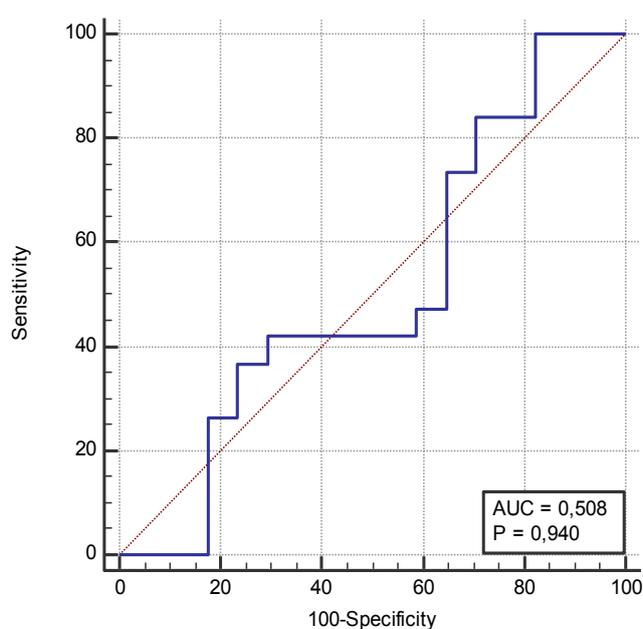


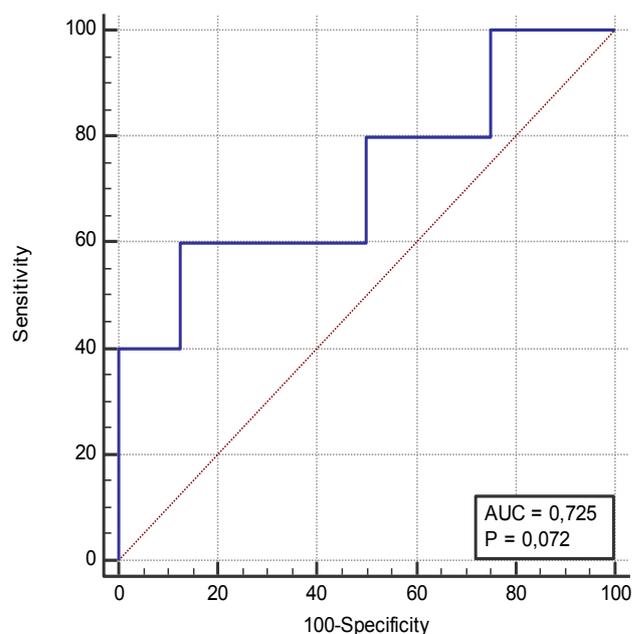
Рисунок 16 – АОА при различном овариальном резерве и качестве эмбрионов

Ниже предложены два графика зависимости АОА от качества эмбриона при различном овариальном резерве по которым видно, что АОА при сниженном овариальном резерве играет наиболее значимую роль и в большей степени влияет на качество эмбриона в дальнейшем (рисунок 17б), чем при нормальном овариальном резерве (рисунок 17а). Так площадь ROC- кривой при нормальном

овариальном резерве равна 0,508, в то время как при сниженном овариальном резерве данный параметр больше и равен 0,725, что указывает на большую чувствительность и специфичность для пациенток со сниженным овариальным резервом (60%;85,7% при сниженном овариальном резерве, 83,3%;41,7 при нормальном овариальном резерве).



а. АОА при нормальном овариальном резерве

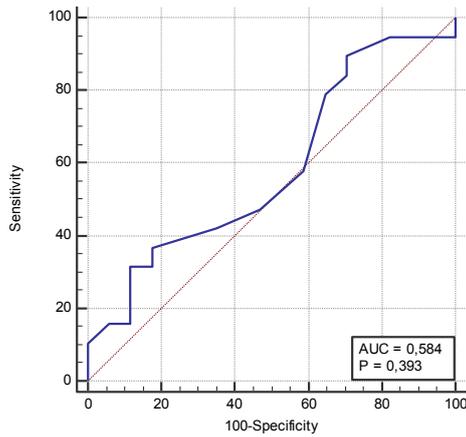


б. АОА при сниженном овариальном резерве

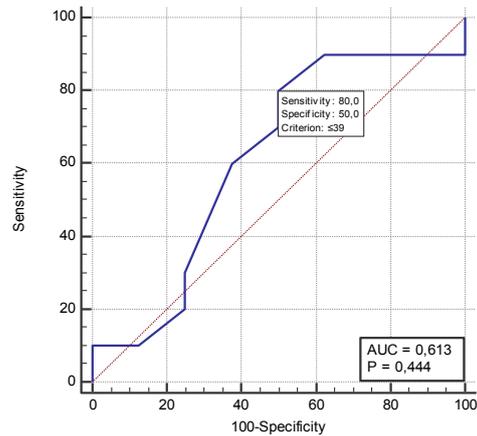
Рисунок 17 – Антиоксидантная активность и качество эмбриона у пациенток с различным овариальным резервом

Учитывая, что основной группой исследования были пациентки со сниженным овариальным резервом, одним из факторов возникновения которого является поздний репродуктивный возраст – нами был проведен анализ зависимости возраста от качества эмбриона в группе со сниженным овариальным резервом и трубно-перитонеальным фактором.

(Рисунок 18 а,б,в).



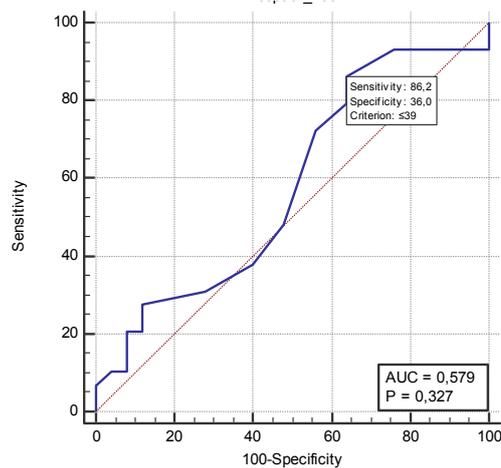
Area under the ROC curve (AUC) 0,584



Area under the ROC curve (AUC) 0,613

а. Возраст и качество эмбриона при нормальном овариальном резерве

б. Возраст и качество эмбриона при сниженном овариальном резерве



Area under the ROC curve (AUC) 0,579

в. Возраст и качество эмбриона независимо от овариального резерва

Рисунок 18 – Возраст и качество эмбриона у пациенток с различным овариальным резервом.

Как видно на рисунке 18а и 18б, наиболее значимое влияние на качество эмбрионов оказывает возраст у пациенток со сниженным овариальным резервом (чувствительность 80%, специфичность 50%), это можно объяснить

тем, что сниженный овариальный резерв отражает не только снижение количества потенциально возможных к получению ооцитов, но так снижение качества полученного материала. Незначительную зависимость от возраста в нашем исследовании возможно связана с тем, что в группу исследования входили пациентки до 40 лет.

Тот факт, что у пациенток со сниженным овариальным резервом параметры АОА сдвинуты в сторону меньших значений в сравнении с группой с нормальным овариальным резервом (Рисунок 19) бесплодия может косвенно указывать на то, что полученный в ходе трансвагинальной пункции материал заведомо может быть более плохого качества при сниженном овариальном резерве.

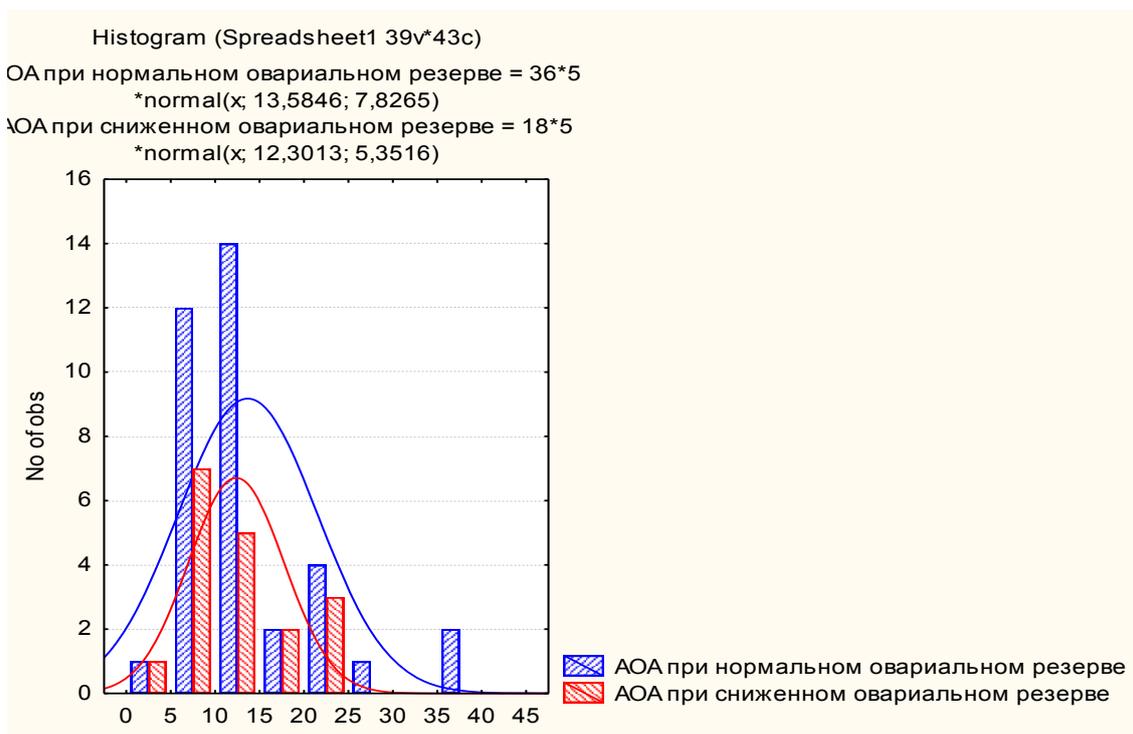


Рисунок 19 – Антиоксидантная кативность фолликулярной жидкости у пациенток с различным овариальным резервом.

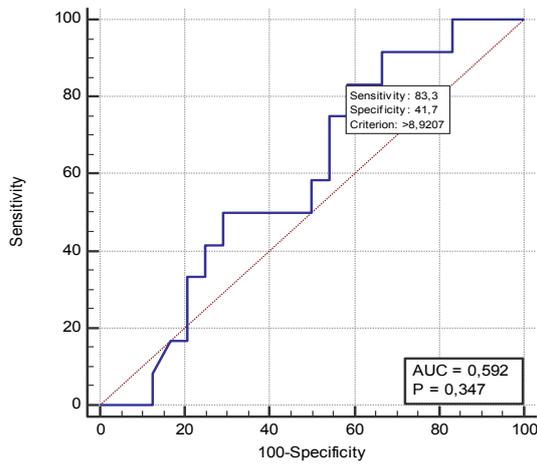
Учитывая данное распределение возможно предположить, что для развития эмбриона хорошего качества в фолликуле с большим потенциалом для оплодотворения и дальнейшего развития до 5х суток необходимо оптимальное значение АОА в фолликулярной жидкости. Изменение данного

параметра как в меньшую сторону (окислительный стресс), так и в большую (антиоксидантный стресс) отрицательно сказывается на качестве эмбриона в связи с чем возможно сделать вывод о том, что для роста ооцита и успешного оплодотворения и развития эмбриона требуется оптимальный уровень продукции активных форм кислорода.

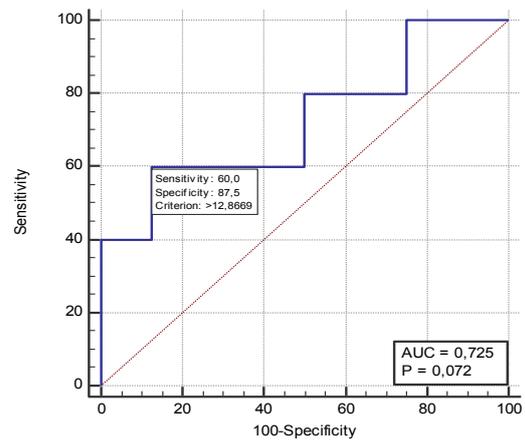
Так же нами был произведен анализ зависимости качества полученного эмбриона и наступления беременности. Выявлено, что независимо от овариального резерва существует зависимость эффективности цикла от того, какой эмбрион мы переносим. Однако, при сниженном овариальном резерве зависимость больше и показательнее, площадь под ROC-кривой составила 0,725 (рисунок 20б).

При нормальном овариальном резерве так же ROC-кривая расположены выше опорной линии, но площадь, отражающая зависимость, имеет небольшие размеры ($S=0,592$) и статистической значимости не имеет (рисунок 20а)

При расчете зависимость АОА с различным овариальным резервом от эффективности цикла так же обнаружена положительная корреляция. Но чувствительность и специфичность этого метода не достаточно высока (83,3%, 44,4%) (Рисунок 20в).



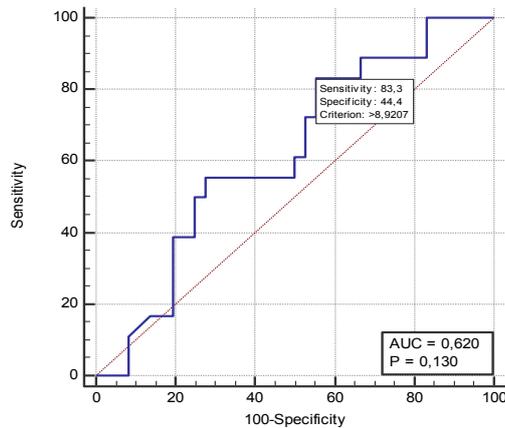
Area under the ROC curve (AUC) 0,592



Area under the ROC curve (AUC) 0,725

а. Антиоксидантная активность фолликулярной жидкости и беременность у пациенток с нормальным овариальным резервом

б. Антиоксидантная активность фолликулярной жидкости и беременность у пациенток со сниженным овариальным резервом



Area under the ROC curve (AUC) 0,620

в. Антиоксидантная активность фолликулярной жидкости и беременность у пациенток с различным овариальным резервом.

Рисунок 20 – Антиоксидантная активность фолликулярной жидкости и беременность при различном овариальном резерве

В связи с проведенным данным мы можем сделать вывод о том, что у пациенток со сниженным овариальным резервом очень большое значение имеет АОА фолликулярной жидкости, которая влияет на качество эмбриона и успешность процедуры ЭКО в дальнейшем. В связи с чем необходимо на прегравидарном этапе у пациенток со сниженным овариальным резервом в обязательном порядке назначать препараты с антиоксидантными свойствами. Вопрос о предгравидарной подготовке требует дальнейших исследований.

3.3. 2D и 3D ультразвуковые маркеры эффективности программы ЭКО.

Большую роль в результативности программ ЭКО играет состояние эндометрия. Его рецептивность, особенности кровоснабжения могут в дальнейшем влиять на возможность имплантации эмбриона. Частью проспективного исследования явилась оценка кровоснабжения миометрия, субэндометриальной зоны и эндометрия в день переноса эмбриона у пациенток с различным овариальным резервом.

Проведен проспективный анализ 56 лечебных стимулированных циклов стандартных программ ЭКО, в которых выполняли перенос на 5 сутки не более 2х эмбрионов на стадии бластоцист. В данном разделе группы пациенток формировались в зависимости от эффективности проведенного цикла выделено. Первую составили пациентки после ЭКО с наступившей беременностью (21 пациентка), вторую – те, у кого после лечебного цикла беременность не наступила (35 пациенток). Среди пациенток с наступившей беременностью у 13 (61,9%) был трубно-перитонеальный фактор бесплодия, у 8 (38,1%) – сниженный овариальный резерв. У 23 (65,7%) пациенток с неэффективным циклом ЭКО был трубно-перитонеальный фактор бесплодия, у 12 (34,2%) – сниженный овариальный резерв.

Возраст пациенток варьировал от 30 до 42 лет ($34,27 \pm 3,98$ года). Среди них пациенток до 35 лет было 17, от 35 до 42 лет – 39. Возраст пациенток, у которые

после переноса эмбриона (ПЭ) наступила беременность (I группа), составил в среднем $34,27 \pm 3,98$ года. У пациенток, которых не наступила беременность (II группа) $36,00 \pm 3,74$ лет ($p > 0,05$).

Учитывая тщательный отбор пациенток, проходящих лечение методом ВРТ количество экстрагенитальной и генитальной патологии не выходила за рамки общепопуляционных, подробная характеристика пациенток представлена в предыдущем разделе.

Стаж бесплодия варьировал в широких границах от 1 года до 11 лет. У пациенток со сниженным овариальным резервом как в I так и во II группе стаж бесплодия был выше и в среднем составил $5,67 \pm 1,8$ лет, у пациенток с нормальным овариальным резервом этот показатель составил $3,85 \pm 2,64$ года, ($p > 0,05$).

В группе пациенток с наступившей беременностью (I группа) первичное бесплодие отмечено у 12 (57,1%), у 9 (42,8%) бесплодие носило вторичный характер. При неэффективном цикле ЭКО (II группа) первичное бесплодие отмечено у 20 (57,1%), у 15 (42,9%) бесплодие было вторичным.

У пациенток с диагностированной беременностью после переноса эмбриона количество попыток ЭКО варьировало от 1 до 4; у 12 (57,1%) беременность наступила после 1 попытки, у 3 (14,3%) – 2, у остальных – 3-4.

У 14 (40,0%) пациенток с не наступившей беременностью исследуемый нами цикл ЭКО был первым, у 10 (28,6%) – второй, у остальных – 3-4.

Следовательно, пациентки были сопоставимы по возрасту, количеству экстрагенитальной и гинекологической патологии, длительности и характеру бесплодия (Таблица 10).

Таблица 10 – Характеристика пациенток при различном овариальном резерве и эффективность ЭКО

	Эффективный цикл		Неэффективный цикл		p
	n-21	n-35	n-35	n-35	
	Нормальный овариальный резерв p ¹	Сниженный овариальный резерв p ²	Нормальный овариальный резерв p ³	Сниженный овариальный резерв p ⁴	
Возраст (лет)	33,27 ± 4,98	35,45 ± 2,98	35,09±3,46	37,02±2,87	-
Индекс массы тела	24,36±1,98	24,76±1,43	25,02±1,17	25,32±1,87	-
Стаж бесплодия (лет)	4,16±2,54	5,26±3,54	5,98±2,07	5,41±3,07	-
Количество перенесенных эмбрионов	1,49±0,21	1,59±0,29	1,76±0,68	1,32±0,43	-
Операции на яичниках	1 4,8%	3 14,9%	5 14,9%	7 40%	-
Уровень ФСГ (МЕ/л)	6,8±1,56	11,99±7,03	7,18±1,79	12,29±5,99	p ¹ /p ² =0.001* p ³ /p ⁴ =0.002*
Уровень АМГ (нг/мл)	3,26±1,27	0,61±0,42	3,57±2,43	0,65±0,37	p ¹ /p ³ =0.021* p ² /p ⁴ =0.001*
Доза рФСГ (МЕ)	2202,5±986,8	1602,9±796,8	2309,2±862,2	1809,2±987,8	-

Примечание:

*-показатели с достоверными различиями (p<0,05)

На 5 день после трансвагинальной пункции перед переносом эмбриона было осуществлено 2D и 3D УЗИ с применением энергетического доплера.

При 2D УЗИ определялась толщина эндометрия (М-ЭХО). Данные о минимально допустимой толщине эндометрия, необходимой для успешного наступления беременности, в литературе неоднозначны. Большинство исследователей отмечали, что при значении толщины эндометрия менее 7 мм

беременность после переноса эмбриона не наступала [32,62,68,145]. Однако в литературе имеются указания о наступлении беременности при значении 6 мм и даже 4 мм [35]. При этом толщина эндометрия свыше 14 мм ассоциирована с высоким риском потери беременности [145].

В нашем исследовании при оценке толщины эндометрия (Таблица 11) в день переноса эмбриона у пациенток с наступившей беременностью данный параметр варьировал от 8,0 до 14,5 мм.

Таблица 11 – Толщина эндометрия и эффективность ЭКО

	Эффективный цикл I группа		Неэффективный цикл II группа		p
	Нормальный овариальный резерв p ¹	Сниженный овариальный резерв p ²	Нормальный овариальный резерв p ³	Сниженный овариальный резерв p ⁴	
Толщина эндометрия в день переноса (мм)	10,4 ± 2,6	10,60 ± 1,94	8,4 ± 0,9	8,31 ± 1,28	p ¹ /p ³ =0.05* p ² /p ⁴ =0.003*

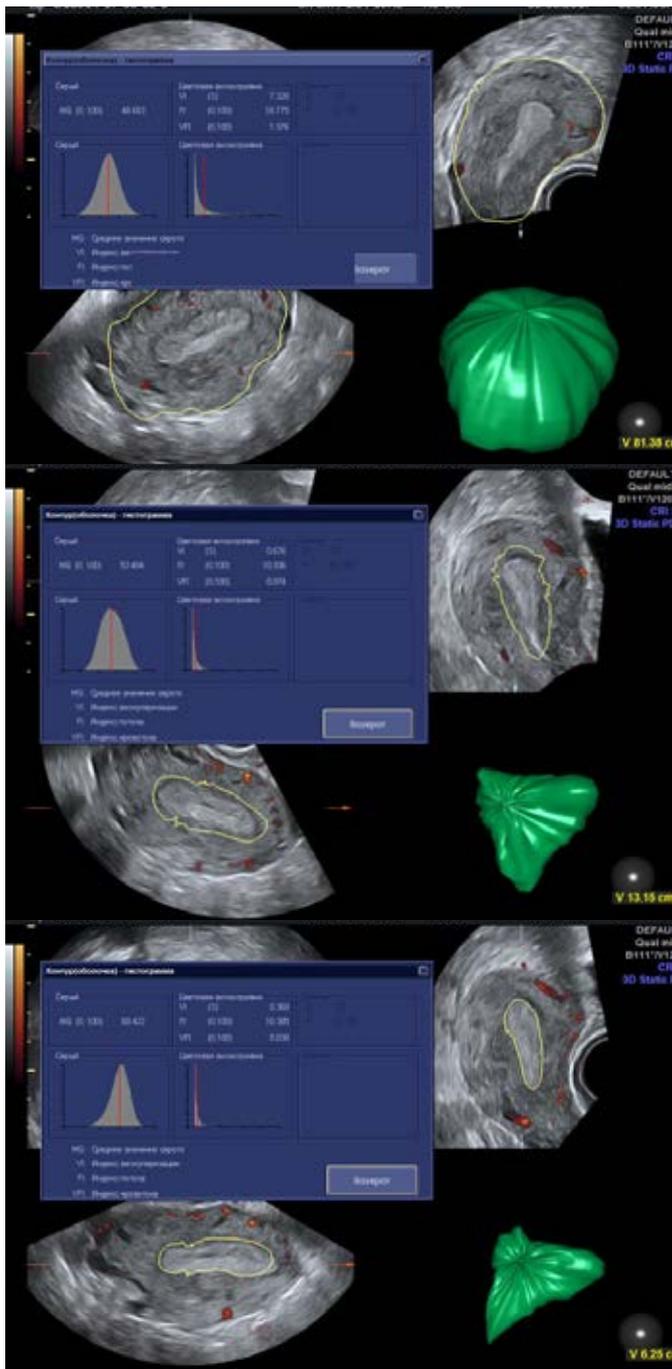
Примечание:

*-показатели с достоверными различиями (p<0,05)

Самый большой показатель толщины эндометрия (14,5мм) отмечен у пациентки с двойней после переноса эмбриона. При неэффективных циклах толщина эндометрия варьировала от 7,0 до 10,6мм. При сравнении данного параметра в зависимости от функций яичника отмечено, что достоверные различия значений между группами с эффективным и неэффективным ЭКО были как у пациенток со сниженным так и с хорошим овариальным резервом (p = 0,003; p = 0,05). (Таблица 11).

Следовательно, значение толщины эндометрия в день переноса эмбриона является достаточно информативным параметром эффективности цикла ЭКО как при хорошем овариальном резерве, так и сниженном.

При 3D УЗИ в день преноса эмбриона осуществлялось исследование объема и кровоснабжения в матке, эндометрии и эндометрии с захватом субэндометриальной зоны как представлено на рисунке 21.



а. Обводка контура по краю миометрия

б. Обводка контура на 5 мм кнаружи от базального контура эндометрия

в. Обводка по контуру эндометрия

Рисунок 21 – варианты обводки контура исследуемой структуры и определение параметров объемного кровотока

При исследовании объема матки с помощью 3D УЗИ в группе с наступившей беременностью (I группа) размеры её варьировали от 31,7 до 83,3 см³, в группе с неэффективным протоколом – от 21,0 до 90,3 см³. Индивидуальный анализ показал наличие тенденции к изменению объема матки в зависимости от наличия родов в анамнезе, так при объеме матки более 58 см³ у (87,5%) в первой группе и у 65,7% во второй в анамнезе имелись роды. Не отмечено зависимости объема матки от овариального резерва и эффективности протокола ЭКО ($p > 0,05$) (Таблица 12).

Таблица 12 – Объемы матки, субэндометриальной зоны и эндометрия, полученные при 3D УЗИ

	Эффективный цикл		Неэффективный цикл		p
	n-21		n-35		
	Нормальный овариальный резерв мм ³ p ¹	Сниженный овариальный резерв мм ³ p ²	Нормальный овариальный резерв мм ³ p ³	Сниженный овариальный резерв мм ³ p ⁴	
Объем матки	49,4 ± 5,01	47,2±4,98	49,2±3,67	48,6±5,12	-
Объем эндометрия с захватом субэндометриальной зоны	10,0±1,1	9,8±0,8	8,9±0,8	8,7±0,7	-
Объем эндометрия	2,53±0,19	1,38±0,31	1,79±0,38	0,82±0,25	p ¹ /p ² =0.004* p ³ /p ⁴ =0.08 p ¹ /p ³ =0.05* p ² /p ⁴ =0.02*

Примечание:

*-показатели с достоверными различиями ($p < 0,05$)

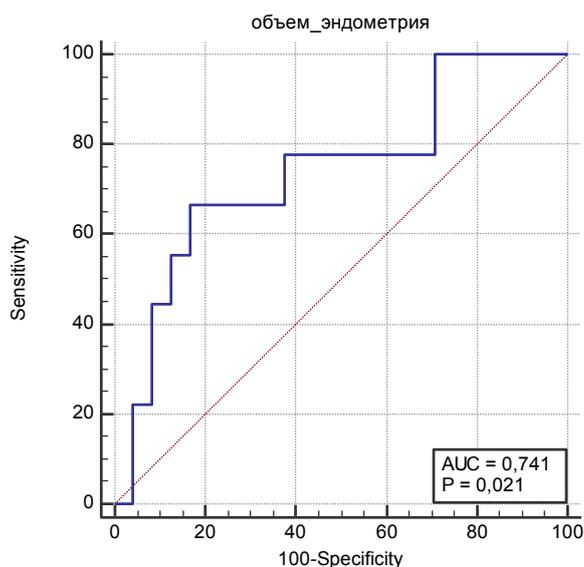
Среднее значение объема субэндометриальной зоны при эффективном цикле ЭКО варьировало от 3,5 до 13,9мм³. У женщин с не наступившей

беременностью объем изменялся от 4 до 14мм³. Достоверных отличий средних значений этого показателя в зависимости от эффективности циклов ЭКО и овариального резерва не отмечено ($p > 0,05$) (Таблица 12).

Следовательно, проведенное исследование показало, что значения объемов матки и эндометрия с захватом субэндометриальной зоны значимости в прогнозировании эффективности циклов ЭКО, как при сниженном так и при нормальном овариальном резерве, не имеют.

В современной литературе имеются данные о необходимости изучения объема эндометрия, учитывая большую корреляцию его показателей с исходами циклов ЭКО. Так Агі Kim. и соавт. рекомендовали учитывать показатели именно объема эндометрия в цикле ЭКО, а не его толщину (м-эхо), указывая на большую субъективность второго показателя [57]. В нашем исследовании выявлено, что как при сниженном так и при нормальном овариальном резерве объем эндометрия у пациенток с эффективным циклом ЭКО был достоверно больше чем у пациенток с не наступившей беременностью ($p=0.003$) (таблица 12). Так, при эффективном цикле ЭКО и нормальном овариальном резерве данный параметр был в 1,4 и 1,7 раза выше чем при неэффективном ($p=0.004$, $p=0.008$). В связи с полученными данными объем эндометрия можно использовать в качестве предиктора эффективности цикла ЭКО.

При индивидуальном анализе выявлено, что при наличии в анамнезе раздельного диагностического выскабливания слизистой матки по поводу патологии эндометрия до лечебного цикла, у пациенток отмечались относительно низкие значения объема эндометрия, как при эффективном так и при неэффективном цикле ЭКО (рисунок 22).



Area under the ROC curve (AUC)	0,741
--------------------------------	-------

Рисунок 22 – ROC-анализ отдельного диагностического выявления эндометрия в анамнезе и объема эндометрия.

Для прогнозирования эффективности циклов ЭКО применялось 3Д УЗИ с функцией энергетической доплерографии с оценкой низкоскоростных потоков крови, которые характерны для миометрия и эндометрия. По данным Озерской И.А. именно эта методика увеличивает количество визуализируемых сосудов с низкой скоростью кровотока. [35,36].

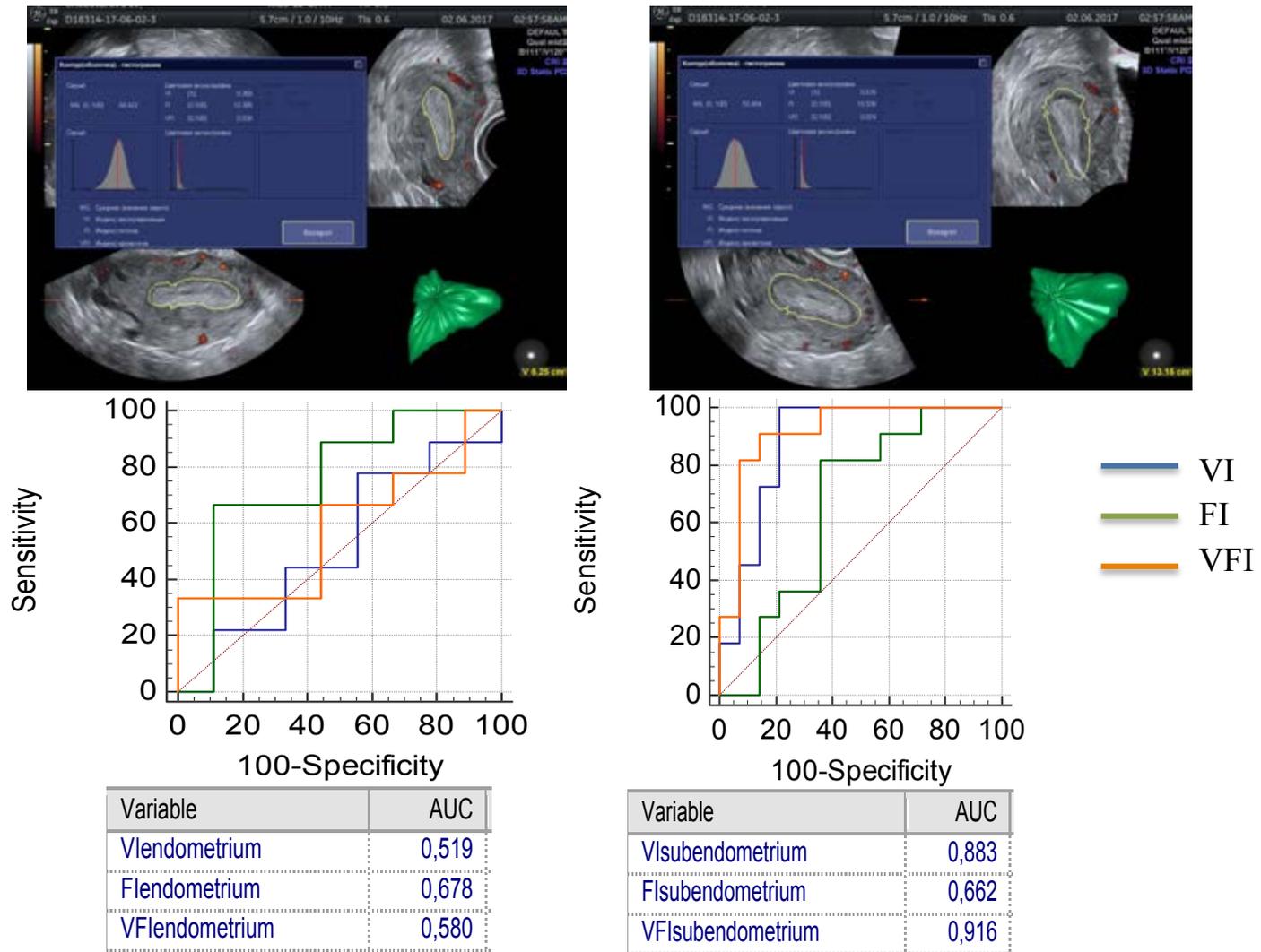
Как известно, кровоснабжение эндометрия осуществляется, в основном, за счет расположенных в нем спиральных артерий, которые являются продолжением базальных артерий, располагающихся в субэндометрии [35]. Определение параметров объемного кровотока в эндометрии с захватом субэндометриальной зоны (субэндометрий) наиболее показательны поскольку отражает интенсивность кровотока дополнительно в дугообразной артерии и отходящих от нее радиальных ветвях.

Произведено сравнение двух методов изучения кровоснабжения эндометрия (с захватом субэндометриальной зоны и с обводкой по базальному контуру (Рисунок 23а,б)). Область обводки на 5 мм снаружи от эндометрия выбрана для того, чтобы в зону интереса попадали не только базальные, но и радиальные

артерии. Построен ROC-анализ, в ходе которого выявлено, что при обводке эндометрия строго по базальному контуру (кровоток в эндометрии) соотношения показателей кровотока и эффективности циклов ЭКО не получено (Рисунок 23а) (площадь под кривой для каждого измеренного параметра: для VI – 0,49; для FI – 0,50; для VFI – 0,49).

При обводке контура на 5 мм кнаружи от базального слоя с захватом субэндометриальной зоны отмечена зависимость изменений параметров кровотока и эффективности циклов ЭКО (Рисунок 23б) (площадь под кривой для каждого измеренного параметра: для VI – 0,88; для FI – 0,66; для VFI – 0,91).

Учитывая, что 3D УЗИ было проведено при одинаковых настройках, отсутствие зависимости параметров кровотока в эндометрии скорее всего связано с тем, что в спиральных артериях минимальные скорости кровотока, которые необходимо определять при дополнительной настройке аппарата. Учитывая тот факт, что настройки аппарата не менялись для стандартизации результатов исследования спиральные артерии проявились недостаточно в связи с чем наше исследование показало, что определение кровотока в миометрии и субэндометрии является наиболее объективным.



а. Обводка эндометрия по базальному контуру

б. Обводка эндометрия с захватом субэндометриальной зоны

Рисунок 23 – Методы изучения кровоснабжения эндометрия с захватом субэндометриальной зоны и без

При оценке индексов кровотока, полученных в ходе построения гистограмм выявлена следующая закономерность: индексы объемного кровотока в матке и эндометрии с захватом субэндометриальной зоны были достоверно выше у пациенток с наступившей беременностью после переноса эмбриона (Таблица 13). Данные, представленные в таблице свидетельствуют о том, что индекс васкуляризации (VI) и васкуляризационно-поточковый индекс (VFI) в матке при эффективном протоколе ЭКО были в 1,6 и 2,0 раза выше чем при

Таблица 13 – Параметры 3D УЗИ кровотоков в матке, субэндометрии и эндометрии

Группы	В матке				В субэндометрии				В эндометрии			
	VI	FI	VFI		VI	FI	VFI		VI	FI	VFI	
Нормальный оварияльный резерв	Параметры 3D УЗИ											
	эффективность											
Сниженный оварияльный резерв	Эффективный цикл p^1	11,41±2,19	16,16±2,90	1,77±0,35	6,13±4,23	10,0±1,17	0,92±0,64	3,41±2,82	11,60±1,61	0,32±0,33		
	Не эффективный цикл p^2	7,45±0,97	12,75±1,68	0,94±0,05	3,19±2,57	10,55±1,90	0,25±0,15	2,5±2,22	11,38±2,76	0,27±0,21		
Сниженный оварияльный резерв	Эффективный цикл p^3	10,56±2,57	17,68±3,44	1,92±0,75	3,52±1,09	11,12±1,03	0,39±0,16	2,40±1,84	10,69±1,68	0,22±0,20		
	Не эффективный цикл p^4	4,47±2,30	14,05±3,32	0,62±0,28	1,23±1,27	8,61±3,95	0,10±0,08	1,82±1,49	11,17±2,16	0,19±0,16		
Сниженный оварияльный резерв	p											
		$p^1/p^2=0,007^*$ $p^3/p^4=0,003^*$ $p^1/p^3=0,62$ $p^2/p^4=0,014^*$	$p^1/p^2=0,06$ $p^3/p^4=0,35$ $p^1/p^3=0,52$ $p^2/p^4=0,41$	$p^1/p^2=0,23$ $p^3/p^4=0,009^*$ $p^1/p^3=0,78$ $p^2/p^4=0,011^*$	$p^1/p^2=0,24$ $p^3/p^4=0,014^*$ $p^1/p^3=0,27$ $p^2/p^4=0,12$	$p^1/p^2=0,58$ $p^3/p^4=0,18$ $p^1/p^3=0,19$ $p^2/p^4=0,30$	$p^1/p^2=0,013^*$ $p^3/p^4=0,007^*$ $p^1/p^3=0,12$ $p^2/p^4=0,04^*$	$p^1/p^2=0,34$ $p^3/p^4=0,82$ $p^1/p^3=0,21$ $p^2/p^4=0,41$	$p^1/p^2=0,83$ $p^3/p^4=0,65$ $p^1/p^3=0,37$ $p^2/p^4=0,85$	$p^1/p^2=0,57$ $p^3/p^4=0,77$ $p^1/p^3=0,57$ $p^2/p^4=0,32$		

отсутствии эффекта. На рисунке 24а,б представлен вариант изучения объемного кровотока в матке с определением параметров объемного кровотока в зависимости от эффективности протокола ЭКО. На рисунке 24а представлены показатели пациентки, у которой впоследствии наступила беременность, на рисунке 23б – данные пациентки с ненаступившей беременностью.



а. Объемный кровоток в матке при наступившей впоследствии беременности после ЭКО

б. Объемный кровоток в матке при неэффективном ЭКО

Рисунок 24 – Варианты объемного кровотока в день переноса эмбриона и оценка эффективности протокола ЭКО

Аналогичные изменения отмечены при анализе васкуляризации субэндометриальной зоны. Наибольшие отличия в значениях имеют эти же параметры VI и VFI, которые в 2,6 и 2,5 раза выше у пациенток с наступившей беременностью после переноса эмбриона.

При сравнении изменений параметров кровотока у пациенток в зависимости от овариального резерва установлено, что при неэффективном цикле ЭКО и сниженном овариальном резерве VI и VFI в миометрии были в 1,6 и 1,5 раза, а VFI в субэндометриальной зоне в 2,5 раза ниже чем при нормальном овариальном резерве и не эффективном цикле ($p < 0.05$) (Таблица 13). Указанное свидетельствует о пониженном кровенаполнении матки у пациентов со

сниженным овариальным резервом в отличие от женщин с адекватной функцией яичников.

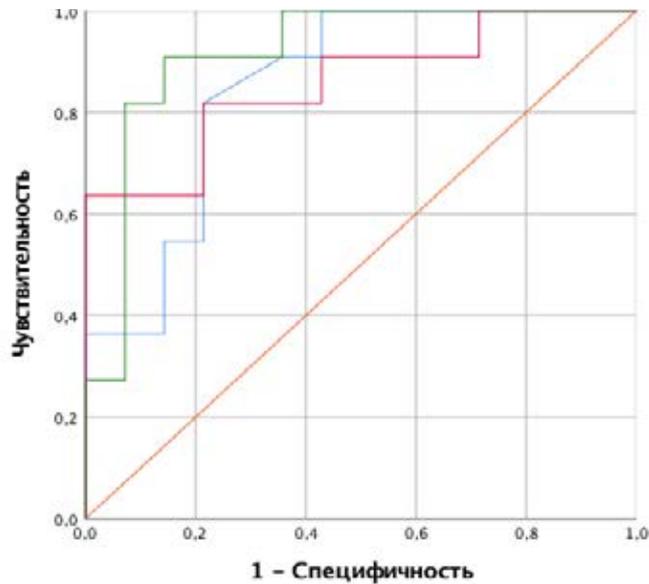
При эффективном же цикле ЭКО сравнивая пациенток с различным овариальным резервом отличий в параметрах кровотока как при сниженном так и при нормальном овариальном резерве не обнаружено.

Таким образом в ходе нашего исследования установлено, что при эффективном цикле ЭКО независимо от овариального резерва определяются более высокие показатели объемного кровотока в матке и эндометрии с захватом субэндометриальной зоны. Самые низкие параметры кровотоков были отмечены у пациенток с низким овариальным резервом и неэффективным циклом ЭКО. Мы считаем, что снижение показателей кровотока при низком овариальном резерве связаны с нарушением роста сосудов функционального слоя эндометрия из-за недостаточного влияния эстрогенов в течение пролиферативной фазы.

Подтверждением этих данных может быть исследование, проведенное S. Bassil и соавт. [62] которое свидетельствует о том, что содержание эстрогенов в сыворотке крови имеет достоверную связь с интенсивностью маточного кровотока в циклах ЭКО с применением а-ГнРГ и гонадотропинов. PR. Mauga и соавт. [151], доказали, что при преждевременном истощении функции яичников проведение заместительной гормональной терапии значительно улучшаются доплерометрические характеристики кровотока в матке.

Считается, что снижение показателей кровотока при низком овариальном резерве связаны с нарушением роста сосудов функционального слоя эндометрия из-за недостаточного влияния эстрогенов. При анализе полученных нами данных с помощью 2D и 3D УЗИ выделены основные параметры имеющие достоверную корреляцию с эффективностью цикла ЭКО независимо от овариального резерва: объем эндометрия, индекс VI миометрия и VFI субэндометрия. Прогностическая значимость данных показателей представлена с помощью ROC – кривой (Рисунок 25). Чувствительность 74,8%, специфичность 60,6%, площадь по ROC-кривой – 0,851 для объема эндометрия;

86,4%, 69,4%, 0,857 для VI миометрия, 90,4%, 79,4%, 0,916 для VFI субэндометриальной зоны соответственно.



	AUC
■ объем_эндометрия	0,741
■ VI миометрия	0,857
■ VFI эндометрия с захватом субэндометриальной зоны	0,916

Рисунок 25 – ROC-анализ зависимости объема эндометрия, VI в матке и VFI в субэндометрии и эффективности ЭКО

Таким образом использование 3D УЗИ с функцией энергетического доплера в день переноса эмбриона позволяет косвенно судить о степени выраженности рецептивности эндометрия, а так же может использоваться в качестве прогностических критериев для определения вероятности наступления беременности после переноса эмбриона в цикле ЭКО. Информация о показателях кровотока в матке и субэндометриальной зоны, а так же объем эндометрия позволит избежать заведомо не результативных переносов эмбриона. Пациенткам со сниженным овариальным резервом с целью повышения эффективности переноса эмбриона целесообразно исследование объемного кровоснабжения матки и при отклонениях от нормативных показателей рекомендовать проведение терапии, направленной на улучшение маточной перфузии на этапе прегравидарной подготовки.

ГЛАВА 4. Обсуждение результатов исследования.

Перспективы течения первого трисетра беременности при сниженном овариальном резерве у пациенток с исходно низким овариальным резервом. В настоящее время увеличивается количество пациенток старшего репродуктивного возраста и сниженным овариальным резервом, желающих реализовать свою репродуктивную функцию. Распространенность бесплодного брака в России достигает 15,0-17,4% и имеет тенденцию к росту [15,17,18,45].

Использование контролируемой стимуляции суперовуляции в циклах ЭКО позволило повысить эффективность программ по лечению бесплодия у таких пациенток до 15-20%. На эффективность циклов ЭКО влияет не только получение оптимального количества ооцитов, но и их качество [52,55,67]. Учитывая снижение репродуктивного потенциала с возрастом, в центрах вспомогательных репродуктивных технологий сталкиваются с трудностями в получении не только оптимального количества ооцитов, но и получения генетического материала, перспективного для дальнейшего развития. В центры вспомогательных репродуктивных технологий достаточно часто обращаются пациентки со сниженным овариальным резервом, обусловленным прежде всего возрастом (после 35 лет), а так же те, кто подвергся цистэктомии по поводу различных образований яичников в более молодом возрасте. Методы ВРТ не всегда являются эффективными, а частота наступления беременности при сниженном овариальном резерве не превышает 10-12% на попытку [55].

Известно, что наступление беременности после ЭКО не означает рождение ребенка в срок. Согласно отчету Российской Ассоциации Репродукции Человека от 2015 года (РАРЧ), около 30% беременностей, которые наступили в результате ЭКО и ПЭ, ИКСИ не завершается родами. 90% всех потерь при беременности приходится на I триместр.

Данных о критериях эффективности циклов ЭКО при сниженном овариальном резерве, а так же особенностях течения беременности недостаточно, в связи с чем целью работы было определение критериев эффективности на основании изучения перинатальных потерь,

антиоксидантной активности фолликулярной жидкости, внутриматочного кровотока.

Исследование включало два этапа. На ретроспективном этапе изучались репродуктивные потери, осложнения течения беременности в первом триместре беременности, наступившей после ЭКО и ПЭ у пациенток со сниженным овариальным резервом.

На проспективном этапе определялась антиоксидантная активность фолликулярной жидкости при трансвагинальной пункции фолликулов в цикле ЭКО и исследование параметров кровотока в матке в день переноса эмбриона у пациенток со сниженным овариальным резервом.

В зависимости от этапов исследования были выделены следующие задачи. На первом - выявление особенностей течения первого триместра беременности после ЭКО у пациенток со сниженным овариальным резервом, а так же определение факторов риска осложнений беременности, способствующих неблагоприятным исходам.

На втором этапе задачами исследования было оценить степень выраженности антиоксидантной активности фолликулярной жидкости у пациенток с различным овариальным резервом и соотнести эти данные с качеством эмбрионов и эффективностью циклов ЭКО. Определить значимость параметров кровотока матки при 3D УЗИ в день переноса эмбриона у пациенток с различным овариальным резервом для эффективности циклов ЭКО.

Критериями включения были пациентки в возрасте от 30 до 40 лет со сниженным овариальным резервом в цикле ЭКО. Группа контроля - пациентки аналогичного возраста с нормальной функцией яичников и трубно-перитонеальным фактором бесплодия.

Критерии исключения: возраст менее 30 и более 40 лет, миома матки, объемные образования яичников, синдром поликистозных яичников, мужской и иммунологический фактор бесплодия, а так же бесплодие неясного генеза.

На ретроспективном этапе были определены особенности течения беременности у пациенток со сниженным овариальным резервом.

J. Cohen и соавт. [74,75] провели клинические исследования, в которых было установлено, что снижение овариального резерва (в том числе у молодых женщин) может ассоциироваться со снижением эффективности циклов ЭКО и частоты беременности и рождения живого ребенка после ВРТ (2017г). Считается, что данный факт является следствием снижения не только количества ооцитов, обладающих потенциалом к оплодотворению, но и их качества, что приводит к повышению частоты генетических aberrаций, неудачной имплантации и риска развития структурных и/или функциональных дефектов эмбриона [91, 134,157].

На первом этапе была оценена 151 история беременных пациенток после ЭКО и ПЭ. 111 из них были со сниженным овариальным резервом, остальные с трубно-перитонеальным фактором бесплодия.

Определено, что общая частота осложнений первого триместра беременности в 1,7 раза больше при сниженном овариальном резерве, чем у пациенток с нормальной функцией яичников. M. Atasever и соавт. в 2016 году обнаружили, что у женщин с привычным невынашиванием беременности значительно снижен уровень АМГ. На основании этого они отнесли низкий уровень АМГ к факторам риска развития привычного невынашивания. Аналогичные данные были получены и S. Pils и соавт. (2016 год), которые установили, что у пациенток с уровнем АМГ менее 1,9нг/мл риск невынашивания беременности выше (чувствительность 72,7%, специфичность 52,6%).

Оценивая структуру осложнений стоит отметить, что наиболее часто встречался начавшийся выкидыш, частота при сниженном овариальном резерве отмечена больше чем у половины беременных - 58,6%.

Наиболее частой причиной кровяных выделений из половых путей в I триместре беременности считалось наличие ретрохориальной гематомы. Ретрохориальная гематома – частое осложнение первого триместра

беременности и встречается в 3 - 22% от числа всех беременностей [9,40,43,55] Большая вариация частоты встречаемости ретрохориальной гематомы по мнению К. Asato (2014) в большей степени определяется использованием ВРТ - достоверно увеличивающих риск их формирования.

В нашем исследовании ретрохориальная гематома отмечена у 27,9% и 45,9% при трубно-перитонеальном факторе бесплодия и сниженном овариальном резерве соответственно. Указанные значения выше общепопуляционных данных в 1,6 и 2,6 раза. Таким образом практически у каждой второй пациентки со сниженным овариальным резервом отмечено наличие ретрохориальной гематомы. Определение данного осложнения позволяет относить пациенток со сниженным овариальным резервом к группе повышенного риска по развитию самопроизвольного аборта [15,131] По мнению Рон М.Г. (2015) развитие ретрохориальной гематомы ассоциировано с нарушением внутриматочной перфузии, возникновением повышения сосудистого сопротивления в спиральных артериях, что приводит к неполноценной инвазии цитотрофобласта и развитию большего количества перинатальных потерь. Наличие такой большой частоты развития ретрохориальной гематомы в первом триместре позволяет предположить о том, что снижение овариального резерва ассоциировано с нарушением внутриматочной перфузии, приводящей к увеличению риска потери беременности в первом триместра.

Одной из ведущих причин прерывания беременности в первом триместре считается хромосомная патология эмбриона. При цитогенетическом изучении абортусов при неразвивающейся беременности на долю анеоплодии пришлось 20% (по типу трисомии). Но данный показатель не выходит за рамки общепопуляционных данных. Shahine и соавт. в ходе исследования пациенток с привычным невынашиванием беременности отметили, что снижение овариального резерва ассоциируется с повышенной долей анеуплоидных бластоцист, что свидетельствует об исходно сниженном качестве ооцитов у

таких пациенток [179]. L. Bishop et al. [65] наоборот не отметили влияние низкого овариального резерва на увеличение частоты анеуплодии в абортусах.

Kiran M. и соавторами (2015) было проведено масштабное исследование, в которое было включено более 553 тыс. женщин. Выявлено, что у пациенток со сниженным овариальным резервом выше риск внематочной беременности. Kiran M. и соавторы связали это с изменениями в анатомии и функции фаллопиевых труб, которые могут быть причиной имплантации эмбриона вне полости матки (Kiran M. et al 2015). Shengli Lin et al., (2017) отмечал, что при использовании ВРТ сам по себе возрастает риск возникновения внематочной беременности, однако при сравнении пациенток, забеременевших после ЭКО отмечено, что при сниженном овариальном резерве частота внематочной беременности была все равно выше чем при нормальной функции яичников (5.51% ; 2.99%). В связи с чем автор обозначил сниженный овариальный резерв как один из факторов риска развития внематочной беременности. В нашем исследовании у пациенток со сниженным овариальным резервом выявлен более высокий процент внематочной беременности чем в популяции (2,7%, в популяции – 1-2%).

Учитывая, что одной из ведущих причин снижения овариального резерва является возраст, мы решили использовать принцип классификации POSEIDON [115]. Данная классификация была предложена Humaidan P et al в 2016 году. Основной ее принцип заключается в выделении 4х групп в зависимости от овариального резерва, и возраста для определения эффективности циклов ЭКО. Первая группа классификации представлена пациентками в возрасте до 35 лет и хорошим овариальным резервом, вторая – пациентки с хорошим овариальным резервом в возрасте более 35 лет и 3 и 4 группа – пациентки со сниженным овариальным резервом в возрасте до 35 лет и более соответственно. Данная классификация была использована нами для определения зависимости осложнений первого триместра не только от уровня АМГ, но и возраста.

При сравнении пациенток со сниженным овариальным резервом и возрастом до 35 лет и более отмечено, что после 35 лет осложнения

встречаются достоверно чаще несмотря на одинаковые показатели овариального резерва у данных пациенток. Что свидетельствует о большой роли возрастного фактора в формировании осложнений (64,4%, 88,4%, $p=0,0035$).

При сравнении пациенток с различным овариальным резервом в возрасте до 35 лет отмечено, что общее количество осложнений больше при сниженном овариальном резерве с достоверными отличиями ($p=0,011$). Все же по уровню АМГ можно косвенно судить о риске возникновения осложнений.

Потери беременности так же чаще отмечены у пациенток старше 35 лет со сниженным овариальным резервом. 16 из 20 пациенток с потерей беременности в исследуемом цикле были старше 35 лет.

Следовательно возраст более 35 лет в комбинации со сниженным овариальным резервом является предиктором осложнений первого триместра беременности у пациенток после ЭКО и ПЭ.

Учитывая, что значение АМГ является показателем функции яичников нами был проведен индивидуальный анализ возникновения частоты осложнений в зависимости от его уровня. Было выделено три диапазона уровня АМГ: менее 0,4 нг/мл, от 0,4 до 0,69 нг/мл, от 0,7 до 1,1 нг/мл. Выявлена тенденция увеличения частоты начавшегося выкидыша при снижении АМГ независимо от возраста. Так количество начавшегося выкидыша при уровне АМГ менее 0,4 нг/мл было чаще как в возрасте до так и более 35 лет чем при уровне АМГ от 0,7 до 1,1 нг/мл (2,3 и 1,4 раза чаще). Таким образом низкий уровень АМГ в комбинации с возрастом отражает репродуктивный потенциал, оценивая не только количество, но и качество оставшихся яйцеклеток, так как именно качество может играть одну из ключевых ролей в формировании и дальнейшем развитии эмбриона и течении беременности.

Для того, чтобы определить, какой из показателей (возраст/АМГ) является наиболее информативным для определения зависимости частоты развития осложнений беременности были построены ROC-кривые. Определено, что возраст является наиболее информативным маркером возникновения

осложнений течения беременности, а уровень АМГ может использоваться в качестве дополнительного критерия. (площадь ROC-кривой для возраста 0,720; площадь ROC-кривой для АМГ – 0,677).

Изучая зависимость развития осложнений беременности от протокола стимуляции определено, что при сниженном овариальном резерве предпочтительно применение протоколов с минимальной стимуляцией либо в естественном цикле. Отмечено, что в стимулированных циклах угроза прерывания беременности была в 1,9 раз чаще чем при естественном цикле. Возможно, это связано с тем, что в естественном цикле ЭКО нет отрицательного влияния экзогенных гонадотропинов на развитие эндометрия и имплантацию эмбриона [32,22,100,160]. В связи с чем для пациенток со сниженным овариальным резервом предпочтительным является использованием протоколов в естественном цикле.

Остается открытым вопрос гормональной поддержки пациенток после переноса эмбриона. Основной гормон, поддерживающий беременность после ЭКО - прогестерон, который создает условия для имплантации, влияя на секреторную трансформацию эндометрия обеспечивает полноценную инвазию трофобласта. Еще в 1990 году Paulson R.J. было доказано, что недостаточная секреция прогестерона в лютеиновую фазу спонтанного или стимулированного цикла может приводить к снижению рецептивности эндометрия и оказывает негативное влияние на имплантацию эмбриона в циклах ЭКО. Кроме того, действия прогестерона так же направлены на развитие и сохранение беременности за счет снижения сократительной активности миометрия, за счет ингибирования активности простагландинов и уменьшая плотность и экспрессии рецепторов к окситоцину, а также снижения поступления кальция в цитоплазму гладких мышечных клеток, ингибируя тем самым прохождение электрического импульса, побуждающего матку к сокращению, что может быть причиной внематочной беременности и выкидышам [30]. Назаренко Т.А. [33] указывает на основную роль прогестерона в формировании иммунного ответа, действие которого направлено на защиту эмбриона от abortогенных реакций.

Недостаточность секреции прогестерона желтым телом в протоколах стимуляции суперовуляции формируется в результате применения аналогов гонадолиберина (ГНЛ) и больших доз хорионического гонадотропина (ХГ) как триггера завершающего созревания ооцитов, подавляющих синтез эндогенного лютеинизирующего гормона (ЛГ) во II фазе цикла. Считалось, что непосредственный забор ооцитов также формирует НЛФ, поскольку удаляется значительное число клеток гранулезы. Однако данный вопрос оставался спорным, так как J. Kerin в 1981 году определил, что аспирация проовуляторного фолликула в естественном цикле не влияла на выработку прогестерона. Сниженная секреция стероидных гормонов, в первую очередь прогестерона. В настоящее время наиболее вероятной причиной недостаточности лютеиновой фазы в программе ЭКО в настоящее время считают повышение уровни стероидных гормонов, секретируемых большим количеством желтых тел после аспирации ооцитов, которые непосредственно ингибируют секрецию лютеинизирующего гормона [33,121] Дефицит его приводит к нарушению стероидогенеза и нормального функционирования желтого тела на протяжении лютеиновой фазы в программе ЭКО [155,197].

Выше указанное свидетельствует о необходимости проведения поддерживающей терапии в программе ЭКО после переноса эмбрионов. Изучение представленных в литературе результатов использования препаратов в качестве поддерживающей терапии после переноса эмбрионов в программе ЭКО показывают широкое разнообразие подходов – от выбора препаратов до рекомендуемых доз, режимов и длительности их приема. Терапия, проводимая в первом триместре беременности после успешной попытки ЭКО, не регламентирована и часто носит эмпирический характер. Есть данные о нецелесообразности применения больших доз прогестерона [11,23,40,46,47,48,]

Сравнивая исходы первого триместра беременности выявлено, что комбинированная терапия препаратами прогестеронового ряда достоверно не улучшает исходы беременности. При оценке общего количества осложнений отмечено, что при применении комбинации препаратов прогестеронового ряда

у 68% отмечены осложнения течения первого триместра беременности, в то время как при монотерапии осложнения возникли у 48% ($p=0,13$). Saharkhiz et al. (2015) провели исследования, в ходе которых сравнивали эффективности дидрогестерона (40 мг/сут) и микронизированного прогестерона (800 мг/сут) в программе ЭКО/ICSI и не выявили достоверных различий в частоте самопроизвольных выкидышей (5,0% и 3,0%; $p = 0,721$) и в частоте прогрессирующей беременности (30,0% и 30,0%; $p = 1,000$), что позволяет считать эти препараты сопоставимыми по эффективности. В нашем исследовании обнаружено, что при назначении комбинации препаратов микронизированного прогестерона и дидрогестерона начавшийся выкидыш развивается чаще чем при монотерапии одним из препаратов, причем с достоверными различиями (54% против 28%, $p=0,048$). Касательно потерь первого триместра беременности достоверных отличий не обнаружено (14% и 16% соответственно).

Учитывая вышеописанные данные нами сделано следующее заключение ретроспективного этапа. Беременные в позднем репродуктивном возрасте со сниженным овариальным резервом имеют больший риск потери беременности в первом триместре:

- Возраст ≥ 35 лет в комбинации с уровнем АМГ менее 0,4 нг/мл являются прогностическими маркерами развития осложнений и потерь беременности в I триместре.
- Пациенткам со сниженным овариальным резервом в циклах ЭКО предпочтительно использование естественных протоколов в связи с меньшим количеством осложнений в первом триместре беременности.
- В качестве поддержки II фазы менструального цикла и наступления беременности целесообразности в приеме более одного препарата прогестерона не выявлено. Следует использовать монотерапию препаратами прогестерона в установленных дозах.

Антиоксидантная активность в фолликулярной жидкости и качество эмбриона.

Качество эмбриона является одним из ключевых критериев, влияющих на успешность цикла ЭКО. Целый ряд факторов, таких как поздний репродуктивный возраст, сниженный овариальный резерв, тяжелые функциональные изменения работы яичников, изменение кровотоков зачастую являются причиной получения ооцитов, а в последствии и эмбрионов плохого качества. Еще в 1989 году Gaulden M.E. установил, что снижение поступления кислорода в яичник и фолликул обусловлено нарушением васкуляризации и изменением гормонального гомеостаза (снижение уровня эстрогенов), что приводит к нарушениям паракринного и аутокринного взаимодействия внутри фолликула между ооцитом и соматической составляющей (клетками гранулезы), выполняющей трофическую и регуляторную роль.

Возраст, стрессы, факторы окружающей среды могут влиять на качество ооцитов и фолликулов. Это отражается на митохондриальных функциях и метаболизме внутри фолликула, что приводит, в конечном счете, повышенному уровню анеуплоидий и в целом к овариальной недостаточности [109,122,182].

Большая часть кислорода в ооците поглощается митохондриями для окислительного фосфорилирования и выделения энергии, однако это приводит к продукции значительного количества активных форм кислорода. Митохондрии в ооците являются основным генератором активных форм кислорода, поэтому роль антиоксидантной системы в ооците крайне важна [63,83,158].

Согласно литературным данным уровень локального оксидативного стресса внутри фолликулов может влиять на процесс созревания ооцитов за счет высокого уровня активных форм кислорода, который приводит к нарушению созревания ооцита и развития эмбриона и, как следствие, неблагоприятно влияет на дальнейшую эффективность цикла ЭКО [1,158,168,172]. По данным Aydogan M et al., сама по себе стимуляция

овуляции с использованием значительных доз рФСГ может приводить к формированию оксидативного стресса. В 2018 году автором была опубликована работа в ходе которой было установлено, что у пациенток, получающих в протоколах стимуляции овуляции небольшие дозы препаратов (до 150 МЕ рФСГ) вероятность возникновения оксидативного стресса в фолликулах меньше чем при назначении больших доз. Palini et al. (2014) установил, что существует зависимость от протокола стимуляции супперовуляции, так при использовании агонистов ГнРГ наблюдается снижение содержания антиоксидантов в плазме крови, но только после назначения рФСГ [73].

Учитывая, что существует большое количество факторов, влияющих на АОА в фолликулярной жидкости изучение ее особенностей у пациенток со сниженным овариальным резервом является актуальным направлением исследования.

В нашей работе проанализировано 52 образца фолликулярной жидкости, полученной при трансвагинальной пункции фолликулов у пациенток со сниженным овариальным резервом (n-26) и трубно-перитонеальным фактором бесплодия (n-26). Выявлено, что при сниженном овариальном резерве определяется тенденция более низких значений общей АОА в сравнении с пациентками с трубно-перитонеальным фактором бесплодия, но достоверных отличий не обнаружено, однако отмечена тенденция к более низким значениям АОА.

Так при трубно-перитонеальном факторе показатели медиана была равна 11,2, а межквартильный размах Q1-8,2 и Q3 – 22,5. При сниженном овариальном резерве данные показатели были немного ниже и составили: медиана 9,2, Q1 –7,3, Q3 – 12,9. Более низкие значения АМГ могут указывать на возможность формирования окислительного стресса в фолликулах этих пациенток.

Возможно, что более значимые отличия проявятся при исследовании большего числа пациенток. Но так как данный метод исследования не носил

прикладного характера и в рутинной практике врача-репродуктолога его использованием затруднительно, от увеличения выборки мы отказались.

Учитывая, что значимых различий значений АОА в образцах фолликулярной жидкости обнаружено не было, для сопоставления результатов с качеством полученных эмбрионов все пациентки были объединены в одну выборку.

В процессе исследования общей АОА фолликулярной жидкости было выделено три диапазона ее значений: зона пониженной АОА, которая сопоставима с формированием окислительного стресса (менее 15мкМ), зона нормальной АОА (15-30 мкМ), зона повышенной АОА – свидетельствующая о развитии антиоксидантного стресса (30 мкМ и более). В соответствии со значениями АОА в каждую зону были распределены эмбрионы в зависимости от их развития на 5 сутки.

В зоне пониженной АОА 65,2% эмбрионов были плохого качества, так же в эту группу входили пациентки, при трансвагинальной пункции фолликулов которых ооцитов получено не было. Отсутствие ооцитов при трансвагинальной пункции называется «синдром пустого фолликула», впервые он был описан в 1987 году С.В.Сoulam и соавт. Резко сниженная антиоксидантная активность в фолликулярной жидкости свидетельствует о выраженном окислительном стрессе в фолликуле, в котором не произошло развития ооцита. При гормональном и ультразвуковом мониторинге фолликулов в циклах стимуляции суперовуляции предположить об отсутствии ооцита в созревающем фолликуле не представляется возможным, поэтому проводится только ретроспективная диагностика патологического процесса у пациенток, включенных в программы ЭКО. Факторы риска возникновения синдрома пустого фолликула схожи с факторами развития низкого овариального резерва, что может указывать на то, что в этиологию данного синдрома могут быть вовлечены сходные процессы, связанные со старением яичников.

В зоне с самыми низкими значениями АОА в большей степени были пациентки со сниженным овариальным резервом. Из 26 пациенток у 3 (11,5%)

не было получено ооцитов, у 16 (61,5%) были эмбрионы плохого качества.

Данные пациентки находились в зоне с низкими значениями АОА. Этот факт может косвенно указывать на тенденцию получения эмбрионов более плохого качества у пациенток со сниженным овариальным резервом. May-Panloup P. et al в 2005 году показал, что при недостаточности яичников ооциты женщин содержат меньшее количество митохондриальной ДНК, недостаток которой резко снижает качество развивающихся эмбрионов. Rocío Nuñez-Calonge в 2016 установил, что у молодых пациенток со сниженным овариальным резервом отмечаются более высокие концентрации маркеров окислительного стресса и воспаления. Fissore R. A (2002) указывал на то, что развитие окислительного стресса и запуск апоптотических процессов у пациенток позднего репродуктивного возраста и сниженного овариального резерва скорее всего связано с нарушением функционального состояния митохондрий. В настоящее время активно идет изучение возможности донации ооциты для таких пациенток (Engelstat K et al., 2016). В связи с чем роль антиоксидантов при сниженном овариальном резерве вызывает неоспоримое значение, так как именно у данных пациенток в большинстве отмечены наименьшие параметры АОА и эмбрионы плохого качества.

В зоне с нормальной АОА 88,0% эмбрионов были хорошего качества. Из них 27,2% пациенток со сниженным овариальным резервом и 72,3% - с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. Только в этой группе находились пациентки, у которых после переноса эмбриона наступила беременность. Только 69,2% эмбрионов были пригодными для переноса. Общая частота беременности составила 26,9% (14 пациенток). Из них 4 были со сниженным овариальным резервом (15,4% - эффективность для группы). 10 были в группе с трубно-перитонеальным фактором бесплодия (38,5%-эффективность для группы).

В зоне с повышенной АОА были эмбрионы только плохого качества. В данной группе все пациентки были с трубно-перитонеальным фактором бесплодия.

Анализируя качество полученных эмбрионов у пациенток в зависимости от овариального резерва, отмечено, что наименьше показатели АОА были при сниженном овариальном резерве и плохом качестве эмбриона, что указывает на более выраженный оксидативный стресс у данных пациенток и большую вероятность получения эмбрионов более плохого качества ввиду более низких значений АОА. Для определения зависимости АОА и качества ооцитов был проведен ROC-анализ для пациенток с различным овариальным резервом. Установлено, что площадь под ROC-кривой была больше у пациенток со сниженным овариальным резервом и составила 0,725 при трубно-перитонеальном факторе – 0,508. Данный показатель свидетельствует о том, что при сниженном овариальном резерве в фолликулярной жидкости чаще формируется окислительный стресс и как следствие ооциты и эмбрионы плохого качества.

Для получения ооцита хорошего качества с большим потенциалом для оплодотворения и дальнейшего развития эмбриона до 5х суток, перспективного для имплантации, необходимо оптимальное значение АОА в фолликулярной жидкости. Изменение данного параметра как в меньшую (окислительный стресс), так и в большую (антиоксидантный стресс) отрицательно сказывается на качестве ооцита и в последствии эмбриона. В связи с чем возможно сделать вывод о том, что для роста ооцита и успешного оплодотворения и развития эмбриона требуется оптимальный уровень продукции активных форм кислорода. Пациентки со сниженным овариальным резервом угрожаемы по развитию оксидативного стресса в фолликулах, что негативно сказывается на качестве получаемых ооцитов и последующем оплодотворении и развитии эмбрионов, способных к имплантации.

Luddi A et al., в 2016 году указал на необходимость предгравидарной подготовки в циклах ЭКО микроэлементами с антиоксидантными свойствами для увеличения эффективности программ ЭКО. В ходе его работы была исследована фолликулярная жидкость женщин без витаминотерапии и с витаминотерапией перед циклом ЭКО на протяжении 3 месяцев. Отмечено, что

применение витамина Д, Е, С, мелатонина и селена благоприятно влияет не только на качество, но и на количество полученных ооцитов. О необходимости антиоксидантной терапии при лечении бесплодия писал и Rocío Nuñez-Calonge (2016).

В связи с чем использование антиоксидантов у пациенток со сниженным овариальным резервом необходимо рекомендовать не только в цикле ЭКО, но и в качестве предгравидарной подготовки перед лечебным протоколом. Указанный аспект требует дальнейшего изучения.

Кровоснабжение матки как фактор эффективности протокола ЭКО.

Следующим фактором, оказывающим влияние на эффективность циклов ЭКО является кровоснабжение матки.

Адекватное кровоснабжение матки и яичников является необходимым условием сохранности овариального резерва. Основными сосудами, обеспечивающими кровоснабжение матки, являются парные маточные артерии. Ветви маточной артерии, проникая в матку, образуют «чудесную сеть» (rete mirabile) – сосудистое сплетение, которое состоит из сосудов трех типов. Самые крупные по диаметру артерии проходят в виде дуги между внешним (продольным) и средним (круговым) мышечными слоями. От дуговой артерии перпендикулярно направлению ее хода отходят многочисленные радиальные сосуды, диаметр которых намного меньше. Далее радиальные артерии делятся на два типа артериол: прямые артериолы кровоснабжают базальный слой эндометрия, а спиральные артериолы – функциональный слой [35]. Определена значимость внутриматочной перфузии в формировании полноценного эндометрия, необходимого для успешной имплантации. Серебренникова К.Г указывала, что недостаточность эндометриальной перфузии может быть существенным звеном в патогенезе бесплодия, влияя на рецептивность эндометрия [39,152].

Эндометриальный фактор играет одну из ключевых ролей в эффективности программ ЭКО [23]. Его особенности кровоснабжения могут в дальнейшем влиять на возможность имплантации эмбриона, и развития осложнения течения

беременности. Проведение программ ЭКО является фактором формирования неполноценной лютеиновой фазы [24,30,78], который отражает неадекватную секреторную трансформацию эндометрия и приводит к нарушению процессов имплантации.

Оценка рецептивности эндометрия с помощью инвазивных методик является достаточно информативной, однако ее проведение в цикле ЭКО невозможно, так как взятие биопсии эндометрия перед переносом эмбриона приводит к его травматизации и невозможности осуществления переноса в исследуемом цикле [152]. Так же трудность заключается в том, что данные о рецептивности эндометрия в окно имплантации у одной и той же пациентки могут меняться от цикла к циклу, это было описано еще в 1989 году Davis O et al. В связи с чем применение неинвазивных методик, хотя бы косвенно информирующих врача репродуктолога о состоянии эндометрия в день переноса эмбриона, поможет принять решение касательно необходимости проведения переноса эмбриона в исследуемом цикле. Учитывая, что при сниженном овариальном резерве, как правило, количество эмбрионов невелико учитывая «бедный» ответ яичников на стимуляцию, тщательный контроль состояния эндометрия поможет избежать заведомо нерезультативных переносов эмбриона и повысить эффективность циклов у данных пациенток.

Использование 2D УЗИ для определения косвенных признаков рецептивности эндометрия стоит под сомнением [68,96,174]. В настоящее время по мнению Kim S. И соавт. использование 3D УЗИ с функцией энергетической доплерографии для оценки кровотока в эндометрии является наиболее информативным [137]. Преимуществом данного метода является то, что при исследовании возможно отображение всех сосудов, независимо от их хода относительно ультразвукового луча, в том числе кровеносные сосуды очень небольшого диаметра и низкой скоростью кровотока.

В ходе исследования проанализированы данные, полученные от 56 пациенток, проходящих процедуру ЭКО. В день переноса эмбриона проводилось 2D и 3D УЗИ с функцией энергетической доплерографии для

оценки особенностей кровоснабжения миометрия, субэндометрия и эндометрия.

При 2D - УЗИ определяли толщину эндометрия. Данные о минимально допустимой толщине эндометрия, необходимой для успешного наступления беременности, в литературе неоднозначны. Большинство исследователей отмечали, что при значении толщины эндометрия менее 7 мм беременность после переноса эмбриона не наступала [23,133]. Однако в литературе имеются указания о наступлении беременности при значении 6 мм и даже 4 мм [133]. При этом толщина эндометрия свыше 14 мм ассоциирована с высоким риском потери беременности [57].

В ходе проведенного нами исследования выявлено, что при 2D-УЗИ показатели толщины эндометрия у пациенток с различным овариальным резервом зависели от эффективности циклов ЭКО. Однако при нормальном овариальном резерве различия имели большую достоверность ($p = 0,003$) чем при сниженном овариальном резерве ($p = 0,05$). Kasius A в 2014 году в ходе проведения метанализа отметил, что в литературе имеются данные об отсутствии зависимости между эффективностью циклов ЭКО и толщиной эндометрия. Сообщалось также, что у пациенток старше 40 лет отмечается тенденция к более низким показателям толщины эндометрия, которая связана со снижением уровня эстрадиола [59,129] утверждали, что толщина эндометрия носит субъективный характер, в связи с чем использование 3D-УЗИ с определением объема эндометрия более показательно и позволяет обнаружить зависимость между показателями и эффективностью циклов ЭКО. В нашем исследовании при 3D-УЗИ показатели объема эндометрия также имели достоверные различия в зависимости от эффективности цикла ($p = 0,05$ у пациенток с нормальным овариальным резервом; $p = 0,02$ у пациенток со сниженным овариальным резервом). При сравнении значений объема эндометрия у забеременевших пациенток с различным овариальным резервом отмечена достоверная разница показателей ($p = 0,004$), при хорошем овариальном резерве объем эндометрия был достоверно больше чем при

сниженном овариальном резерве. При измерении толщины эндометрия данных различий не обнаружено.

Немаловажное значение следует придавать особенностям внутриматочного кровотока. В результате большого метаанализа Wang J., et al в Китае в 2018г был проведен метаанализ, в ходе которого ученые показали, что по данным кровоснабжения в субэндометриальной зоне и эндометрии можно косвенно судить о рецептивности эндометрия. Как известно, кровоснабжение эндометрия осуществляется, в основном, за счет расположенных в нем спиральных артерий, а последние являются продолжением базальных артерий, располагающихся в субэндометрии [35]. Определение параметров кровотока в эндометрии с захватом субэндометриальной зоны (субэндометрий) наиболее показательно поскольку отражает интенсивность кровотока дополнительно в дугообразной артерии и отходящих от нее радиальных ветвей и не требует дополнительной настройки прибора для определения более низкопоточковых кровотоков.

При исследовании параметров кровотока с помощью 3D энергетической доплерографии в матке и субэндометрии выявлены достоверные различия для пациенток независимо от овариального резерва в показателях индекса васкуляризации (VI) миометрия ($p = 0,007$ для пациенток с нормальным овариальным резервом; $p = 0,003$ для пациенток со сниженным овариальным резервом) и в показателях васкуляризационно-поточкового индекса (VFI) субэндометрия ($p = 0,013$ для пациенток с нормальным овариальным резервом; $p = 0,007$ для пациенток со сниженным овариальным резервом). Индекс васкуляризации характеризует процентное соотношение сосудов в исследуемом объеме ткани, а васкуляризационно-поточковый индекс является показателем перфузии органа либо исследуемого объема ткани. Самые низкие параметры кровотоков были отмечены у пациенток с низким овариальным резервом и неэффективным циклом ЭКО. Prasad S et al. (2017) считал, что снижение показателей кровотока при низком овариальном резерве связаны с нарушением

роста сосудов функционального слоя эндометрия из-за недостаточного влияния эстрогенов в течение пролиферативной фазы [167].

Подтверждением этих данных могут быть результаты одного из исследований, свидетельствующие о том, что содержание эстрогенов в сыворотке крови имеет достоверную связь с интенсивностью маточного кровотока в циклах ЭКО с применением а-ГнРГ и гонадотропинов. Доказано, что при преждевременном истощении функции яичников проведение заместительной гормональной терапии значительно улучшает доплерометрические характеристики кровотока в матке [151].

При анализе полученных нами данных с помощью 2D и 3D УЗИ выделены основные параметры, имеющие достоверную корреляцию с эффективностью цикла ЭКО независимо от овариального резерва: объем эндометрия, индекс васкуляризации (VI) миометрия и васкуляризационно-поточковый индекс (VFI) субэндометрия. Чувствительность 74,8%, специфичность 60,6%, площадь под кривой 0,851 для объема эндометрия; 86,4%, 69,4%, 0,857 для VI миометрия, 90,4%, 79,4%, 0,916 для VFI субэндометриальной зоны соответственно.

Таким образом, использование 3D-УЗИ с функцией энергетической доплерографии в день переноса эмбриона свидетельствует о кровоснабжении миометрия и субэндометриальной зоны и позволяет косвенно судить о степени выраженности рецептивности эндометрия и может использоваться в качестве прогностических критериев для определения вероятности наступления беременности после переноса эмбриона в цикле ЭКО. Информация о показателях кровотока в миометрии и субэндометриальной зоны, а также объем эндометрия позволит избежать заведомо нерезультативных переносов эмбриона. Пациенткам со сниженным овариальным резервом с целью повышения эффективности переноса эмбриона целесообразно исследование кровоснабжения матки и при отклонениях от нормативных показателей рекомендовать проведение терапии, направленной на улучшение маточной перфузии на этапе прегравидарной подготовки.

ВЫВОДЫ

1. У пациенток после ЭКО и ПЭ при сниженном овариальном резерве, особенно после 35 лет, в I триместре частота угрозы прерывания (65,2%) и потерь беременности (23,2%) выше, чем при нормальной функции яичников (42,8%; 14,4% соответственно).
2. При сниженном овариальном резерве независимо от возраста при уровне АМГ менее 0,41 нг/мл осложнения течения I триместра беременности после ЭКО и ПЭ встречаются в 1,4-1,8 раза чаще, чем при значениях гормона от 0,5 до 1,1 нг/мл.
3. Изменения значений АОА с формированием в фолликулярной жидкости окислительного (менее 15 мкМ), или антиоксидантного стресса (более 30 мкМ) сочетается с формированием эмбрионов низкого качества.
4. Определение объема эндометрия при 3Д УЗИ в день переноса эмбриона обладает большой значимостью для прогнозирования эффективности в циклах ЭКО и ПЭ (чувствительность 74,8% и специфичность 60,6%).
5. Для прогнозирования эффективности циклов ЭКО и ПЭ оценка параметров кровотока при 3Д УЗИ с энергетической доплерографией в день переноса эмбриона в эндометрии с захватом субэндометриальной зоны является достоверной техникой оценки кровоснабжения в сравнении с исследованием параметров кровотока эндометрия с определением его границ по базальному контуру.
6. Индекс васкуляризации (VI) матки и васкуляризационно-поточковый индекс (VFI) субэндометриальной зоны могут использоваться в качестве прогностических маркеров эффективности циклов ЭКО (86,4% и 69,4%; 90,4% и 79,4%, чувствительность и специфичность соответственно).

Практические рекомендации

Пациенткам со сниженным овариальным резервом, учитывая высокую вероятность осложнений во время беременности, рекомендована прегравидарная подготовка перед планируемым циклом ЭКО.

Использование протоколов в естественном цикле или с минимальной гормональной стимуляцией при сниженном овариальном резерве является предпочтительным учитывая более благоприятные исходы беременности.

Учитывая тенденцию к снижению АОА фолликулярной жидкости у пациенток со сниженным овариальным резервом с целью получения ооцитов и эмбрионов хорошего качества в циклах ВРТ рекомендовано дополнительное использование антиоксидантов.

Беря во внимание склонность к ухудшению кровоснабжения матки у пациенток со сниженным овариальным резервом рекомендовано переносить эмбрионы в криоконсервированном цикле с более тщательной подготовкой эндометрия к имплантации и проведение 3Д УЗИ с целью оценки параметров внутриматочного кровотока.

Список сокращений

- АОА – Антиоксидантная активность
- АМГ – Антимюллеровский гормон
- ВРТ – Вспомогательные репродуктивные технологии
- ЕЦ – Естественный цикл
- ИМТ – Индекс массы тела
- ЛГ – Лютеинизирующий гормон
- ПП – Прегравидарная подготовка
- ПЭ – Перенос эмбрионов
- РАРЧ – Российская Ассоциация Репродукции Человека
- СГСЯ – Синдром гиперстимуляции яичников
- Т3 – Трийодтиронин
- Т4 – Тироксин
- ТВП – Трансвагинальная пункция фолликулов
- ТТГ – Тиреотропный гормон
- УЗИ – Ультразвуковое исследование
- ФСГ – Фолликулостимулирующий гормон
- ХГЧ – Хорионический гонадотропин человека
- ЭКО – Экстракорпоральное оплодотворение
- AUC – Area Under the Curve (площадь под кривой)
- ESHRE – European Society of Human Reproduction and Embryology
(Европейское Общество Репродукции Человека и Эмбриологии)
- POSEIDON – Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualize D
Oocyte Number
- ROC – Receiver Operating Characteristic (операционная характеристика приёмника)
- VI – Vascularization index (индекс васкуляризации)
- FI – Flow index (индекс потока)
- VFI – Vascularization-flow index
(васкуляризационно – потоковый индекс)

Литература

1. Адамян, Л.В. Патогенетические аспекты эндометриоз-ассоциированного бесплодия. / Адамян Л.В., Салимова Л.Ф., Кондратович Л.М. // Проблемы репродукции. 2015;21(6):82-88.
2. Аншина, М.Б. Применение эстрогенов в программах ВРТ. /Аншина М.Б., Исакова Э.В., Калинина Е.А., Корсак В.С., Краснопольская К.В. Научно-практические рекомендации. М.: Российская ассоциация репродукции человека. 2015, 80 с.
3. Амирова, А.А. Факторы, влияющие на исход ЭКО (обзор литературы). / Амирова А.А., Назаренко Т.А., Мишиева Н.Г. // Проблемы репродукции. 2010;1:68-74.
4. Антропова, М.Ц. Проблемы урогенитального старения у женщин при дефиците половых стероидов: дис. канд. мед. наук: 14.00.01/ Антропова Мария Цветановна. – Спб., 2008. – 138с.
5. Барыкина, А.Б. ЭКО в естественных циклах и модифицированные протоколы. Обзор литературы / А.Б. Барыкина // Проблемы репродукции. – 2005. – №5. – С. 44–49.
6. Белоцерковцева, Л.Д., Коноваленко Л.В., Корнеева Е.В. Влияние возраста пациенток на частоту биологических потерь в программах ЭКО: опыт работы / Л.Д. Белоцерковцева, Л.В. Коноваленко, Е.В. Корнеева // Проблемы репродукции. – 2008. – т.14. –№3. –С. 53–56
7. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению: руководство. Под ред. Сухих ГТ, Назаренко ТА. 2-е изд. испр. и доп. М.: ГЭОТАРМедиа; 2010, 784.
8. Боярский, К.Ю., Современный взгляд на проблему рецептивности и тонкого эндометрия в программах ВРТ (обзор литературы) / К.Ю. Боярский, С.Н. Гайдуков, Н.А. Пальченко // Проблемы репродукции. – 2013. - №4. – С.51-60.

9. Боярский, К.Ю., Старение репродуктивной системы и результаты вспомогательных репродуктивных технологий // Проблемы репродукции. – 1996. - №2. – С.57-62.
10. Боярский, К.Ю., Гайдуков С. Факторы, определяющие овариальный резерв женщины // Журнал акушерства и женских болезней. –2009. Т. LVIII. № 2. С. 65–71.
11. Боярский, К.Ю. Фолликулогенез и современная овариальная стимуляция. // Проблемы репродукции. – 2002. № 1. С. 36–43.
12. Бурлев В.А. Роль растворимых и клеточных селективов в наступлении беременности при лигандрецепторных взаимодействиях эмбрионов в эндометрии. Проблемы репродукции. 2014;20(5):41-52.
13. Бурлев, В.А. Функциональная активность эндометрия влияет на результаты ЭКО и перенос эмбрионов: молекулярные механизмы регуляции фертильности. / Бурлев В.А., Кузьмичев Л.Н., Онищенко А.С., и др. // Проблемы репродукции. 2010;16(2):41-52.
14. Витязева, И.И. Течение беременности, наступившей в программах ВРТ / И.И.Витязева, В.М.Здановский // Вспомогательные репродуктивные технологии сегодня и завтра: материалы XVI международной конференции РАРЧ. Ростов-на-Дону. – 2006. – С. 18-19.
15. Витязева, Т.А. Течение, ведение и исход беременности после лечения бесплодия методами вспомогательной репродукции: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01. / Витязева Ирина Ивановна. – М., 1999. – 261с.
16. Волкова, Е.Ю. Роль маточной гемодинамики в оценке рецептивности эндометрия. /Волкова Е.Ю., Корнеева И.Г., Силантьева Е.С. // Проблемы репродукции. 2012;18(2):57-62
17. Гинекология : национальное руководство. / под ред. Г.М. Савельевой, Г.Т, Сухих, В.Н, Серова, В.Е. Радзинского. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2017. – 799с.
18. Гинекология. Учебник. / под. ред. Г.М. Савельевой, В.Г. Бреусенко. – М.:ГЭОТАР–Медиа, 2017.–2017. – 432с.

19. Денисенко, М.В. Овариальный резерв и методы его оценки. / Денисенко М.В., Курцер М.А., Курило Л.Ф. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2016;15:3:41-47.
20. Денисенко, М.В. Динамика формирования фолликулярного резерва яичников. / Денисенко М.В., Курцер М.А., Курило Л.Ф. // Андрология и генитальная хирургия. 2016;17:2:20-28.
21. Кавтеладзе, Е.В. Овариальный резерв и репродуктивная функция у пациенток после лапароскопической цистэктомии по поводу доброкачественных опухолей яичников. / Кавтеладзе Е.В., Сафронова Д.А., Соломатина А.А., Братчикова О.В. // Вестник Российского государственного медицинского университета. 2011;2: 124-127.
22. Калинина, Е.А. Применение «мягкого» протокола стимуляции суперовуляции в программах вспомогательных репродуктивных технологий: эффективность и безопасность. / Калинина Е.А., Березикова М.В., Бурменская О.В., Подрез Л.А. // Акушерство и гинекология. 2012; 4-2: 51-6.
23. Краснопольская, К.В. Результаты программ ЭКО с донорскими ооцитами у пациенток с ультразвуковыми признаками «тонкого» эндометрия / Краснопольская К.В., Назаренко Т.А., Сесина Н.И., Ершова И.Ю., Александрова В.Р. // Медицинский алфавит Издательство: Альфмед (Москва) – Т1. - №12 (309). –2017. –С.34-38.
24. 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): 63-74 DOI: 10.17816/JOWD62263-74
25. Корсак, В.С. ВРТ в России. Отчет за 2013 год / Корсак В.С., Смирнова А.А., Шурыгина О.В. // Проблемы репродукции. 2015; 21 (6): 17–19.
26. Корсак, В.С. Значимость толщины и ультразвуковой структуры эндометрия в программе ЭКО. / Корсак В.С., Каменецкий Б.А., Михайлов А.В. // Проблемы репродукции. 2001;7(3):36-39.

27. Кузьмичев, Л.Н. Вспомогательные репродуктивные технологии в лечении бесплодия у женщин позднего репродуктивного возраста. / Кузьмичев Л.Н., Назаренко Т.А., Микаелян В.Г., Мишиева Н.Г. // АГИнфо. 2009;4:25-28.
28. Кулаков В.И., Леонов Б.В., Кузьмичев Л.Н. Лечение женского и мужского бесплодия. Вспомогательные репродуктивные технологии: рук. для врачей. М.: Мед. информ. агентство, 2005;479-85.
29. Курило Л.Ф. Способ диагностики генеративной потенции яичников. Патент РФ на изобретение №2367949-03/IV. 2008.
30. Митюрин, Е.В. Морфофункциональное состояние эндометрия в стимулированных циклах программы экстракорпорального оплодотворения. / Митюрин Е.В., Перминова С.Г., Демур Т.А., Галлямова Е.В. // Акушерство и гинекология. 2014; 11: 80-7.
31. Мишиева Н.Г. Бесплодие у женщин позднего репродуктивного возраста: принципы диагностики и лечения в зависимости от овариального резерва : дис. ... док. мед. наук: 14.00.01. / Мишиева Нона Годовна. – М., 2008. – 188с.
32. Назаренко, Т.А. «Бедный ответ». Тактика ведения пациенток со сниженной реакцией на стимуляцию гонадотропинами в программах ЭКО./ Назаренко Т.А., Краснопольская К.В //– 2-е изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2013. – 80 с.
33. Назаренко Т.А., Мишиева Н.Г. Бесплодие и возраст: пути решения проблемы. 2-е изд. М.: МЕДпресс-информ, 2014.
34. Никитина, Т.В. ЦитоГенетика привычного невынашивания беременности. / Никитина Т.В., Лебедев И.Н. // Генетика. 2014;50(5):501.
35. Озерская И.А. Атлас гинекологической ультразвуковой нормы. – М.: Видар-М, 2010. – 225с.
36. Озерская, И.А. Физиологические изменения гемодинамики матки у женщин репродуктивного, пери-и постменопаузального периодов. / Озерская И.А., Щеглова Е.А., Сиротинкина Е.В.// Медицинский журнал SonoAce-Ultrasound. 2010;21:40-56.
37. Проскурнина, Е.В. Хемилюминесцентное определение гидроксидов липидов в биологических жидкостях / Е.В. Проскурнина, А.А. Джатдоева, Е.С.

Лобиченко, Р.И. Шалина, Ю.А. Владимиров // Журнал аналитической химии. – 2017. – Т 72, № 7. – С. 639-644.

38. Сафронова, Е.В. Использование coasting для профилактики синдрома гиперстимуляции яичников. / Сафронова Е.В., Пастухова Е.А., Пекарев В.А // Проблемы репродукции. 2006;2:21-4.
39. 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):62-67.
40. Сидельникова ВМ. Подготовка и ведение беременности у женщин с привычным невынашиванием: метод. пособия и клин. протоколы. 3-е изд. М.: МЕДпресс-информ, 2013;43-8.
41. Смирнова А.А. Применение эстрогенов в программах ВРТ (обзор литературы) // Проблемы репродукции. 2015. Т. 21. № 4. С. 48–59.
42. Согоян, Н.С. Роль АМГ в репродуктивной системе женщин (обзор литературы). / Согоян Н.С., Козаченко И.Ф., Адамян Л.В. // Проблемы репродукции. 2017;23:1:37-42.
43. Стрижаков, А.Н. Принципы комплексной терапии угрожающего прерывания беременности у женщин с привычным невынашиванием. / Стрижаков А.Н., Игнатко И.В., Мартиросян Н.Т. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2008; 7(2):5-11.
44. Щербина, Н.А. Оценка возрастных изменений овариального резерва у женщин с бесплодием / Щербина Н.А., Градиль О.Г. // Таврический медико-биологический вестник. 2013. Т. 16. № 62. С. 140–4.
45. Радзинский, В.Е. Современные технологии в лечении больных синдромом истощения яичников. / Радзинский В.Е., Ордянец И.М., Побединская О.С. // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. 2015;3:126-36.
46. Репродуктивные технологии сегодня и завтра Материалы XXVII международной конференции Российской Ассоциации Репродукции Человека (6—9 сентября 2017 г., Санкт-Петербург) — 88-89 с.

47. Томазевич Т, Герсак К, Меден-Вртовек Х, и др. ЭКО в естественных циклах. Проблемы репродукции. 2003;4:47-52.
48. Ходжамуродова, Д. А. Алгоритм диагностики и лечения бесплодных супружеских пар. Вестник Авиценны. 2012;2(51):92-97.
49. Шарфи Ю.Н. Роль гемодинамических и молекулярно-биологических факторов рецептивности эндометрия в программах экстракорпорального оплодотворения: Дис.... канд. мед. наук. СПб. 2015.
50. Шуршалина, А.В. Морфофункциональные перестройки эндометрия в окно имплантации. /Шуршалина А.В., Демура Т.А. // Акушерство и гинекология. 2011;7(2):9-13.
51. Abdel Kader M. и др. The usefulness of endometrial thickness, morphology and vasculature by 2D Doppler ultrasound in prediction of pregnancy in IVF/ICSI cycles // Egypt. J. Radiol. Nucl. Med. 2016. Т. 47. № 1. С. 341–346.
52. Agarwal A., Durairajanayagam D., Plessis S.S. du. Utility of antioxidants during assisted reproductive techniques: an evidence based review. // Reprod. Biol. Endocrinol. 2014. Т. 12. С. 112.
53. Alekseev A.V., Proskurnina E.V., Vladimirov Y.A. Determination of antioxidants by sensitized chemiluminescence using 2,2'-azo-bis(2-amidinopropane). Moscow University Chemistry Bulletin. 2012; 67(3): 127-32.
54. Altmae S, Esteban EJ, Stavreus-Evers A, et al. Guidelines for the design, analysis and interpretation of "omics" data: focus on human endometrium. Hum Reprod Update. 2014;20(1):12-28 DOI: 10.1093/humupd/dmt048
55. Alviggi C. и др. A new more detailed stratification of low responders to ovarian stimulation: from a poor ovarian response to a low prognosis concept // Fertil. Steril. 2016. Т. 105. № 6. С. 1452–1453.
56. Amanvermez R., Tosun M. An update on ovarian aging and ovarian reserve tests // Int. J. Fertil. Steril. 2015. Т. 9. № 4. С. 411–415.
57. Amir W., Micha B., Ariel H. et al. Predicting factors for endometrial thickness during treatment with assisted reproductive technology. Fertil. Steril. 2007; 87: 799–804.

58. Angelucci S., Ciavardelli D., Di Giuseppe F., Eleuterio E., Sulpizio M., Tiboni G.M. et al. Proteome analysis of human follicular fluid. *Biochim. Biophys. Acta.* 2006; 1764: 1775-85 DOI: 10.1016/j.bbapap.2006.09.001
59. Ari Kim, Hyuk Jung, Won June Choi, Sung Nam Hong, Heung Yeol Kim
Detection of endometrial and subendometrial vasculature on the day of embryo transfer and prediction of pregnancy during fresh *in vitro* fertilization cycles
Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology. September 2014. Volume 53, Issue 3, Pages 360–365
60. Atasever M. и др. Diminished ovarian reserve: Is it a neglected cause in the assessment of recurrent miscarriage? A cohort study // *Fertil. Steril.* 2016. T. 105. № 5. С. 1236–1240.
61. Asifa Majeed, P. S. Divyashree, and Kamini A. Rao. Perifollicular Vascularity in Poor Ovarian Responders in In vitro Fertilization Cycles. / *J Hum Reprod Sci.* 2018 Jul-Sep; 11(3): 242–246. doi: 10.4103/jhrs.JHRS_139_17
62. Bassil S. Changes in endometrial thickness, width, length and pattern in predicting pregnancy outcome during ovarian stimulation in in vitro fertilization. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001 Sep;18(3):258-63.
63. Basuino L., Silveira C.F. Human follicular fluid and effects on reproduction. *JBRA Assist. Reprod.* 2016; 20: 38-40 DOI: 10.5935/1518-0557.20160009
64. Bhagwat SR, Chandrashekar DS, Kakar R, et al. Endometrial receptivity: a revisit to functional genomics studies on human endometrium and creation of HGExERdb. *PLoS One.* 2013;8(3):e58419 DOI: 10.1371/journal.pone.0058419
65. Bishop L.A. и др. Diminished ovarian reserve as measured by means of baseline follicle-stimulating hormone and antral follicle count is not associated with pregnancy loss in younger in vitro fertilization patients // *Fertil. Steril.* 2017. T. 108. № 6. С. 980–987.
66. Broekmans F.J. и др. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome // *Hum. Reprod. Update.* 2006. T. 12. № 6. С. 685–718.

67. Broer S.L. и др. AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: A meta-analysis // *Hum. Reprod. Update*. 2011. Т. 17. № 1. С. 46–54.
68. Bruse C, Guan Y, Carlberg M, et al. Basal release of urokinase plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor-1, and soluble plasminogen activator receptor from separated and cultured endometriotic and endometrial stromal and epithelial cells. *Fertil Steril*. 2005;83(1):1155-1160 DOI: 10.1016/j.fertnstert.2004.09.033
69. Buyuk E. и др. Random anti-Müllerian hormone (AMH) is a predictor of ovarian response in women with elevated baseline early follicular follicle-stimulating hormone levels // *Fertil. Steril*. 2011. Т. 95. № 7. С. 2369–2372.
70. Carbone M.C., Tatone C., Delle Monache S., Marci R., Caserta D., Colonna R., Amicarelli F. Antioxidant enzymatic defences in human follicular fluid: characterization and age-dependent changes. *Mol. Hum. Reprod*. 2003; 9: 639-43.
71. Chang E.M. и др. Effect of estrogen priming through luteal phase and stimulation phase in poor responders in in-vitro fertilization // *J. Assist. Reprod. Genet*. 2012. Т. 29. № 3. С. 225–230.
72. Chien L.-W. и др. Assessment of uterine receptivity by the endometrial-subendometrial blood flow distribution pattern in women undergoing in vitro fertilization-embryo transfer // *Fertil. Steril*. 2002. Т. 78. № 2. С. 245–251.
73. Crha I., Hrubá D., Ventruba P., Fiala J., Totusek J., Visnová H. Ascorbic acid and infertility treatment. *Cent. Eur. J. Public Hlth*. 2003; 11: 63-6.
74. Cohen J. и др. Outcomes of first IVF/ICSI in young women with diminished ovarian reserve // *Minerva Ginecol*. 2017. Т. 69. № 4. С. 315–321.
75. Cohen J., Chabbert-Buffet N., Darai E. Diminished ovarian reserve, premature ovarian failure, poor ovarian responder—a plea for universal definitions // *J. Assist. Reprod. Genet*. 2015. Т. 32. № 12. С. 1709–1712.
76. Corson S.L. и др. Inhibin-B as a test of ovarian reserve for infertile women // *Hum. Reprod*. 1999. Т. 14. № 11. С. 2818–2821.

77. Dechaud H, Bessueille E, Bousquet PJ, et al. Optimal timing of ultrasonographic and Doppler evaluation of uterine receptivity to implantation. *Repro BioMed Online*. 2008;16:368-375 DOI: 10.1016/s1472-6483(10)60598-6
78. Demir B, Dilbaz S, Cinar O, et al. Estradiol supplementation in intracytoplasmic sperm injection cycles with thin endometrium. *Gynecol Endocrinol*. 2013;29:42-45
79. Depmann M, Broer SL, Eijkemans MJ, van Rooij IA, Scheffer GJ, Heimensem J, Mol BW, Broekmans FJ. Anti-Müllerian hormone does not predict time to pregnancy: results of a prospective cohort study. *Gynecol Endocrinol*. 2017;1-5. [./..https://doi.org/10.1080/09513590.2017.1306848](https://doi.org/10.1080/09513590.2017.1306848)
80. Detection of endometrial and subendometrial vasculature on the day of embryo transfer and prediction of pregnancy during fresh in vitro fertilization cycles Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology September 2014 Volume 53, Issue 3, Pages 360–365
81. Devine K, Mumford SL, Wu M, DeCherney AH, Hill MJ, Propst A. Diminished ovarian reserve in the United States assisted reproductive technology population: diagnostic trends among 181,536 cycles from the Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcomes Reporting System. *Fertil Steril* (2015) 104:612–19. 10.1016/j.fertnstert.2015.05.017
82. Dor J, Lerner-Geva L, Rabinovici J, Chetrit A, Levran D, Lunenfeld B, et al. Cancer incidence in a cohort of infertile women who underwent in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2002 Feb;77(2):324-7
83. Dumesic, D. A., Meldrum, D. R., Katz-Jaffe, M. G., Krisher, R. L., and Schoolcraft, W. B. (2015). Oocyte environment: follicular fluid and cumulus cells are critical for oocyte health. *Fertil. Steril*. 103, 303–316.
84. Ebner T, Sommergruber M, Moser M, Shebl O, Schreier-Lechner E, Tews G. Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. *Hum Reprod*. 2006;21:8: 2022-2026.
85. Ernest H. Y Relationship between uterine blood flow and endometrial and subendometrial blood flows during stimulated and natural cycles. Ng, M.D.,

Carina C. W. Chan, M.B.B.S., Oi S. Tang, M.D., William S. B. Yeung, Ph.D., and Pak C. Ho, M.D. *Fertil Steril* 2006; 85:721–7

86. Esteves SC, Roque M, Bedoschi GM, Conforti A, Humaidan P, Alviggi C. /Defining Low Prognosis Patients Undergoing Assisted Reproductive Technology: POSEIDON Criteria-The Why.// *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018; 9:461. Epub 2018 Aug 17.
87. Fanchin R. et al. High reproducibility of serum anti-Müllerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status // *Hum. Reprod.* 2005. T. 20. № 4. C. 923–927.
88. Feng, R., Sang, Q., Zhu, Y., Fu, W., Liu, M., Xu, Y., Shi, H., Xu, Y., Qu, R., Chai, R., Shao, R., Jin, L., He, L., Sun, X., and Wang, L. (2015). MiRNA-320 in the human follicular fluid is associated with embryo quality in vivo and affects mouse embryonic development in vitro. *Sci. Rep.* 5, 8689.
89. Ferraretti A.P. и др. ESHRE consensus on the definition of 'poor response to ovarian stimulation for in vitro fertilization: The Bologna criteria // *Hum. Reprod.* 2011. T. 26. № 7. C. 1616–1624.
90. Frattarelli J.L. и др. Evaluation of basal estradiol levels in assisted reproductive technology cycles // *Fertil. Steril.* 2000. T. 74. № 3. C. 518–524.
91. Freeman S.B. и др. Women with a reduced ovarian complement may have an increased risk for a child with Down syndrome. // *Am. J. Hum. Genet.* 2000. T. 66. № 5. C. 1680–3.
92. Friden B., Sjoblom P., Menezes J. Using anti-Mullerian hormone to identify a good prognosis group in women of advanced reproductive age. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2011 Oct;51(5):411-5.
93. Fu, X., Cheng, J., Hou, Y., and Zhu, S.. The association between the oocyte pool and aneuploidy: a comparative study of the reproductive potential of young and aged mice. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2014. 31, 323–331.
94. Gat, I., Blanco Mejia, S., Balakier, H., Librach, C.L., Claessens, A., Ryan, E.A. The use of coenzyme Q10 and DHEA during IUI and IVF cycles in patients with

- decreased ovarian reserve. *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*. 2016;32:534–537
95. Gibreel A. и др. Ultrasound tests of ovarian reserve; A systematic review of accuracy in predicting fertility outcomes // *Hum. Fertil.* 2009. Т. 12. № 2. С. 95–106.
96. Giugliano E. и др. Can Doppler study of the ovarian artery predict the fertility outcome of intrauterine insemination? // *J. Clin. Ultrasound*. 2014. Т. 42. № 6. С. 331–335.
97. Gleicher N., Weghofer A., Barad D.H. Defining ovarian reserve to better understand ovarian aging // *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2011. Т. 9. № 1. С. 23.
98. Gonzalez-Comadran, M., Duran, M., Sola, I., Fabregues, F., Carreras, R., Checa, M.A. Effects of transdermal testosterone in poor responders undergoing IVF: systematic review and meta-analysis. *Reprod. Biomed. Online*. 2012;25:450–459
99. Goswami M, Nikolaou D. Is AMH Level, Independent of Age, a Predictor of Live Birth in IVF? *Hum Reprod Sci.* 2017;10:1:24-30.
 . https://doi.org/10.4103/jhrs.JHRS_86_16
100. González-Foruria I. и др. Age, independent from ovarian reserve status, is the main prognostic factor in natural cycle in vitro fertilization // *Fertil. Steril.* 2016. Т. 106. № 2. С. 342–347.e2.
101. Goswamy R.K., Williams G., Steptoe P.C. Decreased uterine perfusion--a cause of infertility. // *Hum. Reprod.* 1988. Т. 3. № 8. С. 955–9.
102. Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: Facts and hypotheses // *Endocr. Rev.* 1996. Т. 17. № 2. С. 121–155.
103. Greene A.D., Patounakis G., Segars J.H. Genetic associations with diminished ovarian reserve: A systematic review of the literature // *J. Assist. Reprod. Genet.* 2014. Т. 31. № 8. С. 935–946.
104. Griesinger G. и др. GnRH-antagonists in ovarian stimulation for IVF in patients with poor response to gonadotrophins, polycystic ovary syndrome, and risk of ovarian hyperstimulation: a meta-analysis // *Reprod. Biomed. Online*. 2006. Т. 13. № 5. С. 628–638.

105. Haadsma M.L. и др. The number of small antral follicles (2-6 mm) determines the outcome of endocrine ovarian reserve tests in a subfertile population // Hum. Reprod. 2007. Т. 22. № 7. С. 1925–1931.
106. Haadsma M.L. и др. The predictive value of ovarian reserve tests for miscarriage in a population of subfertile ovulatory women // Hum. Reprod. 2009. Т. 24. № 3. С. 546–552.
107. Haahr T, Esteves SC, Humaidan P. Poor definition of poor-ovarian response results in misleading clinical recommendations. Hum Reprod. (2018) 33:979–80. 10.1093/humrep/dey059
108. Hall J.E., Welt C.K., Cramer D.W. Inhibin A and inhibin B reflect ovarian function in assisted reproduction but are less useful at predicting outcome. // Hum. Reprod. 1999. Т. 14. № 2. С. 409–15.
109. Hanukoglu I. Antioxidant protective mechanisms against reactive oxygen species (ROS) generated by mitochondrial P450 systems in steroidogenic cells. Drug. Metab. Rev. 2006; 38: 171-96 DOI: 10.1080/03602530600570040
110. Hunter R.H.F. (ed.). Physiology of the Graafian Follicle and Ovulation. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2003.
111. Hauzman E.E. и др. Cycle scheduling for in vitro fertilization with oral contraceptive pills versus oral estradiol valerate: A randomized, controlled trial // Reprod. Biol. Endocrinol. 2013. Т. 11. № 1.
112. Hazout A, Bouchard P, Seifer DB, Aussage P, Junca AM, Cohen-Bacrie P. Serum antimüllerian hormone/müllerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than folliclestimulating hormone, inhibin B, or estradiol. Fertil Steril. 2004;82:5:1323-1329.
113. Hendriks D. Ultrasonography as a tool for the prediction of outcome in IVF patients: a comparative meta-analysis of ovarian volume and antral follicle count. // Fertil Steril. 2007. Т. 87. № 4. С. 764–75.
114. HS Koo. Serial Evaluation of Endometrial Blood Flow for Prediction of Pregnancy Outcomes in Patients Who Underwent Controlled Ovarian

Hyperstimulation and In Vitro Fertilization and Embryo Transfer. // J Ultrasound Med. 2017. T. Oct 9.

115. Humaidan P. и др. The novel POSEIDON stratification of ‘Low prognosis patients in Assisted Reproductive Technology’ and its proposed marker of successful outcome // F1000Research. 2016. T. 5. № 0. C. 2911.
116. Humaidan P, Chin W, Rogoff D, D'Hooghe T, Longobardi S, Hubbard J, Schertz J, ESPART Study Investigators /Efficacy and safety of follitropin alfa/lutropin alfa in ART: a randomized controlled trial in poor ovarian responders.// Hum Reprod. 2017 Mar 1; 32(3):544-555.
117. Hussain M. и др. Discrepancies between Antimullerian Hormone and Follicle Stimulating Hormone in Assisted Reproduction // Obstet. Gynecol. Int. 2013. T. 2013. C. 1–6.
118. Ferraretti A.P. ESHRE consensus on definition of “poor response” to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria./Ferraretti A.P., La Marca A., Fauser B.C. et al.//Hum. Reprod. 2011. Vol. 26. № 7. P. 1616 1624.
119. Ibrahim A. The Minimal Stimulation Protocol for ICSI: An Alternative Protocol for Ovarian Stimulation. // N Y Sci J. 2014. T. 7. C. 19–23.
120. Ivanovski M. Assessment of uterine artery and arcuate artery blood flow by transvaginal color Doppler ultrasound on the day of human chorionic gonadotropin administration as predictors of pregnancy in an in vitro fertilization program. // Akush Ginekol (Sofia). 2012. T. 51. № 2. C. 55–60.
121. Jain T., Soules M.R., Collins J.A. Comparison of basal follicle-stimulating hormone versus the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening // Fertil. Steril. 2004. T. 82. № 1. C. 180–185.
122. Jancar N., Virant-Klun I., Osredkar J., Vrtacnik Bokal E. Apoptosis, reactive oxygen species and follicular anti-Müllerian hormone in natural versus stimulated cycles. Reprod. Biomed. Online. 2008; 16: 640-8.
123. Jayaprakasan K. и др. Does 3D ultrasound offer any advantage in the pretreatment assessment of ovarian reserve and prediction of outcome after

- assisted reproduction treatment? // *Hum. Reprod.* 2007. T. 22. № 7. C. 1932–1941.
124. Jayaprakasan K. и др. The three-dimensional ultrasonographic ovarian vascularity of women developing poor ovarian response during assisted reproduction treatment and its predictive value // *Fertil. Steril.* 2009. T. 92. № 6. C. 1862–1869.
125. Jevic Y. Effective treatment protocol for poor ovarian response: A systematic review and meta-analysis // *J Hum Reprod Sci.* 2016. T. 9. № 2. C. 70–81.
126. Jianing Wang, Fei Xia, Ying Zhou, Xuedong Wei, Yanyan Zhuang, Yingxue Huang M Association Between Endometrial/Subendometrial Vasculature and Embryo Transfer Outcome: A Meta-analysis and Subgroup Analysis. *J Ultrasound Med.* 2018 Jan;37(1):149-163. doi: 10.1002/jum.14319. Epub 2017 Jul 17.
127. Jirge P. Ovarian reserve tests // *J. Hum. Reprod. Sci.* 2011. T. 4. № 3. C. 108.
128. Jirge P. Poor ovarian reserve // *J. Hum. Reprod. Sci.* 2016. T. 9. № 2. C. 63.
129. Kalmantis K, Loutradis D, Lymperopoulos E, Beretsos P, Bletsas R, Antsaklis A. Three Dimensional Power Doppler evaluation of human endometrium after administration of oxytocine receptor antagonist (OTRa) in an IVF program., *Arch Gynecol Obstet.* 2012 Jan;285(1):265-70. doi: 10.1007/s00404-011-2019-2. Epub 2011 Aug 7.
130. Kamble L., Gudi A., Sha A., Homburg R. Poor responders to controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilisation (IVF). *Hum. Fertil.* 2011; 14(4): 230-45.
131. Karlstrom P.O., Rodriques-Wallberg K.A. Stimulation with hMG results in higher live birth and ongoing pregnancy rates than rFSH in IVF/ICSI patients requiring with high doses of gonadotropins./Karlstrom P.O.//*Hum. Reprod.* 2012. -Vol. 27. Suppl. 1: Abstract Book. -P-286. i.227-228.
132. Kar S. Current evidence supporting «letrozole» for ovulation induction // *J. Hum. Reprod. Sci.* 2013. T. 6. № 2. C. 93

133. Kasius A., Smit J. G., Torrance H. L. et al. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update.* 2014; 20 (4): 530–541.
134. Katz-Jaffe M.G. и др. Association of abnormal ovarian reserve parameters with a higher incidence of aneuploid blastocysts // *Obstet. Gynecol.* 2013. Т. 121. № 1. С. 71–77.
135. Karuputhula N.B., Chattopadhyay R., Chakravarty B., Chaudhury K. Oxidative status in granulosa cells of infertile women undergoing IVF. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 2013; 59: 91-8 DOI: 10.3109/19396368.2012.743197
136. Keane K, Cruzat VF, Wagle S, Chaudhary N, Newsholme P, Yovich J. /Specific ranges of anti-Mullerian hormone and antral follicle count correlate to provide a prognostic indicator for IVF outcome.// *Reprod Biol.* 2017 Mar; 17(1):51-59. Epub 2017 Jan 26.
137. Kim A. и др. Detection of endometrial and subendometrial vasculature on the day of embryo transfer and prediction of pregnancy during fresh invitro fertilization cycles // *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.* 2014. Т. 53. № 3. С. 360–365.
138. Kim S.H. и др. Clinical significance of transvaginal color Doppler ultrasonography of the ovarian artery as a predictor of ovarian response in controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and embryo transfer // *J. Assist. Reprod. Genet.* 2002. Т. 19. № 3. С. 103–112.
139. Kwee J. и др. Intercycle variability of ovarian reserve tests: results of a prospective randomized study. // *Hum. Reprod.* 2004. Т. 19. № 3. С. 590–5.
140. Kwee J. и др. Ovarian volume and antral follicle count for the prediction of low and hyper responders with in vitro fertilization. // *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2007. Т. 5. С. 9.
141. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Carducci A, Arsenio, Stabile G, Volpe A. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum Reprod.* 2010;16:2:113-130. [.https://doi.org/10.1093/humupd/dmp036](https://doi.org/10.1093/humupd/dmp036)

142. Lampiao F. Free radicals generation in an in vitro fertilization setting and how to minimize them // *World J. Obstet. Gynecol.* 2012. T. 1. № 3. C. 29.
143. Lass A., Brinsden P. The role of ovarian volume in reproductive medicine // *Hum. Reprod. Update.* 1999. T. 5. № 3. C. 256–266.
144. Leao R., Esteves S. Gonadotropin therapy in assisted reproduction: an evolutionary perspective from biologics to biotech // *Clinics.* 2014. T. 69. № 4. C. 279–293.
145. Lecce G., Meduri G., Ancelin M. Presence of estrogen receptor in the human endometrium through the cycle: expression in glandular, stromal, and vascular cells // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2001. — Vol. 86. — P. 1379–1386.
146. Lekamge DN, Barry M, Kolo M, Lane M, Gilchrist RB, Tremellen KP. Anti-Müllerian hormone as a predictor of IVF outcome. *Reprod Biomed online.* 2007;14:5:602-610.
147. Loutradis D., Vomvolaki E., Drakakis P. Poor responder protocols for in-vitro fertilization: options and results. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2008; 20(4): 374-8.
148. Maheshwari A., Fowler P., Bhattacharya S. Assessment of ovarian reserve - Should we perform tests of ovarian reserve routinely? // *Hum. Reprod.* 2006. T. 21. № 11. C. 2729–2735.
149. Marca A. La и др. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART) // *Hum. Reprod. Update.* 2009. T. 16. № 2. C. 113–30.
150. Marzal Escriva A. и др. Antral follicle priming before intracytoplasmic sperm injection in previously diagnosed low responders: A randomized controlled trial (FOLLPRIM) // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2015. T. 100. № 7. C. 2597–2605.
151. Mayra PR, Rosalina VL, López G, Iruretagoyena J, Magness R. Regulation of uterine blood flow. I. Functions of estrogen and estrogen receptor α/β in the uterine vascular endothelium during pregnancy. *Rev Chil Obstet Ginecol.* 2014;79(2):129-139.

152. Mazur M. T., Kurman R. J. Diagnostic of endometrial biopsies and curetting: A practical approach. - Berlin, 2005. -P. 7-33; 100-120; 147-207.
153. Mishra VV, Agarwal R, Sharma U, Aggarwal R, Choudhary S, Bandwal P. Endometrial and Subendometrial Vascularity by Three-Dimensional (3D) Power Doppler and Its Correlation with Pregnancy Outcome in Frozen Embryo Transfer (FET) Cycles. *Journal of Obstetrics and Gynaecology of India*. 2016;66(Suppl 1):521-527. doi:10.1007/s13224-016-0871-5.
154. McGee E, Hsueh A. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocrin Rev*. 2000;21:200-14.
155. Mochtar M.H. и др. Recombinant Luteinizing Hormone (rLH) for controlled ovarian hyperstimulation in assisted reproductive cycles // *Cochrane Database Syst. Rev*. 2007. № 2. С. 2–4.
156. Moubasher A.E. и др. Catalase improves motility, vitality and DNA integrity of cryopreserved human spermatozoa // *Andrologia*. 2013. Т. 45. № 2. С. 135–139.
157. Nasser A. и др. Elevated day 3 serum follicle stimulating hormone and/or estradiol may predict fetal aneuploidy // *Fertil. Steril*. 1999. Т. 71. № 4. С. 715–718.
158. Nargund G, Bourne T, Doyle P, Parsons J, Cheng W, Campbell S, et al. Associations between ultrasound indices of follicular blood flow, oocyte recovery and preimplantation embryo quality. *Hum Reprod*. 1996;11:109–13.
159. Neubourg D.D., Robins A., Fishel S., Gibbon L. Flow cytometric analysis of granulosa cells from follicular fluid after follicular stimulation. *Hum. Reprod*. 1996; 11: 2211
160. Ng EH, Chui DK, Tang OS, Lau EY, Yeung WS, Chung HP. In vitro fertilization and embryo transfer during natural cycles. *J Reprod Med*. 2001;46: 95-9.
161. Nuñez-Calonge R., Cortés S., Gutierrez Gonzalez L.M., Kireev R., Vara E., Ortega L. et al. Oxidative stress in follicular fluid of young women with low

- response compared with fertile oocyte donors. *Reprod. Biomed. Online*. 2016; 32: 446-56 DOI: 10.1016/j.rbmo.2015.12.010
162. Oyawoye O., Abdel Gadir A., Garner A., Constantinovici N., Perrett C., Hardiman P. Antioxidants and reactive oxygen species in follicular fluid of women undergoing IVF: relationship to outcome. *Hum. Reprod.* 2003; 18: 2270-4.
163. Pacella, L., Zander-Fox, D. L., Armstrong, D. T., and Lane, M. Women with reduced ovarian reserve or advanced maternal age have an altered follicular environment. *Fertil. Steril.* 2012. 98, 986–994.e2.
164. Paszkowski T., Clarke R.N. The Graafian follicle is a site of L-ascorbate accumulation. *J. Assist. Reprod. Genet.* 1999; 16: 41-5.
165. Pils S. и др. Decreased ovarian reserve predicts inexplicability of recurrent miscarriage' A retrospective analysis // *PLoS One*. 2016. Т. 11. № 9.
166. Polyzos N.P. и др. Live birth rates following natural cycle IVF in women with poor ovarian response according to the Bologna criteria // *Hum. Reprod.* 2012. Т. 27. № 12. С. 3481–3486.
167. Prasad S. и др. The relationship between uterine artery two-dimensional color doppler measurement and pregnancy outcome: A prospective observational study // *J. Reprod. Infertil.* 2017. Т. 18. № 2. С. 251–256.
168. Prieto L., Quesada J.F., Cambero O., Pacheco A., Pellicer A., Codoceo R., Garcia-Velasco J.A. Analysis of follicular fluid and serum markers of oxidative stress in women with infertility related to endometriosis. *Fertil. and Steril.* 2012; 98: 126-30 DOI: 10.1016/j.fertnstert.2012.03.052
169. Pu D., Wu J., Liu J. Comparisons of GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol in poor ovarian responders undergoing IVF // *Hum. Reprod.* 2011. Т. 26. № 10. С. 2742–2749.
170. Puerto B. и др. Ultrasonography as a predictor of embryo implantation after in vitro fertilization: A controlled study // *Fertil. Steril.* 2003. Т. 79. № 4. С. 1015–1022.

171. Raba G. Effect of internal iliac artery ligation on ovarian blood supply and ovarian reserve // *Climacteric*. 2011. Т. 14. № 1. С. 54–57.
172. Rakhit M. и др. Antioxidant strategies to overcome OS in IVF-embryo transfer // *Studies on Women's Health*. , 2013. С. 237–262.
173. Reynolds K.A. и др. Cycle cancellation and pregnancy after luteal estradiol priming in women defined as poor responders: A systematic review and meta-analysis // *Hum. Reprod*. 2013. Т. 28. № 11. С. 2981–2989.
174. Sardana D. и др. Correlation of subendometrial-endometrial blood flow assessment by two-dimensional power Doppler with pregnancy outcome in frozen-thawed embryo transfer cycles // *J. Hum. Reprod. Sci*. 2014. Т. 7. № 2. С. 130.
175. Saxena P. Testing ovarian reserve: an important measure of fertility. // *INJMS*. 2012. Т. 3. № 2. С. 165–9.
176. Singh A.K., Chattopadhyay R., Chakravarty B., Chaudhury K. Markers of oxidative stress in follicular fluid of women with endometriosis and tubal infertility undergoing IVF. *Reprod. Toxicol*. 2013; 42: 116-24 DOI: 10.1016/j.reprotox.2013.08.005
177. Seifer D.B. и др. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome // *Fertil. Steril*. 1997. Т. 67. № 1. С. 110–114.
178. Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, Feng B, Shelden RM. Early follicular serum müllerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril*. 2002;77:3:468-471.
179. Shahine L.K. и др. Higher rates of aneuploidy in blastocysts and higher risk of no embryo transfer in recurrent pregnancy loss patients with diminished ovarian reserve undergoing in vitro fertilization // *Fertility and Sterility*. , 2016. С. 1124–1128.
180. Showell M.G. и др. Antioxidants for male subfertility // *Cochrane database Syst. Rev*. 2014. Т. 12.

181. Shrestha D., La X., Feng H.L. Comparison of different stimulation protocols used in in vitro fertilization: a review. // *Ann. Transl. Med.* 2015. T. 3. № 10. C. 137.
182. Shun Takeo A , Koji Kimura B , Koumei Shirasuna A , Takehito Kuwayama A and Hisataka Iwata. Age-associated deterioration in follicular fluid induces a decline in bovine oocyte quality /*Reprod Fertil Dev.* // 2017 Apr;29(4):759-767. doi: 10.1071/RD15228.
183. Schweigert F.J., Steinhagen B., Raila J., Siemann A., Peet D., Buscher U. Concentrations of carotenoids, retinol and alpha-tocopherol in plasma and follicular fluid of women undergoing IVF. *Hum. Reprod.* 2003; 18: 1259-64.
184. Sunkara, S.K., Rittenberg, V., Raine-Fenning, N., Bhattacharya, S., Zamora, J., Coomarasamy, A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum. Reprod.* 2011;26:1768–1774
185. Tatone C., Carbone M.C., Falone S., Aimola P., Giardinelli A., Caserta D. Age-dependent changes in the expression of superoxide dismutases and catalase are associated with ultrastructural modifications in human granulosa cells. *Mol. Hum. Reprod.* 2006; 12(11): 655-60.
186. Tilborg T.C. van и др. Individualized FSH dosing based on ovarian reserve testing in women starting IVF/ICSI: a multicentre trial and cost-effectiveness analysis // *Hum. Reprod.* 2017. T. 32. № 12. C. 2485–2495.
187. Triantafyllidou, O., Sigalos, G., Vlahos, N. 2014. Dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation and IVF outcome in poor responders. *Hum. Fertil. (Camb)*. 2017;20:80–87
188. Truong T., Gardner D.K. Antioxidants improve IVF outcome and subsequent embryo development in the mouse // *Hum. Reprod.* 2017. T. 32. № 12. C. 2404–2413.
189. Ulug U., Ben-Shlomo I., Turan E., Erden H.F., Akman M.A., Bahceci M. Conception rates following assisted reproduction in poor responder patients: a

- retrospective study in 300 consecutive cycles. *Reprod. Biomed. Online*. 2003; 6: 439-43.
190. Ubaldi F. и др. Management of poor responders in IVF: Is there anything new? // *Biomed Res. Int.* 2014. Т. 2014.
191. Van Blerkom J, Antczak M, Schrader R. The developmental potential of the human oocyte is related to the dissolved oxygen content of follicular fluid: Association with vascular endothelial growth factor levels and perifollicular blood flow characteristics. *Hum Reprod*. 1997;12:1047–55.
192. Venetis C.A., Kolibianakis E.M., Tarlatzi T.B., Tarlatzis B.C. Evidence-based management of poor ovarian response. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2010; 1205: 199-206.
193. Vos M. De, Devroey P., Fauser B.C.J.M. Primary ovarian insufficiency. // *Lancet* (London, England). 2010. Т. 376. № 9744. С. 911–21.
194. Woldringh G.H. и др. Decreased ovarian reserve relates to pre-eclampsia in IVF/ICSI pregnancies // *Hum. Reprod*. 2006. Т. 21. № 11. С. 2948–2954.
195. Wu H.M. и др. Detection of the subendometrial vascularization flow index by three-dimensional ultrasound may be useful for predicting the pregnancy rate for patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer // *Fertil. Steril*. 2003. Т. 79. № 3. С. 507–511
196. Xu Y, Nisenblat V, Lu C, Li R, Qiao J, Zhen X, et al. . Pretreatment with coenzyme Q10 improves ovarian response and embryo quality in low-prognosis young women with decreased ovarian reserve: a randomized controlled trial. *Reprod Biol Endocrinol*. (2018) 16:29. 10.1186/s12958-018-0343-0
197. Yu, X., Ruan, J., He, L.P., Hu, W., Xu, Q., Tang, J., Jiang, J., Han, J., Peng, Y.F. Efficacy of growth hormone supplementation with gonadotrophins in vitro fertilization for poor ovarian responders: an updated meta-analysis. *Int. J. Clin. Exp. Med*. 2015;8:4954–4967
198. Zamah A.M., Hassis M.E., Albertolle M.E., Williams K.E. Proteomic analysis of human follicular fluid from fertile women. *Clin. Proteomics*. 2015; 12: 5 DOI: 10.1186/s12014-015-9077-6

199. Zangmo R. Diminished ovarian reserve and premature ovarian failure: A review // J. minimal Stimul. IFV. 2016. Т. 3. № 2. С. 46–51.
200. Zollner U. и др. Uterine artery blood flow in the periimplantation period in embryo transfer cycles // Asian Pacific J. Reprod. 2012. Т. 1. № 3. С. 177–182.
201. Zebitay AG, Cetin O, Verit FF, Keskin S, Sakar MN, Karahuseyinoglu S, Ilhan G, Sahmay S. The role of ovarian reserve markers in prediction of clinical pregnancy. *Obstet Gynaecol.* 2017;37:4:492-497.
[./..https://doi.org/10.1080/01443615.2016.1269730](https://doi.org/10.1080/01443615.2016.1269730)