

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

СУГУРОВА АЛЬФИЯ ТЛЕШЕВНА

**КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ОВАРИАЛЬНОГО ОТВЕТА
ПРИ КОНТРОЛИРУЕМОЙ СТИМУЛЯЦИИ ЯИЧНИКОВ У ЖЕНЩИН ИЗ
РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН**

3.1.4. - Акушерство и гинекология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Ящук Альфия Галимовна

Научный консультант:

доктор биологических наук, профессор

Хусаинова Рита Игоревна

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1 КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОБЛЕМЫ ОВАРИАЛЬНОГО ОТВЕТА ПРИ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЯХ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1 Бесплодие. Эпидемиология. Этиология и патогенез. Бедный овариальный ответ	11
1.1.1 Этиология «бедного» овариального ответа	12
1.1.2 Прогноз «бедного» овариального ответа	14
1.2 Гиперответ яичников в программах вспомогательных репродуктивных технологий	15
1.2.1 Анализ частоты и оценка тяжести течения синдрома гиперстимуляции яичников при процедурах экстракорпорального оплодотворения	15
1.2.2 Состояние гиперкоагуляции у пациенток с синдромом гиперстимуляции яичников	18
1.3 Персонализация стимуляции яичников в клинической практике	19
1.3.1 Перспективы улучшения результатов вспомогательных репродуктивных технологий	21
1.4 Генетические предикторы овариального ответа	23
1.4.1 Предикторы овариального ответа, связанные с полиморфизмом генов тромбофилии и фолатного цикла	27
1.5 Математическое моделирование ответа яичников при контролируемой стимуляции овуляции	29
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	31
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	43

3.1	Клинические, гормональные, морфометрические характеристики у пациенток с бедным ответом и гиперответом яичников при процедурах вспомогательных репродуктивных технологий	43
3.1.1	Характеристика менструальной функции пациентов включенных в исследование	50
3.1.2	Анализ перенесенных гинекологических заболеваний	54
3.2	Эффективность и осложнения вспомогательных репродуктивных технологий	58
3.3	Клинические и генетические предикторы синдрома гиперстимуляции яичников	61
3.4	Поиск ассоциаций полиморфных вариантов генов гемостаза (<i>F2, F5, F7, F13A1, FGB, ITGA2, ITGB3, PAI-1</i>) с бесплодием и различным ответом на стимуляцию овуляции	75
3.5	Поиск ассоциаций полиморфных вариантов генов фолатного цикла (<i>MTHFR, MTRR, MTR</i>) с бесплодием и различным ответом на стимуляцию овуляции	82
3.6	Анализ эффективности проведенных процедур	91
3.7	Разработка математических моделей прогнозирования ответа яичников на основе искусственной нейронной сети	99
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	106
	ВЫВОДЫ	118
	ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	119
	СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ	120
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	121
	ПРИЛОЖЕНИЯ	145

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Бесплодие – это гетерогенное заболевание различной этиологии, причиной которого может быть, как мужской, так и женский фактор (Манухин И.Б. и др., 2019; Cunningham J., 2017; Leijdekkers J.A. et al., 2019). Бесплодие вызывает большую психологическую проблему для обоих партнеров (Зеленая К.В. и др., 2017; Malina A., Błaszkiwicz A., Owczarz U., 2016), что подтверждается высоким процентом сексуальных дисфункций (43-90% среди женщин и 48-58% среди мужчин) (Starc A. et al., 2019). Несмотря на прогресс в области репродуктивных технологий бесплодие остается нерешенным вопросом (Bahamondes L. et al., 2014). По разным оценкам во всем мире бесплодие затрагивает от 8 до 12% пар репродуктивного возраста, а в Российской Федерации частота бесплодных браков превышает 15%, что по данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) считается критическим уровнем (Лапштаева А.В., 2017; Ombelet W. et al., 2008). В настоящее время проблема лечения бесплодия приобрела не только медицинское, социально-демографическое, но и экономическое значение. Классический метод ЭКО стал основой для развития целого ряда подходов, которые в настоящее время объединены общим термином – «вспомогательные репродуктивные технологии» (ВРТ) (Гарданова Ж.Р. и др., 2018). Женщины все чаще откладывают деторождение до 35–40 лет, когда способность к зачатию с собственными ооцитами уменьшается. Это привело к тому, что для достижения репродуктивных целей в более позднем возрасте донорство яйцеклеток стало неотъемлемой и растущей частью ВРТ и составляет в настоящее время приблизительно 12% всех циклов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) (Rutstein S.O., Shah I.H., 2004). Возраст оказывает влияние на репродуктивную жизнь женщины (Ziebe S. et al., 2001). Кроме того, за последнее десятилетие произошло значительное увеличение среднего возраста отцовства при зачатии первого ребенка. Поздний репродуктивный возраст отца наряду с возрастом женщины, связан с повышенным риском генетических

заболеваний. Таким образом, крайне важно проводить беседы с супружескими парами о значительном повышении риска потери беременности с возрастом, в том числе после применения вспомогательных репродуктивных технологий (Sharma R. et al., 2015; Hu L. et al., 2018).

У пациенток в позднем репродуктивном возрасте применяется преимплантационная генетическая диагностика для скрининга на анеуплоидии, что дает возможность пациентам получить информацию о причинах неудачных циклов ЭКО и целесообразности продолжения лечения с использованием вспомогательных репродуктивных технологий, а также позволяет пациентам избежать эмоциональной травмы при обнаружении хромосомных аномалий плода во время беременности (Platteau P. et al., 2005).

В настоящее время в большей части западноевропейских стран снижается уровень рождаемости, что связано с поздним вступлением в брак, отложенным деторождением и первичным бесплодием. Напротив, в развивающихся странах, где развиты детские браки и раннее вступление в союз отмечается обратная ситуация (Tarín J.J. et al., 2019). Исследования показывают, что в развивающихся странах отмечается высокая распространенность инфекций, передаваемых половым путем, а также осложнения в результате недостаточной медицинской помощи, что приводит к росту вторичного бесплодия. Доказано, что существует значительная причинно-следственная связь между имеющейся сопутствующей соматической патологией у пациентки и результатом лечения бесплодия методом ЭКО, а также вынашиванием беременности. Другой важной проблемой использования ВРТ являются различия в эффективности программ ВРТ, что обусловлено различиями в тактике при подготовке к процедуре ЭКО и ведением пациентов (Моргунов Р.А. и др., 2022; Смирнова Д.В. и др. 2022).

Контролируемая стимуляция овуляции (КОС) дает возможность получить большое количество ооцитов, что является основой лечения методами вспомогательных репродуктивных технологий. Таким образом, частота живорождения увеличивается с получением большего количества ооцитов, в тоже время, получение ооцитов более пятнадцати увеличивает риск развития синдрома

гиперстимуляции яичников без повышения частоты наступления беременности. Ответ яичников на КОС в значительной степени зависит от овариального резерва женщины, подвергающихся ВРТ. Первый цикл ВРТ традиционно считается истинным тестом овариального запаса и предварительная оценка определенных маркеров овариального резерва помогает определить женщин с ожидаемым нормальным/гипер/бедным ответом (Jirge P.R. et al., 2022). «Бедный» овариальный ответ на стимуляцию является одной из наиболее сложных задач для репродуктолога. Поэтому, когда врач сталкивается с пациентками с предполагаемым «Бедным» ответом, очень важно донести эту информацию до пациентки правильно (Lebovitz O. et al., 2022). «Бедный» ответ яичников на стимуляцию гонадотропинами связан с отменой цикла и снижением вероятности рождения здорового ребенка в программе вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), что остается непростой и еще нерешенной проблемой для клиницистов и пациентов (Mashayekhi M. et al., 2021). Пациентки с «бедным» ответом на гормональную стимуляцию составляют большую часть всех обращающихся для проведения программ ВРТ (9-24%) (Перминова С.Г., 2022).

Частота встречаемости субоптимального ответа (4-9 полученных ооцитов) на стимуляцию гонадотропинами достаточно высока и данные об эффективности вспомогательных репродуктивных технологий у женщин с субоптимальным ответом малоизучены (Нгуен К.Т. и др., 2020).

Важным условием наступления беременности в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), является сохраненный овариальный запас, который определяет ответ яичников на стимуляцию гонадотропинами. Причины преждевременного снижения овариального резерва многофакторны. Один из возможных факторов - полиморфизм генов ФСГ (FSHR), ЛГ (LHR) или ЛГ(LH). Многообещающим методом индивидуальной оценки овариального резерва, в том числе и преждевременного истощения яичников, является определение генетических предикторов. Анализ и прогностическая модель на основании сочетания нескольких вариантов полиморфных генов позволят оценить риски преждевременного снижения

овариального резерва, тем самым индивидуализировать программу ВРТ (Кравченко Е.Н. и др., 2022).

Цель исследования: улучшение результатов лечения бесплодия с применением контролируемой стимуляции овуляции с учетом клинических и молекулярно-генетических предикторов овариального ответа.

Задачи исследования:

1. Провести анализ эффективности вспомогательных репродуктивных технологий при бесплодии трубного генеза и/или мужского генеза.

2. Оценить частоту синдрома гиперстимуляции и «бедного» ответа яичников при процедурах ЭКО. Оценить уровень гомоцистеина в плазме крови у женщин в зависимости от генотипов по полиморфным вариантам в генах фолатного цикла.

3. Выявить ассоциацию между типом ответа яичников при контролируемой стимуляции суперовуляции и полиморфизмом генов-кандидатов.

4. Разработать программы прогнозирования ответа яичников в зависимости от носительства полиморфизма генов-кандидатов.

Научная новизна. Проведено комплексное изучение клинико-генетических предикторов овариального ответа в циклах ЭКО. Получены клинические, гормональные, морфометрические характеристики у пациенток с «бедным» ответом и гиперответом яичников при процедурах вспомогательных репродуктивных технологий. Установлены ассоциации полиморфизма генов-кандидатов, а также уровня гомоцистеина с различными вариантами ответа на стимуляцию.

Впервые на основе сравнительного анализа распределения частот аллелей и генотипов четырех полиморфных локусов генов *LHCGR*, *FSHR*, *GDF9* дана оценка исходов программ вспомогательных репродуктивных технологий с учетом прогностической значимости генетических маркеров, сформирован

оптимизированный индивидуальный генетический профиль пациентов в целях персонализированного лечения.

Впервые путем анализа генотипов *LHCGR* Asn312Ser rs2293275, *FSHR* Ser680Asn rs6166, *GDF9* p.Glu182 rs10491279, *GDF9* p.Thr149 rs254286, уровней ФСГ, ЛГ, АМГ показана возможность прогнозирования овариального ответа на стимуляцию овуляции и оценка вероятности возникновения репродуктивных расстройств в программах ВРТ.

Впервые предложены для практического здравоохранения прикладные компьютерные программы для прогнозирования ответа яичников на основе искусственной нейронной сети, позволяющие с определенной точностью получать результаты и делать прогнозы.

Теоретическая и практическая значимость. Практическая значимость полученных результатов исследования заключается в том, что обоснована необходимость исследования молекулярно-генетических предикторов перед проведением процедур ВРТ с учетом клинико-лабораторного обследования. Выявлены клинико-генетические предикторы овариального ответа в программах ВРТ на основании которых созданы программы, позволяющие прогнозировать овариальный ответ, что обеспечивает персонализированный подход к каждой пациентке. На основании проведенных исследований разработано и внедрено в практику отделения вспомогательных репродуктивных технологий программы по прогнозированию овариального ответа для улучшения тактики ведения и лечения пациентов с бесплодием.

Положения, выносимые на защиту:

1. Не существует идеального прогностического теста для оценки ответа яичников на основе клинических и гормональных показателей пациентки при контролируемой стимуляции суперовуляции, что обуславливает необходимость проведения молекулярно - генетического обследования до включения ее в программу ВРТ.

2. Значимым молекулярно-генетическим предиктором «бедного» ответа яичников является генотип *СТ локуса rs 254286 гена *GDF9*, аллель G* и генотип *G*G локуса 10976 гена *F7* ассоциирован с гиперответом и бедным ответом на КОС; для предикции бесплодия: аллель А* и генотип *G*А локуса G20210А гена *F2*, генотип *G*А локуса G1691А гена *F5* с бесплодием и невынашиванием беременности; для предикции невынашивания беременности: аллель *Т и генотип *Т*Т локуса С677Т гена *MTHFR*.
3. Определена целесообразность внедрения программ ЭВМ на основе искусственного интеллекта в прогнозировании овариального ответа при проведении контролируемой стимуляции овуляции с учетом клинико-генетических предикторов в программах ВРТ.

Личный вклад автора. Автор непосредственно участвовал в выборе научного направления исследования, разработке цели и задач исследования, обобщении, анализе, статистической обработке полученных данных. Автор лично принимал участие в ведении пациенток на всех этапах лечения бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и переноса эмбрионов (ПЭ), в анализе и научной интерпретации результатов генотипирования пациенток.

Соответствие диссертации паспорту полученной специальности

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

Апробация материалов диссертации. Результаты исследования представлены на: Российской конференции с международным участием, посвященной 50-летию генетической службе в РБ (Уфа, 2021); Республиканской конференции «Актуальные вопросы акушерства и гинекологии» (Уфа, 2021);

Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы пациентов с орфанными заболеваниями в Республике Башкортостан» (Уфа, 2022); Республиканской конференции «Актуальные вопросы акушерства и гинекологии» (Уфа, 2022).

Внедрение результатов исследования в практику. Разработанный на основании полученных результатов алгоритм персонализированного проведения программ ВРТ с учетом клинико-генетических маркеров внедрен в практическую деятельность отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия ГБУЗ Республиканский медико-генетический центр. Материалы с результатами исследования используются в учебном процессе в виде лекций и практических занятий для студентов, клинических ординаторов и аспирантов кафедры акушерства и гинекологии с курсом ИДПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Публикация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, из них 4 в журналах, входящих в перечень ВАК, 1 статья в журнале, индексируемом международной реферативной базой данных Scopus, 3 патента РФ.

Структура и объем диссертации

Работа изложена на 147 страницах машинописного текста, иллюстрирована 21 таблицей и 40 рисунками, состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы исследования, главы собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и приложений. Библиографический указатель включает 201 литературных источника, из них 28 работы отечественных и 173 зарубежных авторов.

ГЛАВА 1 КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОБЛЕМЫ ОВАРИАЛЬНОГО ОТВЕТА ПРИ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЯХ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Бесплодие. Эпидемиология. Этиология и патогенез. Бедный овариальный ответ

Одной из распространенных причин бесплодия у женщин является снижение овариального запаса, что является сложной проблемой, с которой приходится сталкиваться врачу акушеру-гинекологу, репродуктологу [112].

Ведение и лечение пациенток с «бедным» ответом яичников остается нерешенным вопросом в программах вспомогательных репродуктивных технологий [163].

В связи с отсутствием до 2011года четкого определения «бедного овариального ответа» были разработаны Болонские критерии, однако эта классификация описывает очень разнородную группу пациентов, позже были разработаны критерии POSEIDON, согласно которому предлагается разделение пациентов на более однородные подгруппы, и, что важно, содержат рекомендации по их ведению [83]. Овариальный запас является прогнозом получения зрелых ооцитов и оценки шансов на живорождение при процедурах ЭКО в любом возрасте женщины. Анамнез заболевания и правильная оценка маркеров резерва яичников гарантируют получение оптимального количества ооцитов, тем самым вырабатывая наиболее подходящий протокол контролируемой стимуляции суперовуляции (КОС) для каждой пациентки. В литературе много данных о ведении пациентов при прогнозируемом «бедном» ответе и гиперответе яичников, но многое еще предстоит сделать для снижения ятрогенных рисков и улучшения результатов ЭКО [32]. Пациенты с «бедным» ответом яичников - это гетерогенная группа пациентов при проведении процедуры ЭКО с «уникальными» потребностями. Правильное ведение таких пациентов может помочь улучшить

тактику их ведения и может повысить количество и качество получаемых ооцитов и показатели клинической беременности [194].

Стимуляция яичников улучшает результат использования вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) за счет увеличения числа ооцитов и жизнеспособных эмбрионов. Истинная оценка качества и количества ооцитов у женщин невозможна, и методы, с помощью которых клиницисты могут оценить запас яичников все еще развиваются [146]. Не существует идеального прогностического теста для оценки ответа яичников или скринингового теста на «бедный» овариальный ответ [58]. Клиницисты подбирают дозу фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), ориентируясь на возраст, базальный уровень ФСГ, количество антральных фолликулов (КАФ) и уровень антимюллерового гормона в крови (АМГ), однако проблема «неожиданного» овариального ответа сохраняется [44].

Кроме того, принято, что для оценки предположительно «бедного» ответа яичников может использоваться измерение диаметра антрального фолликула [112]. Несмотря на множество исследований по сниженному овариальному запасу и «бедному» ответу яичников, еще предстоит разработать алгоритмы диагностики и лечения таких пациентов. Есть предположения о том, что тщательное консультирование пациентов и персонализация протоколов ЭКО являются ключом к оптимизации репродуктивных результатов у таких пациентов [150].

«Бедный» ответ яичников наблюдается, по крайней мере, у 10% бесплодных женщин, но частота увеличивается с возрастом. Лечение этих пациентов остается серьезной проблемой в исследованиях фертильности, главным образом из-за низкой эффективности, составляющей приблизительно 6%, независимо от используемого протокола лечения [67].

1.1.1 Этиология «бедного» овариального ответа

«Бедный» ответ яичников является распространенной проблемой в ВРТ. Анализ «бедного» ответа яичников на стимуляцию выявил, что необходимы

другие стратегии лечения для улучшения клинического исхода у таких пациентов [84]. «Бедный» ответ на стимуляцию гонадотропинами при ЭКО является маркером снижения резерва яичников и связано с ранней менопаузой. Результаты исследования подчеркивают необходимость проведения более масштабных исследований [82]. У женщин с «бедным» ответом яичников коэффициент рождаемости снижается с увеличением возраста. Женщины в возрасте (≥ 38 лет) достигают значительно более низкого уровня коэффициента рождаемости, чем молодые пациентки с «бедным» ответом (< 35 лет). Очень низкий коэффициент рождаемости наблюдается у женщин в возрасте > 43 лет [121]. Есть литературные данные, которые приводят ретроспективные исследования пациентов в возрасте от 40 до 43 лет с «бедным» и нормальным ответом яичников, где отмечался низкий коэффициент рождаемости [66]. У пациентов в позднем репродуктивном возрасте часто отмечается синдром пустого фолликула, как следствие низкого числа зрелых фолликулов. Доказано, что механизм этого явления связан с истощенным запасом яичников [78]. Возраст является ключевым фактором для успешного исхода ЭКО у пациенток с низким количеством ооцитов, но также важно количество зрелых ооцитов и качество эмбрионов. Распространенность «бедного» ответа составляет более 50% среди женщин в возрасте > 40 лет [31]. По данным некоторых авторов фертильность у женщин позднего репродуктивного возраста и исход беременности, «бедный» ответ в контролируемой стимуляции яичников в циклах вспомогательных репродуктивных технологий может прогнозировать уровень АМГ [41]. Имеются еще данные о том, что наиболее значимым показателем исхода лечения бесплодия методом ЭКО является антимюллеров гормон (АМГ), который вместе с количеством антральных фолликулов и возрастом достаточно точно прогнозирует ответ яичников на стимуляцию [31] и анализ АМГ может быть полезным биомаркером для прогнозирования «бедного» ответа в циклах ЭКО [198]. Однако, для выбора протокола стимуляции яичников требуются более надежные показатели овариального ответа. Оценка запаса яичников может прогнозировать «бедный» ответ или гиперответ на стимуляцию овуляции в ВРТ и помочь в персонализации

лечения для достижения хорошего ответа и минимизации рисков осложнений [75]. В ходе исследования китайских женщин выявлено, что антимюллеровый гормон является достаточно надежным показателем для прогнозирования отмены программы ЭКО и количества получаемых ооцитов, которое можно извлечь после стимуляции, но является относительно ненадежным тестом для прогнозирования беременности и живорождений. Тем не менее, необходимы дальнейшие исследования для дальнейшего определения роли АМГ в исходе ЭКО [170]. Женщины с нарушениями менструального цикла и бесплодием чаще демонстрируют «бедный» ответ яичников независимо от возраста. Те же критерии, кроме уровня ФСГ, могут использоваться в качестве предиктора для скрининга скрытой преждевременной недостаточности яичников. Возраст не является единственным показателем запаса яичников и скрининг может способствовать принятию обоснованного решения относительно тактики лечения бесплодия у женщин. Ответ на стимуляцию яичников у этих пациентов необходимо оценить с помощью других показателей [157]. Был проведен систематический обзор для определения факторов риска «бедного» ответа яичников на контролируруемую стимуляцию в циклах ЭКО, описанных в литературе. Данные свидетельствуют о том, что эндокринные нарушения, курение, генетические мутации, эндометриомы, хирургическое вмешательство на яичники, химиотерапия и короткие менструальные циклы являются факторами, которые влияют на стимуляцию в циклах вспомогательной репродукции. Необходимы дальнейшие исследования для выявления факторов риска «бедного» овариального ответа у женщин [40].

1.1.2 Прогноз «бедного» овариального ответа

Термин «пациенты с бедным ответом» используется для группы женщин, которые плохо отвечают на обычные дозы гонадотропинов при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО). Следствием этого является низкая

результативность программы ЭКО. Контролируемая стимуляция яичников (КОС) в циклах ЭКО является отправной точкой, от которой зависит прогноз процедуры.

Для обеспечения более точной картины «бедного» ответа яичников и стандартизации ведения таких пациентов была разработана новая система классификации пациентов с бесплодием с «ожидаемым» или «неожиданным» ответом яичников на экзогенные гонадотропины – критерии POSEIDON для обеспечения более точной картины «бедного» ответа яичников и для руководства врачей при ведении таких пациентов [44]. Дозы фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и используемого протокола стимуляции суперовуляции основана на прогнозировании ответа яичников, который зависит от запаса яичников. Оценка запаса яичников может помочь выявить пациентов, у которых будет «бедный» ответ или гиперответ на стимуляцию яичников при ВРТ.

Часто встречающиеся аномалии в раннем развитии эмбрионов, и вероятность переноса эмбриона без возможности имплантации очень высока в группе пациентов с «бедным» ответом [165]. Уровни антимюллера гормона и количество антральных фолликулов считаются наиболее точными и надежными маркерами запаса яичников. Согласно прогнозируемому ответу на стимуляцию яичников (бедный, нормальный или гиперответ), можно индивидуализировать протоколы стимуляции яичников [39]. В исследованиях A.R. Neves и соавторов [187], показано, что антимюллеров гормон доказал свою клиническую ценность в прогнозировании ответа яичников в различных протоколах стимуляции яичников.

1.2 Гиперответ яичников в программах вспомогательных репродуктивных технологий

1.2.1 Анализ частоты и оценка тяжести течения синдрома гиперстимуляции яичников при процедурах экстракорпорального оплодотворения

Другой стороной «бедного» ответа яичников может быть гиперответ яичников, при котором повышаются риски развития тяжелого осложнения,

которое может быть в программах ВРТ-синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ).

Синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ) – осложнение экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), которое не только сопровождается нарушением общего состояния женщины, но и может привести к смертельному исходу [61]. СГЯ – потенциально опасное для жизни женщины состояние. Кроме того, СГЯ снижает вероятность наступления беременности и может стать причиной увеличения яичников в размерах, асцита, плеврального выпота, олигурии, гемоконцентрации и тромбоэмболических осложнений при протекании в тяжёлой форме [156].

По данным Российской ассоциации репродукции человека за 2019 год данное осложнение встретилось в 0,2% циклов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [18]. Различают СГЯ лёгкой, средней, тяжёлой и критической степени. СГЯ лёгкой степени протекает, как правило, без нарушения общего состояния женщины. Умеренные клинические проявления СГЯ включают вздутие живота, тошноту и рвоту, плохой аппетит. В общей сложности 1,9% пациенток госпитализируют из-за тяжёлых проявлений, таких как гепаторенальная недостаточность, острый респираторный дистресс-синдром, кровотечение в результате разрыва яичников и тромбоэмболические осложнения [142]. Тяжёлые и критические случаи СГЯ могут закончиться летальным исходом [148].

Опубликованы данные о том, что среди женщин с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ) в программах ВРТ 75% пациенток имели нормальный ответ яичников на контролируемую овариальную стимуляцию, а у 24% развился СГЯ [93]. Получение 15 ооцитов и более в программах ЭКО значительно повышает риск СГЯ без увеличения частоты живорождения [139]. В связи с этим следует применять менее агрессивные протоколы стимуляции, особенно у пациенток с ожидаемым нестандартным ответом на гормональную стимуляцию, особенно с СПКЯ [136].

СГЯ лёгкой степени можно лечить в амбулаторных условиях, при диагностике тяжёлых/критических случаев необходима госпитализация в стационар.

Существуют данные о профилактике СГЯ с использованием кломифена при контролируемой стимуляции яичников в циклах ВРТ, антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) после трансвагинальной пункции яичников, а также применением плазмозаменителей при введении триггера овуляции или во время трансвагинальной пункции яичников [79]. Агонисты дофамина, вероятно, снижают частоту средней или тяжёлой степени СГЯ, однако нет уверенности в их влиянии на нежелательные явления и исходы беременности (живорождение, клиническая беременность, выкидыш) [57].

В последнее десятилетие замена триггера хорионического гонадотропина человека на агонист ГнРГ снизила частоту СГЯ, но не устранила его полностью [127]. Применение протокола с антагонистом ГнРГ и агонистом ГнРГ в качестве триггера служит хорошей альтернативой, когда существует высокий риск развития СГЯ [167]. Есть данные о том, что 3-дневная терапия антагонистом ГнРГ, начинающаяся после извлечения ооцитов, с отменой переноса эмбрионов и их замораживанием может быть оправданной тактикой лечения для женщин, находящихся в группе высокого риска СГЯ [181].

Вклад генетических факторов в формирование овариального ответа на стимуляцию гормонами в циклах ЭКО имеет ключевое значение [184]. В литературе встречается описание полиморфных вариантов генов, предрасполагающих к СГЯ (например, *FSHR*, *LHR*, *CYP11A*, *AMH*, *VEGFR2*) [195]. Кроме того, есть работы, где показано, что уровень антимюллера гормона (АМГ) используют как предиктор СГЯ [162].

Тем не менее, остаётся много нерешённых вопросов по профилактике и лечению СГЯ, и необходимы дальнейшие исследования по выявлению биомаркёров, в том числе генетических, для прогнозирования развития СГЯ и проведения активных профилактических и своевременных лечебных мероприятий.

1.2.2 Состояние гиперкоагуляции у пациенток с синдромом гиперстимуляции яичников

Одним из частых осложнений у пациенток с СГЯ является гиперкоагуляция. Более того, при дальнейшем развитии гиперкоагуляции может развиваться тромбоз, который является наиболее серьезным и опасным для жизни осложнением ЭКО. Есть данные о том, что тромбоз эмболия может иметь различную локализацию, в том числе во внутренних яремных, подключичных, подмышечных, локтевых, подколенных, кортикальных, брыжеечных, коронарных и церебральных сосудах. Чтобы предотвратить возникновение тромбоза, очень важно точно оценить гиперкоагуляцию у пациенток с СГЯ [125]. Есть данные о том, что использование низкомолекулярного гепарина снижает риск тромботических осложнений. Для тромбопрофилактики рекомендуется эноксапарин (40 мг/сут) или далтепарин (5000 МЕ/сут). Таким образом, беременным женщинам рекомендуется антикоагулянтная терапия, которую следует продолжать как минимум до конца первого триместра. Тем не менее, имеются сообщения о позднем тромбозе даже спустя 20 недель после переноса эмбриона, и многие исследователи выступают за продолжение терапии гепарином в течение многих недель. Тромбоз эмболические осложнения могут развиваться даже при умеренном СГЯ, что может быть связано с активацией внутреннего каскада коагуляции [124].

Тромбофилия определяется как склонность к тромбозу, возникающая в результате наследственных изменений (дефицит белков C, S и антитромбина, фактора V Лейдена - FVL - мутация и мутация гена протромбина) или приобретенная в результате коагуляции (антифосфолипидный синдром). Этиология тромбоза (артериальная или венозная окклюзия кровеносного сосуда тромбом) многофакторна и наличие генетической или приобретенной лабораторной модификации тромбофилии является лишь одним из многих факторов, определяющих ее риск, так как мало распространено у населения в целом [134].

1.3 Персонализация стимуляции яичников в клинической практике

Есть данные о том, что двойная стимуляция яичников у пациентов с «бедным» ответом позволяет за короткое время получить зрелые ооциты с получением эмбрионов хорошего качества и, следовательно, здоровой беременности [169]. Исследования показали, что от 5,6% до 35,1% женщин дают «бедный» ответ яичников в программах ВРТ [99]. Уменьшение количества антральных фолликулов не всегда сопровождается нарушением качества получаемых ооцитов. Снижение КАФ и «бедный» ответ на стимуляцию овуляции являются отличительными признаками «старения» яичников, однако, у молодых женщин сниженный запас яичников может не влиять на качество ооцитов [123].

Также как и беременность, которая часто сопровождается осложнениями у женщин в позднем репродуктивном возрасте, что нельзя сказать о пациентках в возрасте до 35 лет с «бедным» ответом [38]. Общеизвестно, что низкий запас яичников является причиной бесплодия, «бедного» ответа на стимуляцию гонадотропинами и низкой результативности ЭКО. Разработка Болонских критериев и классификации POSEIDON, сочетающих маркеры запаса яичников с возрастом, с предыдущим ответом на контролируемую стимуляцию суперовуляции и другими факторами риска для пациентов с «бедным» ответом, направлена на оказание существенной помощи в стандартизации критериев, используемых для этого диагноза и в улучшении тактики ведения таких пациентов [108]. Результаты недавнего метаанализа показали, что добавление рекомбинантного человеческого лютеинизирующего гормона (рЛГ) к рекомбинантному человеческому фолликулостимулирующему гормону (рФСГ) оказалось полезным для стимуляции яичников у пациентов с «бедным» ответом, что приводит к повышению на 30% частоты клинической беременности по сравнению с монотерапией рФСГ [191].

Есть исследования о том, что добавление гормона роста до и во время контролируемой стимуляции овуляции улучшало ответ яичников с увеличением числа получаемых зрелых ооцитов у пациентов с «бедным» ответом. Двойная

стимуляция яичников может увеличить шансы на достижение беременности путем накопления большего количества ооцитов/эмбрионов за короткое время, что является лучшей тактикой ведения пациентов в позднем репродуктивном возрасте [90]. Группа экспертов POSEIDON, недавно пересмотрела спектр пациентов с «бедным» овариальным ответом и представила концепцию субоптимального ответа. Поскольку идеальное лечение для этих пациентов все еще отсутствует, они подчеркнули важность адаптации стимуляции яичников, основанной на возможности каждой женщины получить эуплоидную бластоцисту. Двойная стимуляция в фолликулярной и лютеиновой фазах одного и того же менструального цикла (DuoStim) является заманчивым вариантом для получения двух ооцитов в кратчайшие сроки. Однако, DuoStim по-прежнему нуждается в более тщательной проверке, чтобы подтвердить свою безопасность [120]. Стимуляция в лютеиновую фазу приводит к получению большего количества ооцитов у «слабых ответчиков» по сравнению со стимуляцией в фолликулярную фазу. Двойная стимуляция, использующая корифоллитропин альфа с последующим индивидуальным дозированием ФСГ, является альтернативой традиционной стимуляции фолликулярной фазы, снижая риск отмены цикла [81]. Результаты показывают, что стимуляция яичников с помощью корифоллитропина альфа столь же эффективна, как и ежедневная инъекционная схема рФСГ для лечения пациентов с «бедным» ответом яичников [63]. Женщинам, которым назначено ЭКО/ИКСИ с регулярным менструальным циклом, рекомендуется стандартная начальная доза ФСГ, равная 150 МЕ в день [77]. Получены достоверные результаты, демонстрирующие увеличение уровня рождаемости при добавлении гормона роста у женщин с «бедным» ответом яичников в предыдущих циклах ЭКО [111]. Использование лечения агонистами ГнРГ, возможно, все еще остается предпочтительным подходом для предотвращения преждевременной лютеинизации. В парах с СПКЯ и «бедным» ответом яичников антагонисты ГнРГ, по-видимому, не снижают частоту беременностей и связаны с меньшим количеством СГЯ и поэтому может использоваться стандартное лечение [43].

Минимальная стимуляция при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО) является альтернативой традиционной стимуляции яичников с высокой дозировкой для пациентов со сниженным запасом яичников или для пациентов с ожидаемым «бедным» ответом. Сторонники минимальной стимуляции суперовуляции отмечают преимущества, которые включают снижение потребления и расхода гонадотропина, синдрома гиперстимуляции яичников и частоты многоплодной беременности [166]. Кроме того, более низкая доза используемого гонадотропина может способствовать повышению качества ооцитов и эмбрионов [105].

В проведенной работе по оценке эффективности двойной стимуляции во время фолликулярной и лютеиновой фаз у женщин с «бедным» ответом яичников в циклах оплодотворения *in vitro*/внутрицитоплазматической инъекции сперматозоидов (ЭКО/ИКСИ) пришли к выводу, что протокол можно считать эффективным по времени и дружественным к пациенту, однако необходимы дополнительные исследования с акцентом на его эффективность с точки зрения затрат [80]. FSI (индекс чувствительности фолликулов) является независимым фактором, который влияет на частоту клинических беременностей в циклах ЭКО/ИКСИ. Женщины с более высоким FSI имеют большее число полученных ооцитов, скорость оплодотворения и клиническую беременность с трубным фактором или неуточненным фактором бесплодия, прошедшие ЭКО/ИКСИ с ожидаемым нормальным ответом яичников [95].

1.3.1 Перспективы улучшения результатов вспомогательных репродуктивных технологий

Ответ яичников в программах ЭКО влияет на качество получаемых ооцитов, качество получаемых эмбрионов и соответственно, результат программы ЭКО.

Преимплантационное генетическое тестирование продемонстрировало улучшение показателей имплантации и беременности и снижение частоты

выкидышей по сравнению со стандартным отбором эмбрионов на основе морфологии. Тем не менее, существуют ограниченные данные о его эффективности у пациентов со сниженным запасом яичников или «бедным» ответом на стимуляцию, у которых может быть меньше эмбрионов для выбора. Требуется больше информации о прогностической ценности преимплантационного генетического тестирования. Тем не менее, первоначальные данные свидетельствуют о пользе преимплантационного генетического тестирования у пациенток с «бедным» ответом [45]. В клеточной физиологии ряд ключевых ролей играют митохондрии, которые вовлечены в процесс старения, благодаря развитию митохондриальному окислительному стрессу и, в конечном итоге, апоптозу. В контексте размножения количество копий мтДНК может представлять собой тест для прогнозирования жизнеспособности эмбрионов, повышая прогностическую эффективность преимплантационного генетического скрининга (PGS). Кроме того, питательные вещества, улучшающие функцию митохондрий и замену функциональных митохондрий в половых клетках, могут использоваться в клинических условиях в качестве потенциального средства для лечения старения яичников. Все эти технологии должны быть проверены на безопасность и эффективность [152]. Было обнаружено, что протокол индукции овуляции в лютеиновой фазе позволяет пациентам достичь более высоких показателей оплодотворения, уровня рождаемости ($P < 0,05$) и более высокой частоты беременности, в связи, с чем он может быть лучшим выбором для лечения пациентов с «бедным» ответом. Однако, необходимы дальнейшие проспективные клинические исследования, чтобы предоставить более существенные доказательства для этого вывода [62]. В позднем репродуктивном возрасте с «бедным» ответом яичников, программа ЭКО в естественном цикле является более лояльным протоколом по отношению к пациенту и может быть разумной альтернативой в этой трудной для лечения группе женщин [135]. У пациентов в позднем репродуктивном возрасте коэффициент рождаемости остается относительно низким в течение нескольких

полных циклов из-за сопутствующего снижения количественных и качественных параметров [68]. Молодые женщины ≤ 37 лет с неуточненным фактором бесплодия имеют низкий овариальный запас. Результаты показывают, что бесплодие неясного генеза в молодом возрасте может быть фактором риска развития «бедного» ответа яичников, особенно как количественный, а не качественный фактор риска [33]. На сегодняшний день не существует идеального протокола для пациентов с «бедным» ответом, хотя, протокол с антагонистами предпочитают клиницисты и пациенты, вероятно, в связи с улучшением толерантности, снижением потребления гонадотропина и удовлетворенности пациентов, продолжительность стимуляции. Поэтому нет никакого интереса в увеличении доз гонадотропина свыше 300 МЕ/день и нет никакого превосходства одного гонадотропина над другим [131].

Мягкая стратегия стимуляции яичников не уступает обычной стимуляции яичников с точки зрения продолжающейся беременности и связана с более короткой продолжительностью стимуляции, меньшим количеством гонадотропинов и меньшими затратами, необходимыми для стимуляции яичников. Высокие дозы гонадотропинов не нужны женщинам со сниженным запасом яичников, планирующим ЭКО [98].

1.4 Генетические предикторы овариального ответа

Непредсказуемый ответ яичников на гонадотропины среди пациентов, начиная от «бедного» ответа до синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ), является нерешенной проблемой в репродукции [2]. В исследованиях ассоциаций генов были предприняты попытки идентифицировать ряд генетических вариаций, влияющих на межиндивидуальную вариабельность при контролируемой стимуляции суперовуляции. Имеются результаты изучения отдельных генов, таких как FSHR, AMHR, AMH и ESR1 полиморфные варианты которых могут служить потенциальными биомаркерами для прогнозирования исхода контролируемой стимуляции яичников [65]. Однако, имеются противоречивые

результаты при определении пациента как «слабого ответчика» из-за того, что не только запас яичника, но и другие клиничко-анамнестические факторы важны для определения «бедного» ответа на КОС (контролируемую овариальную стимуляцию). «Бедный» ответ у этих пациентов может быть вызван ятрогенной гипостимуляцией или генетическим полиморфизмом в генах рецепторов ФСГ (ФСГ), ЛГ (LHR) или ЛГ [108]. У значительного количества женщин <35 лет с сохраненным запасом яичников может наблюдаться неожиданно «бедный» ответ яичников. Возможно, причина этого также связана с полиморфизмом гена рецептора ФСГ, с полиморфизмом гена рецептора ЛГ или с другими неизвестными факторами [185]. Понимание полиморфизмов генов, связанных с репродуктивной функцией, может помочь улучшить клиническое ведение пациентов с «бедным» ответом яичников и объяснить некоторую вариабельность отдельных пациентов в ответ на контролируемую стимуляцию суперовуляции. Развивается фармакогенетический подход к контролируемой стимуляции яичников в вспомогательной репродукции, что может помочь понять связь между генетическими вариантами и ответом яичников на экзогенные гонадотропины. Генетический профиль пациента может быть использован для выбора наиболее подходящего типа гонадотропина, прогнозирования оптимальной дозировки для каждого лекарственного средства, разработки экономически эффективного плана лечения, максимизации показателей успешности и, наконец, сокращения времени до наступления беременности [151]. В идеале фармакогенетические/геномные исследования в конечном итоге приведут к эре, в которой последовательность ДНК человека будет рассматриваться как неотъемлемая детерминанта лекарственной терапии [16]. Вероятно, наиболее эффективный прогностический тест на контролируемую стимуляцию яичников будет включать комбинацию фенотипических (возраст пациента, вес, морфология яичника, базальный уровень ФСГ и другие маркеры резерва яичника сыворотки крови) и генетических маркеров, которые будут применяться в рутинных диагностических тестах перед началом стимуляции овуляции, чтобы иметь возможность прогнозировать и достигать «подходящего» ответа, то есть получить баланс между эффективностью

(извлечение достаточного количества ооцитов) и рисками (предупреждение СГЯ и отменой цикла из-за «неадекватного» ответа) при максимальном увеличении шансов на достижении беременности [53]. Предварительная идентификация пациентов у которых предполагается «бедный» или гиперответ на стандартное лечение, будет позволять персонализировать программы ВРТ с учетом индивидуального клинического и генетического профиля женщин. Применение фармакогенетических подходов к стимуляции яичников может прогнозировать успех стимуляции, а также корректировать дозы [23]. Чтобы превратить фармакогеномику в полезный инструмент для репродуктивной медицины, необходимо провести метаанализ молекулярных маркеров, участвующих в оценке эффективности рекомбинантного ФСГ [26]. Генетическая изменчивость может быть разумным объяснением снижения чувствительности яичников к стимуляции и неоптимального ответа в этой когорте пациентов и может потребовать более высокие дозы гонадотропинов или длительной стимуляции, в отличие от их прогнозируемого ответа, основанного на маркерах запаса яичников [14]. Фолликулостимулирующий гормон, лютеинизирующий гормон и хорионический гонадотропин человека в различных комбинациях в настоящее время используются в контролируемой стимуляции суперовуляции и с различной эффективностью, даже если определение наилучшего подхода является спорным. Различия в индивидуальном ответе на стимуляцию яичников гонадотропинами могут быть связаны с изменениями генов, кодирующих гормоны или их рецепторы. В частности, полиморфные варианты FSHB гена, FSHR гена с.-211G> T, FSHR p.Asn680Ser и с.-29G> A и их аллельные комбинации могут использоваться в качестве маркеров ответа овариального запаса и контролируемой стимуляции яичников [1]. Обнаружено, что варианты гена FSHR определяют ответ яичника на ФСГ, что должно оказать влияние на определение протоколов стимуляции. В будущем должна быть возможность адаптировать терапию ФСГ к генетическому фону пациента и заранее разработать индивидуальный протокол стимуляции яичников, регулируя не только вводимые дозы, но и сроки стимуляции. Ответ яичников на стимуляцию

фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) зависит от генотипа рецептора ФСГ [9].

Генотипирование локуса N680S гена *FSHR* вместе с некоторыми дополнительными маркерами может помочь идентифицировать группу «бедных ответчиков» до начала лечения бесплодия. Между тем, дальнейшие исследования относительно других SNP (или гаплотипов) в гене *FSHR* могут помочь лучше понять роль данного гена в ответе яичников [106]. Анализ полиморфных локусов генотипа *FSHR* может быть информативным для прогнозирования результата стимуляции яичников и выбора правильного протокола стимуляции, чтобы обеспечить достаточное количество зрелых ооцитов для ЭКО/ИКСИ. Полиморфизм гена рецептора фолликулостимулирующего гормона в положении 680 связан с различными ответами яичников на контролируруемую стимуляцию овуляции [9]. Выявление вариантов гена *FSHR* имеет значение в качестве предиктора ответа яичников на экзогенную стимуляцию у женщин, перенесших контролируруемую стимуляцию яичников. Предполагают, что полиморфизм Asn680Ser гена *FSHR* может быть важным биомаркером для прогнозирования количества извлеченных ооцитов и «бедного» ответа, особенно у азиатских женщин. Для подтверждения этих выводов потребуются дальнейшие исследования [116]. Полиморфизм C677T гена *MTHFR* связан с использованием высоких доз лекарств для стимуляции яичников, а также с более высоким уровнем ФСГ. Отрицательная корреляция между уровнями ФСГ и количеством ооцитов позволяет предположить, что полиморфизм C677T может играть роль в плохом прогнозе для ооцитов. Исследование необходимо продолжить в проспективных исследованиях с более длительным периодом наблюдения [10]. Локус rs13405728 гена *LHR* может быть связан с медленным ответом яичников при ВРТ [25]. Исследование египетских женщин показало, что низкий уровень АМГ в сочетании с полиморфизмом генов *ESR2* и *FSHR* прогнозируют «бедный» ответ яичников на контролируруемую стимуляцию суперовуляции [65]. Исследование иранских женщин не обнаружило связи между *ESR2* rs4986938 и «бедным» ответом, а гена *FSHR* локуса rs6165 показал ассоциацию с ответом

яичников при ВРТ ($p < 0,05$), это говорит о том, что FSHR rs6165, а не ESR2 rs4986938, можно предложить в качестве кандидатного маркера для прогнозирования «бедного» ответа яичников [15].

Таким образом, существуют генетические маркеры различного овариального ответа при стимуляции яичников с применением ВРТ. Однако, остается много нерешенных вопросов, касающихся молекулярного патогенеза данной проблемы и требуется проведение дальнейших исследований с вовлечением женщин разного возраста из различных генетически гетерогенных популяций.

Обобщая вышесказанное, можно сделать заключение, что проблема патологического овариального ответа при использовании ВРТ существует во всем мире. И это связано не только с уровнем оказания медицинской помощи, но и другими факторами, перечисленными выше. Индивидуальный генетический профиль пациенток может использоваться для оптимизации индивидуального лечения бесплодия.

1.4.1 Предикторы овариального ответа, связанные с полиморфизмом генов тромбофилии и фолатного цикла

Считается, что одним из патогенных механизмов, связанных с бесплодием неясного генеза, является неправильное формирование кровеносных сосудов. Наследственная тромбофилия является фактором риска бесплодия и повторных неудач экстракорпорального оплодотворения, в связи с изменением факторов гемостаза, что предрасполагает к неудачной имплантации эмбрионов [130]. Есть данные о связи гена ITGB3 с вторичным бесплодием, а также осложненным течением беременности [178]. В исследованиях показано, что беременность после ЭКО у женщин с ожирением и наследственной тромбофилией имеет высокие риски прерывания [88]. Тромбофилия может вызывать бесплодие, поскольку ухудшает качество ооцитов, увеличивает гипоксическое повреждение и снижает васкуляризацию. Частота имплантации эмбрионов в программах вспомогательных

репродуктивных технологий выше при правильной васкуляризации и насыщенности кислородом фолликулов. Показано, что в циклах ЭКО количество зрелых ооцитов и частота оплодотворения выше в фолликулах с высокой васкуляризацией. Имплантация, плацентация, ангиогенез и ремоделирование сосудов требуют соответствующего баланса между коагуляцией и фибринолизом [177]. Таким образом, одной из основных причин неудач ЭКО и, возможно, бесплодия является нарушение системы гемостаза связанное с тромбофилией. Кроме того, установлена высокая корреляция между тромбофилией, обусловленными генетическими мутациями и полиморфизмами, а также неудачами ЭКО. При этом, неудача ЭКО является показанием к расширенному исследованию генетически детерминированных факторов системы гемостаза. При наличии генетических дефектов тромбофильной природы в системе гемостаза риск неудачи программы ЭКО в два и более раз выше [35]. Анализ литературных источников показал, что различные формы тромбофилии, часто вызывающие тяжелые осложнения при ВРТ, являются одной из основных причин неудач ЭКО [34]. Тромбофилия – мультигенетическое заболевание, связанное с изменением гомеостатических механизмов. Некоторые исследования показали, что тромбофилия не связана с «бедным» ответом (созревание менее трех фолликулов при стимуляции высокими дозами гонадотропинов) яичников и сниженным овариальным резервом в общей популяции бесплодных пар, подвергающихся ВРТ. Результаты исследования женщин Исламской Республики Иран показали значительную связь между гетерозиготной мутацией FVL и «бедным» ответом яичников, соответственно, скрининг полиморфизма FVL может быть рассмотрен в качестве прогностического теста для ответа на стимуляцию яичников у женщин с бесплодием, подвергающихся ВРТ [178]. Таким образом, следует отметить необходимость проведения дальнейших исследований с большим размером выборки, оценивающих другие маркеры тромбофилии и ответ яичников, которые могли бы помочь прояснить биологические механизмы, лежащие в основе влияния полиморфизма генов тромбофилии на ответ яичников, качество ооцитов и эмбрионов [104].

1.5 Математическое моделирование ответа яичников при контролируемой стимуляции овуляции

Учитывая, что отмечается рост бесплодных пар не только в Российской Федерации, но и во всем мире, чтобы сделать диагностику бесплодия высокоточной, а лечение – высокоэффективным, медицине приходит на помощь разработка и применение программных продуктов, созданные на основе искусственного интеллекта. В медицине применяются два основных типа ИИ: символический ИИ (например, база знаний и онтологии) и несимволический ИИ (например, машинное обучение и искусственные нейронные сети). Искусственный интеллект (ИИ) позволяет своевременно выявлять и изучать потенциальные связи в больших массивах данных и создавать точные прогностические модели с использованием методов машинного обучения [5]. ИИ проходит испытания в нескольких областях репродуктивной медицины, включая идентификацию и морфологию сперматозоидов, автоматическое прогнозирование стадии клеток эмбриона, оценку эмбрионов и прогнозирование живорождения, а также разработку улучшенных протоколов стимуляции [46]. Необходимо рассматривать искусственный интеллект в медицинской визуализации с двух точек зрения: метод алгоритма и его клиническое применение [47]. Есть работы, показывающие, что методы искусственного интеллекта являются многообещающими средствами для улучшения отбора эмбрионов и прогнозирования результатов имплантации и беременности в программах ВРТ [76]. А. Goyal и соавторы (2020) установили модель машинного обучения для прогнозирования успешного живорождения по 30 клиническим признакам ЭКО [107]. Многочисленные работы зарубежных авторов показывают возможность проведения мониторинга овариального запаса при диагностике синдрома поликистозных яичников (СПКЯ), прогнозирования качества ооцитов и исходов беременности, учет таких переменных, как диаметр и объем фолликулов яичников, количество антральных фолликулов и индекс стромального кровотока яичников с помощью ИИ [74,92]. ИИ внесет большие инновации в область

репродуктивной медицины и здравоохранения в целом за счет улучшения вариантов лечения бесплодных пациентов, лучшего планирования процедур и, в конечном итоге, более высоких показателей ВРТ, что снизит затраты на лечение. Это будет оптимальный инструмент, который поможет нам прогнозировать клинический исход на основе известных исходных параметров. Внедрение ИИ в повседневную практику врача потребует времени, а также согласованных усилий, направленных на то, чтобы наилучшим образом использовать потенциал систем оценки рисков и изменить способ оказания помощи. В конечном счете, такой прорыв принесет много преимуществ, а именно, устранение затрудняющих факторов: экологических и эмоциональных факторов, или физических ограничений. Он не заменит человеческого присутствия, но это поможет в процессе принятия решения, чтобы улучшить окончательный результат и сэкономить время при лечении бесплодия. Внедрение ИИ в процедуры ВРТ произведет революцию в репродуктивных методах, но для этого определенно потребуются осторожный и вдумчивый подход, особенно при разработке законодательных и нормативных рамок, прочно основанных на принципах этики и основных ценностях, придающих приоритет человеческому достоинству и отстаивающих основные права на неприкосновенность частной жизни, защита и равенство. В конечном счете, такие цели могут быть достигнуты только путем сохранения контроля со стороны человека, чтобы заставить ИИ удовлетворять наши потребности, в то же время, работая прозрачно и достигая лучших результатов [183].

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Отбор пациентов проводился на базе ГБУЗ Республиканского медико-генетического центра в период с 2018 по 2021 годы.

Проведено клинико-генетическое обследование 426 женщин, проходивших программы ЭКО в ГБУЗ Республиканском медико-генетическом центре, подписавших информированное добровольное согласие для участия в исследовании.

Критерии включения пациентов в исследование:

1. Наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании;
2. Пол: женщины;
3. Возраст пациенток: 25-36 лет;
4. Установленный диагноз: Женское бесплодие трубного и/или Женское бесплодие мужского генеза;
5. Регулярный менструальный цикл.

Критериями исключения были:

1. Возраст пациенток до 25лет и старше 36лет;
2. Беременность, кормление грудью;
3. Пациентки с противопоказаниями для проведения программы ЭКО, с экстрагенитальной патологией, онкологическими заболеваниями, а также длительно принимающие глюкокортикоиды, иммунодепрессанты;
4. Пациентки с хромосомными аномалиями, пороками развития половых органов;
5. Пациентки с установленным диагнозом эндометриоз;
6. Отказ от участия в исследовании;
7. Беременность;
8. Аллергические реакции на препараты для гормональной стимуляции.

Дизайн исследования

В исследование включены 146 пациенток для типирования полиморфных вариантов в генах *LHCGR*, *FSHR*, *GDF9* разделенных на три группы в зависимости от типа овариального ответа на стимуляцию суперовуляции: 27 пациенток с «бедным» ответом (согласно Болонским критериям: должны присутствовать по крайней мере два из следующих признаков: старший возраст матери (≥ 40 лет), «бедный» ответ яичников в анамнезе с ≤ 3 ооцитами, полученными после обычной стимуляции, и/или аномальный тест на овариальный резерв (т.е. количество антральных фолликулов (КАФ) < 7 или уровень антимюллерова гормона (АМГ) $< 1,1$ нг/мл). При отсутствии позднего репродуктивного возраста женщины или аномального овариального теста пациентка может быть определена как «бедная» ответчица после двух эпизодов «бедного» ответа яичников после максимальной стимуляции [197]. 30 пациенток с гиперответом и 89 пациенток с нормальным ответом на стимуляцию суперовуляции. Изучение полиморфных локусов генов дифференциального фактора роста 9, рецептора лютеинизирующего гормона/хориогонадотропина, рецептора фолликулостимулирующего гормона проводили с использованием технологии TaqMan и технологии real-time ПЦР на приборе CFX96 («Bio-Rad Laboratories Inc.» США. ДНК (дезоксирибонуклеиновую кислоту) для генотипирования выделялась из образцов периферической крови с ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) в качестве антикоагулянта с использованием наборов QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Германия) на приборе TECAN (автоматизированная станция выделения нуклеиновых кислот), производство фирмы «ТЕКАН Швайц АГ», Швейцария.

Двести восемьдесят пациенток были обследованы для поиска ассоциаций полиморфизма генов предрасположенности к тромбофилии и фолатного цикла при невынашивании беременности и бесплодии с различным ответом на контролируруемую стимуляцию овуляции при вспомогательных репродуктивных технологиях. Отбор пациенток проводился с учетом данных анамнеза: бесплодие;

многократные потери беременности, а также осложненные роды (преждевременные роды, отслойка плаценты, преэклампсия). Группы пациенток делились на три категории в зависимости от наличия или отсутствия у них репродуктивной дисфункции: первая группа – пациентки с установленным диагнозом бесплодие (n=83); вторая группа – пациентки с многократными потерями беременности в анамнезе (n=79), (в данной группе отмечались замершие беременности 3 и более в сроке до 12 недель). Группа контроля состояла из пациенток, планирующих беременность, с отсутствием в анамнезе бесплодия, невынашивания беременности, при отсутствии наследственного тромбоза (n=118).

Исследование генетических мутаций *F2* (*rs1799963*), *F5* (*rs6025*), полиморфизм генов *F7* (*rs6046*), *F13A1* (*rs5985*), *FGB* (*rs1800790*), *ITGA2* (*rs1126643*), *ITGB3* (*rs5918*), *SERPINE1* (*PAI-1*, *rs1799889*), *MTHFR* 677C/T (*rs1801133*), *MTHFR* 1298A/C (*rs1801131*), *MTR* A2756G (*rs1805087*), *MTRR* A66G (*rs1801394*) проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на амплификаторе ДТ-96 с наборами «Проба-Рapid-Генетика» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Геномную ДНК экстрагировали из периферической крови, собранной с ЭДТА. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.



Рисунок 1 – Дизайн исследования.

Расчет объема выборки

В рамках настоящей работы изучено 426 клинических случаев, соответствовавшим критериям включения в исследование. Решение о минимальном объеме необходимой для исследования выборки принимали на основании данных доступных литературных источников о том, что доля бесплодных женщин с «бедным овариальным ответом» составляет от 9-10% до 24-25, достигая в некоторых исследованиях 49% [193]. На основании этих данных рассчитали среднюю частоту (23,4%), которую подставили в формулу в виде доли от 100%:

$$n=t^2*p*(100-p)/\Delta^2, \quad (1)$$

где t – нормированное отклонение, соответствующее заданному уровню надежности оценки (в нашем случае: $t=1,35$ при уровне значимости, равном уровню надежности оценки γ , равной 0,85), p – частота случаев «бедного овариального ответа», Δ – ошибка репрезентативности, предельная величина ошибки выборочных показателей [11,27].

Ошибка репрезентативности равна 3,85%, что меньше рекомендованной 5%-ой ошибки репрезентативности для медико-биологических исследований. Следовательно, сформированную выборку из 426 клинических наблюдений можно считать репрезентативной [6,36,193].

Методы исследования

Всем пациенткам перед началом протокола ЭКО было проведено полное клиничко-лабораторное обследование согласно приказу МЗ РФ до 2021г № 107н "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению», с 31.07. 2021г № 803н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению". Обследование проводилось в амбулаторных условиях по месту жительства пациентов или в

ГБУЗ РМГЦ. Применявшиеся общеклинические и специальные методы исследования Методы исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Методы исследования

№	Данные	Перед вступлением в программу ВРТ	2-3 день цикла	6-7 день стимуляции	8-9 день стимуляции	10-11 день стимуляции
1	Общий (клинический) анализ крови, анализ крови биохимический общетерапевтический, коагулограмма;	X	-	-	-	X
2	Общий анализ мочи;	X	-	-	-	X
3	Определение антител класса М, G к вирусу краснухи в крови;	X	-	-	-	X
4	Микроскопическое исследование влагалищных мазков;	X	-	-	-	X
5	Цитологическое исследование шейки матки;	X	-	-	-	X
6	Ультразвуковое исследование органов малого таза;	X	X	X	X	X
7	Флюорография легких;	X	-	-	-	X
8	Регистрация электрокардиограммы;	X	-	-	-	-
9	Расширенная кольпоскопия	X	-	-	-	-
10	Фемофлор-скрин	X	-	-	-	-
11	УЗИ молочных желез	X	-	-	-	-
12	УЗИ органов брюшной полости	X	-	-	-	-

Общеклинические методы исследования

При поступлении пациентки в отделение ВРТ проводился тщательный сбор анамнеза пациенток, выяснялся возраст, стаж бесплодия, состояние в браке, наследственный и аллергологический анамнез, перенесенные заболевания, профессиональные вредности. Собирались данные о менструальной функции (возраст начала менструации, регулярность, продолжительность цикла, характер менструаций), половой функции (возраст начала половой жизни, количество браков, половых партнеров, применяемые методы контрацепции). Собирался анамнез о репродуктивной функции пациенток (количество беременностей, наступивших естественным путем, срочных и преждевременных родов, аборт, самопроизвольных выкидышей, неразвивающихся, внематочных беременностей, наличие осложненных беременностей и родов, наличие живых детей и их развитие), наступали ли беременности в настоящем браке или предшествующих. Собирались данные о перенесенных и имеющихся гинекологических заболеваниях, оперативных вмешательствах на половых органах (год проведенного оперативного вмешательства, характер, объем, выполненной операции, течение послеоперационного периода, результаты гистологических исследований). Тщательно собирался анамнез бесплодия, причины, продолжительность, место наблюдения, методы и эффективность проводимого лечения. Подробно выясняли информацию по проведенным ранее программам ВРТ (дата и место проведения, метод, схема протокола стимуляции функции яичников, количество фолликулов, полученных ооцитов, эмбрионов, исход программы).

Оценивали следующие параметры пациентки: общее состояние, тип телосложения, вели расчет индекса массы тела (ИМТ) по формуле: $ИМТ = \text{масса тела (кг)} / \text{рост}^2 (\text{м}^2)$, проводилась оценка состояния систем кровообращения, нервной, мочевыделительной, дыхательной.

Оценивался гинекологический статус пациенток: проводился осмотр наружных половых органов, осмотр влагалища и шейки матки в зеркалах, бимануальное исследование, где оценивалось общее состояние влагалища, шейки

матки, тела матки, придатков, тазовой брюшины, околоматочной клетчатки, исключали наличие объемных образований органов малого таза.

Гормональное исследование

Перед вступлением в программу ЭКО оценивался гормональный фон пациенток.

В раннюю фолликулиновую фазу (2-3 день) менструального цикла. Проводилось исследование гормонов: ФСГ, АМГ, Е2, пролактина (ПРЛ), ЛГ, тестостерона, тиреотропного гормона (ТТГ). Концентрацию прогестерона (П) оценивали в плазме крови на 20-23й день менструального цикла, что соответствовало лютеиновой фазе. Исследование гормонов в крови осуществлялось в диагностической лаборатории ГБУЗ Республиканский медико-генетический центр, электрохемилюминесцентный иммуноанализ (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария).

Нормативные значения концентрации гормонов в плазме крови у женщин фертильного возраста приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Нормативные значения концентрации гормонов в плазме крови у женщин фертильного возраста

Гормональное исследование крови (единицы измерения)	Нормативные показатели
ФСГ (МЕ/л)	2,0-10,0
АМГ (нг/мл)	1,0 до 2,5
Е2 (пмоль/л)	150-480
Прогестерон (нмоль/л) в лютеиновой фазе цикла	16-95
Пролактин (мМЕ/л)	100-500
ЛГ (МЕ/л)	2,3- 15,0
Тестостерон (нмоль/л)	1,0-2,5
ТТГ (мМЕ/л)	1,0-3,8
17-ОН прогестерон (нмоль/л)	0,2-8,7

Ультразвуковое исследование органов малого таза

Ультразвуковое исследование (УЗИ) органов малого таза проводилось всем пациенткам на этапе предварительного обследования перед проведением программы ВРТ на 5-8й день менструального цикла с целью исключения противопоказаний для начала программы ЭКО. Исследование проводилось на ультразвуковом аппарате компании «GE Healthcare GmbH & Co OG» Voluson E6 (Австрия) при опорожненном мочевом пузыре.

В процессе исследования оценивались размеры тела матки, его форма и положение, структура миометрия, толщина и структура эндометрия, размеры яичников, состояние фолликулярного аппарата, оценивалась степень выраженности спаечного процесса, исключалось наличие объемных образований в полости малого таза.

Специальные методы исследования. Молекулярно-генетические методы исследования

Анализ полиморфизма генов в генотипе пациенток производился в лаборатории ГБУЗ РМРГЦ. ДНК (дезоксирибонуклеиновую кислоту) для генотипирования выделяли из образцов периферической крови.

Изучение полиморфных локусов генов *LHCGR*, *FSHR*, *GDF9* проводилось с использованием технологии TaqMan и ПЦР в реальном времени на приборе CFX96 (Bio-Rad, США). ДНК выделена с использованием наборов QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Германия). Проводилось типирование полиморфных локусов генов *F2*, *F5*, *F7*, *F13A1*, *FGB*, *ITGA2*, *ITGB3*, *PAI-1*, *MTHFR*, *MTR*, *MTRR*. ДНК экстрагировали с использованием набора ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА. ПЦР является одним из самых ценных методов, используемых в настоящее время в биологических науках, диагностике и других направлениях [149]. Пациенткам проводилось генотипирование по локусам (Таблица 3).

Таблица 3 – Локусы генов, по которым проводилось исследование

SNP ID	Полиморфный вариант	Ген, Локализация	Белковый продукт
rs2293275	c.935A>,p.Asn312Ser	<i>LHCR2</i> , <i>p16.3</i>	Рецептор лютеинизирующего гормона/хориогонадотропина
rs6166	c.2039A>G, p.Asn680Ser	<i>FSHR</i> , <i>2p21-</i> <i>p16</i>	Рецептор фолликулостимулирующего гормона
rs10491279	c.546G>A,p.Glu182Glu	<i>GDF9</i> , <i>5q31.1</i>	Дифференциальный фактор роста 9
rs254286	c.447C>T, p.Thr149Thr		
rs1799963	G20210A	<i>F2</i> , <i>11p11.2</i>	Фактор свертываемости крови 2, протромбин
rs6025	G1691A	<i>F5</i> , <i>1q24.2</i>	Фактор свертываемости крови 5
rs6046	G10976A (Arg353Gln)	<i>F7</i> <i>13q34</i>	Фактор свертываемости крови 7
rs5985	G103T(Val34Leu)	<i>F13A1</i> <i>6p25.1</i>	Фактор свертываемости крови 13, субъединица A1
rs1800790	G(-455)A	<i>FGB</i> <i>4q31.3</i>	Фибриноген, бета-полипептид (FGB)
rs1126643	C807T	<i>ITGA2</i> , <i>5q11.2</i>	Интегрин альфа-2 (гликопротеин Ia/IIa тромбоцитов)
rs5918	T1565C (Leu59Pro)	<i>8ITGB3</i> , <i>17q21.32</i>	Интегрин бета-3 (бета-субъединица рецептора фибриногена тромбоцитов)
rs1799889	5G(-675)4G	<i>PAI-1</i> <i>7q22.1</i>	Ингибитор активатора плазминогена (SERPINE1)
rs1801133	C677T (Ala222Val)	<i>MTHFR</i> , <i>1p36.22</i>	Метилентетрагидрофолатредуктаза
rs1801131	A1298C (Glu429Ala)	<i>MTHFR</i> , <i>1p36.22</i>	Метилентетрагидрофолатредуктаза
rs1805087	A2756G (Asp919Gly)	<i>MTR</i> , <i>1q43</i>	Метионин синтаза
rs1801394	A66G (Ile22Met)	<i>MTRR</i> , <i>5p15.31</i>	Метионин-синтаза-редуктаза

Протокол стимуляции яичников

Основным этапом проведения программы ЭКО является контролируемая овариальная стимуляция. Стимуляция яичников у пациенток ГБУЗ РМГЦ проводилась по протоколу с антГнРГ совместно с рФСГ. Протокол стимуляции суперовуляции начинался со 2-3 дня менструального цикла (ранняя фолликулиновая фаза). Доза препаратов рФСГ подбиралась индивидуально от 150 МЕ до 300 МЕ в зависимости от данных клинико-гормональных показателей (учитывались рост, вес, масса тела, количество антральных фолликулов по УЗИ, уровень гормонов АМГ, ФСГ).

Динамика роста фолликулов оценивалась при проведении УЗ-мониторинга.

С целью предотвращения паразитарного пика эндогенного ЛГ, при достижении диаметра фолликулов 14-15мм начиналось введение препарата антГнРГ в дозе 0,25мг/сут подкожно.

С целью финального дозревания ооцитов, в качестве триггера овуляции при достижении диаметра фолликулов 17 мм и больше, вводился препарат хорионического гонадотропина человека в дозе 10 тыс ЕД/сут за 35-36 часов до планируемой трансвагинальной пункции яичников (Рисунок 2).

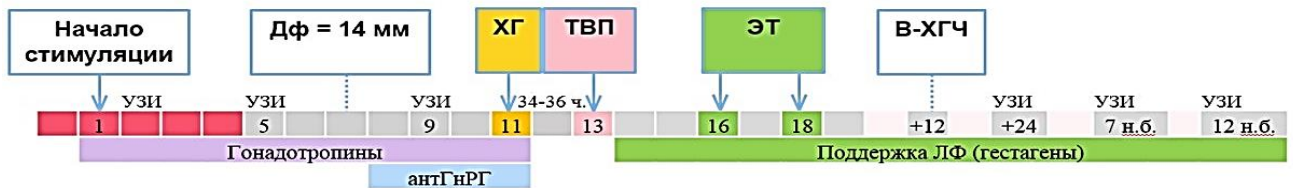


Рисунок 2 - Стандартный протокол с антГнРГ.

Трансвагинальная пункция яичников

Аспирацию ооцитов проводили под кратковременной внутривенной анестезией методом вакуумной аспирации фолликулов под трансвагинальным ультразвуковым контролем одноразовой иглой через 35-36 часов после введения препарата ХГЧ. Аспираты помещали в стерильные пробирки, содержащую гепарин (0,5мл), для предотвращения образования сгустков. Пробирку немедленно передавали эмбриологу. Содержимое каждой доставленной пробирки помещали в чашку Петри и исследовали на наличие кумулюсно-ооцитарных комплексов для оценки зрелости полученных ооцитов.

Статистический анализ полученных данных

Статистическая обработка данных выполнена на компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel», пакета прикладных программ «Statistica 12».

На предварительном этапе оценивалась нормальность распределения. Межгрупповое сравнение полученных данных проводилось с учетом объема выборки и распределения данных с применением непараметрических критериев (χ^2 , критерий Краскела-Уоллиса, критерий Манна-Уитни). В рамках непараметрической статистики данные записывались как $Me [Q25-Q75]$, где Me – медиана, $Q25$, $Q75$ – квартили 25 и 75. При сравнении частот аллелей и генотипов в группах больных и контроля применялся критерий χ^2 . Для таблиц сопряженности 2×2 использован критерий χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность, если частота хотя бы в одной ячейке таблицы была меньше или равна 5. Степень ассоциаций оценивали в значениях показателя отношения шансов (OR).

Поправку на множественность сравнений осуществляли, вычисляя значение FDR (false discovery rate - средняя доля ложных отклонений гипотез (среди всех отклонений), применяя методику Бенжамини-Хохберга с помощью онлайн калькулятора False Discovery Rate Online Calculator (<https://tools.carbocation.com/FDR>). Количество пар сравнений принимали равным

произведению количества оцениваемых маркеров и количества групп сравнения относительно одной контрольной группы.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Оценка клинических, гормональных, морфометрических характеристик у пациенток с бедным ответом и гиперответом яичников при процедурах вспомогательных репродуктивных технологий

Проанализированы клинические, гормональные, морфометрические характеристики у пациенток в программах ВРТ.

Возраст пациенток, включенных в исследование, выясняли перед началом проведения программы ЭКО и ПЭ (Таблица 4, Рисунок 3).

Таблица 4 – Возрастная характеристика пациенток, включенных в исследование

Группа	Бедный ответ, Ме [Q25-Q75]	Нормальный ответ, Ме [Q25-Q75]	Гиперответ, Ме [Q25-Q75]	Н; р
Возраст [лет]	36 [36-36]	34 [33-36]	35 [32-36]	Н = 10,24 р = 0,006
	min 32-max 36	min 25-max 36	min 28-max 36	

Выявлены статистически значимые отличия между группами, возраст женщин с «бедным» ответом оказался статистически значимо выше.

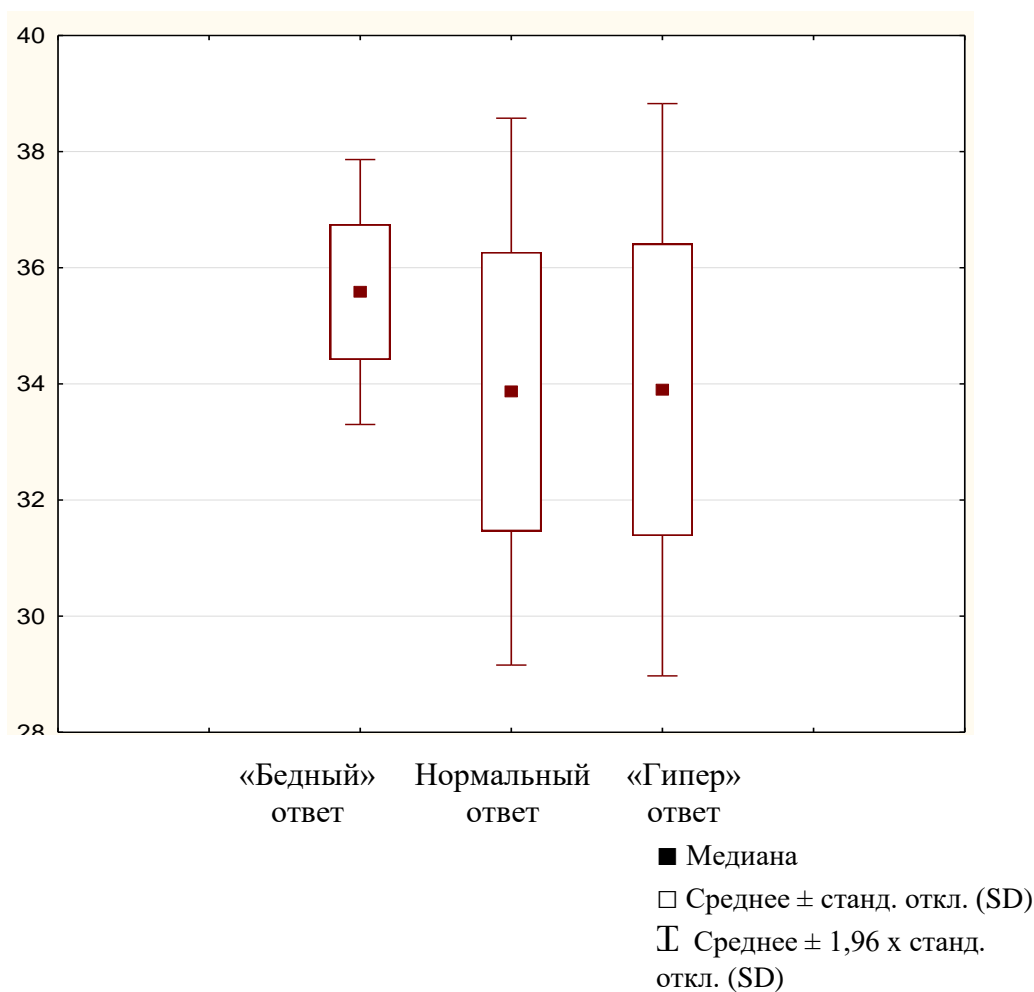


Рисунок 3 – Возрастная характеристика пациенток, включенных в исследование.

Таблица 5 – Росто-востовые характеристики пациенток, включенных в исследование

Группа	Бедный ответ, Me [Q25-Q75]	Нормальный ответ, Me [Q25-Q75]	Гиперответ, Me [Q25-Q75]	H; p
Возраст, лет	36[36-36]	34[33-36]	35[32-36]	H=10,24
	min 32-маx 36	min 25-маx 36	min 28-маx 36	p =0,006
Рост, см	161 [155,5-169]	161 [157-165]	156,5 [153-165]	H=0,81
	min 151 max 170	min 149 max 176	min 150 max 173	p =0,6655
Вес, кг	59,5 [52-62,5]	65 [55,5-75]	63,5 [53-65]	H =3,706
	min 41,9 max 84	min 43 max 97	min 43 max 80	p =0,1567

Продолжение таблицы 5

ИМТ, кг/м ²	23,25[20,4-28,15]	27 [23-31,1]	28 [19-28]	H =4,45 p =0,108
	min 16 max 31	min 20 max 36	min 16,5 max 31,6	
Стаж бесплодия, лет	8 [4-10]	6 [3-8,5]	5 [4-7]	H =1,24 p =0,5379
	min 1 max 21	min 1 max 23	min 1 max 13	
Фолликулов	3,5 [3-4]	8,5 [6-10]	19 [18-20]	-
	min 1 max 4	min 5 max 15	min 16 max 25	
Ооцитов	3,5 [1-4]	8,5 [5,5-12]	15,5 [14-20]	-
	min 1 max 7	min 3 max 22	min 14 max 27	
Диагноз:	Бедный ответ, Me [Q25-Q75]	Нормальный ответ, Me [Q25-Q75]	Гиперответ, Me [Q25-Q75]	H =4,45 p =0,108
Бесплодие I и II трубного генеза	15 (55,6%)	48 (53,9%)	18 (58,1%)	-
Бесплодие мужской фактор	-	10 (11,2%)	3 (9,7%)	-
Бесплодие сочетанного генеза	11 (40,7%)	28 (31,5%)	8 (25,8%)	-
Бесплодие маточный фактор	-	1 (1,12%)	1 (3,2%)	-
Эндокринный фактор	1(3,7%)	2(2,24%)	1(3,2%)	-

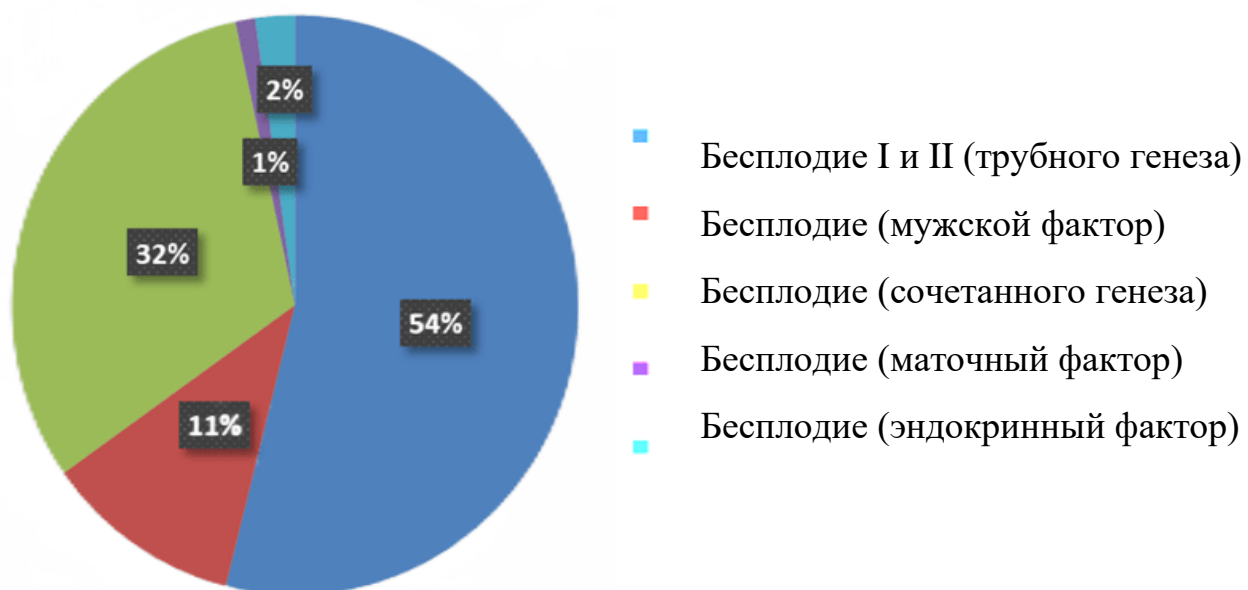


Рисунок 4 – Клинические диагнозы в группе пациенток с нормальным ответом на стимуляцию овуляции.

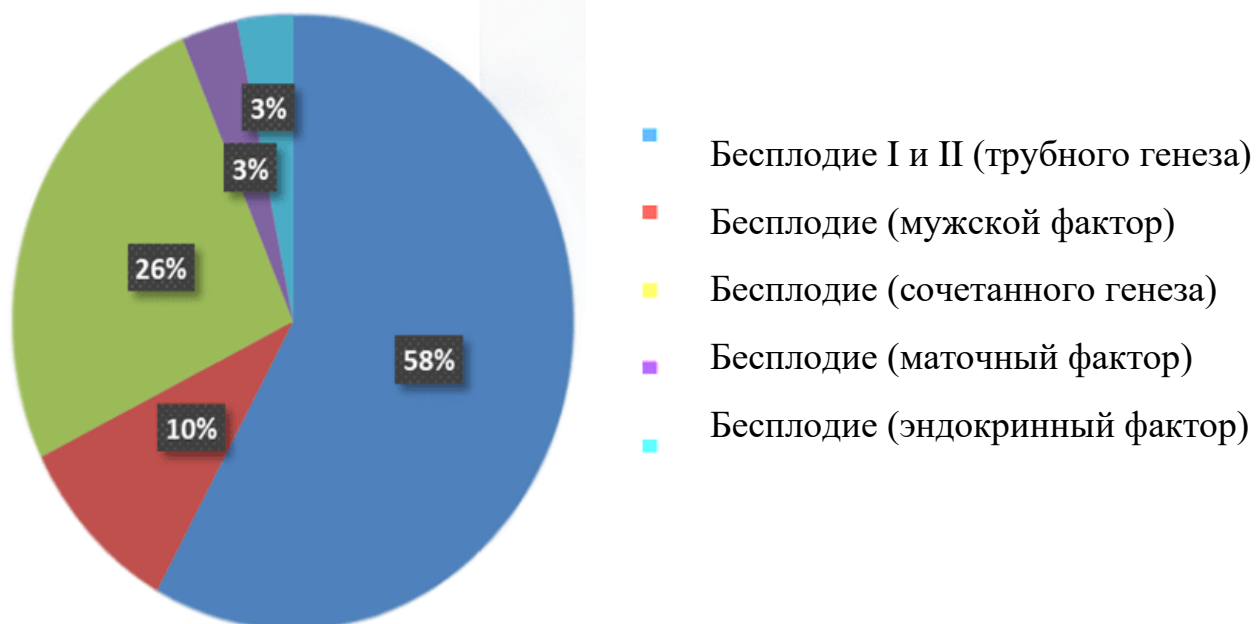


Рисунок 5 – Клинические диагнозы в группе пациенток с синдромом гиперстимуляции яичников.

Таблица 6 – Гормональные характеристики пациенток, включенных в исследование

Группа	Бедный ответ, Ме [Q25-Q75]	Нормальный ответ, Ме [Q25-Q75]	Гиперответ, Ме [Q25-Q75]	H; p
ФСГ, мМЕ/мл	8,56[7,3-9,5]	7,1[5,52-8,53]	6,3[3,7-8,72]	H=9,4; p=0,009
	min 5,89 max 12,6	min 0,1 max 15,38	min 2,8 max 9,9	
ЛГ, мМЕ/мл	4,74[3,8-5,99]	5[3,4-6,75]	5,33[3,1-12,2]	H = 0,1998 p =0,9049
	min 2,9 max 11,43	min 0,06 max 43,7	min 2 max 20,3	
Е2, Пг/мл	43,4[32,4-63,35]	60,2[34-126,5]	69,15[46-115]	H =1,71 p =0,4251
	min 0,3 max 226	min 0,24 max 362	min 0,24 max 228	
АМГ, пмоль/л	1,335[0,7-2,115]	2,4[1,4-4,22]	3,91[3,0-5,7]	H =15,12 p =,0005
	min 0,42 max 3,17	min 0,33 max 20	min 2,12 max 20	
Прогестерон, нг/мл	8,15[4,035-15]	7,54[1,95-10,3]	7,68[1,4-38,3]	H=,6569 p =0,7200
	min 2,2 max 27,4	min 0,3 max 68,13	min 0,29 max 46,57	
Общ тестостерон., нмоль/л	0,99[0,43-1,55]	0,85[0,341-1,36]	0,96[0,55-2,1]	H = 1,225 p =0,5418
	min 0,25 max 5,8	min 0,15 max 3,1	min 0,34 max 9,96	
Пролактин, мЕд/л	179,4[22,35- 294,56]	209[19,185-329]	112,75[15,9-399]	H =,0342 p =0,983
	min 10,9 max 474	min 3,6 max 477,57	min 8,9 max 479	
ТТГ, мЕд/л	1,702[0,8-2,595]	1,75[1,14-2,762]	1,65[1,1-2,4]	H =0,6750 p =0,71
	min 0,28 max 3,7	min 0,6 max 3,8	min 0,47 max 2,8	

В группу пациенток с бедным ответом на стимуляцию овуляции вошли пациентки в возрасте от 32 до 36 лет (Ме=36 л), ростом от 151 до 170 см (Ме=161

см). Вес пациенток составлял от 41,9 до 84 кг (Me=59,5 кг), ИМТ от 16 до 31 кг/м² (Me=23,25 кг/м²). Стаж бесплодия в данной группе составлял от 1 до 21 года (Me=8 лет). В результате стимуляции овуляции было получено от 1 до 4 фолликулов (Me=3,5). При лабораторном исследовании крови пациенток выявлены следующие уровни гормонов: ФСГ от 5,89 до 12,6 мМЕ/мл; ЛГ от 2,9 до 11,43 мМЕ/мл, эстрадиол от 0,3 до 226 Пг/мл; прогестерон от 2,2 до 27,4 нг/мл; АМГ от 0,42 до 3,17 пмоль/л; пролактин от 10,9 до 474 мЕд/л; общий тестостерон от 0,25 до 5,8 нмоль/л; ТТГ от 0,28 до 3,7 мЕд/л (Таблица 5, 6; Рисунок 4, 5).

Возраст пациенток группы с нормальным ответом на стимуляцию овуляции варьировал от 25 до 36 лет (Me=34 г); рост составил от 149 до 176 см (Me=161 см); вес варьировал от 43 кг до 97 кг (Me=65 кг); ИМТ от 20 до 36 кг/м² (Me=27 кг/м²). Стаж бесплодия составил в данной группе от 1 до 23 лет (Me=6 лет). В результате стимуляции овуляции было получено от 5 до 15 фолликулов (Me=8,5). При лабораторном исследовании крови пациенток выявлены следующие уровни гормонов: ФСГ от 0,1 до 15,38 мМЕ/мл; ЛГ от 0,6 до 43,7 мМЕ/мл, эстрадиол от 0,24 до 362 Пг/мл; прогестерон от 0,3 до 68,13 нг/мл; АМГ от 0,33 до 30 пмоль/л; пролактин от 3,6 до 477,5 мЕд/л; общий тестостерон от 0,15 до 3,1 нмоль/л; ТТГ от 0,6 до 3,8 мЕд/л (Таблица 5, 6; Рисунок 4, 5).

В группу пациенток с гиперответом вошли женщины в возрасте от 30 до 36 лет (Me=35 л); ростом от 153 до 165 см (Me=156,5 см). Вес обследованных пациенток составлял от 43 до 80 кг (Me=63,5 кг), ИМТ от 16,5 до 31,6 кг/м² (Me=28 кг/м²). В данной группе стаж бесплодия составил от 1 до 13 лет (Me=5 лет). При стимуляции овуляции было получено от 16 до 25 фолликулов (Me=19). При лабораторном исследовании крови пациенток выявлены следующие уровни гормонов: ФСГ от 2,8 до 9,9 мМЕ/мл; ЛГ от 2,0 до 20,3 мМЕ/мл, эстрадиол от 0,24 до 228 Пг/мл; прогестерон от 0,29 до 46,57 нг/мл; АМГ от 2,12 до 20 пмоль/л; пролактин от 8,9 до 479,0 мЕд/л; общий тестостерон от 0,34 до 9,96 нмоль/л; ТТГ от 0,47 до 2,8 мЕд/л (Таблица 5, 6; Рисунок 4, 5).

При сравнении пациенток трех групп выявлены статистически значимые различия по уровню ФСГ (Рисунок 6), отмечено снижение уровня данного

гормона в группах с нормальным ответом на стимуляцию овуляции и гиперответом яичников. Также выявлены статистически значимые отличия по уровню АМГ, в группе пациенток с гиперответом яичников его уровень оказался выше, чем в группах с бедным и нормальным ответом на стимуляцию овуляции (Рисунок 7). По другим критериям сравнения статистически значимых различий между группами выявлено не было (Таблица 6).

Сравнение групп проводилось с помощью критерия Краскела-Уоллиса, статистически значимым считался результат при $p \leq 0,05$.

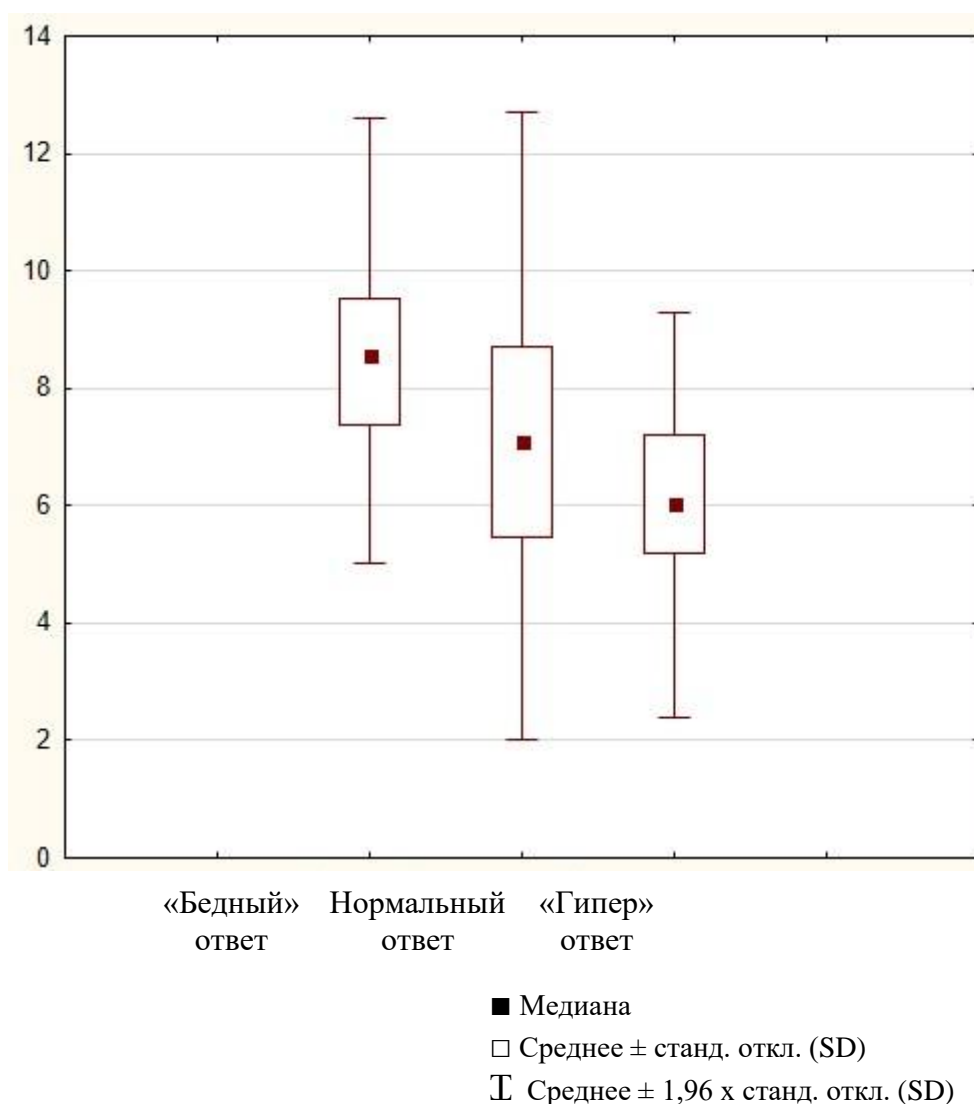


Рисунок 6 – Уровень ФСГ в исследованных группах.

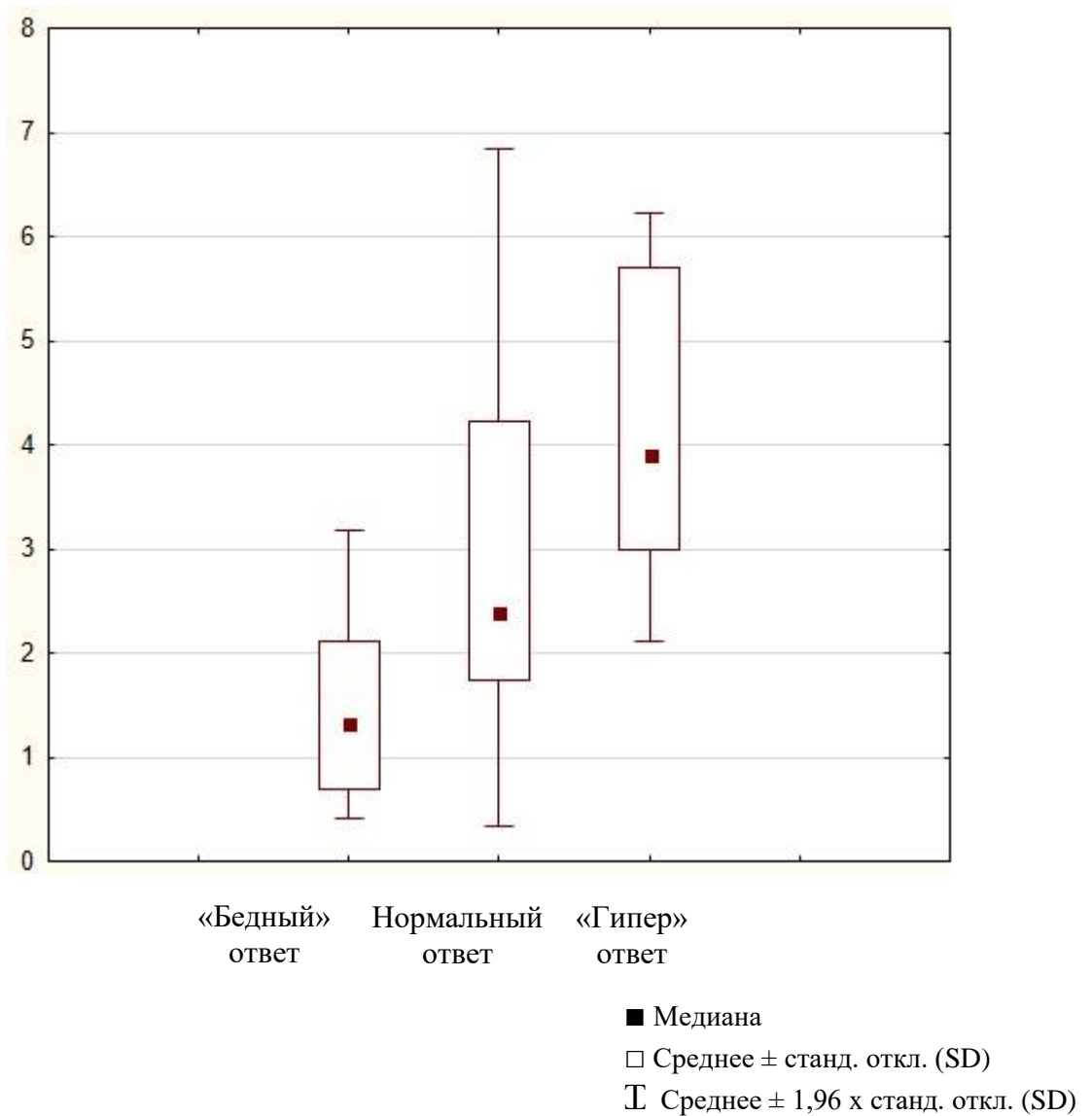


Рисунок 7 – Уровень АМГ в исследованных группах.

3.1.1 Характеристика менструальной функции пациенток, включенных в исследование

У всех обследованных пациенток отмечался регулярный менструальный цикл. Медиана возраста менархе составила в группе женщин с бедным ответом на стимуляцию овуляции 13[12-14,5] лет, в группе женщин с нормальным ответом на стимуляцию овуляции - 13[12,5-14] лет, в группе женщин с гиперответом на стимуляцию овуляции - 13[12-14] лет. Статистически значимых отличий между

исследованными группами по данному показателю выявлено не было ($H=0,5$; $p=0,56$) (Рисунок 8).

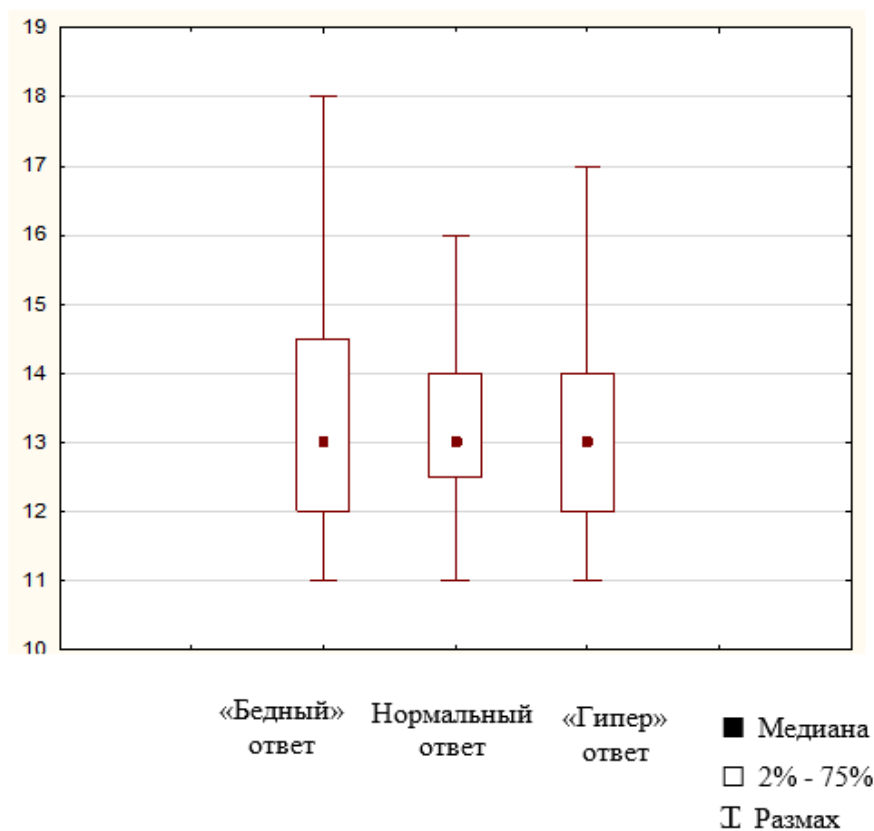


Рисунок 8 – Менархе в исследуемых группах.

При исследовании длительности менструации выявлено, что менструальное кровотечение длилось 5[4-6] дней в группе с бедным ответом на стимуляцию овуляции, 5[4-6] дней в группе женщин с нормальным ответом на стимуляцию овуляции и 5[5-6] дней в группе женщин с гиперответом на стимуляцию овуляции. Статистически значимых различий между группами выявлено не было ($H=0,85$; $p=0,65$) (Рисунок 9).

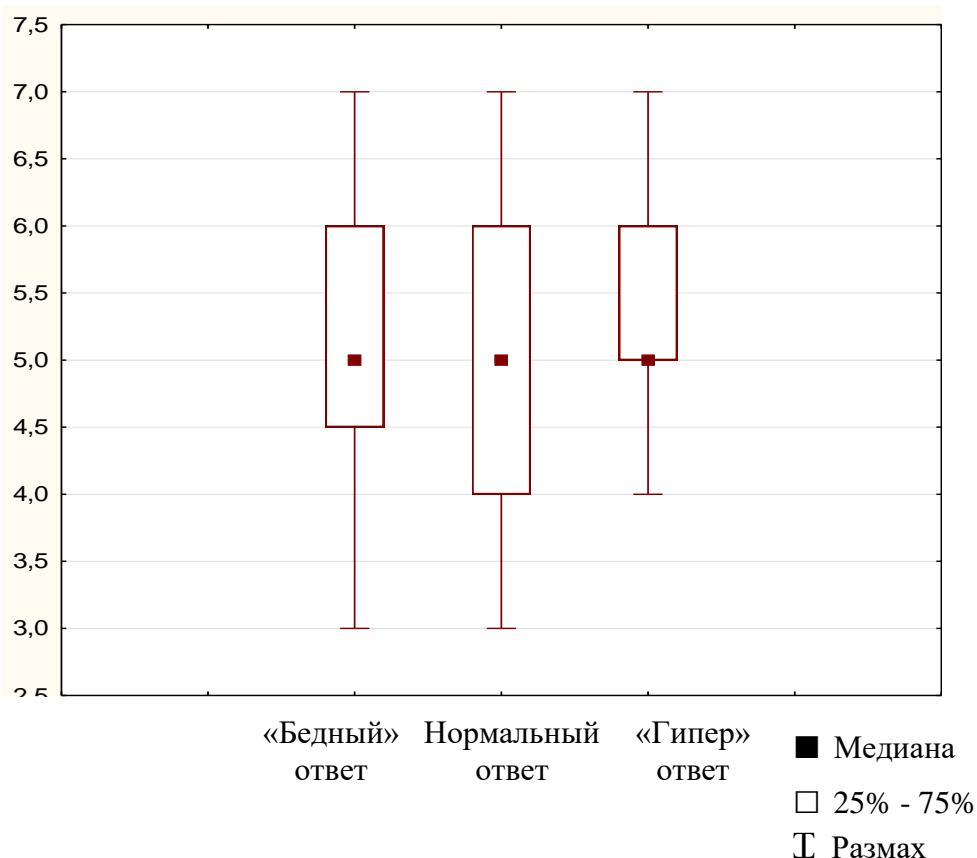


Рисунок 9 – Длительность менструации в исследуемых группах.

Длительность менструального цикла составляла 30[28-31] дней в группе пациенток с бедным ответом на стимуляцию овуляции, 30[29-31] дней в группе пациенток с нормальным ответом на стимуляцию овуляции, 30[29-31] дней в группе пациенток с гиперответом на стимуляцию овуляции. Статистически значимых различий между группами обследованных женщин по данному показателю также выявлено не было ($H=0,29$; $p=0,86$) (Рисунок 10). Данные о менструальной функции обследованных пациенток представлены в таблице 7.

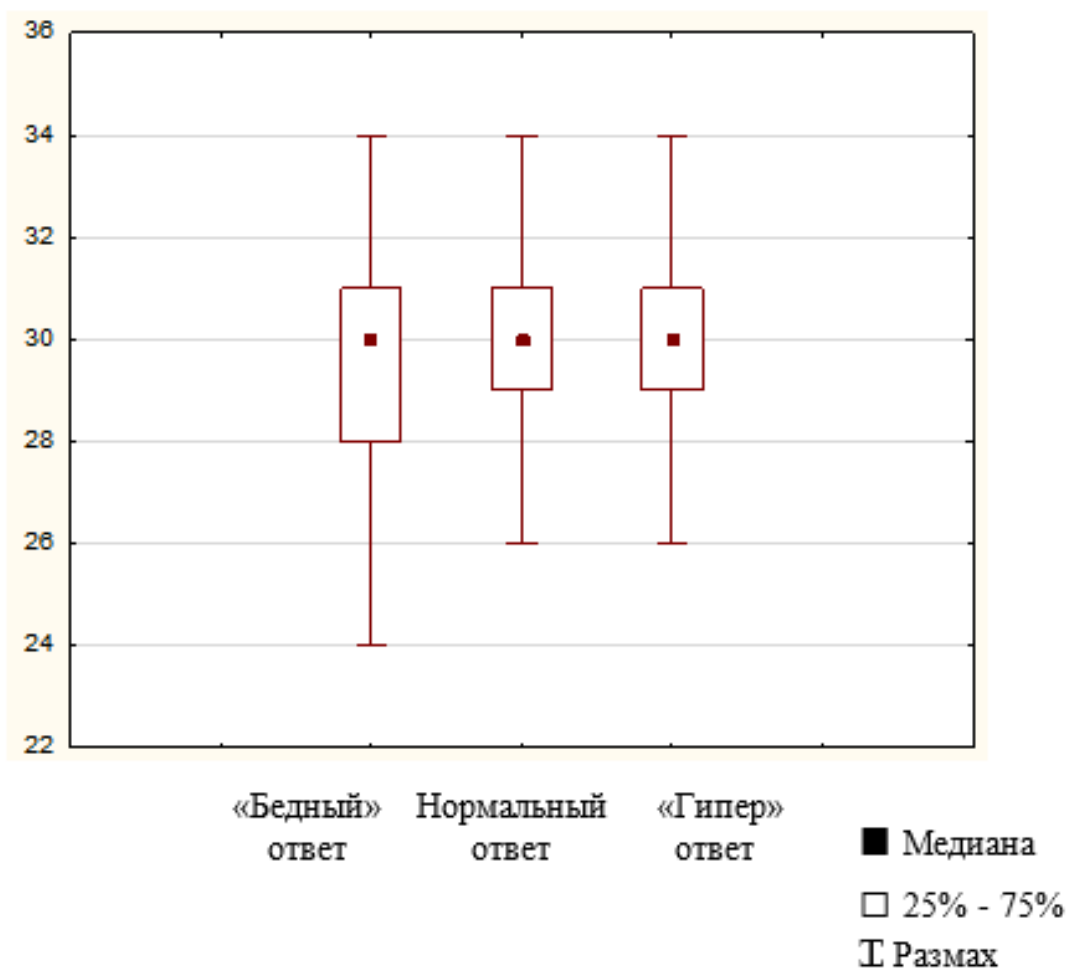


Рисунок 10 – Длительность менструального цикла в исследуемых группах.

Таблица 7 - Менструальная функция у женщин исследуемых групп

Овариальный ответ	Возраст менархе			Длительность менструации			Длительность менструального цикла		
	Min	max	Me [Q25-Q75]	Min	max	Me [Q25-Q75]	min	max	Me [Q25-Q75]
Бедный ответ	11	18	13[12-14,5]	3	7	5[4-6]	24	34	30[28-31]
Нормальный ответ	11	16	13[12,5-14]	3	7	5[4-6]	26	34	30[29-31]
Гиперответ	11	19	13[12-14]	3	7	5[5-6]	26	34	30[29-31]
Н, р	Н=0,5; р=0,56			Н=0,85; р=0,65			Н=0,29; р=0,86		

3.1.2 Анамнез перенесенных гинекологических заболеваний пациенток

Данные о перенесенных гинекологических заболеваний пациенток представлены на рисунке 11.

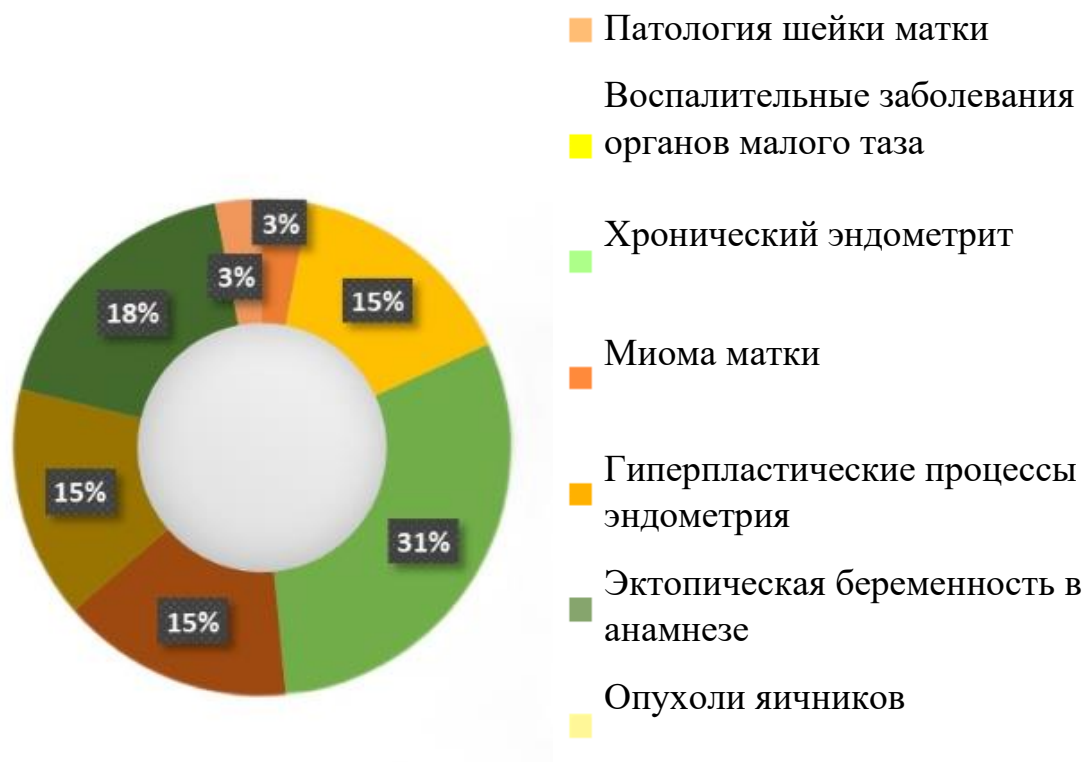


Рисунок 11 – Гинекологические заболевания в группе женщин с «бедным» ответом на стимуляцию овуляции.

У женщин с «бедным» ответом на стимуляцию овуляции выявлено 32 случая гинекологических заболеваний, среди которых патология шейки матки -1 (3%), опухоли яичников - 1 (3%), воспалительные заболевания органов малого таза – 5(15%), хронический эндометрит – 10 (31%), миома матки – 5 (15%), гиперпластические процессы эндометрия – 5 случаев (15%), внематочная беременность в анамнезе в 6(18%) случаев (Рисунок 11).

Пациенткам данной группы проведено 12 оперативных вмешательств на органах репродуктивной системы: тубэктомия – 10 (83%), миомэктомия и цистэктомия по 1 (8,5%) операции соответственно.

Данные о перенесенных оперативных вмешательствах на органах малого таза у пациенток представлены на рисунке 12.

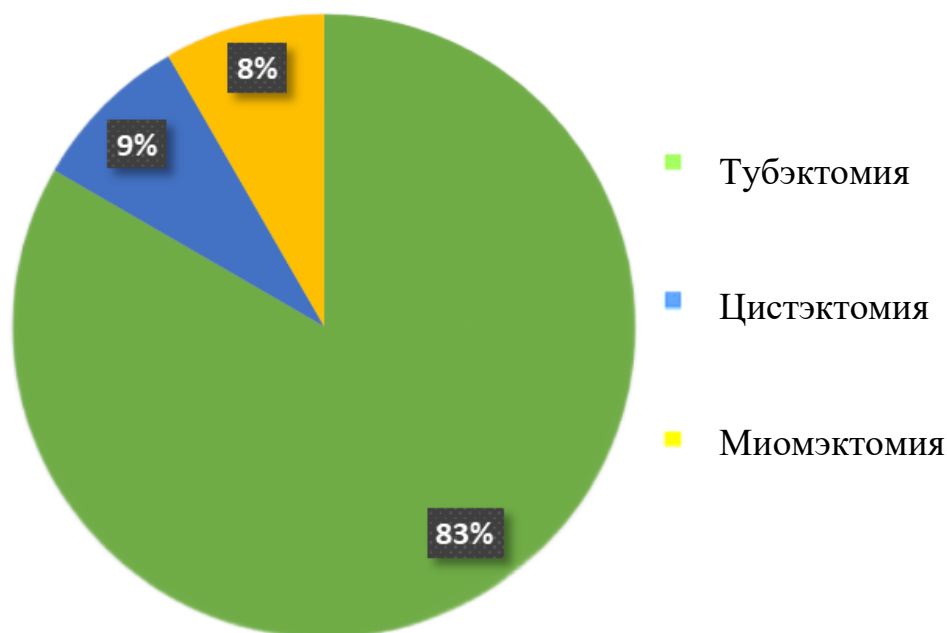


Рисунок 12 – Оперативные вмешательства в группе женщин с бедным ответом на стимуляцию овуляции.

В группе женщин с нормальным ответом на стимуляцию овуляции выявлено 122 гинекологических заболевания, среди которых патология шейки матки - 14 (11%), воспалительные заболевания органов малого таза - 27 (21%), хронический эндометрит – 25 (19%), миома матки – 6 (4%), гиперпластические процессы эндометрия – 28 (21%), опухоли яичников – 9 (7%) (Рисунок 13).

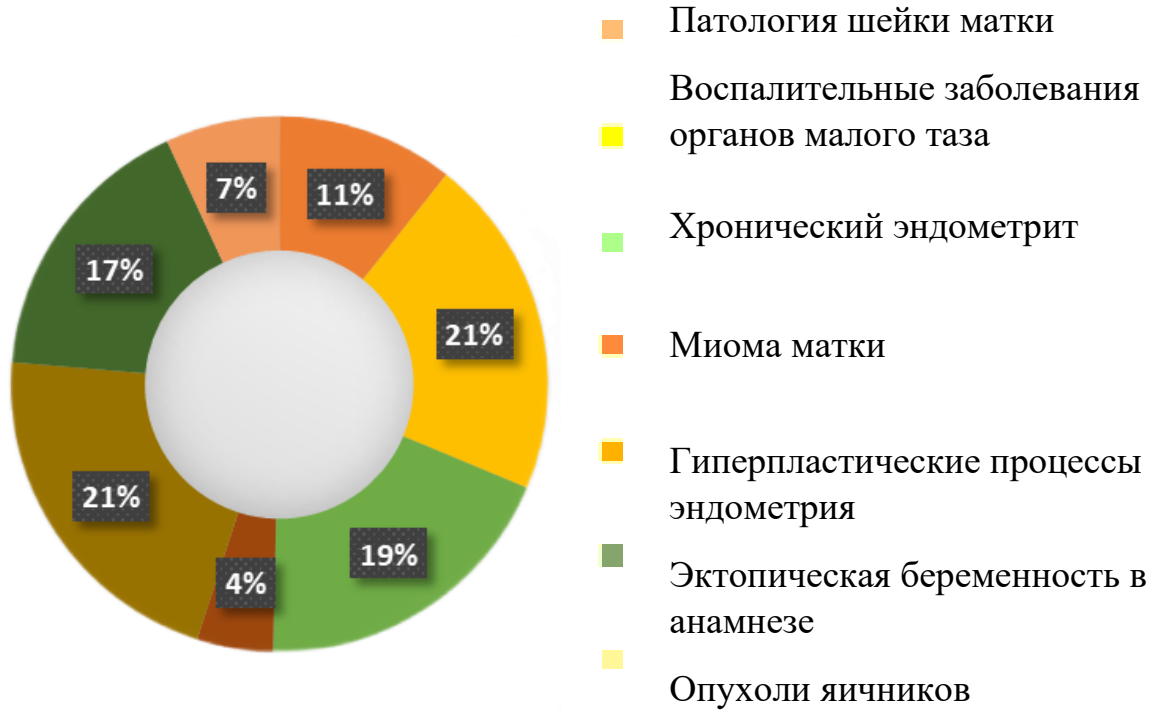


Рисунок 13 – Гинекологические заболевания в группе женщин с нормальным ответом на стимуляцию овуляции.

Женщинам данной группы было проведено 48 оперативных вмешательств на органах репродуктивной системы: тубэктомии – 35 (73%), цистэктомии – 9 (19%), миомэктомии – 4 (8%) (Рисунок 14).

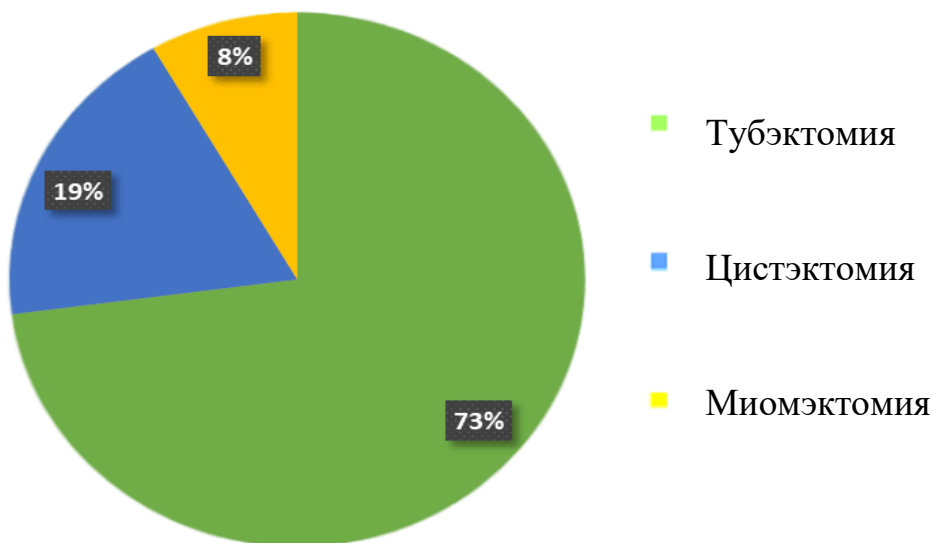


Рисунок 14 – Оперативные вмешательства в группе женщин с нормальным ответом на стимуляцию овуляции.

У пациенток группы гиперответа на стимуляцию овуляции выявлено 42 случая гинекологических заболеваний, среди которых: патология шейки матки – 6 (14%), воспалительные заболевания органов малого таза – 7 (17%), хронический эндометрит – 8 (19%), миома матки – 2 (5%), гиперпластические процессы эндометрия – 8 (19%), опухоли яичников – 3 (7%), внематочная беременность в анамнезе – 8 (19%) (Рисунок 15).

Женщинам данной группы проведено 16 оперативных вмешательств на органах малого таза, среди которых: тубэктомия 12 (75%), цистэктомия – 3 (19%), каутеризация яичников – 1 (6%) (Рисунок 16).

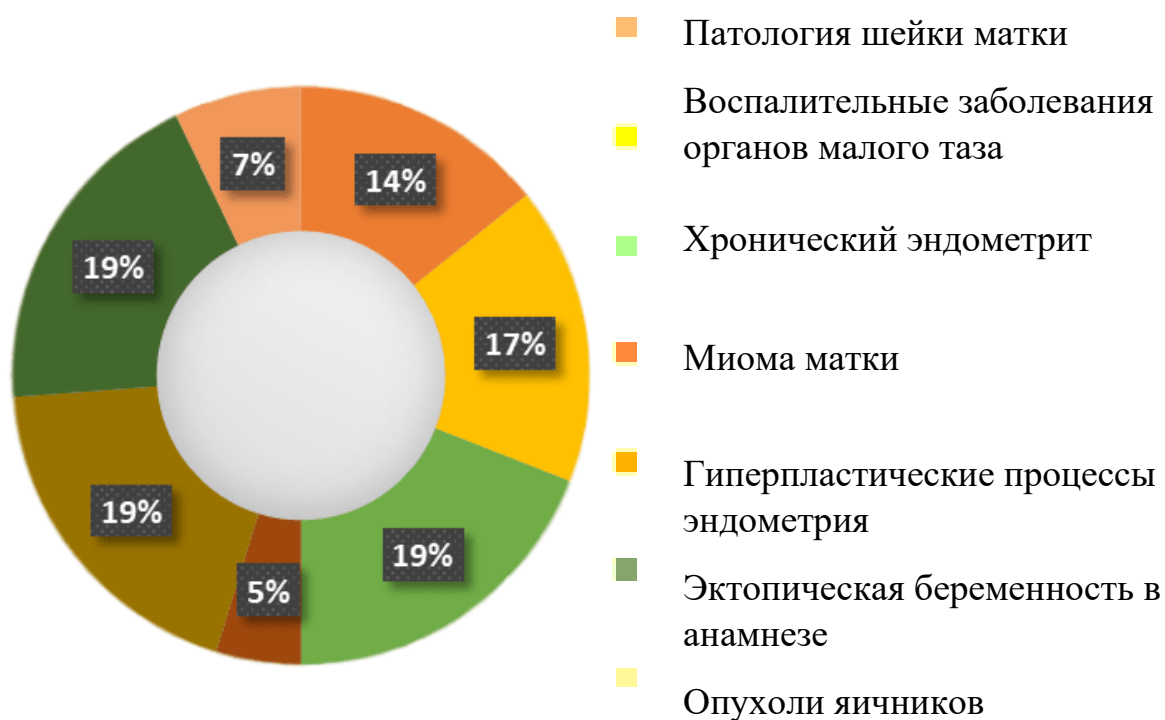


Рисунок 15 – Гинекологические заболевания в группе женщин с гиперответом на стимуляцию овуляции.



Рисунок 16 – Оперативные вмешательства в группе женщин с гиперответом на стимуляцию овуляции.

3.2 Эффективность и осложнения вспомогательных репродуктивных технологий

Проведен анализ 4 793 супружеских пар обследованных за период с 2018 по 2021 год с бесплодием и проведено 2821 процедуры ЭКО и ЭКО/ИКСИ, среди которых 2 167 случаев (76,8%) ЭКО без интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ) и 654 случаев (23,1%) ЭКО с ИКСИ. Беременность наступила у 831 женщины (29,4%), из них 646 после ЭКО (29,8%), 185 после ИКСИ (28,2%) (Таблица 8).

Таблица 8 - Наступление беременности и родов после процедур ЭКО и ИКСИ за 4-х летний период применения ВРТ

Год	ЭКО без ИКСИ	Беременность после ЭКО	Родов после ЭКО	ЭКО с ИКСИ	Беременность после ИКСИ	Родов после ИКСИ
2018	657	218 (33,1)	181 (83,0)	119	31 (26,1)	10 (32,3)
2019	485	144(29,6)	83(57,6)	162	55(33,9)	29(52,7)
2020	604	142(33,7)	56(60,5)	217	48(22,8)	42(87,5)
2021	421	142(33,7)	107(75,8)	156	51(32,6)	48(94,2)
Всего	2 167	646 (29,8)	427(66,1)	654	185 (28,2)	129(69,7)

Примечание: *Приведены абсолютные числа, в скобках - проценты

Проанализирован показатель наступления беременности в зависимости от причины бесплодия. Показатель клинической беременности составил 39,1% при женском факторе, 14,9% при наличии только мужского фактора, 23,9% в случае смешанных мужских и женских факторов и 22,1% при бесплодии неясного генеза.

При детальном рассмотрении причин женского бесплодия, оказалось, что наибольшая эффективность ВРТ отмечается при трубном факторе (40%), эндокринном (30,9%) и при сниженном овариальном резерве (10,3%). Самые низкие показатели беременности наблюдались при бесплодии маточного генеза (9,6%) и эндометриозе (9,2%).

По полученным данным наибольшее количество беременностей наступает в группе женщин до 35 лет, наименьшая эффективность процедур ВРТ отмечается в возрасте 40 лет и старше, что согласуется с литературными данными, новых закономерностей и тенденций не выявлено (Таблица 9).

Таблица 9 – Возрастная структура женщин и эффективность проведенных программ ЭКО

Возраст женщины	ЭКО		ИКСИ	
	Беременностей	Родов	Беременностей	Родов
≤ 34	64,6%	80,3%	69,4%	84,7%
35-39	28,3%	76,2%	26,6%	75,4%
≥ 40	7,1%	61,5%	4,1%	50,0%

Проведено 142 процедуры ЭКО в естественном цикле, наступило 70 беременностей, частота составила 49,3%.

Проведен анализ эффективности процедур ВРТ с использованием размороженных эмбрионов (Таблица 10).

Таблица 10 – Эффективность ВРТ с использованием размороженных эмбрионов

Год	ЭКО/ИКСИ с криоциклами	Беременности	Роды
2018	347	162 (46,7%)	118(72,8%)
2019	390	159(40,7%)	116(72,9%)
2020	523	184(35,8)	120(65,2)
2021	435	168(38,6)	135(80,3)
Всего	1695	673(39,7)	489(72,3)

Проведено 1 695 процедур криопереноса, беременность в 39,7%, роды 72,3%.

В результате освоения и внедрения в практику витрификации ооцитов проведено 104 программ с разморозкой ооцитов, оплодотворение методом ИКСИ. Все программы завершились рождением здоровых детей.

Кроме того, проведено 94 программ ЭКО+ИКСИ+ТЕЗА – метод, который применяется при тяжелых формах мужского бесплодия, когда сперматозоиды отсутствуют в эякуляте, проводится биопсия ткани яичек и извлекаются сперматозоиды для проведения программы ИКСИ. В результате применения данной программы наступило 50 клинических беременностей, что составило 53% эффективности. Все эти программы закончились рождением детей (50 родов).

Проведено 43 циклов по программе «Суррогатное материнство», получено 19 клинических беременностей, одним плодом - 17, двойней-1, родились 16 детей. В одном случае в роли суррогатной мамы была бабушка, которая в 47лет родила девочку для своей дочери.

3.3 Клинические и генетические предикторы овариального ответа при проведении контролируемой стимуляции овуляции

Проведен анализ в период с 2006 по 2021 г. и выявлено 147 женщин с СГЯ (синдромом гиперстимуляции яичников, что составило 2,3%; случаи, потребовавшие госпитализации, составили 53 (0,8%), что сопоставимо с показателями Российской ассоциации репродукции человека, по данным которой частота СГЯ, потребовавшая госпитализации, в среднем по России в 2019 г. составила 359 (0,2%) случаев, в 2018г. – 407(0,3%) случаев [7,8]. В мире, по данным Европейского общества репродукции человека и эмбриологии, в 2016 и 2017г. частота таких случаев была схожей с данными Российской ассоциации репродукции человека – 0,2% [182].

СГЯ тяжёлой степени (клинический асцит, гидроторакс, артериальная гипотензия, ортостатическая олигурия, размер яичников > 12см) диагностирован в 5(9,4%) случаях, СГЯ средней степени тяжести (умеренная боль в животе, тошнота, рвота, асцит по данным ультразвукового исследования, яичники размером 8–12см) – в 48 (90,6%). В остальных случаях определялся СГЯ лёгкой степени, который сопровождался вздутием живота и незначительным болевым

синдромом. При лёгком течении не всегда выставляют диагноз СГЯ, что затрудняет оценку частоты заболевания, поэтому в рамках настоящей работы оценивали частоту случаев среднего и тяжёлого течения, что может исказить распространённость СГЯ по сравнению с данными других авторов. Частота тяжёлых случаев СГЯ варьировала от 0,4 до 2,4%. С 2014 г. отмечено снижение количества случаев СГЯ, которые требовали госпитализации пациенток. Кроме того, проведён поиск корреляций между уровнем гормонов обследованных пациенток и ответом яичников на стимуляцию овуляции в протоколах ЭКО. Получены статистически значимые отличия уровня гормонов в группе пациенток с гиперстимуляцией яичников. Уровень АМГ в данной группе оказался выше по сравнению с пациентками, у которых в результате стимуляции овуляции получено менее 15 фолликулов ($H=31,4$; $p=0,00001$; Таблица 11).

Таблица 11 – Средние значения уровней гормонов у обследованных женщин, Ме (Q25-Q75)

Выборки	АМГ, нг/мл	ФСГ, мМЕ/мл	ЛГ, мМЕ/мл	Эстрадиол, пг/мл	Прогестерон, нмоль/л
Гиперответ	12,7 (4–21,4)*	6,05 (5,2–7,2)*	6,2 (4,4–10,4)	56 (36,3–115)	6,28 (1,29–26,7)
Бедный ответ	1,1 (0,6–3,02)	8,56 (7,3–9,5)	4,6 (3,44–5,5)	63,35 (42,8–154)	8,24 (5,6–11,84)
Нормальный ответ	2,1 (1,3–3,5)	7,4 (5,7–8,7)	5 (3,47–9,2)	75,5 (39,95–142)	11,2 (5–17,78)
Тест Краскела–Уоллиса	$H=31,4$; $p \leq 0,0001$	$H=9,4$; $p=0,009$	$H=1,99$; $p=0,9049$	$H=1,71$; $p=0,4251$	$H=0,657$; $p=0,7200$
Медианный тест	$\chi^2=17,07$; $df=2$; $p=0,0002$	$\chi^2=8,3$; $df=2$; $p=0,0157$	$\chi^2=0,34$; $df=2$; $p=0,8428$	$\chi^2=2,94$; $df=2$; $p=0,2300$	$\chi^2=0,476$; $df=2$; $p=0,7881$

Продолжение таблицы 11

Тест Манна-Уитни	U1=159,0; p1=0,046	U1=154,0; p1=0,036	U1=177,5; p1=0,52	U1=13,0; p1=0,00002	U1=137,0; p1=0,94 U2=139,0; p2=0,41 U3=54,0; p3=0,72
	U2=134,0; p2=0,002	U2=159,0; p2=0,046	U2=238,0; p=0,72;	U2=234,5; p2=0,29	
	U3=9,0; p3=0,0008	U3=19,0; p3=0,006	U3=48,5; p3=0,46	U3=10,0; p3=0,0004	

Примечание: U1, p1- сравнение показателей группы с гиперответом и нормальным ответом; U2, p2- сравнение показателей группы с бедным ответом и нормальным ответом; U3, p3-сравнение группы с гиперответом и бедным ответом на стимуляцию овуляции

При сравнении уровня АМГ между группами выявлены статистически значимые отличия. Так, в группе с гиперответом уровень АМГ статистически значимо превышал уровень данного гормона в группе с нормальным ответом на стимуляцию овуляции. В свою очередь, в группе с бедным ответом на стимуляцию овуляции уровень АМГ оказался статистически значимо ниже по сравнению как с группой с нормальным ответом на стимуляцию овуляции, так и с группой гиперстимуляции (Рисунок 17, 18, 19).

Уровень ФСГ статистически значимо отличался во всех трех группах. В группе с гиперответом он был значимо ниже, чем в группах с нормальным и бедным ответом на стимуляцию овуляции. В группе с нормальным ответом на стимуляцию овуляции уровень данного гормона был статистически значимо ниже, чем в группе с бедным ответом на стимуляцию овуляции (Рисунок 20, 21, 22).

Уровень эстрадиола в группе с гиперответом оказался статистически значимо ниже, чем в группах с нормальным и бедным ответом на стимуляцию овуляции, при этом значимых отличий по уровню данного гормона между группами с нормальным и бедным ответом на стимуляцию овуляции выявлено не было (Рисунок 23, 24).

При оценке уровня таких гормонов как ЛГ и прогестерон, статистически значимых отличий между группами выявлено не было.

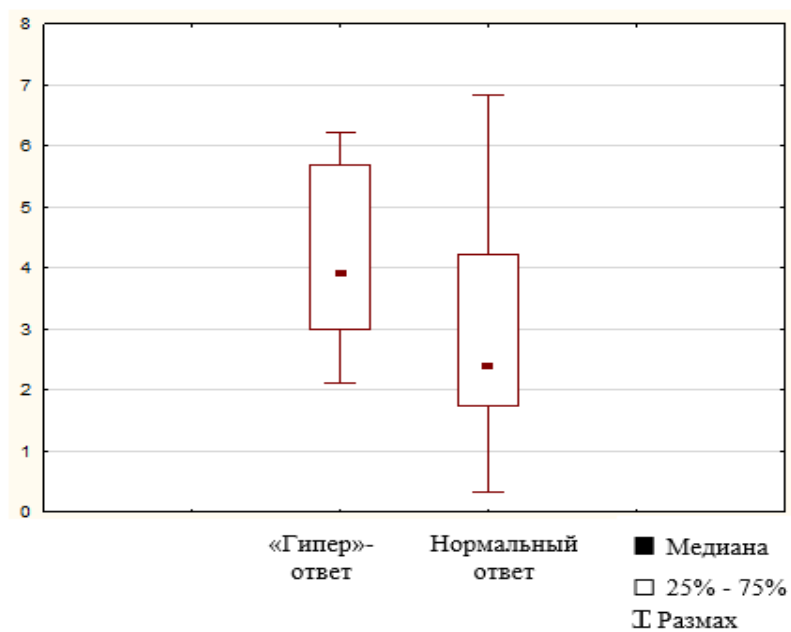


Рисунок 17 – Уровень АМГ в группах с гипер ответом и нормальным ответом на стимуляцию овуляции $U_1=159,0$; $p_1=0,046$.

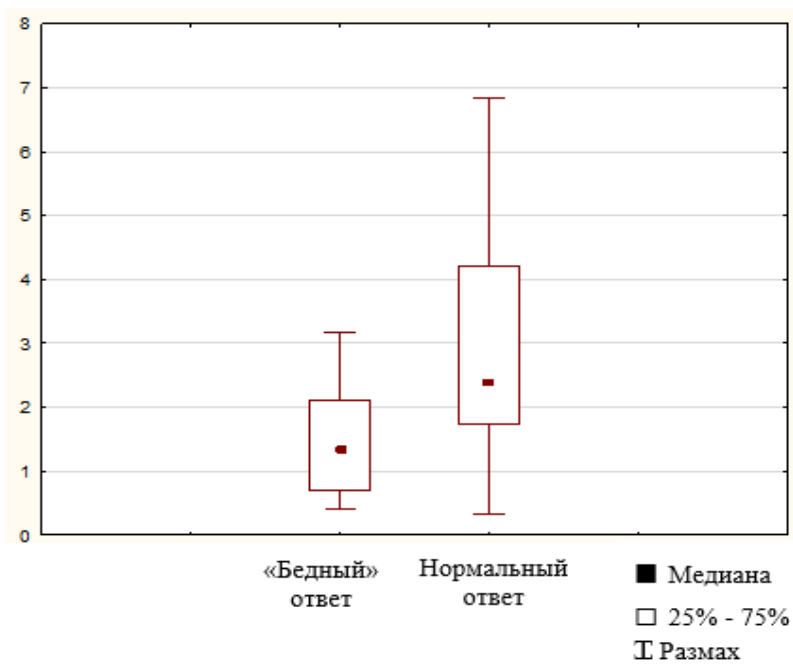


Рисунок 18 – Уровень АМГ в группах с бедным и нормальным ответом на стимуляцию овуляции $U_2=134,0$; $p_2=0,002$.

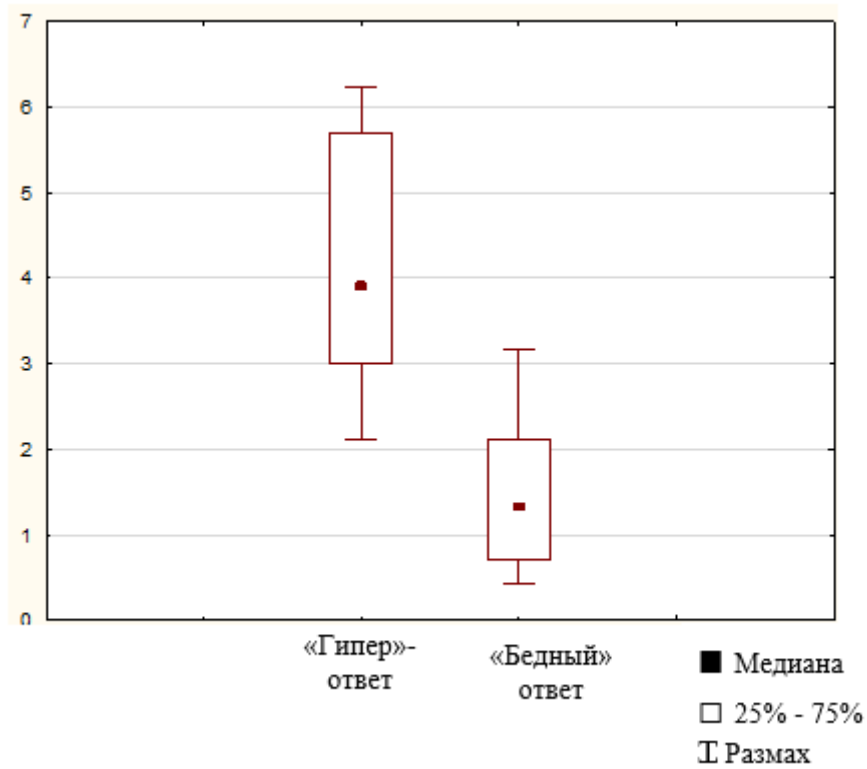


Рисунок 19 – Уровень АМГ в группах с гипер и «бедным» ответом на стимуляцию овуляции $U_3=9,0$; $p_3=0,0008$.

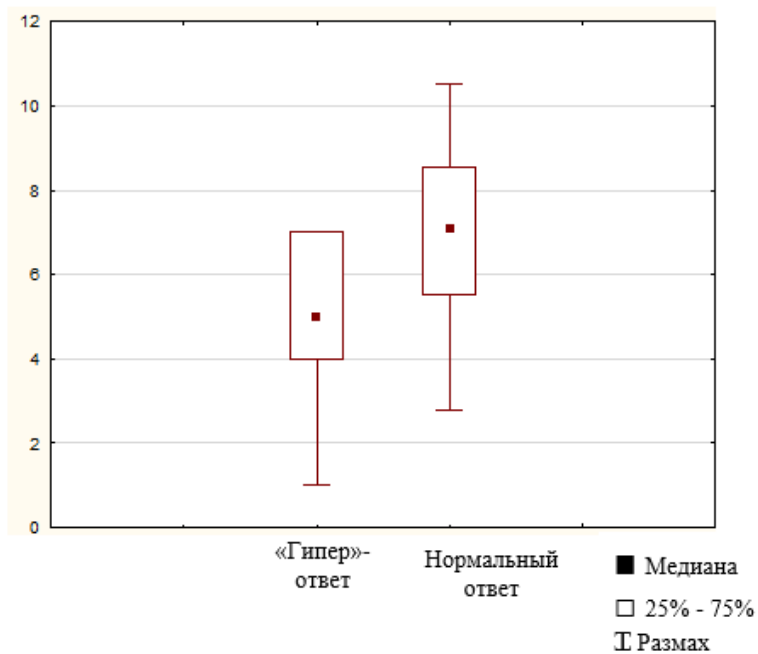


Рисунок 20 – Уровень ФСГ в группах с гипер и нормальным ответом на стимуляцию овуляции $U_1=154,0$; $p_1=0,036$.

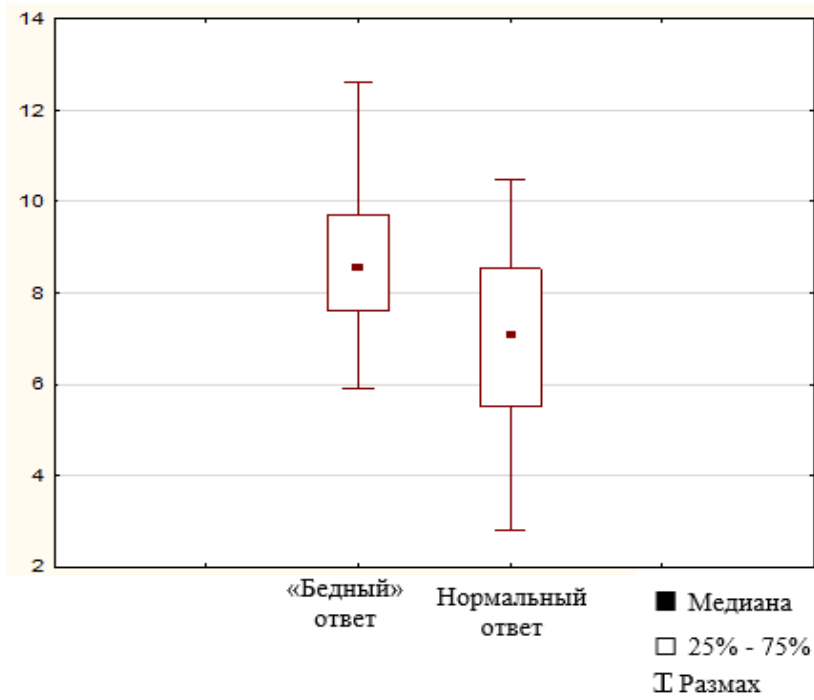


Рисунок 21 – Уровень ФСГ в группах с бедным ответом и нормальным ответом на стимуляцию овуляции $U_2=159,0$; $p_2=0,046$.

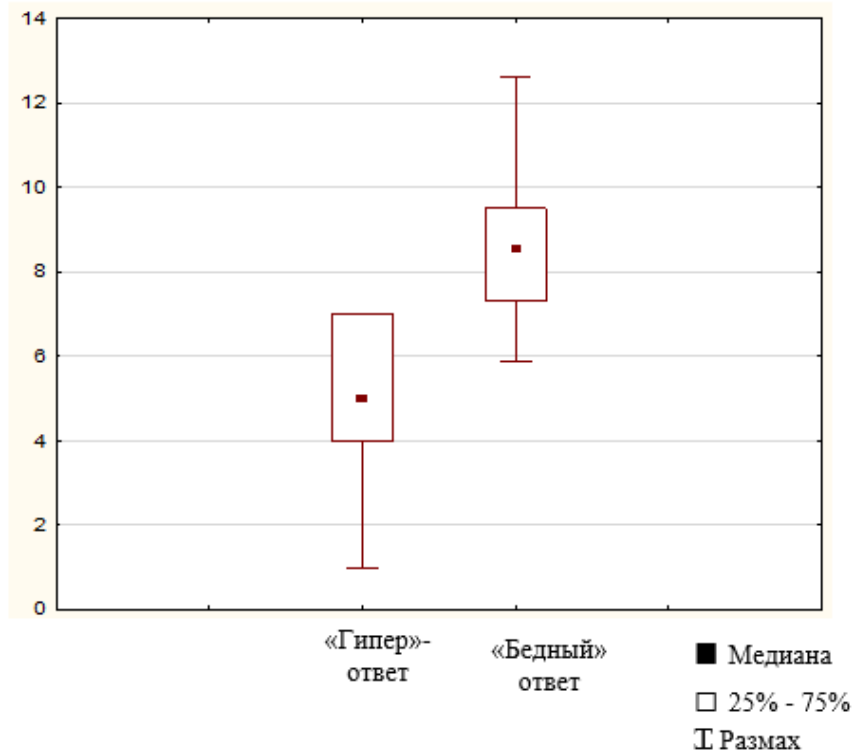


Рисунок 22 – Уровень ФСГ в группах с гипер и бедным ответом на стимуляцию овуляции $U_3=19,0$; $p_3=0,006$.

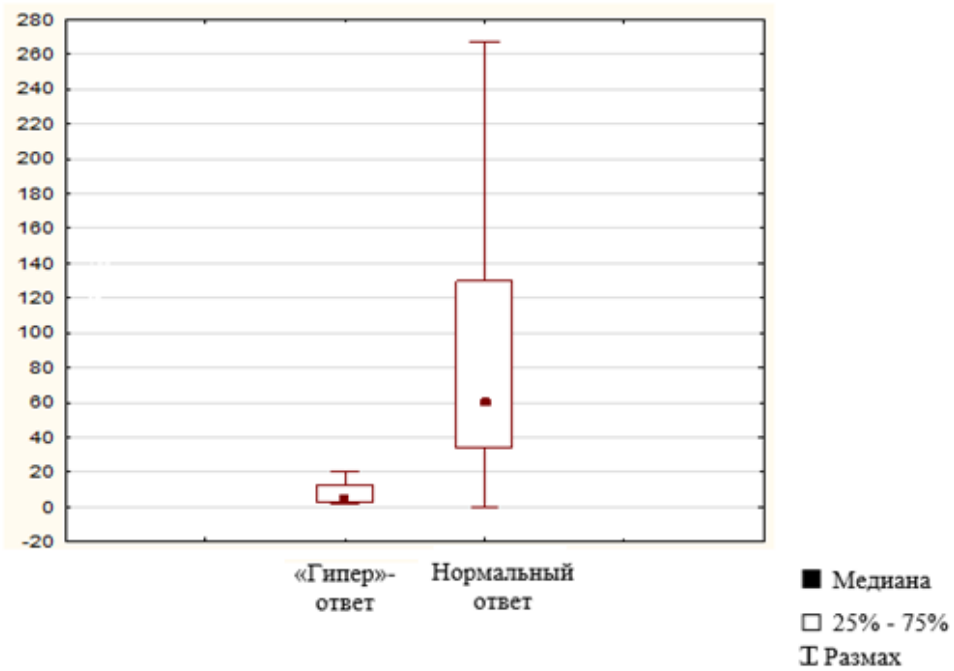


Рисунок 23 – Уровень эстрадиола в группах с гипер и нормальным ответом на стимуляцию овуляции $U_1=13,0$; $p_1=0,00002$.

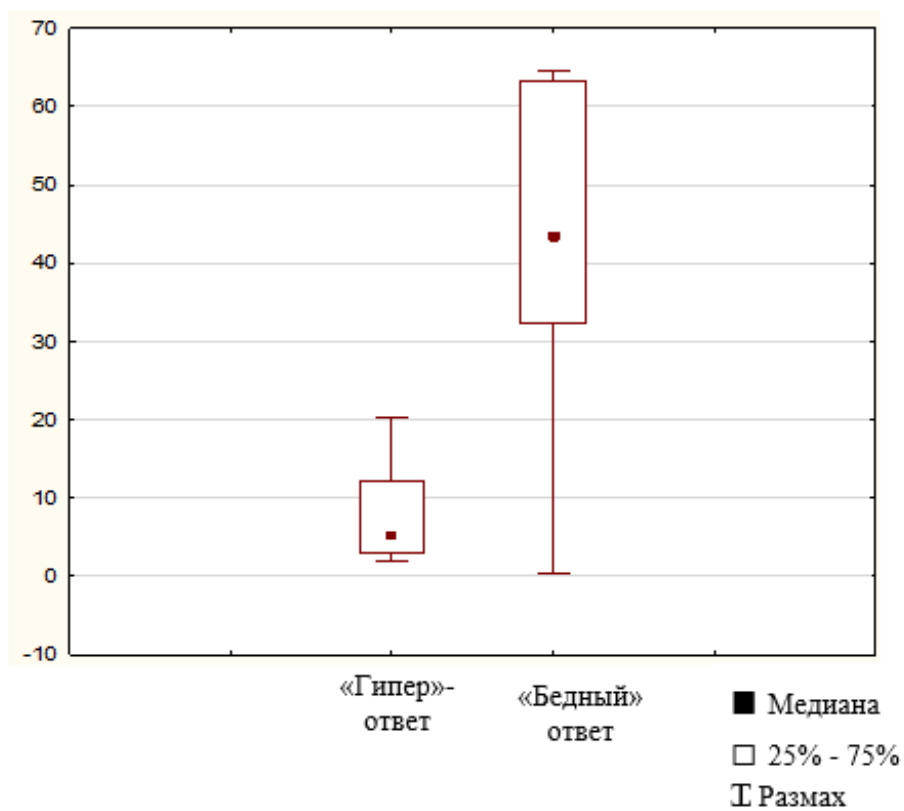


Рисунок 24 - Уровень эстрадиола в группах с гипер и «бедным» ответом на стимуляцию овуляции $U_3=10,0$; $p_3=0,0004$.

Анализ клинических характеристик пациенток со средней и тяжёлой степенью СГЯ выявил ряд общих закономерностей. Пациентки, у которых СГЯ протекал в тяжёлой форме, имели избыток массы тела в 3 случаях, в 2 случаях у женщин было ожирение 1-й степени (индекс массы тела составил 31 кг/м²). Все пациентки находились под наблюдением с диагнозом СПКЯ, имели стаж бесплодия от 4 до 8 лет.

По данным лабораторного исследования перед началом протокола стимуляции отмечено повышение содержания ЛГ по сравнению с ФСГ, уровень ФСГ колебался в пределах 4,15 – 7,02 мМЕ/мл, ЛГ - 4-11,3 мМЕ/мл, эстрадиола – 35–59 пг/мл, АМГ – 4–21,4 нг/мл. У этих женщин был использован протокол с антагонистами ГнРГ.

Контролируемую овариальную стимуляцию проводили рекомбинантным ФСГ: среднесуточная доза 125-175 МЕ, среднекурсовая доза 900–1500 МЕ. Триггером овуляции в 3 случаях был агонист ГнРГ (трипторелин 0,2 мг/мл), в двух остальных случаях – гонадотропин хорионический 10 000 МЕ.

В одном случае было получено 50 ооцитов, отменён перенос эмбрионов, проведена витрификация 1 эмбриона на 5-е сутки, остальные эмбрионы не подлежали заморозке ввиду низкого качества. Данная пациентка была госпитализирована в стационар с диагнозом СГЯ средней степени тяжести (геморрагический асцит и серозный перитонит). По выходу из этого состояния был проведён криоперенос, получена беременность, подтверждённая ультразвуковым исследованием.

Четверо пациенток были госпитализированы в отделение реанимации с диагнозом СГЯ тяжёлой степени, из них 2 пациенткам был проведён перенос эмбрионов, диагностированы беременности. В 1 случае беременность замерла на сроке 9 недель, в 1 случае проведено прерывание многоплодной беременности (двойня) по медицинским показаниям. Данные были зарегистрированы в 2007 г. В 2 других случаях перенос эмбрионов не проводили, пациентки были выписаны из отделения реанимации в удовлетворительном состоянии.

Остальные 48 пациенток находились под наблюдением с СГЯ средней степени тяжести в отделении гинекологии. Всем был назначен протокол с антагонистом ГнРГ и заменой триггера овуляции на агонист ГнРГ (трипторелин 0,2мг/мл), получено от 15 до 31 ооцита.

Во всех случаях был отменён перенос эмбрионов, проведена витрификация полученных эмбрионов. 9 пациенток имели индекс массы тела до 25 кг/м², у 5 женщин выявлен избыток массы тела (индекс массы тела 25–29кг/м²), остальные имели индекс массы тела более 30 кг/м². Уровни гормонов на момент взятия в протокол ЭКО: ФСГ колебался от 2,8 до 11,9 мМЕ/мл, ЛГ – в пределах 1,28-12,2 мМЕ/мл, АМГ – 10,67–19,1нг/мл. В дальнейшем применяли протоколы криопереноса, роды произошли у 15 (31,2%) пациенток здоровыми доношенными детьми. СГЯ критической степени не было.

Проведено исследование полиморфных вариантов rs2293275 гена рецептора ЛГ/хориогонадотропина (*LHCGR*), rs6166 гена рецептора ФСГ (*FSHR*), rs10491279 и rs254286 гена дифференциального фактора роста 9 (*GDF9*), а также поиск ассоциаций с различным ответом на стимуляцию овуляции.

Ген *LHCGR* расположен на коротком плече (p) хромосомы 2 в положении 16.3. Он кодирует рецептор как ЛГ, так и хориогонадотропного гормона. Этот ген экспрессируется в различных типах клеток яичника, включая тека-клетки и дифференцированные клетки гранулёзы. Считают, что *LHCGR* передаёт сигналы, опосредованные ЛГ, которые играют решающую роль в процессе овуляции [161]. Следовательно, если возникает повышенная реакция на уровень циркулирующего ЛГ, нарушаются нормальное развитие фолликулов и овуляция.

Изученный полиморфный вариант rs2293275 находится в 10-м экзоне гена, что приводит к замене аспарагина серином (Asn312Ser) в белке *LHCGR*. Полагают, что женщины с вариантом Asn (*AA) обладают более высокой чувствительностью к гормонам [86].

При исследовании уровня ЛГ у пациенток с различными генотипами локуса Asn312Ser rs2293275 этого гена с применением критерия Краскела-Уоллиса и

медианного теста не было выявлено различий, однако отмечено увеличение уровня ЛГ у женщин с генотипами *AG и *GG, различия имеют характер тенденции ($\chi^2=2,376812$; $df=2$; $p=0,3047$; $p=0,19$) (Рисунок 25).

Рецептор ФСГ (FSHR) участвует в регуляции развития и созревания фолликулов и ооцитов, стимулируя синтез эстрогенов, эстрадиола и прогестерона гранулезными клетками и тека-клетками. Его ген расположен на коротком плече 2-й хромосомы в области [175,186]. Полиморфный вариант rs6166— замена аденина на гуанин в положении 2039 гена приводит к изменению аминокислотной последовательности в кодоне 680, где происходит замена аспарагина на серин (p.Asn680Ser) во внутриклеточной части рецептора. Считают, что существует повышенная чувствительность к гормонам у носителей аспарагина [186].

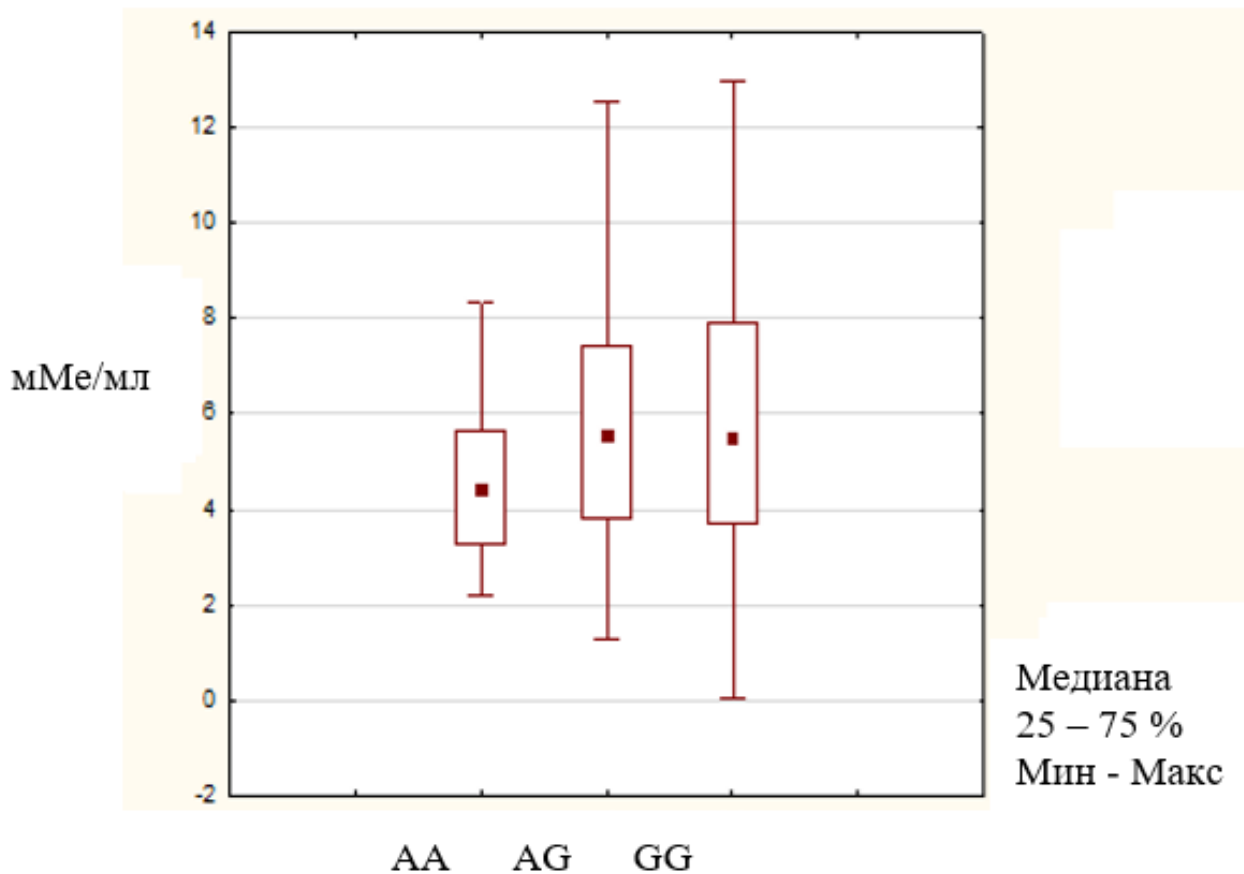


Рисунок 25 – Уровень лютеинизирующего гормона в группах женщин с различными генотипами локуса Asn312Ser rs2293275 гена *LHCGR*.

Аллель *G полиморфизма rs6166 гена *FSHR* чаще встречался у женщин с бедным ответом, тогда как у пациенток с нормальным ответом и гиперстимуляцией его частота уменьшалась до 0,475 и 0,375 соответственно, однако различия не достигли статистической значимости. В группе женщин с гиперответом яичников частота генотипа *AA достигала 0,375, наименьший показатель выявлен у женщин с бедным ответом — 0,15, у пациенток с нормальным ответом его частота имеет промежуточное значение — 0,275. По частоте генотипа *GG выявлена обратная тенденция (см. Таблицу 11).

Фактор дифференцировки роста 9 (*GDF9*) – член семейства трансформирующего фактора роста β , участвует в пролиферации и дифференцировке гранулёзных и тека-клеток, регулирует развитие фолликулов и овуляцию. Ген *GDF9* расположен на 5-й хромосоме в области 31.1. Нами изучены два синонимичных варианта, расположенных в кодирующих регионах гена, ранее ассоциированные с вариантами ответа яичников в различных популяциях мира [173]. Распределение частот аллелей и генотипов локуса rs10491279 гена *GDF9* сопоставимо в группах сравнения, не выявлено статистически значимых различий (Таблица 12).

Таблица 12 – Распределение частот аллелей и генотипов изученных локусов генов-кандидатов у женщин с различным ответом на стимуляцию овуляции

Группы	Бедный ответ	Нормальный ответ	χ^2 ; p;	Гиперответ	χ^2 ; p
rs2293275 (c.935A>, p. Asn312Ser) гена LHCGR					
N	27	84	–	29	–
*G	36 (0,667)	115 (0,685)	0,06; 0,4	37 (0,638)	0,42; 0,26
*A	18 (0,333)	53 (0,315)		21 (0,362)	
*GG	12 (0,414)	40 (0,476)	0,004; 0,47	13 (0,448)	0,002; 0,48
*GA	12 (0,414)	35 (0,417)	0,0009; 0,49	11 (0,379)	0,018; 0,45
*AA	3 (0,172)	9 (0,107)	0,09; 0,4	5 (0,172)	0,35; 0,28

Продолжение таблицы 12

rs6166 (с.2039A>G, р.Asn680Ser) гена <i>FSHR</i>					
N	20	80	–	16	–
*A	18 (0,45)	84 (0,525)	0,45; 0,25	20 (0,625)	0,71; 0,2
*G	22 (0,55)	76 (0,475)		12 (0,375)	
*AA	3 (0,15)	22 (0,275)	0,93; 0,17	6 (0,375)	0,34; 0,25
*GA	12 (0,6)	40 (0,5)	0,93; 0,17	8 (0,5)	0,25; 0,31
*GG	5 (0,25)	18 (0,225)	0,004; 0,48	2 (0,125)	0,32; 0,29
rs10491279 (с.546G>A, р.Glu182 Glu) гена <i>GDF9</i>					
N	20	79	–	16	–
*G	32 (0,8)	137 (0,867)	0,68; 0,21	27 (0,844)	0,0004; 0,49
*A	8 (0,2)	21 (0,133)		5 (0,156)	
*GG	13 (0,65)	60 (0,759)	0,5; 0,24	11 (0,688)	0,08; 0,38
*GA	6 (0,3)	17 (0,215)	0,26; 0,31	5 (0,312)	0,27; 0,3
*AA	1 (0,05)	2 (0,026)	0,01; 0,45	0	–
rs254286 (с.447C>T, р.Thr149Thr) гена <i>GDF9</i>					
N	20	79	–	16	–
*C	15 (0,375)	71 (0,449)	0,91; 0,17	15 (0,469)	0,00038; 0,49
*T	25 (0,625)	87 (0,551)		17 (0,531)	
*CC	0	17 (0,215)	3,47; 0,025; p-FDR=0,0525	3 (0,188)	0,08; 0,46
*CT	15 (0,75)	37 (0,468)	4,00; 0,02; p-FDR=0,04	9 (0,563)	0,17; 0,34
*TT	5 (0,25)	25 (0,317)	0,09; 0,38	4 (0,249)	0,05; 0,41

Примечание: частота аллелей и генотипов приведена в абсолютных числах, в скобках – удельный вес; n – количество пациентов

Зарегистрировано снижение частоты аллеля *C полиморфного локуса rs254286 гена *GDF9* у женщин с бедным ответом (0,375) по сравнению с группой женщин с нормальным ответом (0,551) и гиперответом (0,531), различия не достигают статистической значимости (Таблица 12). При этом в группе женщин с бедным ответом на стимуляцию не выявлен гомозиготный генотип по аллелю *C, тогда как его частота достигала 0,215 у женщин с нормальным ответом и

составила 0,188 у пациенток с гиперответом.

Выявлены статистически значимые различия по частоте гетерозиготного генотипа *СТ между группами с бедным и нормальным ответом на стимуляцию. Генотип *СТ оказался фактором риска бедного ответа яичников на стимуляцию овуляции ($\chi^2=4,00$; $p=0,02$; $p\text{-FDR}=0,04$; отношение шансов 3,4; 95% доверительный интервал 1,13–10,27 (см. Таблицу 12).

Проведен поиск ассоциаций уровня гормонов с генотипами изученных локусов генов *LHCGR*, *FSHR* и *GDF9*. При исследовании уровня гормонов у пациенток с различными генотипами локуса rs254286 гена *GDF9* с применением критерия Краскела–Уоллиса и медианного теста не было выявлено статистически значимых различий, однако отмечена динамика увеличения уровня АМГ у женщин с генотипами *ТТ локуса rs254286 гена *GDF9*, различия носят характер тенденции ($\chi^2=5,57$; $df=2$; $p=0,0617$; (Рисунок 26)). Линейное изменение уровня АМГ может свидетельствовать об участии данного локуса в регуляции уровней данного гормона. Анализ уровней гормонов в зависимости от генотипов других локусов не выявил линейных закономерностей.

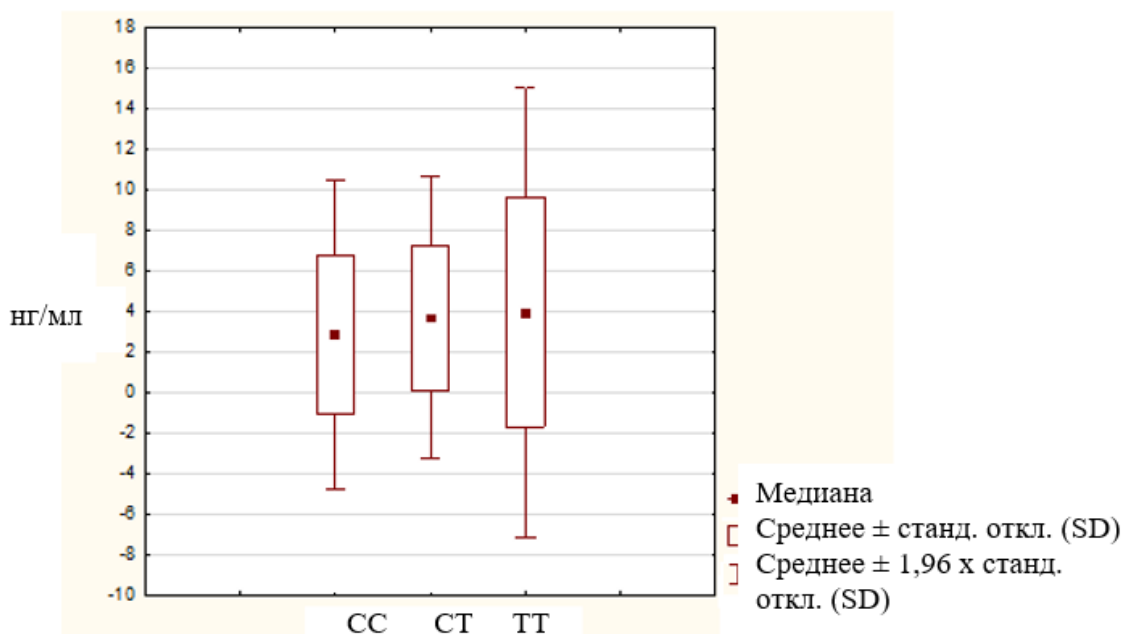


Рисунок 26 – Уровень антимюллера гормона в группах женщин с различными генотипами локуса rs10491279 гена *GDF9*.

Таким образом, выявлены случаи СГЯ с тяжёлым и среднетяжёлым течением, что требует проведения мероприятий по профилактике осложнений применения ВРТ. Обнаружено статистически значимое увеличение уровня АМГ (12,7нг/мл) у женщин с СГЯ и снижение содержания ФСГ (6,05мМЕ/мл) по сравнению с пациентками с бедным ответом яичников на стимуляцию в циклах ЭКО.

Генотип *СТ полиморфного локуса rs254286 гена *GDF9* – маркер бедного ответа яичников на стимуляцию овуляции, что требует назначения большей стартовой дозы гонадотропинов. У женщин с бедным ответом на стимуляцию овуляции с генотипом *СТ локуса rs254286 гена *GDF9* выявлен статистически значимый низкий уровень АМГ (2,9нг/мл) по сравнению с таковым у пациенток с нормальным ответом на стимуляцию овуляции.

По данным отчёта Европейского общества мониторинга ЭКО Европейского общества репродукции человека и эмбриологии за 2021г., СГЯ был зарегистрирован в 1,0% (0,02-2,2%) лечебных циклов. По данным Кокрейновской базы данных (2017), частота СГЯ составляет от 20 до 33% лёгкой степени тяжести и от 3 до 8% средней и тяжёлой степени. Таким образом, частота СГЯ в расчёте на лечебный цикл составила 1,73% (ежегодные колебания от 1,1 до 4,7%) [21].

Частота СГЯ средней и тяжёлой степени в программах ВРТ соответствует общей картине, существующей на сегодняшний день в мире, однако необходимо разработать реестр по учёту всех случаев СГЯ независимо от тяжести протекания, так как не все случаи СГЯ лёгкой степени зафиксированы.

СГЯ тяжёлой степени тяжести в нашем случае возникал при росте более 18 фолликулов. Получение гиперответа яичников в протоколах ЭКО требует тщательного подбора дозы препарата и проведения активной профилактики для снижения частоты возникновения СГЯ [141].

Согласно клиническим рекомендациям от 21.05.2021, СГЯ следует классифицировать по степени тяжести заболевания как лёгкую, среднюю, тяжёлую и критическую [144]. Врач, назначающий гонадотропины, должен

проинформировать каждую женщину о личном риске развития СГЯ. Амбулаторное ведение рекомендовано женщинам с СГЯ лёгкой степени, врач должен информировать пациентку о необходимости ежедневного мониторинга баланса жидкости. Женщины с тяжёлым и критическим СГЯ должны быть госпитализированы в соответствующие отделения лечебного учреждения [143].

Тактика ведения совпадала с рекомендациями по сегментированному подходу для профилактики СГЯ и включала контролируемую стимуляцию яичников с использованием триггера агониста ГнРГ, витрификацию ооцитов/эмбрионов и перенос эмбрионов в последующем естественном или искусственном цикле [54].

Учитывая лабораторные данные пациенток с тяжёлой степенью СГЯ, которые проходили лечение в отделениях реанимации и интенсивной терапии, необходимо вести поиск для выявления точных предикторов этого осложнения, одним из которых может быть базальный уровень АМГ в сыворотке крови, и эффективно использовать этот маркёр для прогнозирования СГЯ [51].

Кроме того, существуют и другие предикторы тяжёлого СГЯ в циклах ЭКО — наличие более 15 фолликулов размером ≥ 10 мм в день начала окончательного созревания ооцитов, что мы также учитывали в обязательном порядке [102].

3.4 Поиск ассоциаций полиморфных вариантов генов гемостаза (*F2, F5, F7, F13A1, FGB, ITGA2, ITGB3, PAI-1*) с бесплодием и различным ответом на стимуляцию овуляции

Известно, что существует связь между генетически детерминированной тромбофилией и репродуктивными расстройствами [71,109]. Был проведен сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов *F2 (rs1799963)*, *F5 (rs6025)*, *F7 (rs6046)*, *F13A1 (rs5985)*, *FGB (rs1800790)*, *ITGA2 (rs1126643)*, *ITGB3 (rs5918)*, *SERPINE1 (PAI-1,rs1799889)* у пациенток с бесплодием, проходивших лечение методами вспомогательных репродуктивных технологий в ГБУЗ Республиканский медико-генетический

центр в период с 2018 по 2021 гг., а также проведен поиск ассоциаций исследованных локусов с различным ответом на стимуляцию овуляции. Главными условиями отбора пациенток для анализа являлись бесплодие, потери беременностей; преждевременные роды; наличие рецидивирующих выкидышей, а также осложненные роды (преждевременные роды, отслойка плаценты, преэклампсия). На основании данных акушерского анамнеза обследованные пациентки были дифференцированы на три группы в зависимости от наличия репродуктивного нарушения: первая группа – женщины с бесплодием (83); вторая группа – женщины с привычным невынашиванием беременности (79). В группу контроля входили женщины с несколькими срочными родами, без наследственной тенденции к образованию тромбов (118) (Таблица 13).

Таблица 13 – Анализ распределения частот аллелей и генотипов изученных локусов генов-кандидатов у женщин с бесплодием, невынашиванием и другими состояниями

Популяции	№	Частоты аллелей		Частоты генотипов		
		rs1799963 (20210 G>A) гена F2				
Выборки		*G	*A	*GG	*GA	*AA
Бесплодие*	77	147(0,955)	7(0,045) $\chi^2=6,3$ p=0,01 p- FDR=0,02 OR=7,3 (ДИ 1,5- 37,7)	70(0,91)	7(0,09) $\chi^2=6,43$ p=0,01 p-FDR=0,02 OR=7,65 (ДИ 1,6- 37,8)	0
Невынашивание	57	110(0,965)	4(0,035) $\chi^2=3,06$ p=0,08 p- FDR=0,08	53(0,93)	4(0,07) $\chi^2=3,1$ p=0,08 p-FDR=0,08	0

Продолжение таблицы 13

Контроль	146	300(0,993)	2(0,007)	144(0,986)	2(0,014)	0
rs6025 (G1691A) гена F5						
Выборки		* G	*A	* GG	* GA	*AA
Бесплодие	77	127(0,825)	27(0,175) $\chi^2=4,13$ $p=0,04$ p- FDR=0,07	50(0,649)	27(0,351) $\chi^2=3,5$ $p=0,03$ p- FDR=0,045 OR=2,1 (ДИ 1,13- 3,87)	0
Невынашивание	57	94(0,825)	20(0,175) $\chi^2=2,73$ $p=0,07$ p- FDR=0,07	37(0,649)	20(0,351) $\chi^2=2,75$ $p=0,045$ p- FDR=0,045 OR=2,1 (ДИ 1,06- 4,1)	0
Контроль	146	262(0,897)	30(0,103)	116(0,794)	30(0,206)	0
rs6046(G10976A) гена F7						
Выборки		*A	*G	*A*A	*A*G	*G*G
Бесплодие	83	26 (0,157)	140 (0,843)	3 (0,036)	20 (0,241)	60 (0,723)
Невынашивание	79	24 (0,152)	134 (0,848)	4 (0,051)	16 (0,203)	59(0,746)
Контроль	118	43 (0,182)	193 (0,818)	5 (0,042)	33 (0,280)	80 (0,678)
rs5985(G226A) гена F13A1						
Выборки		* G	*T	* G * G	* G *T	*T*T
Бесплодие	83	125 (0,753)	41 (0,247)	44 (0,53)	37 (0,446)	2 (0,024)
Невынашивание	77	116 (0,753)	38 (0,247)	43 (0,558)	30 (0,390)	4 (0,057)
Контроль	116	161 (0,694)	71 (0,306)	54 (0,466)	53 (0,457)	9 (0,077)
Популяции	N	Частоты аллелей		Частоты генотипов		
rs1800790(G(-455)A) гена FGB						
Выборки		*G	*A	*GG	*GA	*AA

Продолжение таблицы 13

Бесплодие	82	103 (0,628)	61 (0,372)	32 (0,39)	39 (0,477)	11 (0,133)
Невынашивание	73	92 (0,630)	54 (0,370)	26 (0,356)	40 (0,548)	7 (0,096)
Контроль	112	151 (0,674)	79 (0,326)	47 (0,420)	57 (0,509)	11 (0,071)
rs1126643(C807T) гена ITGA2						
Выборки		*C	*T	*CC	*CT	*TT
Бесплодие	81	96 (0,593)	66 (0,407)	26 (0,321)	44 (0,543)	11 (0,136)
Невынашивание	73	80 (0,548)	66 (0,452)	20 (0,274)	40 (0,548)	13 (0,178)
Контроль	113	125 (0,553)	101 (0,447)	29 (0,257)	67 (0,593)	17 (0,15)
rs5918(T1565C) гена ITGB3						
Выборки		*C	*T	*CC	*CT	*TT
Бесплодие	82	56 (0,341)	108 (0,659)	14 (0,171)	28 (0,341)	40 (0,488)
Невынашивание	72	63 (0,438)	81 (0,562)	22 (0,306)	19 (0,264)	31 (0,43)
Контроль	110	78 (0,355)	142 (0,645)	25 (0,227)	28 (0,255)	57 (0,518)
rs1799889(4G(-675)5G) гена SERPINE1						
Выборки		*4G	*5G	*4G *4 G	*4G *5G	*5G*5G
Бесплодие	78	75 (0,480)	81 (0,520)	17 (0,218)	41 (0,526)	20 (0,256)
Невынашивание	71	66 (0,465)	76 (0,535)	14 (0,197)	38 (0,535)	19 (0,268)
Контроль	109	116 (0,52)	102 (0,48)	28 (0,257)	60 (0,550)	21 (0,13)

Примечание: частота аллелей и генотипов приведена в абсолютных числах, в скобочках – удельный вес, n – количество индивидов; χ^2 – критерий «хи-квадрат» Пирсона; p – достигаемый уровень значимости (статистически значимый при $p < 0,05$); OR – относительный риск

Был проведен сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов *F2*, *F5* между пациентками с бесплодием, невынашиванием беременности и контрольной группой. Проведён поиск ассоциаций исследованных локусов с бесплодием и невынашиванием беременности. Была выявлена ассоциация аллеля A* и генотипа *G*A локуса G20210A гена *F2* с бесплодием ($\chi^2=6,3$ $p=0,01$, $p\text{-FDR}=0,02$; OR=7,3 (95% ДИ=1,5-37,7)).

Также выявлена тенденция к ассоциации аллеля *A ($p=0,07$) и ассоциация генотипа *G*A локуса G1691A гена *F5* с бесплодием ($\chi^2=3,5$; $p=0,03$; p -

FDR=0,045; OR=2,1 (95% ДИ=1,13-3,87)) и невынашиванием беременности ($\chi^2=2,75$; $p=0,045$; p -FDR=0,045; OR=2,1 (95% ДИ=1,06-4,1)). Возможно, при увеличении выборок в группах исследования и контроля различия окажутся более значимыми (Таблица 14).

Таблица 14 – Анализ распределения частот аллелей и генотипов изученных локусов генов-кандидатов у женщин с различным ответом на стимуляцию овуляции

Популяции	№	Частоты аллелей		Частоты генотипов		
<i>rs1799963 (20210 G>A) гена F2</i>						
Выборки		*G	*A	*GG	*GA	*AA
Бедный ответ	12	24	0	12	0	0
Нормальный ответ	38	76	0	38	0	0
Гиперответ	6	12	0	6	0	0
<i>rs6025 (G1691A) гена F5</i>						
Выборки		*G	*A	*GG	*GA	*AA
Бедный ответ	12	24	0	12	0	0
Нормальный ответ	40	75	5	35	5	0
Гиперответ	8	16	0	8	0	0
<i>rs6046(G10976A) гена F7</i>						
Выборки		*G	*A	*GG	*GA	*AA
Бедный ответ	13	23 (0,885)	3 (0,115)	10 (0,769)	3 (0,231)	0
Нормальный ответ	16	16 (0,5)	16 (0,5)	2 (0,125)	12 (0,75)	2 (0,125)
		$\chi^2 = 7,967$; $p = 0,002$ OR = 1,9 (95% ДИ 1,2-2,1) p -FDR=0,004		$\chi^2 = 9,76$; $p = 0,0009$; OR = 23,3 (3,27 - 166,4) p -FDR= 0.0054	$\chi^2 = 5,8$; $p = 0,008$; OR = 0,1 (0,02 - 0,56) протектив- ный p -FDR=0,018	$\chi^2 = 0,37$; $p = 0,27$;
Гиперответ	9	15 (0,833)	3 (0,167)	6 (0,667)	3 (0,333)	0
Нормальный ответ	16	16 (0,5)	16 (0,5)	2 (0,125)	12 (0,75)	2 (0,125)

Продолжение таблицы 14

		$\chi^2 = 4,11$; $p = 0,02$; OR = 5,0 (1,2 - 20,7) $p\text{-FDR}=0,02$		$\chi^2 = 5,47$; $p = 0,009$; OR = 14,0 (1,8 - 106,45) $p\text{-FDR}=0,018$	$\chi^2 = 2,6$; $p = 0,06$;	$\chi^2 = 0,06$; $p = 0,4$;
rs5985 (с.103G>Т I63Т) гена <i>F13A1</i>						
Выборки		*G	*T	*GG	*GT	*TT
Бедный ответ	13	20 (0,769)	6 (0,231)	8 (0,615)	4 (0,308)	1 (0,077)
Нормальный ответ	45	62 (0,689)	28 (0,311)	20 (0,444)	22 (0,489)	3 (0,067)
		$\chi^2 = 0,3$; $p = 0,29$;		$\chi^2 = 0,6$; $p = 0,22$;	$\chi^2 = 0,7$; $p = 0,2$;	$\chi^2 = 0,24$; $p = 0,29$;
Гиперответ	11	16 (0,727)	6 (0,273)	6 (0,545)	4 (0,364)	1 (0,091)
Нормальный ответ	45	62 (0,689)	28 (0,311)	20 (0,444)	22 (0,489)	3 (0,067)
		$\chi^2 = 0,008$; $p = 0,46$;		$\chi^2 = 0,07$; $p = 0,39$;	$\chi^2 = 0,17$; $p = 0,34$;	$\chi^2 = 0,14$; $p = 0,35$;
rs1800790(G(-455)A) гена <i>FGB</i>						
Выборки		*G	*A	*GG	*GA	*AA
Бедный ответ	12	17 (0,708)	7 (0,292)	7 (0,583)	3 (0,25)	2 (0,167)
Нормальный ответ	46	64 (0,696)	28 (0,304)	21 (0,457)	22 (0,478)	3 (0,065)
		$\chi^2 = 0,02$; $p = 0,45$;		$\chi^2 = 0,2$; $p = 0,32$;	$\chi^2 = 1,2$; $p = 0,14$;	$\chi^2 = 0,3$; $p = 0,3$;
Гиперответ	14	15 (0,536)	13 (0,464)	4 (0,286)	7 (0,5)	3 (0,214)
Нормальный ответ	46	64 (0,696)	28 (0,304)	21 (0,457)	22 (0,478)	3 (0,065)
		$\chi^2 = 1,8$; $p = 0,09$;		$\chi^2 = 0,7$; $p = 0,2$;	$\chi^2 = 0,02$; $p = 0,4$;	$\chi^2 = 1,25$; $p = 0,13$;
rs1126643(C807T) гена <i>ITGA2</i>						
Выборки		*C	*T	*CC	*CT	*TT
Бедный ответ	12	10 (0,417)	14 (0,583)	2 (0,167)	6 (0,5)	4 (0,333)
Нормальный ответ	46	54 (0,587)	38 (0,413)	14 (0,304)	26 (0,565)	6 (0,131)
		$\chi^2 = 1,6$; $p = 0,1$;		$\chi^2 = 0,35$; $p = 0,27$;	$\chi^2 = 0,006$; $p = 0,47$;	$\chi^2 = 1,5$; $p = 0,11$;

Продолжение таблицы 14

Гиперответ	14	15 (0,536)	13 (0,464)	2 (0,143)	11 (0,786)	1 (0,071)
Нормальный ответ	46	54 (0,587)	38 (0,413)	14 (0,304)	26 (0,565)	6 (0,131)
		$\chi^2 = 0,07; p = 0,4;$		$\chi^2 = 0,7; p = 0,2;$	$\chi^2 = 1,4; p = 0,12;$	$\chi^2 = 0,02; p = 0,45;$
rs5918(T1565C) гена <i>ITGB3</i>						
Выборки		*C	*T	*CC	*CT	*TT
Бедный ответ	12	4 (0,167)	20 (0,833)	1 (0,083)	2 (0,167)	9 (0,75)
Нормальный ответ	45	16 (0,178)	74 (0,822)	2 (0,044)	12 (0,267)	31 (0,693)
		$\chi^2 = 0,03; p = 0,43;$		$\chi^2 = 0,03; p = 0,4;$	$\chi^2 = 0,22; p = 0,3;$	$\chi^2 = 0,003; p = 0,47;$
Гиперответ	8	3 (0,188)	13 (0,812)	1 (0,125)	1 (0,125)	6 (0,75)
Нормальный ответ	45	16 (0,178)	74 (0,822)	2 (0,044)	12 (0,267)	31 (0,693)
		$\chi^2 = 0,07; p = 0,4;$		$\chi^2 = 0,006; p = 0,46;$	$\chi^2 = 0,17; p = 0,34;$	$\chi^2 = 0,05; p = 0,47;$
rs1799889(4G(-675)5G) гена <i>SERPINE1</i>						
Выборки		*5G	*4G	*5G*5G	*5G*4G	*4G*4G
Бедный ответ	14	11 (0,393)	17 (0,607)	2 (0,143)	7 (0,5)	5 (0,357)
Нормальный ответ	50	43 (0,43)	57 (0,57)	10 (0,2)	23 (0,46)	17 (0,34)
		$\chi^2 = 0,02; p = 0,45;$		$\chi^2 = 0,009; p = 0,46;$	$\chi^2 = 0,001; p = 0,48;$	$\chi^2 = 0,04; p = 0,42;$
Гиперответ	13	8 (0,308)	18 (0,692)	0	8 (0,615)	5 (0,385)
Нормальный ответ	50	43 (0,43)	57 (0,57)	10 (0,2)	23 (0,46)	17 (0,34)
		$\chi^2 = 0,8; p = 0,18;$		$\chi^2 = 1,48; p = 0,11;$	$\chi^2 = 0,47; p = 0,25;$	$\chi^2 = 0,006; p = 0,49;$

Была выявлена ассоциация аллеля *G и генотипа GG rs6046 гена *F7* с бедным ответом на стимуляцию овуляции ($\chi^2 = 7,967; p = 0,002; OR = 1,9$ (95% ДИ 1,2-2,1)), а также с гиперответом яичников ($\chi^2 = 4,11; p = 0,02; OR = 5,0$ (95% ДИ 1,2-20,7))

Была исследована взаимосвязь полиморфизма генов тромбофилии и бесплодия у женщин, проходивших программу ЭКО. Полученные результаты показали, что имеется связь генов *F2 (rs1799963)*, *F5 (rs6025)* с бесплодием и гена *F7 (rs6046)* с «бедным» и гиперответом яичников на стимуляцию овуляции, что подтверждает взаимосвязь между наследственной предрасположенностью к тромбофилии и репродуктивными расстройствами [20].

3.5 Поиск ассоциаций полиморфных вариантов генов фолатного цикла (MTHFR, MTRR, MTR) с бесплодием и различным ответом на стимуляцию овуляции

Одной из труднорешаемых задач в области вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) является раскрытие молекулярно-генетических механизмов широкого диапазона чувствительности яичников в ответ на гормональную стимуляцию, от бедного ответа до гиперответа яичников [103].

Частота бедного ответа яичников составляет 9–24%, а это означает, что для каждой четвертой пациентки спрогнозирован неблагоприятный репродуктивный прогноз. Бедный ответ яичников, согласно Болонским критериям, должен включать два из следующих признаков: возраст матери (≥ 40 лет), бедный ответ яичников в предыдущих стимуляциях с получением ≤ 3 ооцитов, полученными после обычной стимуляции, и/или аномальный тест на овариальный резерв (ОРТ), т.е. количество антральных фолликулов (КАФ) < 7 или антимюллеров гормон (АМН) $< 1,1$ нг/мл. При отсутствии позднего репродуктивного возраста матери или аномального теста на овариальный резерв пациентка может быть определена как бедная ответчица после двух эпизодов бедного ответа яичников после стимуляции суперовуляции [197]. Термин «гиперответ» используется при извлечении >15 [37]; или >20 ооцитов в соответствии со стандартным протоколом контролируемой стимуляции овуляции. Уровень распространенности в циклах

ЭКО оценивается примерно в 7% и варьируется в зависимости от возраста женщины: он составляет около 15% у женщин в возрасте ≤ 30 лет, снижаясь с возрастом. Важно спрогнозировать гиперответ яичников на контролирующую стимуляцию овуляции, поскольку это является основным фактором риска развития синдрома гиперстимуляции яичников СГЯ является опасным для жизни состоянием и характеризуется кистозным увеличением яичников и резким и быстрым перемещением внутрисосудистой жидкости в третье пространство; нарушение функции печени и почек, кровотечение из яичников и тромбоэмболия. Как и в случае бедного ответа, прогнозирование гиперответа в настоящее время основывается на клинических критериях и анамнестических характеристиках, таких как молодой возраст, длинные менструальные циклы, признаки СПКЯ и гиперреакция в предыдущем цикле [29]. В этой связи идентификация прогностических предикторов ответа яичников и оптимизация протоколов стимуляции могут стать решающим шагом при разработке эффективных подходов ВРТ для повышения эффективности проводимых циклов [42]. При этом, несмотря на значительные успехи в лечении бесплодия, индивидуальный ответ яичников при гормональной стимуляции непредсказуем и может зависеть от индивидуального генетического профиля пациентки.

Выявлена ассоциация аллеля *Т и генотипа *Т*Т локуса С677Т гена *MTHFR* с невынашиванием беременности ($\chi^2=5,53$ $p=0,018$; $p\text{-FDR}=0,036$; $OR=1,92$ (95% ДИ 1,14-3,23)). Обнаружена тенденция к ассоциации аллеля *А rs1805087 и генотипа *А/А rs1805087 гена *MTR* с бесплодием ($p=0,06$). Необходимо увеличение выборок в группах исследования и контроля для достижения статистической значимости (Таблица 15).

Таблица 15 – Анализ распределения частот аллелей и генотипов изученных локусов кандидатных генов у женщин с бесплодием, невынашиванием и другими патологиями

Популяции	N	Частоты аллелей		Частоты генотипов		
<i>MTHFR.rs1801133</i>						
Выборки		C	T	C/C	C/T	T/T
Бесплодие	52	76(0,73)	28(0,27)	28(0,538)	20(0,385)	4(0,077)
Невынашивание*	37	39(0,527)	35(0,473) $\chi^2=5,53$ p=0,018 p-FDR=0,036 OR=1,92 (ДИ 1,14-3,23)	12(0,324)	15(0,405)	10(0,271) $\chi^2=5,68$ p=0,017 p-FDR=0,034 OR=3,23 (ДИ 1,31-7,96)
Контроль	146	199(0,682)	93(0,318)	68(0,466)	63(0,432)	15(0,102)
<i>MTHFR.rs1801131</i>						
Выборки		C	A	C/C	A/C	A/A
Бесплодие	52	32 (0,308)	72 (0,692)	6 (0,115)	20 (0,385)	26 (0,5)
Невынашивание	37	24 (0,324)	50 (0,676)	2 (0,054)	20 (0,541)	15 (0,405)
Контроль	57	34 (0,298)	80 (0,702)	5 (0,088)	24 (0,421)	28 (0,491)
<i>MTR.rs1805087</i>						
Выборки		A	G	A/A	A/G	G/G
Бесплодие p=0,06	50	67 (0,67)	33 (0,33)	21 (0,42)	25 (0,5)	4 (0,08)
Невынашивание	34	52 (0,765)	16 (0,235)	20 (0,588)	12 (0,353)	2 (0,059)
Контроль	52	80 (0,769)	24 (0,231)	30 (0,577)	20 (0,385)	2 (0,038)
<i>MTRR.rs1801394</i>						
Выборки		G	A	G/G	G/A	A/A
Бесплодие	48	54 (0,563)	42 (0,437)	16 (0,333)	22 (0,458)	10 (0,208)
Невынашивание	32	37 (0,578)	27 (0,422)	11 (0,343)	15 (0,469)	6 (0,188)
Контроль	50	51 (0,51)	49 (0,49)	14 (0,280)	23 (0,460)	13 (0,260)

Примечание: частота аллелей и генотипов приведена в абсолютных числах, в скобочках – удельный вес, n – количество индивидов; χ^2 – критерий «хи-квадрат» Пирсона; p – достигаемый уровень значимости (статистически значимый при p<0,05); OR – относительный риск

Таблица 16 – Анализ распределения частот аллелей и генотипов изученных локусов генов-кандидатов у женщин с различным ответом на стимуляцию овуляции

Популяции	N	Частоты аллелей		Частоты генотипов		
<i>MTHFR.rs1801133</i>						
Выборки		C	T	C/C	C/T	T/T
бедный ответ	15	18 (0,6)	12 (0,4)	6 (0,4)	6 (0,4)	3 (0,2)
Нормальный ответ	68	88 (0,647)	35 (0,353)	38 (0,559)	25 (0,368)	5 (0,073)
Гиперответ	13	22 (0,846)	4 (0,154)	10 (0,769)	2 (0,154)	1 (0,077)
<i>MTHFR.rs1801131</i>						
Выборки		C	A	C/C	C/A	A/A
бедный ответ	16	9 (0,281)	23 (0,719)	2 (0,125)	5 (0,313)	9 (0,562)
Нормальный ответ	52	31 (0,298)	73 (0,702)	6 (0,115)	19 (0,365)	27 (0,52)
Гиперответ	14	8 (0,286)	20 (0,714)	1 (0,071)	6 (0,429)	7 (0,5)
<i>MTR.rs1805087</i>						
Выборки		A	G	A/A	A/G	G/G
бедный ответ	15	21 (0,7)	9 (0,3)	6 (0,4)	9 (0,6)	0
Нормальный ответ	50	73 (0,73)	27 (0,27)	25 (0,5)	23 (0,46)	2 (0,04)
Гиперответ	13	21 (0,808)	5 (0,192)	9 (0,692)	3 (0,231)	1 (0,077)
<i>MTRR.rs1801394</i>						
Выборки		A	G	A/A	A/G	G/G
бедный ответ	13	9 (0,346)	17 (0,654)	1 (0,077)	7 (0,538)	5 (0,385)
Нормальный ответ	50	49 (0,49)	51 (0,51)	12 (0,24)	25 (0,5)	13 (0,26)
Гиперответ	13	12 (0,462)	14 (0,538)	4 (0,308)	4 (0,308)	5 (0,384)

Проведен сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов *MTHFR*, *MTR*, *MTRR* между пациентками с бесплодием, имеющими бедный ответ на стимуляцию овуляции, гиперответ на стимуляцию овуляции и пациентками с бесплодием, имеющими нормальный ответ на стимуляцию овуляции (Таблица 16). В группах женщин с бесплодием и различным ответом на стимуляцию овуляции статистически значимых отличий в распределении частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов *MTHFR*,

MTR, *MTRR* не выявлено. Нельзя не учитывать взаимосвязь бесплодия и тромбофилических состояний как генетически обусловленных, так и приобретенных, а также следует помнить, что лечение методами ЭКО у пациенток с гипергомоцистеинемией без адекватной профилактической терапии грозит не только неудачами ЭКО и репродуктивными потерями, но и тяжелыми тромбоэмболическими осложнениями с высоким процентом летальности. Из вышесказанного можно сделать вывод, что проведение патогенетически обоснованной прегравидарной подготовки данным пациентам — задача, заслуживающая особо пристального внимания [28].

Проведен анализ уровня гомоцистеина у женщин с бесплодием, проходившие программу ЭКО.

При исследовании уровня гомоцистеина в группах женщин с бесплодием и различным ответом на стимуляцию овуляции статистически значимых отличий по уровню гомоцистеина не выявлено, однако в группе пациенток с «бедным ответом» яичников отмечается высокий уровень гомоцистеина, в отличие от показателей уровня гомоцистеина в группах с нормальным и гиперответом (Рисунок 27).

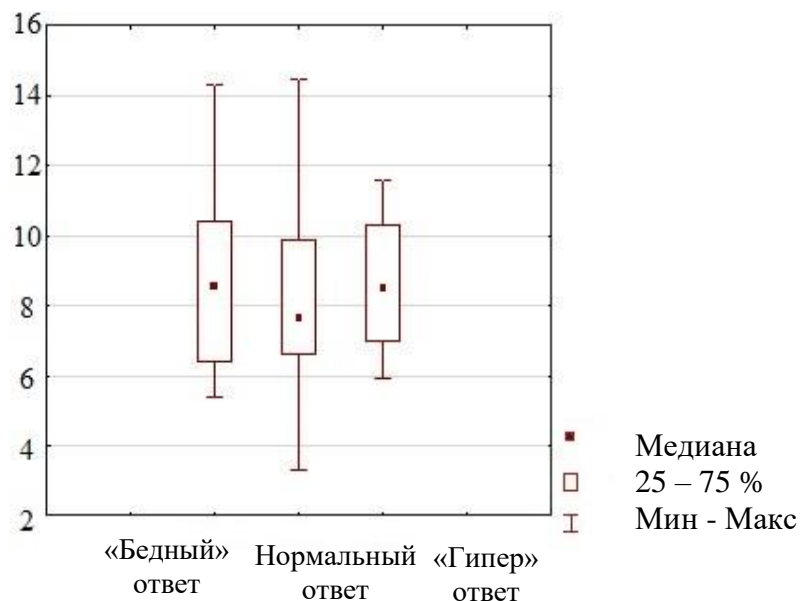


Рисунок 27 – Уровень гомоцистеина в группах женщин с бесплодием и различным ответом яичников.

Таблица 17 – Уровень гомоцистеина в исследованных группах

Группа	M	Me	Min	Max	Q25	Q75	SD
Бедный ответ яичников	9,418	8,54	5,4	19,1	6,39	10,4	3,82
Нормальный ответ яичников	8,429	7,665	3,3	19,0	6,64	9,85	3,182
Гиперответ яичников	9,046	8,49	5,9	15,9	6,987	10,33	2,584
N = 1,883; p = 0,39; $\chi^2 = 3,88$; df = 2; p = 0,144							

Проведен сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов *MTHFR*, *MTR*, *MTRR* между пациентками с бесплодием, связанным с мужским и трубным факторами, а также другими причинами бесплодия (Таблица 17). Также осуществлен поиск ассоциаций исследованных локусов с бесплодием различного генеза. Статистически значимых различий между группами не выявлено, однако, отмечается тенденция к ассоциации аллеля *T rs1801133 гена *MTHFR* ($\chi^2 = 1,68$; p = 0,09) (Таблица 18).

Таблица 18 – Анализ распределения частот аллелей и генотипов изученных локусов генов-кандидатов у женщин с бесплодием различного генеза

Популяции	N	Частоты аллелей		Частоты генотипов		
<i>MTHFR.rs1801133</i>						
Выборки		C	T	C/C	C/T	T/T
бесплодие остальн.	62	88 (0,709)	36 (0,291)	33 (0,532)	22 (0,355)	7 (0,113)
трубное+муж	38	61 (0,803)	15 (0,197)	24 (0,632)	13 (0,342)	1 (0,026)
<i>MTHFR.rs1801131</i>						
Выборки		C	A	C/C	C/A	A/A
бесплодие остальн.	53	30 (0,291)	76 (0,709)	5 (0,094)	20 (0,377)	28 (0,529)
трубное+муж	32	020 (0,323)	44 (0,677)	4(0,125)	12 (0,375)	16 (0,5)
<i>MTR.rs1805087</i>						
Выборки		A	G	A/A	A/G	G/G
бесплодие остальн.	52	75 (0,721)	29 (0,279)	26 (0,5)	23 (0,442)	3 (0,058)

Продолжение таблицы 18

трубное+муж	30	45 (0,75)	15 (0,25)	16 (0,533)	13 (0,433)	1 (0,034)
<i>MTRR.rs1801394</i>						
Выборки		A	G	A/A	A/G	G/G
бесплодие остальн.	49	48 (0,489)	50 (0,511)	12 (0,245)	24 (0,489)	13 (0,266)
трубное+муж	30	26 (0,433)	34 (0,567)	6 (0,2)	14 (0,467)	10 (0,333)

Проведен сравнительный анализ уровня гомоцистеина у женщин в исследуемых группах. Статистически значимых различий между группами по данному признаку выявлено не было ($U=1130,5$; $Z=0,943$; $p=0,345$) (Таблица 19, рисунок 28).

Таблица 19 – Уровень гомоцистеина в исследованных группах

Группа	M	Me	Min	Max	Q25	Q75	SD
Бесплодие (иные)	8,95	8,1	3,4	19,0	7,052	9,9	3,09
Трубного происхождения + мужской фактор	8,499	7,9	3,3	19,1	5,7	10,4	3,5

Проведён поиск ассоциаций исследованных локусов с гипергомоцистеинемией. Была выявлена ассоциация аллеля *T rs1801133 гена *MTHFR* с повышенным уровнем гомоцистеина ($\chi^2 = 3,81$; $p = 0,025$; $p\text{-FDR}=0,04$; (OR = 2,696; 95% ДИ 1,09-6,65)) (Таблица 20). Выявлена ассоциация аллеля *G rs1805087 гена *MTR* с повышением уровня гомоцистеина ($\chi^2 = 4,07$; $p = 0,02$; (OR = 2,76; 95% ДИ 1,12 - 6,81)). Генотип A/A данного локуса оказался протективным в отношении гипергомоцистеинемии ($\chi^2 = 2,798$; $p = 0,047$; (OR = 0,259; 95 % ДИ 0,064-1,048)), однако после введения поправки на множественность сравнений связь приобрела характер тенденции ($p\text{-FDR}=0,08$) (Таблица 20).

Таблица 20 – Анализ распределения частот аллелей и генотипов изученных локусов генов-кандидатов у женщин с различным уровнем гомоцистеина

Популяции	№	Частоты аллелей		Частоты генотипов		
<i>MTHFR.rs1801133</i>						
Выборки		C	T	C/C	C/T	T/T
Гипергомоцистеин	12	14 (0,583)	10 (0,417)	5 (0,417)	4 (0,333)	3 (0,25)
Норма	74	117 (0,791)	31 (0,209)	46 (0,622)	25 (0,338)	3 (0,04)
		$\chi^2 = 3,81$; $p = 0,025$; (OR = 2,696; 95 % ДИ 1,09-6,65)				$\chi^2 = 4,126$; $p = 0,02$; (OR = 7,89; 95 % ДИ 1,38 45,13) $p\text{-FDR}=0,04$
<i>MTHFR.rs1801131</i>						
Выборки		C	A	C/C	C/A	A/A
Гипергомоцистеин.	12	6 (0,25)	18 (0,75)	1 (0,083)	4 (0,333)	7 (0,584)
Норма	66	39 (0,295)	93 (0,705)	7 (0,106)	25 (0,379)	34 (0,515)
<i>MTR.rs1805087</i>						
Выборки		A	G	A/A	A/G	G/G
Гипергомоцистеин	12	13 (0,542)	11 (0,458)	3 (0,25)	7 (0,583)	2 (0,167)
Норма	64	98 (0,766)	30 (0,234)	36 (0,563)	26 (0,406)	2 (0,031)
		$\chi^2 = 4,07$; $p = 0,02$; (OR = 2,76; 95 % ДИ 1,12 - 6,81)		$\chi^2 = 2,798$; $p = 0,047$; (OR = 0,259; 95 % ДИ 0,064 - 1,048) протек тивный $p\text{-}$ FDR=0,08		

Продолжение таблицы 20

<i>MTRR.rs1801394</i>						
Выборки		A	G	AA	AG	GG
Гипергомоцистеин.	11	9 (0,409)	13 (0,591)	2 (0,182)	5 (0,455)	4 (0,363)
Норма	62	57 (0,459)	67 (0,541)	14 (0,226)	29 (0,468)	19 (0,306)

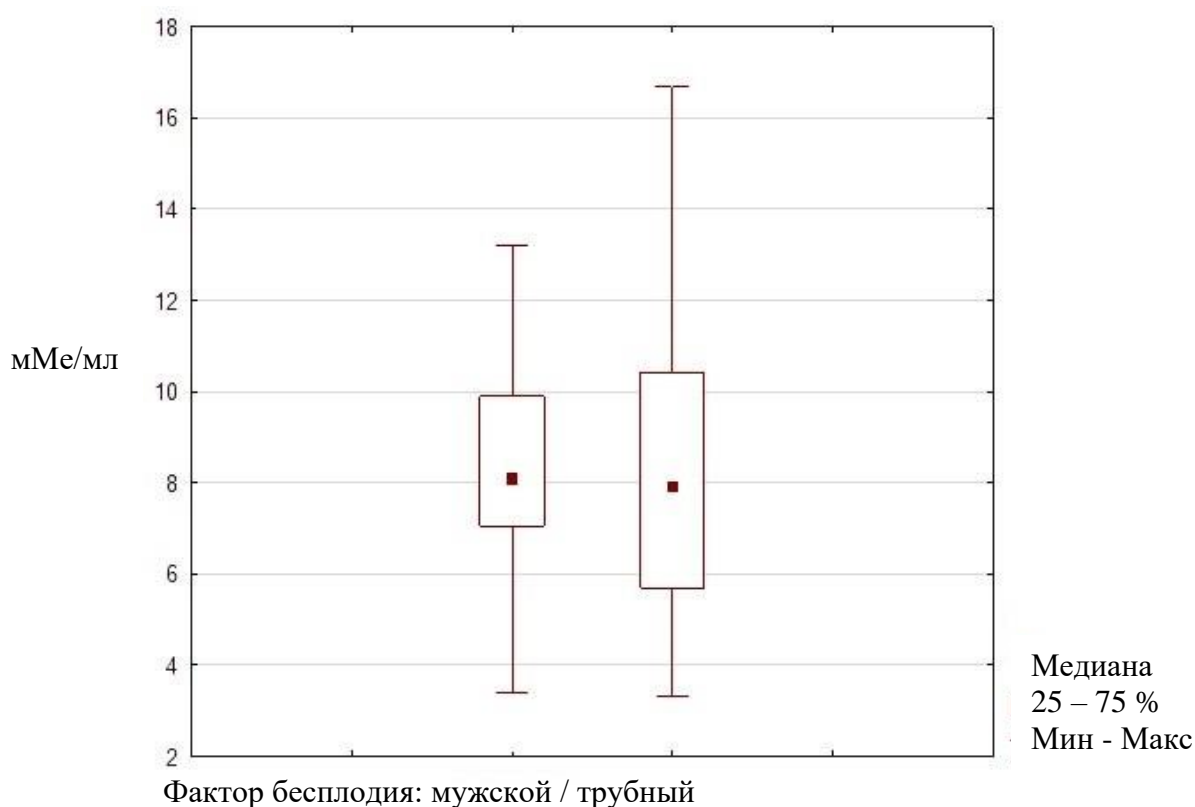


Рисунок 28 – Уровень гомоцистеина в группах женщин с мужским и трубным фактором бесплодия.

Показано, что статус фолиевой кислоты и вариации в генах, метаболизирующих фолиевую кислоту участвуют в репродуктивной функции женщин [73]. Есть исследования, в которых показано, что у женщин, прошедших ЭКО эффект фолиевой кислоты наиболее заметен во время раннего развития фолликулов, воздействуя на незрелые фолликулы [153]. Проведено исследование взаимосвязи полиморфизма генов фолатного цикла у женщин с невынашиванием

беременности и бесплодием. Результаты показали, что имеется связь гена *MTHFR* с невынашиванием беременности и бесплодием. Выявлена ассоциация гена *MTR* с гипергомоцистеинемией, что подтверждает связь фолатного цикла с репродуктивными расстройствами.

3.6 Анализ эффективности проведенных процедур

Одним из важных вопросов, задаваемых при проведении исследования был связан с ассоциацией проводимого генетического исследования и частотой наступления беременности и родов у женщин в программах ВРТ.

Таблица 21 - Эффективность ВРТ у обследованных женщин

	ЭКО без ИКСИ (трубный фактор)	Беременность после ЭКО	Родов после ЭКО	ЭКО с ИКСИ (мужской фактор)	Беременность после ИКСИ	Родов после ИКСИ
Женщины, включенные в исследование	82	29 (35,4%)	23 (79,3%)	64	22 (34,3%)	21 (95,5%)
Женщины, не включенные в исследование	421	142 (33,7%)	107 (75,8%)	156	51 (32,6%)	48 (94,2%)

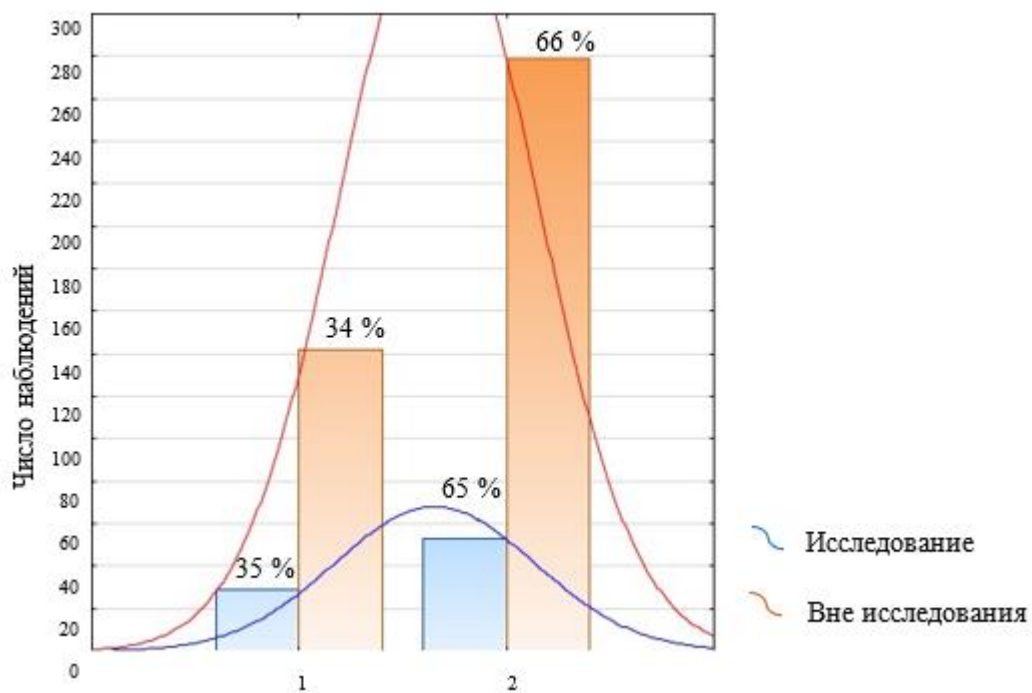


Рисунок 29 – Количество беременностей после ЭКО у женщин.
1- беременность; 2 – отсутствие беременности.

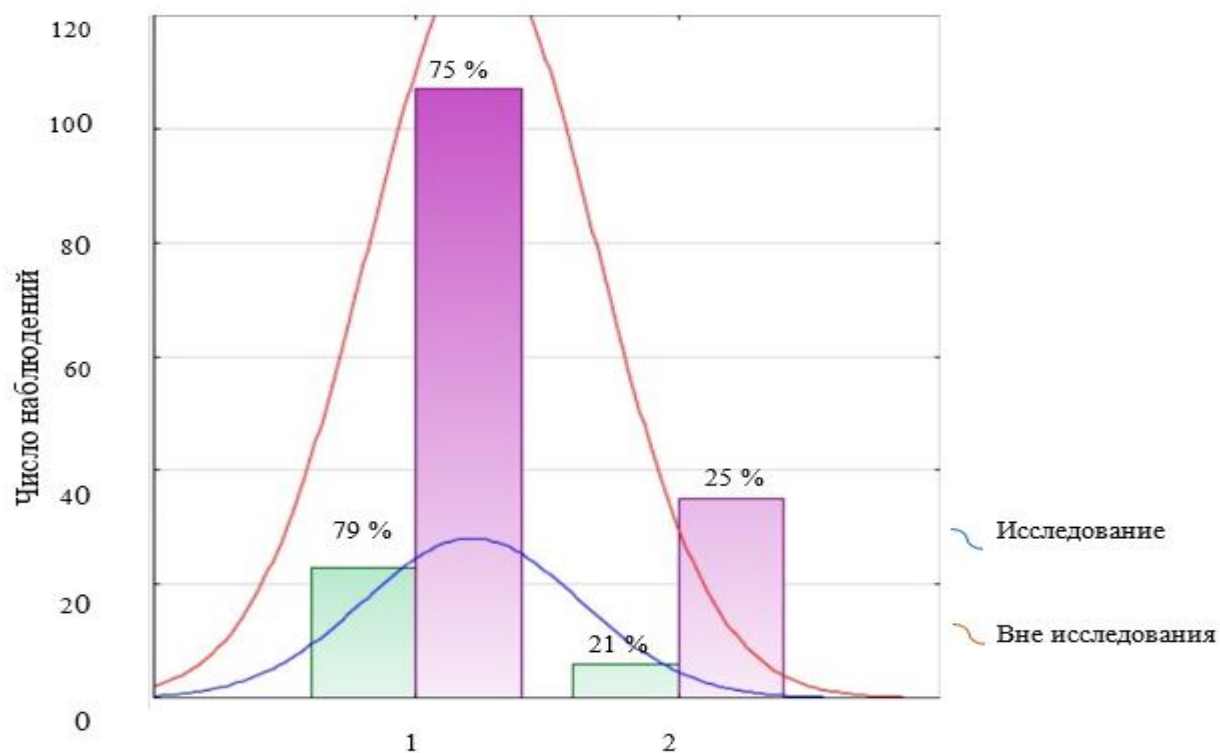


Рисунок 30 – Количество родов после ЭКО у женщин.
1-роды; 2-неудачный исход беременности.

При изучении эффективности ЭКО у женщин, обследованных в течение исследования и сравнении полученных результатов с данными пациенток, не вошедших в исследование, было выявлено: частота наступления беременности у исследованных женщин с бесплодием трубного генеза составила 29 (35,4%), родами завершились 23 (79,3%) беременностей. Данные показатели превышали частоту наступления беременностей и частоту родов после ЭКО у женщин, не вошедших в исследование (Рисунок 29, 30, 31, 32, см. Таблицу 21).

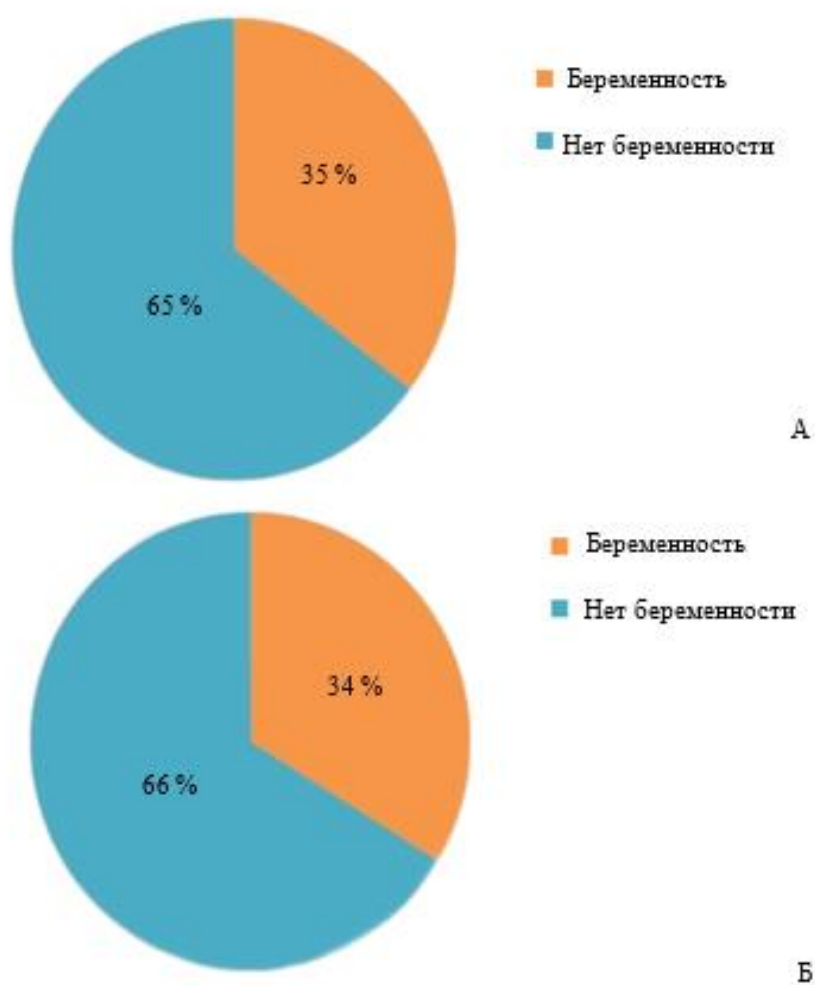


Рисунок 31 – Эффективность ЭКО у женщин.

А-женщины из группы исследования.

Б-женщины вне исследования.

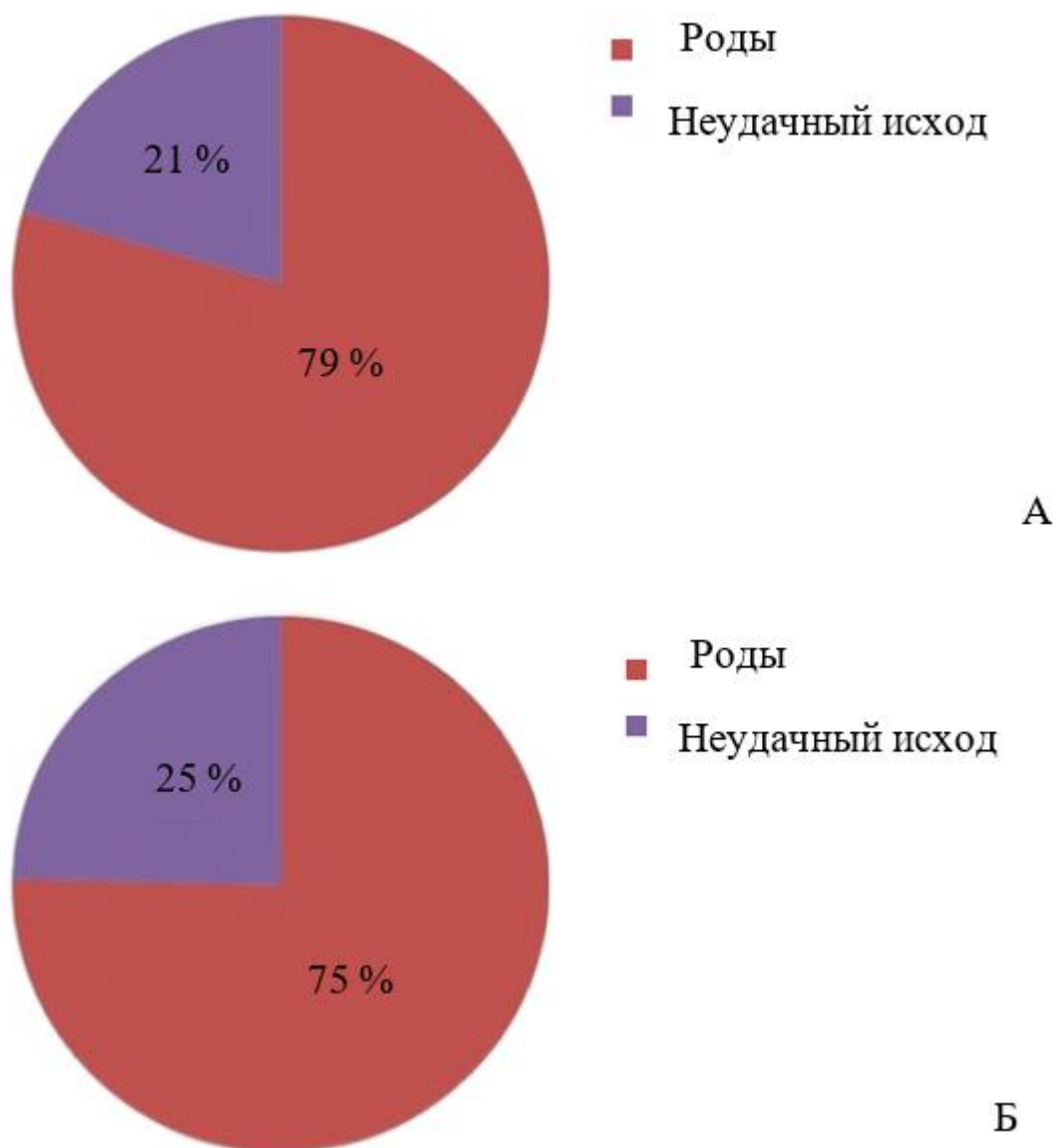


Рисунок 32 – Исходы беременностей, наступивших в результате ЭКО.

А-женщины из группы исследования.

Б-женщины вне исследования.

При изучении эффективности ЭКО с ИКСИ у женщин, обследованных в течение исследования и сравнении полученных результатов с данными пациенток, не вошедших в исследование, было выявлено: частота наступления беременности у пациенток с бесплодием мужского генеза исследованных женщин составила 22 (34,3%), родами завершились 21 (95,5%) беременностей. Данные

показатели превышали частоту наступления беременностей и частоту родов после ЭКО с ИКСИ у женщин, не вошедших в исследование (Рисунок 33, 34, 35, 36, см. Таблицу 21). Статистической значимости различий между группами выявлено не было ($p=0,1$).

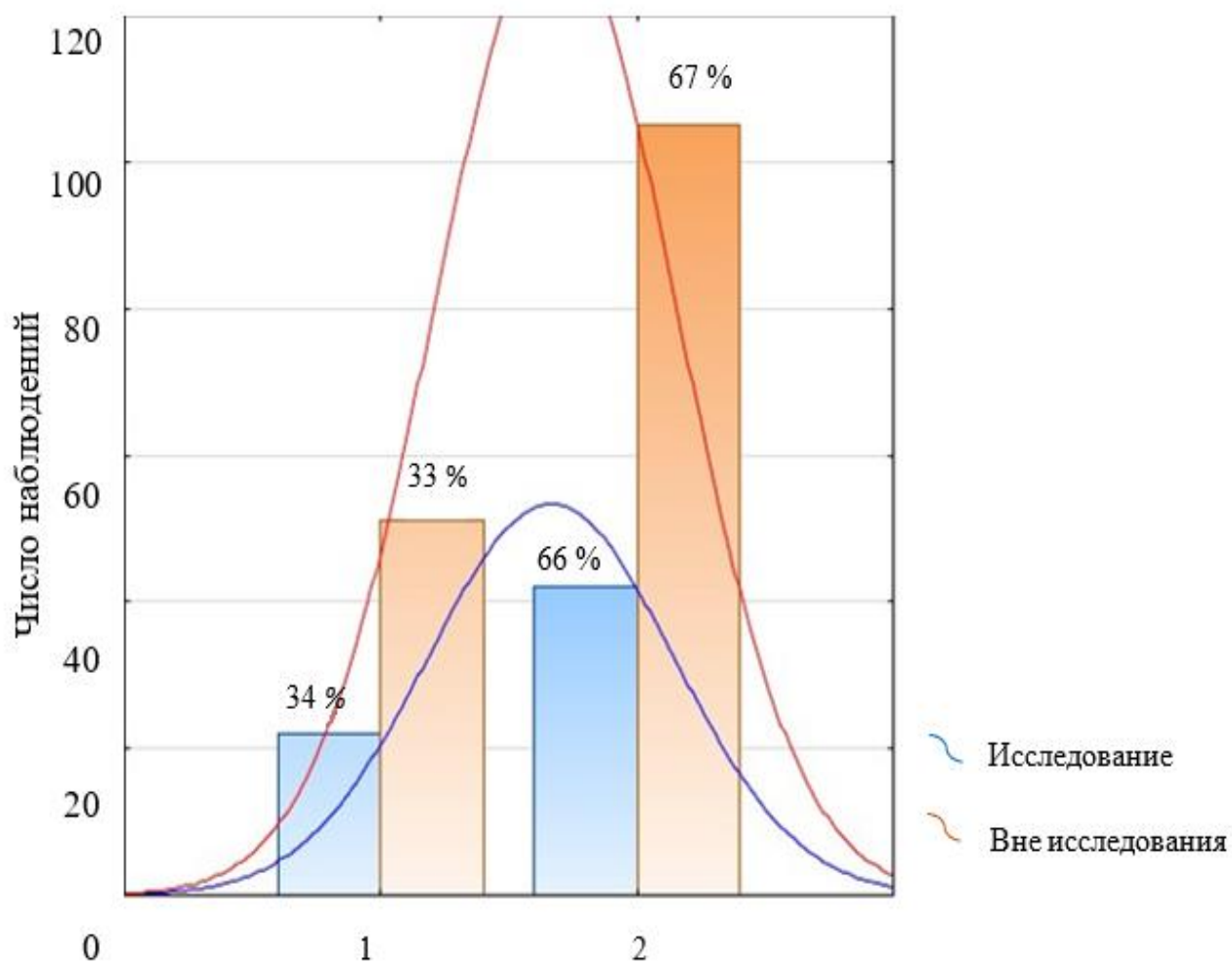


Рисунок 33 – Количество беременностей после ЭКО с ИКСИ у женщин.

1- беременность; 2 – отсутствие беременности.

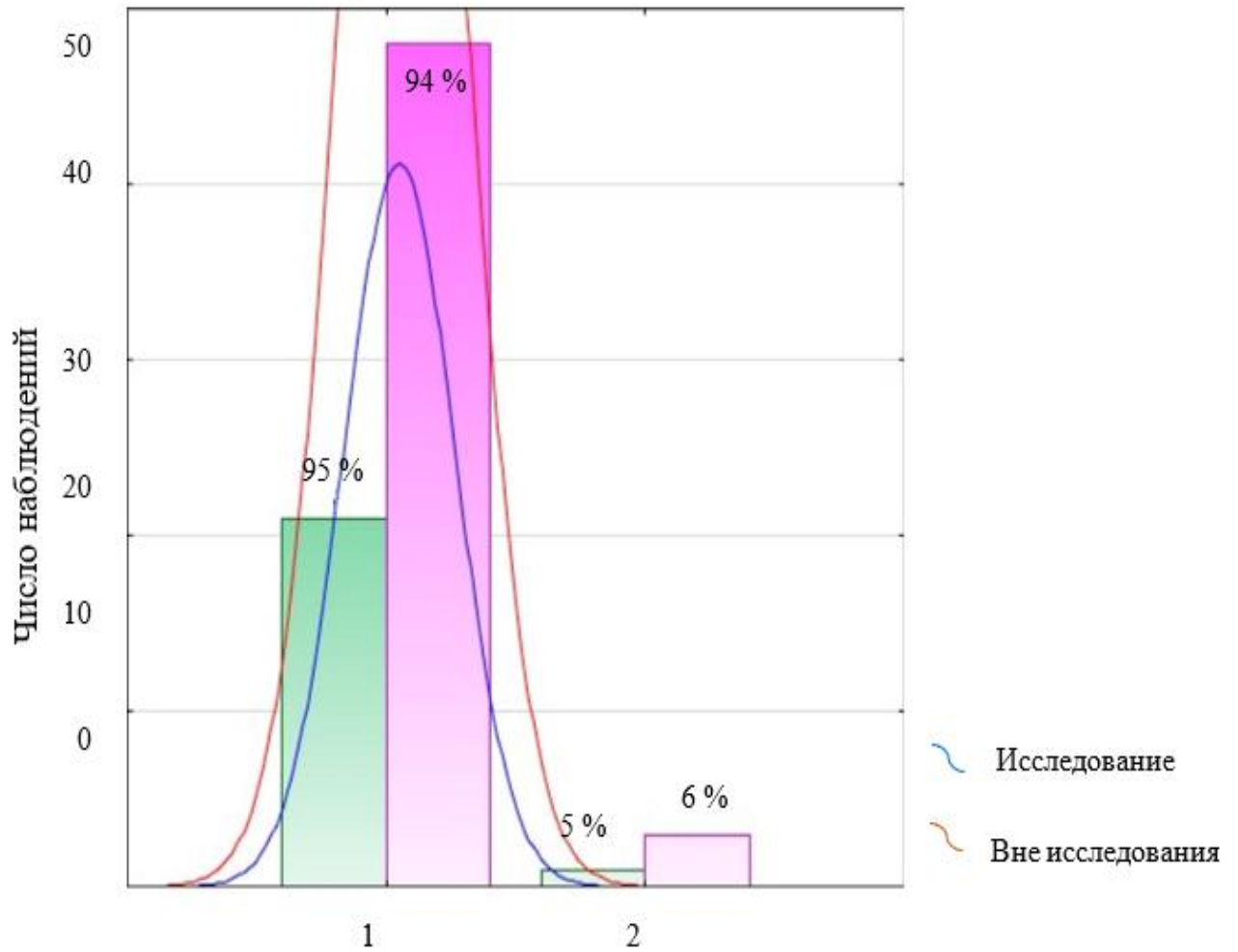
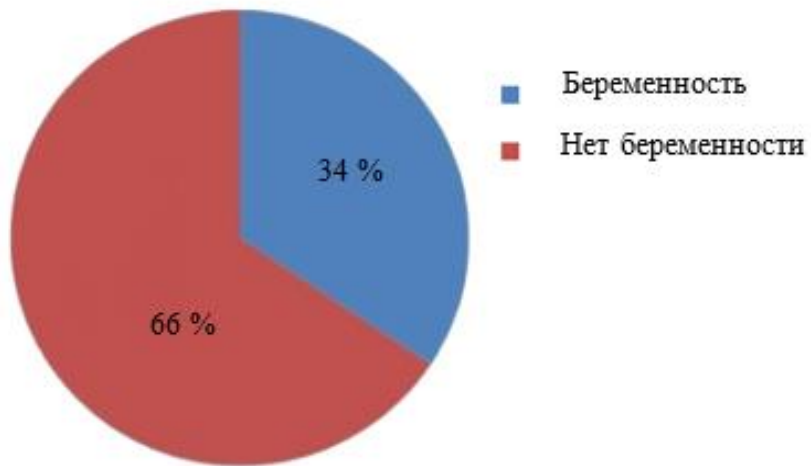
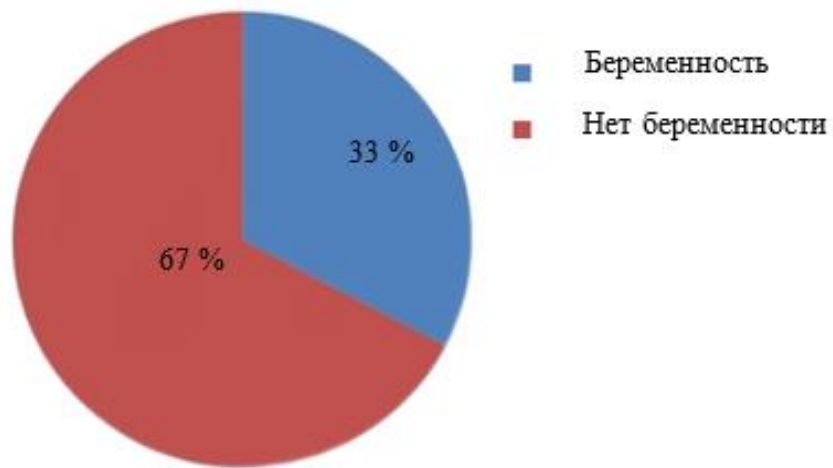


Рисунок 34 – Количество родов после ЭКО с ИКСИ у женщин.

1-роды; 2-неудачный исход беременности.



А



Б

Рисунок 35 – Эффективность ЭКО с ИКСИ у женщин.

А-женщины из группы исследования.

Б-женщины вне исследования.

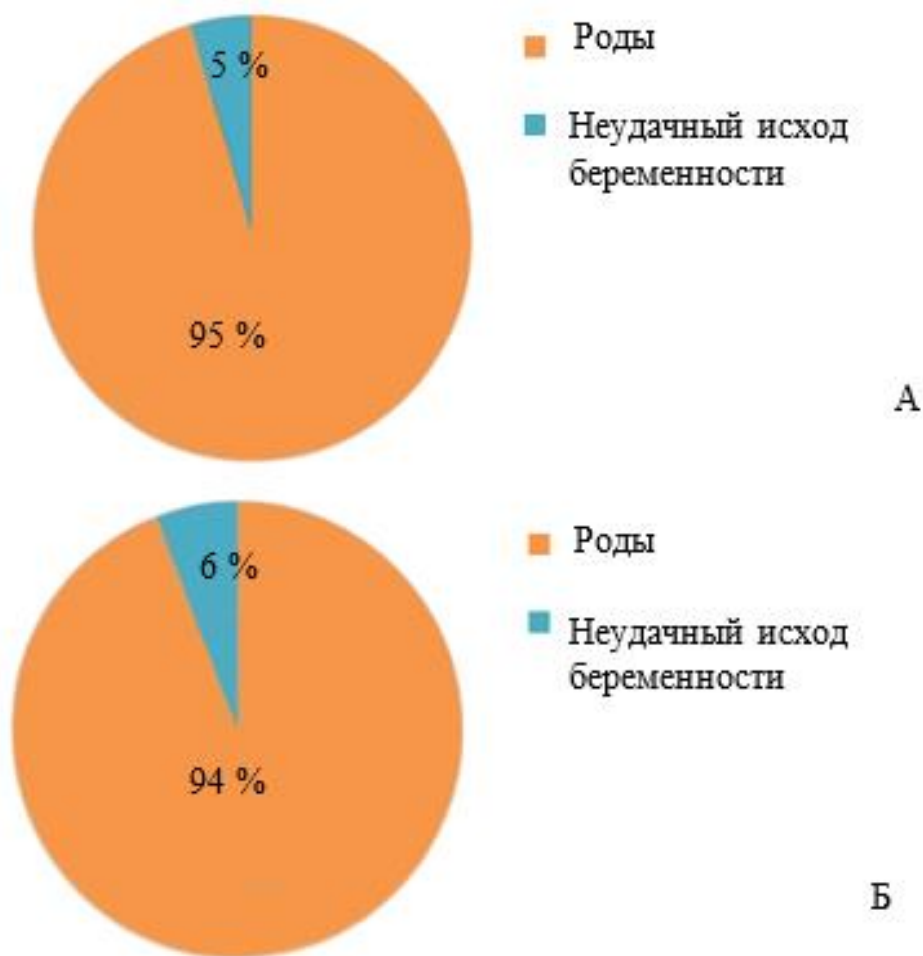


Рисунок 36 – Исходы беременностей, наступивших в результате ЭКО с ИКСИ.

А-женщины из группы исследования.

Б-женщины вне исследования.

Таким образом, в результате проведенного исследования выявлено, что у женщин, обследованных на генетические маркеры, частота наступления беременности и родов выше, чем у необследованных пациентов, что подтверждает важность проведения исследования перед планированием ВРТ.

3.7 Разработка математических моделей прогнозирования ответа яичников на основе искусственной нейронной сети

С целью создания комплексного многофакторного прогностического алгоритма проведено математическое моделирование.

Прогноз количества фолликулов в настоящей работе производится путем анализа имеющегося массива статистических данных по генотипам *LHCGR Asn312Ser rs2293275*, *FSHR Ser680Asn rs6166*, *GDF9 p.Glu182 rs10491279*, *GDF9 p.Thr149 rs254286*, по результатам анализов ФСГ, ЛГ, АМГ, и по фактическому количеству полученных фолликулов.

Данные по генотипам и результатам анализов используются в качестве входных параметров (всего 7 параметров), а фактическое количество фолликулов – в качестве выходного параметра.

Стандартные математические функции не позволяют осуществить моделирование системы с множеством входных параметров. Для обработки многомерных систем зачастую применяются интеллектуальные системы обработки данных, в том числе искусственные нейронные сети (далее – ИНС).

Искусственная нейронная сеть – система обработки данных, имитирующая деятельность человеческого мозга, позволяющая с определенной точностью получать результаты, делать прогнозы.

В настоящей работе применена аналоговая (входных и выходных параметров) многослойная нейронная сеть прямого распространения. ИНС прямого распространения (сигнал передается от входов послойно к выходу) прекрасно зарекомендовали себя при решении таких задач, как распознавание, прогнозирование и кластеризация. В настоящей работе задачей нейронной сети является анализ вектора входных параметров и выдача в результате анализа предполагаемого ответа на стимуляцию. В отличие от ИНС прямого распространения, для рекуррентных ИНС характерно наличие памяти: они способны проводить аналогии между текущим состоянием и предшествующим ему. В нашем случае их использование нецелесообразно, так как контроль

достоверности результатов ИНС и ее обучения проводится разработчиком метода самостоятельно.

Подготовка ИНС произведена по методу «Обучение с учителем», используемый для задач распознавания: для каждого вектора входных параметров существует определенный выходной параметр, то есть имеется «обучающая пара». Для обучения ИНС используется выборка, состоящая из «обучающих пар»: целевой выходной параметр сравнивается с рассчитанным сетью, весовые коэффициенты синапсов нейронов изменяются в соответствии с алгоритмом, стремящимся минимизировать ошибку (алгоритм обратного распространения ошибки). Метод «Обучение без учителя» применяется зачастую не для прогноза выходного значения, а для группировки наборов векторов входных параметров, следовательно применяется для задач кластеризации (нейронные сети Кохонена).

Предложена ИНС со следующей топологией:

- 1-й слой – семь входов;
- 2-й слой – 21 нейрон;
- 3-й слой – 3 нейрона;
- 4-й слой – один выход (Рисунок 37).

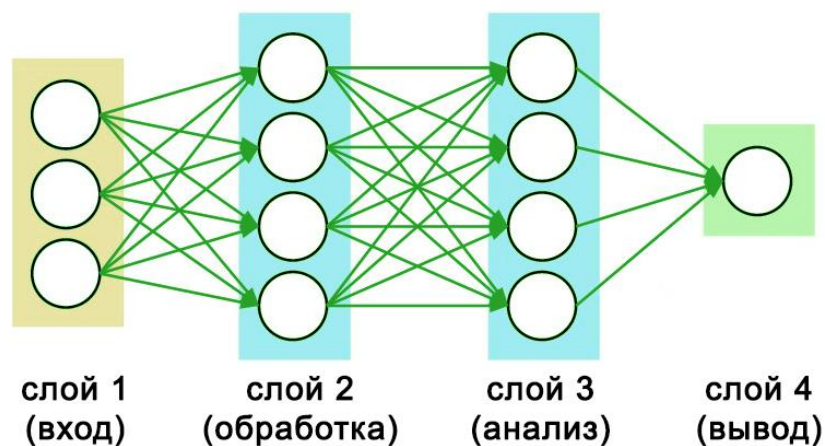


Рисунок 37 – Четырехслойная нейронная сеть.

В результате обучения трехслойной ИНС с одним скрытым слоем не удалось минимизировать ошибку по обучающей выборке, в этой связи внедрен второй скрытый слой. Количество нейронов подобрано опытным путем по критерию минимизации ошибки сети, отсутствия эффекта «переобучения». Количество нейронов первого скрытого слоя принято как количество входов (семь) помноженное на количество состояний (три – бедный ответ, нормальный ответ и гиперстимуляция) выхода сети, второго скрытого слоя – как количество состояний выхода сети. Количество нейронов в слоях сети не должно быть излишним во избежание «запоминания» сетью верных ответов, ИНС должна реализовывать многомерную непрерывную функцию преобразования входного вектора в выходной параметр.

Активационная функция нейронов – сигмоида

$$f(x)=1/(1+e^{-x}) \quad (2)$$

Выбор активационной функцией обусловлен отсутствием отрицательных входных и выходных параметров, в ином случае применяется гиперболический тангенс. Пороговая функция также не применима для аналоговых ИНС.

Входные параметры для работы сети преобразованы следующим образом:

для LHCGR Asn312Ser rs2293275, FSHR Ser680Asn rs6166, GDF9 p.Glu182=rs10491279:

генотип GG = 0, GA = 1, AA = 2;

для GDF9 p.Thr149=rs254286: генотип CC = 0, CT = 1, TT = 2;

Результаты анализов ФСГ, ЛГ, АМГ не преобразовываются, для корректной работы нейронной сети установлены пределы [0, 100].

Выходной параметр - количество фолликулов - установлен в пределах [0,50].

Обучение нейронной сети производится по обучающей выборке, сформированной на основе имеющихся фактических данных. При увеличении объема опытных данных, в случае значительных расхождений данных, выдаваемых нейронной сетью, и фактических данных, следует провести обучение нейронной сети с включением в выборку новых опытных данных.

В результате обучения по массиву данных средняя ошибка сети не превышает 1%. Разброс выходного параметра по отдельным входным векторам выборки вызван наличием в выборке противоречивых выходных данных для схожих входных векторов. Выходные данные для подобных случаев взаимно аппроксимируются.

Программа реализована в среде Delphi 7, с использованием модуля Neural network wizard (разработка модуля разработчиком Basegroup labs прекращена, патенты не обнаружены, модуль имеется в свободном доступе).

На основе ИИ разработаны три программы, которые дают возможность прогнозировать овариальный ответ у пациенток в программах ВРТ, а также проводить прогнозы вероятности возникновения репродуктивных расстройств.

Так, программа Ovarian response prediction – Прогнозирование ответа яичников на контролируемую овариальную стимуляцию на основе полиморфных вариантов генов *LHCGR*, *FSHR*, *GDF9* (Приложение А), позволяет определить вероятностный ответ яичников на основе сравнительного анализа распределения частот аллелей и генотипов четырех полиморфных локусов генов *LHCGR*, *FSHR*, *GDF9*. Программа разработана в целях оптимизации протоколов лечения в программах вспомогательных репродуктивных технологий с учетом клинико-генетических предикторов и обеспечивает выполнение следующих функций:

- оценка исходов программ вспомогательных репродуктивных технологий с учетом прогностической значимости генетических маркеров;
- формирование индивидуального генетического профиля пациентов в целях оптимизации персонализированного лечения;
- сбор и обработку данных по оказанию медицинской помощи по программам вспомогательных репродуктивных технологий;
- формирование сводных аналитических и печатных форм;
- ведение статистического анализа данных;
- выполнение графоаналитического расчета по различным параметрам (Рисунок 38).

Ovarian response prediction - Прогнозирование ответа яичников на контролируемую овариальную стимуляцию на основе полиморфных вариантов генов *LHCGR*, *FSHR*, *GDF9* ©

Клинический случай

Ввод данных о пациенте

ID пациента (Ф.И.О.)	Место проживания	Дата рождения	Рост, см	Вес, кг	ИМТ
Иванова А.А.	г. Уфа	22.12.1990	167	52	24

Клинический диагноз

Бесплодие I

Дата вступления в протокол: 24.03.2022

Дата окончания программы ЭКО (перенос эмбриона): 24.05.2022

Стаж бесплодия: 1

ЭКО по ОМС ЭКО за счет личных средств ЭКО МВД (РБ/РТ)

Анализы гр. 1

ЛГ	ФСГ	E2	ТГГ	T4 св.	АМГ	Прогестерон	Общий тестостерон	Пролактин	17-ОН-прогестерон	Вит. D	Гомоцистеин
1	2	3	3	4	2	1	1	1	1	1	1

Анализы гр. 2

<i>LHCGR</i> Asn312Serrrs2293275	<i>FSHR</i> Ser680Asnrs6166	<i>GDF9</i> p.Glu182=rs10491279	<i>GDF9</i> p.Thr149=rs254286
1	1	1	1
<i>MTHFR</i> :677CT(Ala222Val)	<i>MTHFR</i> 1298 A>C(Glu4929Ala)	<i>MTR</i> 2756 A>G(Asp919Glu)	<i>MTRR</i> 66 A>G
2	3	34	2

Препараты для стимуляции яичников

Протокол с антагонистами ГнРГ

Протокол с агонистами ГнРГ

Короткий Длинный Супердлинный

Пункт. фолликулов	Получено ооцитов	Количество полученных blastocist	ХГЧ после ЭКО	Подтверждение беременности по УЗИ
10	9	9	100	Да

Сохранить Анализ Графический анализ Печать Выход

Прогнозирование СГЯ на основе анализа полиморфных локусов генов (заключение)

Заключение...

Рисунок 38 – Интерфейс программы по прогнозированию овариального ответа на основе полиморфных вариантов генов *LHCGR*, *FSHR*, *GDF9*.

Для более точного прогнозирования ответа яичников были разработаны программы на основе ИИ, которые позволяют давать точные прогнозы овариального ответа. Так, программа Genetic neural network predictor of ovarian response (G4) позволяет прогнозировать овариальный ответ на основе искусственного интеллекта путем анализа имеющегося массива статистических данных по четырем полиморфным локусам генов *LHCGR Asn312Ser rs2293275*, *FSHR Ser680Asn rs6166*, *GDF9 p.Glu182 rs10491279*, *GDF9 p.Thr149 rs254286* (Приложение Б). Программа разработана в целях выдачи прогностического ответа

по результатам анализов, оптимизации протоколов лечения с учетом клинико-генетических предикторов и обеспечивает выполнение следующих функций:

- задание клинико-генетических предикторов в графическом виде;
- формирование индивидуального генетического профиля пациентов в целях оптимизации персонализированного лечения;
- выдачу предполагаемого исхода лечения по результатам клинико-генетических предикторов (Рисунок 39).

Прогнозирование овариального ответа с помощью искусственного интеллекта

LHCGR Asn312Ser rs2293275 = GG
 FSHR Ser680Asn rs6166 = GG
 GDF9 p.Glu182= rs10491279 = GG
 GDF9 p.Thr149= rs254286 = CT
 ФСГ = 7
 ЛГ = 3
 АМГ = 1
 Количество Фолликулов = 8

LHCGR Asn312Ser rs2293275
 GG
 GA
 AA Enable

FSHR Ser680Asn rs6166
 GG
 GA
 AA Enable

GDF9 p.Glu182= rs10491279
 GG
 GA
 AA Enable

GDF9 p.Thr149= rs254286
 CC
 CT
 TT Enable

ФСГ

ЛГ

АМГ

LHCGR	FSHR	GDF9 Glu182	GDF9 Thr149	ФСГ	ЛГ	АМГ	Fact	Calculated	Error
AA	AA	GA	CC	8.70	7.09	1.46	8.00	7.866337867201	-2%
AA	AA	GA	CT	4.83	2.91	3.87	6.00	5.90232145894	-2%
AA	AA	GA	TT	5.44	4.24	2.70	11.00	11.18278927036	2%
AA	AA	GG	CC	3.70	2.30	0.90	5.00	4.782516322288	-4%
AA	AA	GG	CT	9.27	5.25	0.81	3.00	3.260911247304	9%
AA	AA	GG	CT	8.52	3.35	2.20	5.00	5.125912398206	3%
AA	AA	GG	CT	7.70	5.34	3.57	15.00	15.38613169838	3%
AA	AA	GG	TT	3.64	3.04	4.20	15.00	15.63061753186	4%
AA	GA	GA	CC	6.80	4.60	3.70	5.00	4.981307974225	0%
AA	GA	GA	CT	7.34	3.04	2.52	12.00	11.87511635671	-1%
AA	GA	GG	CT	12.70	4.50	1.10	6.00	5.513820822451	-8%
AA	GA	GG	CT	8.18	5.65	1.87	12.00	12.18116850194	2%

Рисунок 39 – Интерфейс программы для прогнозирования овариального ответа на основе ИИ по четырем полиморфным локусам генов *LHCGR Asn312Ser rs2293275*, *FSHR Ser680Asn rs6166*, *GDF9 p.Glu182= rs10491279*, *GDF9 p.Thr149= rs254286*.

Программа Genetic neural network predictor of ovarian response (G12) позволяет прогнозировать вероятность возникновения репродуктивных расстройств на основе искусственного интеллекта путем анализа имеющегося

массива статистических данных по двенадцати генам тромбофилии и фолатного цикла (Приложение В).

Программа разработана в целях выдачи прогностического ответа по результатам анализов, оптимизации протоколов лечения с учетом клинико-генетических предикторов и обеспечивает выполнение следующих функций:

- задание клинико-генетических предикторов в графическом виде;
- формирование индивидуального генетического профиля пациентов в целях оптимизации персонализированного лечения;
- выдачу предполагаемого исхода лечения по результатам клинико-генетических предикторов (Рисунок 40).

Прогнозирование вероятности возникновения репродуктивных расстройств при анализе полиморфизма генов тромбофилии и фолатного ...

Расчет по входным параметрам

Генотипы

F2.rs1799963 = GG
F5.rs6025 = GG
F7.rs6046 = GG
F13A1.rs5985 = GG
FGB.rs1800790 = GG
ITGA2.rs1126643 = GG
ITGB3.rs5918 = AA
PAI-1.rs1799889 = AA
MTHFR.rs1801133 = GG
MTHFR.rs1801131 = GA Риск тромбообразования
MTR.rs1805087 = AA
MTRR.rs1801394 = GG Риск дефектов плода
Диагноз = Отклоня при беременности

Генотипы

F2.rs1799963
 GG
 GA
 AA

F5.rs6025
 GG
 GA
 AA

F7.rs6046
 GG
 GA
 AA

F13A1.rs5985
 GG
 GA
 AA

FGB.rs1800790
 GG
 GA
 AA

ITGA2.rs1126643
 CC
 CT
 TT

ITGB3.rs5918
 CC
 CT
 TT

PAI-1.rs1799889
 5G5G
 5G4G
 4G4G

MTHFR.rs1801133
 CC
 CT
 TT

MTHFR.rs1801131
 CC
 CA
 AA

MTR.rs1805087
 GG
 GA
 AA

MTRR.rs1801394
 GG
 GA
 AA

Наборы

12
 6
 2

Проверка работы нейронной сети по выборке

F2.rs1799963	F5.rs6025	F7.rs6046	F13A1.rs5985	FGB.rs1800790	ITGA2.rs1126643	ITGB3.rs5918	PAI-1.rs1799889	MTHFR.rs1801133	MTHFR.rs1801131	MTR.rs1805087	MTRR.rs1801394	Diag	Calc	Err	Diag
GG	GG	GG	GG	GG	CC	TT	4G4G	CC	CA	AA	GG	2	1.955731	-2%	Отклоня при беременности
GG	GG	GG	GG	GG	CC	TT	4G4G	CT	AA	AA	GG	4	3.914242	-2%	Бесплодие трубного происхождения
GG	GG	GG	GG	GG	CC	TT	5G4G	CC	CC	AA	GG	2	1.962271	-2%	Отклоня при беременности
GG	GG	GG	GG	GG	CC	TT	5G4G	CC	CA	GA	GG	6	5.973747	0%	Невынашивание плода
GG	GG	GG	GG	GG	CC	TT	5G4G	CC	CA	GA	AA	3	2.999753	0%	Др. формы бесплодия
GG	GG	GG	GG	GG	CC	TT	5G4G	CC	CA	GA	AA	3	2.999753	0%	Др. формы бесплодия
GG	GG	GG	GG	GG	CC	TT	5G4G	CT	CA	GA	AA	6	5.981791	0%	Невынашивание плода
GG	GG	GG	GG	GG	CC	TT	5G4G	CT	AA	AA	GA	2	1.985064	-1%	Отклоня при беременности
GG	GG	GG	GG	GG	CC	TT	5G4G	CT	AA	AA	GA	2	1.985064	-1%	Отклоня при беременности
GG	GG	GG	GG	GG	CC	TT	5G5G	CC	CA	GA	GG	3	3.023665	1%	Др. формы бесплодия

Рисунок 40 – Интерфейс программы по прогнозированию вероятности возникновения репродуктивных расстройств на основе ИИ по двенадцати генам тромбофилии и фолатного цикла.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бесплодие является серьезной мировой проблемой, которая затрагивает 50-80млн пациентов репродуктивного возраста. Заболевание имеет серьезные демографические последствия. Мировая статистика бесплодия показывает ежегодный рост данной патологии, в связи, с чем изобретаются новые технологии для решения этой проблемы (Морозова А.Ю. и др., 2019). Методы вспомогательных репродуктивных технологий активно развиваются и совершенствуются, процедуры ЭКО являются существенными инструментами для преодоления проблемы бесплодия. Анализ данных показывает, что применение вспомогательных репродуктивных технологий является эффективным методом лечения бесплодия, однако, необходимо дальнейшее развитие и совершенствование проводимых процедур ВРТ, с целью повышения результативности. Главным этапом в программах вспомогательных репродуктивных технологий является стимуляция суперовуляции. Наряду с этим ответ яичников на стимуляцию гонадотропинами может быть разным. В 9-24% наблюдается «бедный» ответ яичников (Mohammadi S. et al., 2021). 1,5% циклов ЭКО отменяется ввиду «гиперответа» и риска развития синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) (Lee R.W.K. et al., 2020). Синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ) представляет собой осложнение, связанное с контролируемой стимуляцией яичников (КСЯ) во время лечения бесплодия. СГЯ средней и тяжелой степени встречается примерно в 1–5% циклов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), в то время как СГЯ легкой степени тяжести обычно протекает незаметно (Yang Y. et al., 2022). В настоящее время во всём мире проводят поиск биомаркёров, в том числе и молекулярно-генетических, прогнозирующих развитие СГЯ у женщин, имеющих генетическую предрасположенность к развитию осложнений при проведении ЭКО. В качестве генов-кандидатов рассматривают гены тирозинкиназы 4 (*FLT4*), рецептора ФСГ (*FSHR*), рецептора АМГ (*AMHR*) и рецептора 1 эстрогена (*ESR1*), полиморфные

варианты которых могут служить потенциальными маркерами для прогнозирования исхода контролируемой стимуляции яичников (Thathapudi S. et al., 2015).

Важнейший этап ВРТ – стимуляция яичников гонадотропинами, целью которой является получение оптимального количества зрелых ооцитов без риска развития СГЯ. В проведенном исследовании у женщин с гиперстимуляцией выявлено снижение варианта Ser (аллель *G) и повышение варианта Asn (аллель *A), что согласуется с данными литературы о вероятно более высоком уровне базального ФСГ у носителей аллеля *A. Замена аспарагина на серин в кодоне 680 локализована во внутриклеточной части рецептора ФСГ (rs6166 гена *FSHR*). Гомозиготные носители аспарагина в клинических исследованиях у женщин, перенёсших ЭКО, были связаны с потребностью в более низкой общей дозе экзогенного ФСГ для овуляции, чем у носителей *TC или *CC в том же положении (Mayorga M.P. et al., 2000; Lledo B. et al., 2016; Jahromi B.N. et al., 2018).

Это явление было интерпретировано как повышенная чувствительность к гормонам у носителей аспарагина. Многие предыдущие клинические исследования показали, что женщины, гомозиготные по аспарагину, могут лечиться более низкими дозами ФСГ при проведении ЭКО. В другом исследовании носители варианта Ser/Ser имеют более высокие базальные уровни ФСГ, чем носители Asn/Asn. Носителям Ser/Ser необходимо большее количество гонадотропина во время стимуляции яичников, чем носителям Asn/Asn. Носители Ser/Ser производят меньше ооцитов во время стимуляции яичников, чем носители Asn/Asn или Asn/Ser (Sudo S. et al., 2002). Однако есть и противоречивые данные о связи между этим вариантом и СГЯ (Conforti A. et al., 2022).

По данным других авторов, частота гетерозиготного и гомозиготного аллеля *G локуса rs6166 гена *FSHR* в группе с бедным ответом была значительно выше, чем в других группах ($p=0,034$). Кроме того, концентрация АМГ в сыворотке крови, количество антральных фолликулов, извлечённых ооцитов, ооцитов

метафазы II и двухпронуклеарных ооцитов у пациенток с генотипом *AG были значительно ниже, чем у женщин с генотипом *AA (Jain T. et al., 2019).

Из-за высокой чувствительности поликистозных яичников к стимуляции овуляции контролировать её у пациенток с СПКЯ сложно, таким образом, стимуляция овуляции может привести к СГЯ. Опубликованные данные о роли rs2293275 гена *LHCGR* в развитии СГЯ у пациенток с СПКЯ противоречивы. O. Valkenburg и соавторы (2009) не обнаружили связи между этим однонуклеотидным вариантом и развитием СГЯ в европейской популяции. Однако метаанализ, проведённый J. Zou и соавторами (2018), содержит информацию об увеличении риска развития СПКЯ в 4,1 раза у носителей генотипа *AA (минорный аллель) в европеоидной популяции.

По данным исследования, генотип *AA был связан с более высоким базальным уровнем ФСГ, чем у носителей аллеля *G. Концентрации ЛГ в сыворотке крови и частота наступления клинической беременности при переносе свежих эмбрионов у пациенток с генотипом *GG локуса rs2293275 гена *LHCGR* были значительно выше, чем у пациенток с генотипом AG (Thathapudi S. et al., 2015).

По литературным данным, однонуклеотидные полиморфизмы rs254286 и rs10491279 в гене фактора дифференцировки роста 9 (*GDF9*) ассоциированы с преждевременной недостаточностью яичников, бедным ответом яичников и плохим прогнозом ЭКО у женщин со сниженным овариальным резервом. По результатам исследования, генотип *CC локуса rs254286 гена *GDF9* был ассоциирован с плохой стимуляцией яичников (отношение шансов 9,303; 95% доверительный интервал 2,568–33,745; $p=0,0008$) и плохой частотой оплодотворения (отношение шансов 2,981; 95% доверительный интервал 1,033–8,607; $p=0,0385$) (Serdyńska-Szuster M. et al., 2012).

Таким образом, несмотря на то, что ВРТ служит эффективным методом лечения бесплодия, врач всегда должен помнить о риске СГЯ у пациенток, которые подвергаются стимуляции яичников, так как это осложнение может привести к летальному исходу. Следует продолжить разрабатывать

профилактические мероприятия для снижения риска развития СГЯ. Необходимо проведение дальнейших исследований для поиска маркёров развития СГЯ. Идентификация гормональных, функциональных и генетических маркёров предрасположенности к СГЯ позволит оптимизировать проведение контролируемой стимуляции яичников и предупредит развитие осложнений ВРТ.

В проведенной работе в 2,3% выявлены случаи СГЯ с тяжелым и среднетяжелым течением, а случаи, потребовавшие госпитализации в 0,8% что требует проведение мероприятий по профилактике осложнений применения ВРТ. Несмотря на то, что ВРТ является эффективным методом лечения бесплодия, врач всегда должен помнить о риске СГЯ у пациентов, которые подвергаются стимуляции яичников, так как это осложнение может привести к летальному исходу. Необходимо продолжить разрабатывать профилактические мероприятия для снижения рисков развития СГЯ. Поэтому возможность прогнозировать какой ответ яичников будет получен при проведении программ вспомогательных репродуктивных технологий является одной из важных задач в мире репродукции (Koloda Y.A., Denisova Y.V., Podzolkova N.M., 2021). Несмотря на достоверность АМГ и КАФ (количество антральных фолликулов в прогнозировании овариального ответа в КОС, есть пациентки, перенесшие КОС с оптимальными значениями АМГ и КАФ, которые дают «бедный» ответ по сравнению с прогнозами. В литературе не было найдено ничего, что могло бы объяснить такой ответ у этих пациенток, и поэтому была выдвинута гипотеза о том, что причина может быть генетической. В консенсусе Delphi (2022) подтверждается связь между некоторыми вариантами генов рецепторов гонадотропина и результатами стимуляции яичников (Baldini G.M. et al., 2023). Использование однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в качестве прогностических маркеров исходов программ ВРТ позволит обеспечить персонализированный подход к выбору препаратов и доз для стимуляции яичников и значительно повысить вероятность наступления беременности (Shahrokhi S.Z. et al., 2021). Поэтому целью проведенной работы стал поиск молекулярно-генетических предикторов овариального ответа в программах ВРТ. В исследование включены 146 пациенток

для поиска молекулярно-генетических маркеров к генам *LHCGR*, *FSHR*, *GDF9* разделенных на три группы в зависимости от типа овариального ответа на стимуляцию суперовуляции: 27 пациенток с «бедным» ответом (согласно Болонским критериям: должны присутствовать по крайней мере два из следующих признаков: старший возраст матери (≥ 40 лет), «бедный» ответ яичников в анамнезе с ≤ 3 ооцитами, полученными после обычной стимуляции, и/или аномальный тест на овариальный резерв (т.е. количество антральных фолликулов (КАФ) < 7 или уровень антимюллера гормона (АМГ) $< 1,1$ нг/мл). При отсутствии позднего репродуктивного возраста женщины или аномального овариального теста пациентка может быть определена как «бедная» ответчица после двух эпизодов «бедного» ответа яичников после максимальной стимуляции (Drakopoulos P. et al., 2020).

В ходе проведенного исследования выявилось, что генотип *СТ полиморфного локуса rs254286 гена *GDF9* служит маркером бедного ответа яичников на стимуляцию овуляции, что требует назначения большей стартовой дозы гонадотропинов. У женщин с бедным ответом на стимуляцию овуляции с генотипом *СТ локуса rs254286 гена *GDF9* выявлен низкий уровень антимюллера гормона по сравнению с таковым у пациенток с нормальным ответом на стимуляцию овуляции. Полученные результаты сопоставимы с исследованием на 154 пациентках, которое было опубликовано в 2019 году А.Н. Riepsamen и соавторами, в котором доказано, что *GDF9* ассоциирован с «бедным» ответом в циклах ЭКО. Содержание антимюллера гормона в группе пациенток с синдромом гиперстимуляции яичников выше по сравнению с женщинами, у которых в результате стимуляции овуляции получено менее 15 фолликулов, что сопоставимо с данными W. Permadi и соавторами, опубликованными в 2021 году, где получена положительная корреляция уровня АМГ с количеством полученных ооцитов в циклах ЭКО, что позволяет эффективно прогнозировать ответ яичников и позволяет клиницистам избегать ятрогенных осложнений и выбирать оптимальные протоколы стимуляции. Ряд исследований подтверждает роль

варианта FSHR rs6166 (с.2039A >G, р.Asn680Ser) как прогностического признака ответа яичников на стимуляцию рФСГ, предполагают, что вариант Ser/Ser связан со сниженной чувствительностью FSHR к экзогенному ФСГ. В исследовании провели анализ зависимости гена FSHR и ответа яичников, в результате чего получили, что аллель *G полиморфизма rs6166 гена FSHR чаще встречался у женщин с бедным ответом, что согласуется с данными А. Conforti и соавторов (2022).

Исследования взаимосвязи между бесплодием, невынашиванием беременности и мутациями генов тромбофилии и фолатного цикла свидетельствуют о роли полиморфизма генов фолатного цикла у пациентов с бесплодием и невынашиванием беременности и демонстрируют многообещающие результаты, которые могут быть рекомендованы к применению в клинической практике, с целью индивидуализации подбора протоколов стимуляции суперовуляции. Подтверждением данного вывода служат данные Т. Shaulov и соавторов (2020). В исследовании J. Bilibio и соавторов (2020) была показана связь между полиморфизмом гена *PAI-1(SERPINE1, rs1799889)* 4G/5G и женским бесплодием неизвестной этиологии у населения Северной Греции. В частности, эта ассоциация относится к наличию аллеля *4G и потенциально связана с дефектом имплантации. Однако, эти результаты следует интерпретировать с осторожностью, поскольку требуются более масштабные исследования на разных популяциях. Р. Di Micco и соавторы (2020) показали в своем исследовании значимую роль роль D-димера для выявления женщин, страдающих первичным или вторичным бесплодием и имеющих предрасположенность к тромбофилии. Такой подход может играть роль не только в дифференциальной диагностике бесплодия, но и в ранней диагностике бесплодия вследствие тромбофилии. Кроме того, М. Diaz-Nuñez и соавторы (2019) продемонстрировали в результатах, что полиморфизм FXIII Val34Leu является причиной неудачной имплантации эмбрионов в программах ЭКО. В заключение, проведенное исследование, как и исследование S.D. Neamțu и соавторов (2021) указывают на диагностическую значимость обследования

пациенток на наследственную тромбофилию в гинекологии и репродуктивной медицине, соответственно, проведенное исследование расширяет вклад генетики человека в будущее профилактики и лечения женщин с бесплодием (Sookaromdee P., Wiwanitkit V., 2022).

Установлено, что ряд генетических маркеров, локализованных в генах фолатного цикла, обладают большей предсказательной ценностью, способной улучшить существующие стандартные протоколы стимуляции яичников (Shahrokhi S.Z. et al., 2017).

Метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR) является регуляторным ферментом метаболизма фолиевой кислоты, который участвует в процессе синтеза ДНК и регуляции уровня гомоцистеина, выполняя ключевую роль в регуляции репродуктивной функции (Shahrokhi S.Z., Kazerouni F., Ghaffari F., 2018). Известно, что полиморфизм гена MTHFR связан с женским репродуктивным здоровьем, в частности, речь идет о мутации A1298C (Glu429Ala) (Shahrokhi S.Z. et al., 2021), которая ассоциирована с бесплодием и влияет на эффективность ВРТ. Пациентки с генотипом MTHFR C677T T/T, связанным с изменением метаболизма метионина, при высоком уровне гомоцистеина имеют крайне негативные последствия при вынашивании беременности с высоким риском неудачной имплантации в циклах ЭКО/ИКСИ (Chen L. et al., 2021). Кроме того, в исследованиях указывают на то, что в совокупности, гипергомоцистеинемия, полиморфизм гена MTHFR и других генов фолатного цикла, дефицит витамина В-комплекса, наследственные тромбофилии и выработки аутоиммунных антител могут быть причиной бесплодия неясного генеза (Deroux A. et al., 2017). Высокий уровень гомоцистеина может быть связан с дефицитом определенных витаминов (фолиевой кислоты, витамина В6 и др.) и/или полиморфизмом гена *MTHFR* (Das V. et al., 2015). При этом снижение активности *MTHFR* из-за мутации A1298C может привести к нарушению регуляции статуса метилирования ДНК, что необходимо для нормального развития эмбриона (D'Elia P.Q. et al., 2014). Есть исследования, где оценивалась взаимосвязь между мутацией гена *MTHFR* A1298C и бесплодием, но с

результатами, требующими валидации результатов, а также противоречащими изначально поставленным гипотезам (Mfady D.S. et al., 2014). Кроме того, мутация гена *MTHFR* 677C>T связана с овариальным резервом, созреванием ооцитов и анеуплоидией эмбриона, с преждевременной недостаточностью яичников, повторными выкидышами и нарушением имплантации, при этом A1298C может быть связан с более высокими базальными концентрациями ФСГ и более низким ответом на стимуляцию яичников (Berker B. et al., 2009). Сообщалось, что концентрации гомоцистеина в фолликулярной жидкости связаны с резервом яичников, реакцией на стимуляцию яичников и качеством яйцеклеток и эмбрионов у женщин, проходящих лечение методами ВРТ (Rah H.C. et al., 2012). Группа исследователей из Южной Кореи продемонстрировали, что мутация гена *MTHFR* 677C/T может повышать риск идиопатического бедного ответа яичников и может быть новым генетическим маркером для прогнозирования риска получения бедного ответа яичников (Hou N. et al., 2016). В исследовании популяции женщин из Китая с бедным ответом яичников с высокими концентрациями гомоцистеина в сыворотке крови коррелирует с концентрациями эстрадиола/ФСГ в сыворотке. Мутации гена *MTHFR* C667T/A1298C и *MTRR* A66G не связаны с развитием бедного ответа яичников, но они могут влиять на концентрацию гомоцистеина в сыворотке пациентов (Hou N. et al., 2016). Женщины с дефицитом фолиевой кислоты, перенесшие контролируруемую стимуляцию яичников, имеют более низкое качество ооцитов, низкую частоту наступления беременности и нарушение функции яичников (Blount B.C. et al., 1997). Дефицит фолиевой кислоты увеличивает неправильное встраивание дезоксиуридинмонофосфата в ДНК, нарушает целостность ДНК и замедляет репликацию ДНК, вызывает апоптоз пораженных клеток. Известно, что мутация 677C/T вызывает дефекты метилирования ДНК, которые могут изменить экспрессию генов (Kimura M. et al., 2004).

Имеются данные об отрицательной корреляции между высоким уровнем гомоцистеина и зрелостью ооцитов в программах ВРТ, а также качеством

эмбрионов *in vitro*, имплантацией эмбрионов и частотой наступления беременности (Szymanski W., Kazdepka-Zieminska A., 2003).

Так, к повышению концентрации гомоцистеина в сыворотке крови может привести генетически обусловленный дефицит фолиевой кислоты, кроме того, что может быть связано с рядом патологических состояний, в том числе с осложнениями беременности (Berker B. et al., 2009). Эти результаты не только поднимают ряд интересных биологических вопросов, но и доказывают, что типирование гена *MTHFR* может иметь большое клиническое значение для выявления пациентов с высоким риском неудачи имплантации и выявления наиболее жизнеспособных эмбрионов во время циклов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) (Issakhanova A. et al., 2023).

Учитывая участие фолиевой кислоты, гомоцистеина и вариаций генов, метаболизирующих фолиевую кислоту, в фолликулогенезе, эти полиморфизмы являются интересными кандидатами в биомаркеры, и их значение в вариациях ответа контролируемой стимуляции овуляции требует дальнейшего изучения (Palomares A.R. et al., 2022). В исследовании M. Laanpere и соавторов (2010) было показано, что наличие мутантного аллеля *С полиморфизма 1298 в гене *MTHFR* привело к тенденции к увеличению концентрации АМГ в сыворотке; однако количество извлеченных ооцитов у женщин с мутантными генотипами было небольшим. Таким образом, влияние полиморфизма *MTHFR* C677T на качество эмбрионов и частоту наступления беременности после циклов ВРТ остается неясным. Несмотря на взаимосвязь между полиморфизмами *MTHFR* и аспектами женской репродукции, влияние полиморфизмов *MTHFR* на клиническую значимость и биохимические параметры все еще остается спорным (Twig J.M. et al., 2011).

Исследование S.Z. Shahrokhi и соавторов (2021) показало, что не существует связи между мутацией *MTHFR* (C677T и A1298C) и результатами ЭКО, поэтому, не рекомендовано применять исследование для первоначального скрининга. Исследование S. Altmäe и соавторов (2014) показывает, что полиморфизм в генах метаболизма фолиевой кислоты могут быть причиной бесплодия неясного генеза.

В проведенном исследовании у женщин с бесплодием и различным ответом на стимуляцию овуляции статистически значимых отличий по аллелям и генотипам полиморфных локусов генов *MTHFR*, *MTR*, *MTRR* не выявлено.

Кроме того, есть данные, которые показывают, что у пациенток старшего репродуктивного возраста мутация *MTHFR 677C>T* влияет на ответ яичников; этим пациенткам требуется меньше рФСГ и в ответ получается больше ооцитов. Однако другое исследование не выявило корреляции между вариацией *677C/T* и исходом гормональной стимуляции яичников, а вместо этого обнаружило полиморфизм *MTHFR 1298A/C*, где аллель *А была связана с лучшим ответом яичников на гормональную стимуляцию (Altmäe S. et al., 2010). В исследовании С.Ж. Thaler и соавторов (2006) аллель варианта *677 T* была связана с СГЯ. Исследование М.Р. Rosen и соавторов (2007) имея большую выборку этот вывод не подтвердили. Следует отметить, что большинство женщин, проходящих лечение от бесплодия, принимают добавки фолиевой кислоты.

Известно, что люди, несущие аллель *Т *MTHFR 677*, имеют повышенные концентрации гомоцистеина в плазме, а при дополнительном введении фолиевой кислоты они могут достигать нормальных концентраций гомоцистеина (Dulitzky M. et al., 2002). Ряд авторов показали, что полиморфизм *MTHFR A1298C*, но не полиморфизм *C677T*, связан с более высокими базальными уровнями ФСГ и может быть определяющим фактором ответа на стимуляцию яичников, эти результаты убедительно доказывают, что полиморфизм *MTHFR A1298C* модулирует фолликулогенез (Machac S. et al., 2006). Учитывая участие фолиевой кислоты, гомоцистеина и вариаций генов, метаболизирующих фолиевую кислоту, в фолликулогенезе, эти полиморфизмы являются интересными кандидатами в биомаркеры, и их значение в вариациях ответа контролируемой стимуляции овуляции требует дальнейшего изучения.

Таким образом, представленные данные требуют продолжения исследований в рамках предложенного научного видения важной проблемы гипергомоцистеинемии как маркера метаболических изменений, в частности

гормональных нарушений, для оптимизации ведения пациентов с бесплодием перед проведением ВРТ.

Результаты проведенного исследования показывают, что имеется связь гена *F2*, *F5*, *MTR* с бесплодием и гена *MTHFR* с невынашиванием беременности. Выявлена ассоциация между геном *F2* аллеля *A** и генотипа **G*A* локуса G20210A, тенденция к ассоциации аллеля **A* ($p=0,07$) и ассоциация генотипа **G*A* локуса G1691A гена *F5* с бесплодием ($\chi^2=3,5$; $p=0,03$; $p\text{-FDR}=0,045$; $OR=2,1$ (95% ДИ=1,13-3,87)) и невынашиванием беременности ($\chi^2=2,75$; $p=0,045$; $p\text{-FDR}=0,045$; $OR=2,1$ (95% ДИ=1,06-4,1)). Возможно, при увеличении выборок в группах исследования и контроля различия окажутся более значимыми; ассоциация rs6046*G и генотипа **GG* гена *F7* с бедным ответом на стимуляцию и гиперответом на контролируруемую стимуляцию, однако, требуется проведение аналогичных исследований на более широкой выборке и валидация результатов проведенного исследования на независимых выборках для последующего использования выявленных закономерностей для диагностических целей. Диагностика полиморфизма тромбофильных генов полезна для определения причин ПНБ, признавая, что на это многофакторное заболевание также могут влиять различные приобретенные факторы, включая факторы риска, связанные с репродукцией, и длительную иммобилизацию (Barut M.U. et al., 2018). В исследовании S.Z. Shahrokhi и соавторов (2021) не удалось продемонстрировать связь между генотипами *MTHFR* и количеством ооцитов, полученных у пациентов прошедших КОС, что подтверждается полученными данными исследования, что в группах женщин с бесплодием и различным ответом на стимуляцию овуляции статистически значимых отличий в распределении частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов *MTHFR*, *MTR*, *MTRR* не выявлено.

Таким образом, идентификация генетических вариантов, способных предсказать ответ яичников, может проложить путь к адаптации стимуляции яичников на основе профиля индивидуального генотипа. Полученные результаты подтверждают идею о том, что поиск молекулярно-генетических маркеров может

стать многообещающей новой областью для изучения специфических для генотипа реакций на контролируемую овариальную стимуляцию, которые могут помочь адаптировать терапию стимуляции яичников к конкретным пациентам, повышая результаты успеха ВРТ и рождения здоровых детей.

ВЫВОДЫ

1. Наибольшая эффективность ВРТ отмечается при трубном (40%) и эндокринном факторах (30,9%), самые низкие показатели беременности наблюдались при бесплодии маточного генеза (9,6%) и эндометриозе (9,2%).

2. Частота синдрома гиперстимуляции яичников составила 2,3%, случаи, потребовавшие госпитализации, составили 0,8%; частота «бедного» ответа при овариальной стимуляции в программах ЭКО за период с 2018г по 2021года составила 18,4%.

3. Отмечено снижение уровня гормона ФСГ в группах с нормальным ответом на стимуляцию овуляции и гиперответом яичников. В группе пациенток с гиперответом яичников уровень гормона АМГ выше, чем в группах с бедным и нормальным ответом на стимуляцию овуляции. Выявлена ассоциация «бедного» ответа яичников с высоким уровнем гомоцистеина, выявлена ассоциация аллеля *Т rs1801133 гена *MTHFR*, аллеля *G rs1805087 гена *MTR* с повышением уровня гомоцистеина.

4. Установлено, что генотип *СТ локуса rs254286 гена *GDF9* является молекулярно-генетическим предиктором бедного ответа яичников на контролируемую стимуляцию овуляции, риск повышается в 3,4 раза; аллель G* и генотип *G*G локуса 10976 гена *F7* ассоциирован с гиперответом и бедным ответом на КОС. Выявлена взаимосвязь аллеля А* и генотипа *G*А локуса G20210А гена *F2* с бесплодием и ассоциация генотипа *G*А локуса G1691А гена *F5* с бесплодием и невынашиванием беременности, аллеля *Т и генотипа *Т*Т локуса С677Т гена *MTHFR* - с невынашиванием беременности.

5. Прогнозирование овариального ответа с использованием технологии искусственной нейронной сети с помощью программного обеспечения на основе выявленных клиничко-генетических предикторов, что позволит улучшить результаты лечения бесплодия в программах ВРТ на основе индивидуального контроля стимуляции.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. На этапе подготовки к проведению программы ЭКО пациенткам рекомендовано проводить клинико-лабораторное обследование с обязательной оценкой уровней АМГ, эстрадиола, ФСГ, а также молекулярно-генетическое исследование, с оценкой носительства генотипа *СТ локуса p.Thr149Thr rs254286 гена GDF9, *G*A локуса G20210A гена F2, *G*A локуса G1691A гена F5, *T*T локуса C677T гена MTHFR что позволит индивидуализировать и повысить эффективность циклов ЭКО.

2. При носительстве *СТ полиморфного локуса rs 25428600 гена *GDF9*, который является фактором риска бедного ответа яичников на стимуляцию овуляции пациенткам следует подбирать стартовые дозировки препаратов гонадотропинов выше обычной.

3. При подготовке к ЭКО необходимо оценить уровень гомоцистеина, при повышении уровня гомоцистеина в крови 8,1 мкмоль/л и выше проводить коррекцию с применением фолатов.

4. С целью прогнозирования ответа яичников на гормональную стимуляцию необходимо использовать программы: OVARIAN RESPONSE PREDICTION, GENETIC NEURAL NETWORK PREDICTOR OF OVARIAN RESPONSE (G4), GENETIC NEURAL NETWORK PREDICTOR OF OVARIAN RESPONSE (G12) разработанные на основе логического программирования и технологии искусственных нейронных сетей.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение
- СГЯ – синдром гиперстимуляции яичников
- ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии
- ГнРГ – гонадотропин-рилизинг гормон
- аГнРГ – агонист гонадотропин-рилизинг гормон
- ИКСИ – интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида
- ФСГ – фолликулостимулирующий гормон
- ЛГ – лютеинизирующий гормон
- АМГ – антимюллеров гормон
- СПКЯ – синдром гиперстимуляции яичников
- КОС – контролируемая овариальная стимуляция
- LHCGR – рецептор лютеинизирующего гормона/хориогонадотропина
- FSHR – рецептора фолликулостимулирующего гормона
- GDF9 – дифференциальный фактор роста 9
- ИИ – искусственный интеллект
- НС – нейронная сеть

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ассоциация гена FSHR с сывороточным уровнем гормонов гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси и овариальным ответом / О. В. Лянгасова, С. В. Ломтева, К. Г. Савикина [и др.] // Медицинская генетика. – 2021. – Т. 20, № 12 (233). – С. 23-33.
2. Башмакова, Н. В. Профилактика гиперстимуляции яичников антиэстрогенами в программах экстракорпорального оплодотворения / Н. В. Башмакова, А. Ю. Храмцова // Женское здоровье и репродукция. – 2022. – № 4 (55). – С. 23-33.
3. Бесплодие. Лечение и профилактика бесплодия / А. Ю. Морозова, А. С. Щедрина, М. А. Митрофанова [и др.] // Авиценна. – 2019. – № 51. – С. 11-13.
4. Зеленая, К. В. Психологические особенности супругов при лечении бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения / К. В. Зеленая, Т. Р. Петросян, С. Н. Смирнова // Семья в современном мире: сборник трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Курск, 2017. – С. 246-250.
5. Ившин, А. А. Искусственный интеллект на страже репродуктивного здоровья / А. А. Ившин, Т. З. Багаудин, А. В. Гусев // Акушерство и гинекология. – 2021. – № 5. – С. 17-24.
6. Камилова, Д. П. Клинические исходы циклов ЭКО при проведении прайминга эстрогенами перед контролируемой овариальной стимуляцией у пациенток с «бедным» овариальным ответом / Д. П. Камилова, Т. М. Кетиладзе, П. А. Гоголевский // Проблемы репродукции. – 2018. – № 4. – С. 53-58.
7. Корсак, В. С. Регистр ВРТ Российской ассоциации репродукции человека. Отчёт за 2018 год / В. С. Корсак // Проблемы репродукции. – 2021. – Т. 27, № 2. – С. 6-20.

8. Корсак, В. С. Регистр ВРТ Российской ассоциации репродукции человека. Отчёт за 2019 год / В. С. Корсак // Проблемы репродукции. – 2021. – Т. 27, № 6. – С. 14-29.
9. Кравченко, Е. Н. Преждевременная недостаточность яичников, современный взгляд на проблему / Е. Н. Кравченко, М. С. Воронцова // Мать и дитя в Кузбассе. – 2022. – № 1 (88). – С. 4–10.
10. Курбатова, Н. В. Влияние экологии на генетические аспекты бесплодия у женщин со сниженным овариальным резервом. Обзор литературы / Н. В. Курбатова // Мировая наука. – 2022. – № 5 (62). – С. 105-112.
11. Лакин, Г. Ф. Биометрия: учебное пособие для биологических специальностей вузов / Г. Ф. Лакин. – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
12. Моргунов, Р. А. Взаимосвязь прегравидарной подготовки с репродуктивными установками и исходами беременности и родов / Р. А. Моргунов, Е. Н. Кравченко // Новые технологии в акушерстве, гинекологии, перинатологии и репродуктивной медицине: научные материалы конгресса, программа и каталог IV Международного конгресса / под ред. Н. М. Пасман, М. Ю. Денисова. – М., 2019. – С. 129-131.
13. Озолия, Л. А. Особенности прегравидарной подготовки у пациенток с верифицированной гипергомоцистеинемией перед использованием ВРТ / Л. А. Озолия, И. А. Лапина // Проблемы репродукции. – 2015. – № 1. – DOI: 10.17116/repro20152160-65.
14. Покотило, Л. И. ВРТ и репродуктивные маркеры / Л. И. Покотило, Н. К. Ковалева, Л. В. Дудко // Репродуктивная медицина. – 2019. – № 4 (41). – С. 40-43.
15. Предииктивное значение оценки функции яичников в программах вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток со слабым ответом яичников на стимуляцию / А. И. Меркулова, Л. Х. Джемлиханова, Д. А. Ниаури [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2019. – Т. 68, № 6. – С. 7-18.

16. Предикторы овариального ответа в программах вспомогательных репродуктивных технологий у носителей структурных перестроек хромосом / Ю. В. Шиленкова, А. А. Пендина, И. Д. Мекина [и др.] // Женское здоровье и репродукция. – 2022. – № 1 (52). – С. 21-37.

17. Применение микронизированного прогестерона для нормализации менструального цикла в рутинной клинической практике: результаты российского многоцентрового наблюдательного исследования / И. Б. Манухин, Е. А. Юрасова, В. М. Кулешов [и др.] // Проблемы репродукции. – 2019. – Т. 25, № 5. – С. 60–68.

18. Регистр ВРТ. Отчёт за 2019 год. – Режим доступа: https://www.rahr.ru/registr_otchet.php (Дата обращения: 11.09.2022).

19. Роль хронического эндометрита в патогенезе нарушения репродуктивной функции / Д. В. Смирнова, А. М. Герасимов, Л. В. Кулида [и др.] // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2022. – Т. 27, № 2. – С. 42-49.

20. Саиджалилова, Д. Д. Изучение роли генетического исследования системы гемостаза в эффективности экстракорпорального оплодотворения / Д. Д. Саиджалилова, Д. Б. Мирзаева // Медицинские новости. – 2019. – № 7 (298). – С. 60-62.

21. Синдром гиперстимуляции яичников. Клинические рекомендации, 2021. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/665_1 (Дата обращения: 11.09.2022).

22. Современные подходы к диагностике и ведению пациенток с «бедным» ответом на гонадотропную овариальную стимуляцию в программах вспомогательных репродуктивных технологий / С. Г. Перминова, И. С. Белова, Е. В. Митюрин, Г. В. Савостина // Акушерство и гинекология. – 2022. – № 8. – С. 12-21.

23. Способ прогнозирования развития субоптимального ответа на контролируруемую овариальную стимуляцию в программах эко/иксии: пат. 2774145 С1, Рос. Федерация / Ниаури Д. А., Коган И. Ю., Гзгзян А. М., Джемлиханова Л. Х., Нгуен К. Т., Махмадалиева М. Р., Обьедкова К. В. – № 2021132474; заявл. 08.11.2021; опубл. 15.06.2022.

24. Способ прогнозирования результативности программы экстракорпорального оплодотворения: пат. 2646822 С1, Рос. Федерация / Лапштаева А. В., Радаева О. А., Новикова Л. В., Герасеменко А. В. – № 2017100381; заявл. 11.01.2017; опубл. 07.03.2018.

25. Сравнение эффективности различных протоколов овариальной стимуляции у пациенток со сниженным овариальным резервом / Н. М. Подзолкова, Н. Л. Шамугия, М. С. Борисова, М. Б. Аншина // Проблемы репродукции. – 2019. – Т. 25, № 3. – С. 91-98.

26. Субоптимальный ответ на контролируруемую овариальную стимуляцию в циклах эхо/икси / К. Т. Нгуен, Д. А. Няури, Л. Х. Джемлиханова [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2020. – Т. 69, № 6. – С. 61-70.

27. Тихова, Г. П. Планируем клиническое исследование. Вопрос №1: как определить необходимый объем выборки? / Г. П. Тихова // Регионарная анестезия и лечение острой боли. – 2014. – Т. 8, № 3. – С. 57-63.

28. Тревожные расстройства у женщин старшего репродуктивного возраста в программе экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) / Ж. Р. Гарданова, В. И. Ильгов, В. И. Есаулов, А. К. Гарданов // Женское психическое здоровье: междисциплинарный статус: материалы Всероссийского научно-практического конгресса с международным участием, посвященного 100-летию кафедры психиатрии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, бывшего Женского медицинского института. – СПб., 2018. – С. 46-47.

29. 1,500 IU human chorionic gonadotropin administered at oocyte retrieval rescues the luteal phase when gonadotropin-releasing hormone agonist is used for ovulation induction: a prospective, randomized, controlled study / P. Humaidan, H. Ejdrup Bredkjaer, L. G. Westergaard, C. Yding Andersen // Fertil. Steril. – 2010. – Vol. 93. – P. 847-854.

30. 30 years of data: Impact of the United States in vitro fertilization data registry on advancing fertility care / T. Jain, D. A. Grainger, G. D. Ball [et al.] // Fertil. Steril. – 2019. – Vol. 111, № 3. – P. 477–488.

31. A novel mathematical model of true ovarian reserve assessment based on predicted probability of poor ovarian response: a retrospective cohort study / H. Xu, G. Feng, H. Wang [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2020. – Vol. 37, № 4. – P. 963-972.

32. A randomized controlled trial of combination letrozole and clomiphene citrate or letrozole alone for ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome / R. B. Mejia, K. M. Summers, J. D. Kresowik, B. J. Van Voorhis // *Fertil. Steril.* – 2019. – Vol. 111, № 3. – P. 571-578.

33. Abrahami, N. Do young women with unexplained infertility show manifestations of decreased ovarian reserve? / N. Abrahami, I. Izhaki, J. S. Younis // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2019. – Vol. 36, № 6. – P. 1143-1152.

34. Abrahamyan, G. Results of preparation and implementation of IVF program in patients with thrombophilia and history of failed IVF / G. Abrahamyan // *Georgian Med. News.* – 2017. – Vol. 268-269. – P. 17-23.

35. Abrahamyan, G. Thrombophilic genetic mutations and polymorphisms in women with infertility and failed in vitro fertilization / G. Abrahamyan // *Georgian Med. News.* – 2017. – Vol. 268-269. – P. 28-34.

36. Abu-Musa, A. Novel physiology and definition of poor ovarian response; Clinical recommendations / A. Abu-Musa, T. Haahr, P. Humaidan // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 6. – P. 2110.

37. AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: a meta-analysis / S. L. Broer, M. Dölleman, B. C. Opmeer [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2011. – Vol. 17. – P. 46-54.

38. An online tool for predicting ovarian reserve based on AMH level and age: A retrospective cohort study / Y. Han, H. Xu, G. Feng [et al.] // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* – 2022. – Vol. 13. – P. 946123.

39. An ovarian reserve assessment model based on anti-Müllerian hormone levels, follicle-stimulating hormone levels, and age: Retrospective cohort study / H. Xu, L. Shi, G. Feng [et al.] // *J. Med. Internet Res.* – 2020. – Vol. 22, № 9. – P. e19096.

40. Analysis of IVF/ICSI-FET outcomes in women with advanced endometriosis: influence on ovarian response and oocyte competence / A. Li, J. Zhang, Y. Kuang, C. Yu // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2020. – Vol. 11. – P. 427.
41. Anti-müllerian hormone for the prediction of ovarian response in progestin-primed ovarian stimulation protocol for IVF / J. Huang, J. Lin, H. Gao [et al.] // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2019. – Vol. 10. – P. 325.
42. Anti-Mullerian Hormone: Marker for ovarian response in controlled ovarian stimulation for IVF patients: A first pilot study in the Indian population / N. Singh, E. Malik, A. Banerjee [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. India*. – 2013. – Vol. 63, № 4. – P. 268-272.
43. Antral follicle count and anti-Müllerian hormone level as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in women with polycystic ovarian syndrome undergoing controlled ovarian stimulation / R. Izhar, S. Husain, M. A. Tahir [et al.] // *J. Ultrason.* – 2021. – Vol. 21, № 86. – P. e200-e205.
44. Are ovarian reserve tests reliable in predicting ovarian response? Results from a prospective, cross-sectional, single-center analysis / C. Peluso, R. Oliveira, G. Z. Laporta [et al.] // *Gynecol. Endocrinol.* – 2021. – Vol. 37, № 4. – P. 358-366.
45. Are ovarian response and pregnancy rates similar in selected FMR1 premutated and mutated patients undergoing preimplantation genetic testing? / N. Ranisavljevic, M. Hess, C. Castelli [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2020. – Vol. 37, № 7. – P. 1675-1683.
46. Artificial intelligence in reproductive medicine / R. Wang, W. Pan, L. Jin [et al.] // *Reproduction*. – 2019. – Vol. 158. – P. R139–R154.
47. Artificial intelligence in the assessment of female reproductive function using ultrasound: A review / Z. Chen, Z. Wang, M. Du, Z. Liu // *J. Ultrasound Med.* – 2022. – Vol. 41, № 6. – P. 1343–1353.
48. Association between premature ovarian failure, polymorphisms in MTHFR and MTRR genes and serum homocysteine concentration / N. Hou, S. Chen, F. Chen [et al.] // *Reprod Biomed Online*. – 2016. – Vol. 32, № 4. – P. 407-413.

49. Association of homocysteine with IVF/ICSI outcomes stratified by MTHFR C677T polymorphisms: a prospective cohort study / L. Chen, H. Chen, X. Wang [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2021. – Vol. 43, № 1. – P. 52-61.
50. Association of luteinizing hormone chorionic gonadotropin receptor gene polymorphism (rs2293275) with polycystic ovarian syndrome / S. Thathapudi, V. Kodati, J. Erukkambattu [et al.] // *Genet. Test. Mol. Biomark.* – 2015. – Vol. 19. – P. 128-132.
51. Association of luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor gene polymorphisms with polycystic ovary syndrome risk: A meta-analysis / J. Zou, D. Wu, Y. Liu, S. Tan // *Gynecol. Endocrinol.* – 2018. – Vol. 35. – P. 81-85.
52. Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR 677C>T) and thymidylate synthase (TSER and TS 1494del6) polymorphisms with premature ovarian failure in Korean women / H. C. Rah, Y. J. Jeon, Y. Choi [et al.] // *Menopause.* – 2012. – Vol. 19, № 11. – P. 1260-1266.
53. Association of ovarian response with picoAMH in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation / J. Bruno-Gaston, J. Jung, T. Kumar [et al.] // *Clin. Biochem.* – 2021. – Vol. 95. – P. 34-40.
54. Associations of FSHR and LHCGR gene variants with ovarian reserve and clinical pregnancy rates / C. Guo, H. Yu, G. Feng [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2021. – Vol. 43, № 3. – P. 561-569.
55. Associations of variants in MTHFR and MTRR genes with male infertility in the Jordanian population / D. S. Mfady, M. F. Sadiq, O. M. Khabour [et al.] // *Gene.* – 2014. – Vol. 536, № 1. – P. 40-44.
56. Bahamondes, L. Infertility care and the introduction of new reproductive technologies in poor resource settings / L. Bahamondes, M. Y. Makuch // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 12. – P. 87.
57. Blumenfeld, Z. The ovarian hyperstimulation syndrome / Z. Blumenfeld // *Vitam. Horm.* – 2018. – Vol. 107. – P. 423–451.

58. Can FMR1 CGG repeat lengths predict the outcome in ICSI cycles? / E. Cogendez, E. Ozkaya, A. Ç. Eser [et al.] // *Ginekol. Pol.* – 2022. – Vol. 93, № 9. – P. 735-741.
59. Causes of recurrent miscarriage after spontaneous pregnancy and after in vitro fertilization / J. Bilibio, T. Gama, I. C. Nascimento [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2020. – Vol. 83, № 5. – P. e13226.
60. Clinical efficacy of recombinant versus highly purified follicle-stimulating hormone according to follicle-stimulating hormone receptor genotype / B. Lledo, P. Dapena, J. A. Ortiz [et al.] // *Pharmacogenet. Genomics.* – 2016. – Vol. 26. – P. 288–293.
61. Clinical parameters of ovarian hyperstimulation syndrome following different hormonal triggers of oocyte maturation in IVF treatment / A. Abbara, R. Islam, S. A. Clarke [et al.] // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* – 2018. – Vol. 88, № 6. – P. 920-927.
62. Comparison of luteal phase ovulation induction and ultra-short gonadotropin-releasing hormone agonist protocols in older patients undergoing *in vitro* fertilization / T. Wang, Z. Sun, J. P. Lim, Y. Yu // *Libyan J. Med.* – 2019. – Vol. 14, № 1. – P. 1597327.
63. Controlled ovarian hyperstimulation for fertility preservation in women with breast cancer: Practical issues / S. Y. Park, K. Jeong, E. H. Cho, H. W. Chung // *Clin. Exp. Reprod. Med.* – 2021. – Vol. 48, № 1. – P. 1-10.
64. Correlation of anti-Mullerian Hormone level and antral follicle count with oocyte number in a fixed-dose controlled ovarian hyperstimulation of patients of in vitro fertilization program / W. Permadi, M. W. Ferdian, D. Tjahyadi [et al.] // *Int. J. Fertil. Steril.* – 2021. – Vol. 15, № 1. – P. 40-43.
65. Could polymorphisms of some hormonal receptor genes, involved in folliculogenesis help in predicting patient response to controlled ovarian stimulation? / M. Čuš, V. Vlaisavljević, K. Repnik [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2019. – Vol. 36, № 1. – P. 47–55.

66. Cumulative live birth rate of advanced-age women more than 40 with or without poor ovarian respon / H. Yin, H. Jiang, R. He [et al.] // Taiwan J. Obstet. Gynecol. – 2019. – Vol. 58, № 2. – P. 201-205.
67. Cumulative live birth rates following stimulation with corifollitropin alfa compared with hp-hMG in a GnRH antagonist protocol in poor ovarian responders / J. Errázuriz, A. Romito, P. Drakopoulos [et al.] // Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2019. – Vol. 10. – P. 75.
68. Cumulative live birth rates in low-prognosis women / J. A. Leijdekkers, M. J. C. Eijkemans, T. C. van Tilborg [et al.] // Hum. Reprod. – 2019. – Vol. 34, № 6. – P. 1030-1041.
69. Cunningham, J. Infertility: A primer for primary care providers / J. Cunningham // JAAPA. – 2017. – Vol. 30, № 9. – P. 19-25.
70. Dadhich, P. The male infertility office visit / P. Dadhich, R. Ramasamy, L. I. Lipshultz // Minerva Urol. Nefrol. – 2015. – Vol. 67, № 2. – P. 157-168.
71. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion / Practice Committee of the American Society for reproductive medicine // Fertil. Steril. – 2020. – Vol. 113, № 3. – P. 533-535.
72. Depression, anxiety, and stress in Kazakhstani women with recurrent pregnancy loss: A case–control study / A. Issakhanova, A. Issanov, T. Ukybassova [et al.] // J. Clin. Med. – 2023. – Vol. 12, № 2. – P. 658.
73. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort / P. F. Jacques, A. G. Bostom, P. W. Wilson [et al.] // Am. J. Clin. Nutr. – 2001. – Vol. 73, № 3. – P. 613-621.
74. Determination of idiopathic female infertility from infrared spectra of follicle fluid combined with gonadotrophin levels, multivariate analysis and machine learning methods / P. Jakubczyk, W. Paja, K. Pancierz [et al.] // Photodiagn. Photodyn. Ther. – 2022. – Vol. 38. – P. 102883.
75. Development and validation of prediction model for high ovarian response in *in vitro* fertilization-embryo transfer: A longitudinal study / X. Tan, H. Xi, J. Yang, W. Wang // Comput. Math. Methods Med. – 2021. – Vol. 2021. – P. 7822119.

76. Development of an artificial intelligence-based assessment model for prediction of embryo viability using static images captured by optical light microscopy during IVF / M. VerMilyea, J. M. M. Hall, S. M. Diakiw [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2020. – Vol. 35, № 4. – P. 770–784.

77. Different progestin-primed ovarian stimulation protocols in infertile women undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: an analysis of 1188 cycles / Y.-C. Guo, P.-Y. Chen, T.-T. Li [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2019. – Vol. 299, № 4. – P. 1201-1212.

78. Does the empty follicle syndrome occur in cases of low number of maturing follicles in assisted reproduction? / S. Yakovi, I. Izhaki, M. Ben-Ami, J. S. Younis // *Gynecol. Endocrinol.* – 2019. – Vol. 35, № 4. – P. 305-308.

79. Dopamine agonists for preventing ovarian hyperstimulation syndrome / H. Tang, S. M. Mourad, A. Wang [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2021. – Vol. 4, № 4. – P. CD008605.

80. Double mild stimulation and egg collection in the same cycle for management of poor ovarian responders / T. Madani, M. Hemat, A. Arabipoor [et al.] // *J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod.* – 2019. – Vol. 48, № 5. – P. 329-333.

81. Dual stimulation using Corifollitropin Alfa in 54 Bologna criteria poor ovarian responders - A case series / B. Alsbjerg, T. Haahr, H. O. Elbaek [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2019. – Vol. 38, № 5. – P. 677-682.

82. Dual trigger with gonadotropin releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin significantly improves live birth rate for women with diminished ovarian reserve / M.-H. Lin, F. S.-Y. Wu, Y.-M. Hwu [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2019. – Vol. 17, № 1. – P. 7.

83. Dual-trigger improves the outcomes of in vitro fertilization cycles in older patients with diminished ovarian reserve: A retrospective cohort study / C.-U. Chern, J.-Y. Li, K.-H. Tsui [et al.] // *PLoS One.* – 2020. – Vol. 15, № 7. – P. e0235707.

84. Effect of dehydroepiandrosterone administration before in vitro fertilization on the live birth rate in poor ovarian responders according to the Bologna criteria: A

randomised controlled trial / Z. Wang, A. Yang, H. Bao [et al.] // BJOG. – 2022. – Vol. 129, № 7. – P. 1030-1038.

85. Effect of genetic variants of gonadotropins and their receptors on ovarian stimulation outcomes: A Delphi consensus / A. Conforti, F. Tüttelmann, C. Alviggi [et al.] // Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2022. – Vol. 12. – P. 797365.

86. Effect of LHCGR gene polymorphism (rs2293275) on LH supplementation protocol outcomes in second IVF cycles: A retrospective study / R. Ga, R. Cheemkurthi, M. Kalagara [et al.] // Front. Endocrinol. – 2021. – Vol. 12. – P. 628169.

87. Effects of increased paternal age on sperm quality, reproductive outcome and associated epigenetic risks to offspring / R. Sharma, A. Agarwal, V. K. Rohra [et al.] // Reprod. Biol. Endocrinol. – 2015. – Vol. 13. – P. 35.

88. Effects of obesity and thrombophilia on the risk of abortion in women undergoing in vitro fertilization / M. Candeloro, M. Nisio, A. Ponzano [et al.] // Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2020. – Vol. 11. – P. 594867.

89. Effects of the common 677C>T mutation of the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene on ovarian responsiveness to recombinant follicle-stimulating hormone / C. J. Thaler, H. Budiman, H. Ruebsamen [et al.] // Am. J. Reprod. Immunol. – 2006. – Vol. 55. – P. 251-258.

90. Efficacy of different progestins in women with advanced endometriosis undergoing controlled ovarian hyperstimulation for *in vitro* fertilization - A single-center non-inferiority randomized controlled trial / H. Guo, J. Li, X. Shen [et al.] // Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2020. – Vol. 11. – P. 129.

91. Embryo quality and developmental potential is compromised by age / S. Ziebe, A. Loft, J. H. Petersen [et al.] // Acta Obstet. Gynecol. Scand. – 2001. – Vol. 80, № 2. – P. 169-174.

92. Evaluation of oocyte quality in polycystic ovary syndrome patients undergoing ART cycles / R. Nikbakht, R. Mohammadjafari, M. Rajabalipour, M. T. Moghadam // Fertil. Res. Pract. – 2021. – Vol. 7. – P. 2.

93. Factors associated with severity of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) in women with polycystic ovary syndrome undergoing IVF/ICSI / B. Song, Y. Ma, L. Li [et al.] // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2020. – Vol. 11. – P. 615957.
94. Female infertility and serum auto-antibodies: A systematic review / A. Deroux, C. Dumestre-Perard, C. Dunand-Faure [et al.] // *Clin. Rev. Allergy Immunol.* – 2017. – Vol. 53, № 1. – P. 78-86.
95. Fixed versus flexible antagonist protocol in women with predicted high ovarian response except PCOS: a randomized controlled trial / X. Luo, L. Pei, F. Li [et al.] // *BMC Pregn. Childbirth.* – 2021. – Vol. 21, № 1. – P. 348.
96. Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage / B. C. Blount, M. M. Mack, C. M. Wehr [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1997. – Vol. 94. – P. 3290-3295.
97. Folate-mediated one-carbon metabolism and its effect on female fertility and pregnancy viability / M. Laanpere, S. Altmäe, A. Stavreus-Evers [et al.] // *Nutr. Rev.* – 2010. – Vol. 68, № 2. – P. 99-113.
98. Follicular activation in women previously diagnosed with poor ovarian response: a randomized, controlled trial / C. Díaz-García, S. Herraiz, L. Pamplona [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2022. – Vol. 117, № 4. – P. 747-755.
99. Follicular fluid levels of adrenomedullin 2, vascular endothelial growth factor and its soluble receptors are associated with ovarian response during art cycles / A. Ranjbaran, H. R. Nejabati, T. Ghasemnejad [et al.] // *Geburtshilfe Frauenheilkd.* – 2019. – Bd. 79, № 1. – S. 86-93.
100. Frozen embryo transfer in the menstrual cycle after moderate-severe ovarian hyperstimulation syndrome: a retrospective analysis / Y. Yang, D. Zhu, Q. Wang [et al.] // *BMC Pregn. Childbirth.* – 2022. – Vol. 22, № 1. – P. 907.
101. Genetic and functional analyses of polymorphisms in the human FSH receptor gene / S. Sudo, M. Kudo, S. Wada, [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 8. – P. 893–899.

102. Genetic polymorphisms of GnRH and gonadotrophic hormone receptors affect the phenotype of polycystic ovary syndrome / O. Valkenburg, A. Uitterlinden, D. Piersma [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 24. – P. 2014-2022.

103. Genetic predictors of controlled ovarian hyperstimulation: where do we stand today? / S. Altmäe, O. Hovatta, A. Stavreus-Evers, A. Salumets // *Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 17, № 6. – P. 813-828.

104. Ghaderian, S. H. Involvement of single nucleotide polymorphisms in ovarian poor response / S. H. Ghaderian, R. Akbarzadeh, S. Salehpour // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2021. – Vol. 38, № 9. – P. 2405-2413.

105. Gonadotrophins for ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome / N. S. Weiss, E. Kostova, M. Nahuis [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2019. – Vol. 1, № 1. – P. CD010290.

106. Gonadotropin receptor polymorphisms (FSHR N680S and LHCGR N312S) are not predictive of clinical outcome and live birth in assisted reproductive technology / P. Pirtea, D. de Ziegler, D. Marin [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2022. – Vol. 118, № 3. – P. 494-503.

107. Goyal, A. Machine learning predicts live-birth occurrence before in-vitro fertilization treatment / A. Goyal, M. Kuchana, K. P. R. Ayyagari // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol. 10. – P. 20925.

108. Grisendi, V. Ovarian reserve markers to identify poor responders in the context of POSEIDON classification / V. Grisendi, E. Mastellari, A. La Marca // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2019. – Vol. 10. – P. 281.

109. Han, A. Inherited thrombophilia and anticoagulant therapy for women with reproductive failure / A. Han, J. Han, S. Lee // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2021. – Vol. 85, № 4. – P. e13378.

110. Homocysteine concentrations in follicular fluid are associated with poor oocyte and embryo qualities in polycystic ovary syndrome patients undergoing assisted reproduction / B. Berker, C. Kaya, R. Aytac, H. Satiroglu // *Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 24, № 9. – P. 2293-2302.

111. Human growth hormone for poor responders: a randomized placebo-controlled trial provides no evidence for improved live birth rate / R. J. Norman, H. Alvino, L. M. Hull [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2019. – Vol. 38, № 6. – P. 908-915.

112. Hussein, R. S. Does type of cancer affect ovarian response in oncofertility patients? / R. S. Hussein, Y. Zhao, Z. Khan // *J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod.* – 2021. – Vol. 50, № 6. – P. 101944.

113. Hyperhomocysteinemia and MTHFR gene 677 C>T polymorphism: questionable role in female infertility / V. Das, D. Misra, S. Agrawal [et al.] // *IJRCOG.* – 2015. – Vol. 4, № 3. – DOI: 10.18203/2320-1770.ijrcog20150074.

114. In vitro fertilization procedures with embryo transfer and their association with thrombophilia, thrombosis and early antithrombotic treatments / P. Di Micco, V. Russo, D. Mastroiacovo [et al.] // *J. Blood Med.* – 2020. – Vol. 11. – P. 185-190.

115. Increased prevalence of thrombophilia among women with severe ovarian hyperstimulation syndrome / M. Dulitzky, S. B. Cohen, A. Inbal [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2002. – Vol. 77. – P. 463-467.

116. Individual and combined assessment of Ser680Asn FSH receptor and FSH β -211 G>T gene polymorphisms in ovarian response in IVF/ICSI program / E. Anagnostou, A. Kafkoutou, D. Mavrogianni [et al.] // *Curr. Pharm. Biotechnol.* – 2021. – Vol. 22, № 14. – P. 1857-1865.

117. Infecundity, infertility, and childlessness in developing countries. DHS Comparative Reports № 9 / S. O. Rutstein, I. H. Shah. – Calverton, Geneva : ORC Macro, the World Health Organization, 2004. – 56 p.

118. Infertility and sexual dysfunctions: a systematic literature review / A. Starc, M. Trampuš, D. P. Jukić [et al.] // *Acta Clin. Croat.* – 2019. – Vol. 58, № 3. – P. 508-515.

119. Infertility and the provision of infertility medical services in developing countries / W. Ombelet, I. Cooke, S. Dyer [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2008. – Vol. 14, № 6. – P. 605-621.

120. Influence of age on response to controlled ovarian stimulation in women with low levels of serum anti-Müllerian hormone / C. Massarotti, V. La Pica, F. Sozzi [et al.] // *Gynecol. Endocrinol.* – 2020. – Vol. 36, № 12. – P. 1074-1078.

121. Influence of female age on the fresh cycle live birth rate of different controlled ovarian hyperstimulation protocols in poor ovarian response patients / F. Li, T. Ye, H. J. Kong [et al.] // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* – 2021. – Vol. 56, № 7. – P. 482-488.

122. Influencing factors of pregnancy loss and survival probability of clinical pregnancies conceived through assisted reproductive technology / L. Hu, J. Du, H. Lv [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2018. – Vol. 16, № 1. – P. 74.

123. Insights into ovarian response with a fixed low dose FSH stimulation in an IUI programme: the PRORAILS study / A. Rutten, H. van Ballegooijen, F. Broekmans, B. Cohlen // *Hum. Reprod.* – 2022. – Vol. 37, № 7. – P. 1440-1450.

124. Jacobsen, A. F. Prior thromboembolic disease and assisted reproductive therapy / A. F. Jacobsen, P. M. Sandset // *Semin. Reprod. Med.* – 2021. – Vol. 39, № 5-06. – P. 180-185.

125. Johnsen, S. J. A. Deep vein thrombosis in ovarian hyperstimulation syndrome / S. J. A. Johnsen, O. Nordbø, S. H. Fischer // *Tidsskr Laegeforen.* – 2022. – Bd. 142, № 4. – DOI: 10.4045/tidsskr.21.0668.

126. Koloda, Y. A. Genetic polymorphisms of reproductive hormones and their receptors in assisted reproduction technology for patients with polycystic ovary syndrome / Y. A. Koloda, Y. V. Denisova, N. M. Podzolkova // *Drug Metab. Pers. Ther.* – 2021. – Vol. 37, № 2. – P. 111-122.

127. Kovachev, E. Protocol with GnRH-antagonist and ovulation trigger with GnRH-agonist in risk patients— a reliable method of prophylactic of OHSS / E. Kovachev // *Akush. Ginekol. (Sofia).* – 2008. – Vol. 47, № 4. – P. 16-19.

128. Live birth rates in different subgroups of poor ovarian responders according to Bologna and POSEIDON group classification criteria / M. Mashayekhi, F. Barabi, A. Arabipour, Z. Zolfaghari // *J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod.* – 2021. – Vol. 50, № 9. – P. 102169.

129. Malina, A. Psychosocial aspects of infertility and its treatment / A. Malina, A. Błaszczewicz, U. Owczarz // *Ginekol. Pol.* – 2016. – Vol. 87, № 7. – P. 527-531.

130. Malinowski, A. Pathophysiology of hypercoagulability and infertility / A. Malinowski // *Semin. Reprod. Med.* – 2021. – Vol. 39, № 1-02. – P. 34-61.

131. Metformin treatment before and during IVF or ICSI in women with polycystic ovary syndrome / L. O. Tso, M. F. Costello, L. E. T. Albuquerque [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2020. – Vol. 12, № 12. – P. CD006105.

132. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) is associated with ovarian follicular activity / M. P. Rosen, S. Shen, S. E. McCulloch [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2007. – Vol. 88, № 3. – P. 632-638.

133. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, folic acid and riboflavin are important determinants of genome stability in cultured human lymphocytes / M. Kimura, K. Umegaki, M. Higuchi [et al.] // *J. Nutr.* – 2004. – Vol. 134. – P. 48-56.

134. Middeldorp, S. Thrombophilia, thrombosis and thromboprophylaxis in pregnancy: For what and in whom? / S. Middeldorp, C. Naue, C. Köhler // *Hamostaseologie.* – 2022. – Vol. 42, № 1. – P. 54-64.

135. Modified natural cycle IVF versus conventional stimulation in advanced-age Bologna poor responders / P. Drakopoulos, A. Romito, J. Errázuriz [et al.] // *C. Reprod. Biomed. Online.* – 2019. – Vol. 39, № 4. – P. 698-703.

136. Mourad, S. Interventions for the prevention of OHSS in ART cycles: An overview of Cochrane reviews / S. Mourad, J. Brown, C. Farquhar // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2017. – Vol. 1, № 1. – P. CD012103.

137. MTHFR polymorphisms C677T and A1298C and associations with IVF outcomes in Brazilian women / P. Q. D'Elia, A. A. dos Santos, B. Bianco [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2014. – Vol. 28, № 6. – P. 733-738.

138. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: A systematic analysis of 277 health survey / M. N. Mascarenhas, S. R. Flaxman, T. Boerma [et al.] // *PLoS Med.* – 2012. – Vol. 9, № 12. – P. e1001356.

139. Oocyte number as a predictor for ovarian hyperstimulation syndrome and live birth: An analysis of 256,381 in vitro fertilization cycles / R. G. Steward, L. Lan, A. A. Shah [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2014. – Vol. 101, № 4. – P. 967-973.

140. Ovarian biomarkers predict controlled ovarian stimulation for in vitro fertilisation treatment in Singapore / R. W. K. Lee, L. W. Khin, M. S. Hendricks [et al.] // *Singapore Med. J.* – 2020. – Vol. 61, № 9. – P. 463-468.

141. Ovarian hyperstimulation syndrome after assisted reproductive technologies: trends, predictors, and pregnancy outcomes / D. A. Schirmer, A. D. Kulkarni, Y. Zhang [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2020. – Vol. 114, № 3. – P. 567-578.

142. Ovarian hyperstimulation syndrome. A new look at an old problem / A. P. Petrenko, C. Castelo-Branco, D. V. Marshalov [et al.] // *Gynecol. Endocrinol.* – 2019. – Vol. 35, № 8. – P. 651–656.

143. Ovarian hyperstimulation syndrome: A narrative review of its pathophysiology, risk factors, prevention, classification, and management / B. N. Jahromi, M. E. Parsanezhad, Z. Shomali [et al.] // *Iran J. Med. Sci.* – 2018. – Vol. 43, № 3. – P. 248-260.

144. Ovarian hyperstimulation syndrome: Pathophysiology, staging, prediction and prevention / C. O. Natri, D. M. Teixeira, R. M. Moroni [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2015. – Vol. 45, № 4. – P. 377–393.

145. Ovarian response to follicle-stimulating hormone (FSH) stimulation depends on the FSH receptor genotype / M. P. Mayorga, J. Gromoll, H. M. Behre [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2000. – Vol. 85. – P. 3365-3369.

146. Ovarian sensitivity decreased significantly in patients with insulin resistance undergoing in vitro fertilization and embryo transfer / Y. Zheng, Y. Pan, P. Li [et al.] // *Front. Physiol.* – 2022. – Vol. 12. – P. 809419.

147. Ovarian stimulation in assisted reproductive technology cycles for varied patient profiles: An Indian perspective / P. R. Jirge, M. M. Patil, R. Gutgutia [et al.] // *J. Hum. Reprod. Sci.* – 2022. – Vol. 15, № 2. – P. 112–125.

148. Patients with IVF complicated by moderate-to-critical OHSS experience increased thrombosis, GDM and neonatal NICU admission but slightly shorter gestation

compared with matched IVF counterparts: A retrospective Chinese cohort study / L. Hu, R. Xie, M. Wang, Y. Sun // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2021. – Vol. 19, № 1. – P. 8.

149. PCR past, present and future / H. Zhu, H. Zhang, Y. Xu [et al.] // *Biotechniques.* – 2020. – Vol. 69, № 4. – P. 317-325.

150. Performance of ovarian response prediction index (ORPI) in predicting ovarian response and livebirth in the in-vitro fertilisation cycle using a standard stimulation with corifollitropin alpha in a GnRH antagonist protocol / D. Y. T. Ng, J. K. Y. Ko, H. W. R. Li [et al.] // *Hum. Fertil. (Camb).* – 2020. – P. 1-7. doi: 10.1080/14647273.2020.1805517.

151. Pharmacogenetic algorithm for individualized controlled ovarian stimulation in assisted reproductive technology cycles / M. Roque, B. Bianco, D. M. Christofolini [et al.] // *Panminerva Med.* – 2019. – Vol. 61, № 1. – P. 76-81.

152. Podolak, A. The role of mitochondria in human fertility and early embryo development: What can we learn for clinical application of assessing and improving mitochondrial DNA? / A. Podolak, I. Woclawek-Potocka, K. Lukaszuk // *Cells.* – 2022. – Vol. 11, № 5. – P. 797.

153. Polymorphisms in the MTHFR gene influence embryo viability and the incidence of aneuploidy / M. Enciso, J. Sarasa, L. Xanthopoulou [et al.] // *Hum. Genet.* – 2016. – Vol. 135, № 5. – P. 555-568.

154. Preconception folic acid use modulates estradiol and follicular responses to ovarian stimulation / J. M. Twigt, F. Hammiche, K. D. Sinclair [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2011. – Vol. 96, № 2. – P. E322-329.

155. Predicting IVF outcome in poor ovarian responders / O. Lebovitz, J. Haas, N. Mor [et al.] // *BMC Womens Health.* – 2022. – Vol. 22. – P. 395.

156. Predicting severe ovarian hyperstimulation syndrome in in vitro fertilized women using estradiol levels, ceollected eggs and follicle counts / I. Madabrazoa, J. Ginosatán, J. Jónésatón [et al.] // *J. Int. Med. Res.* – 2020. – Vol. 48, № 8. – P. 0300060520945551.

157. Prediction of in vitro fertilization outcome at different antral follicle count thresholds combined with female age, female cause of infertility, and ovarian response

in a prospective cohort of 8269 women / S. Liao, J. Xiong, H. Tu [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2019. – Vol. 98, № 41. – P. e17470.

158. Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in women older than 37 years / P. Platteau, C. Staessen, A. Michiels [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2005. – Vol. 84, № 2. – P. 319-324.

159. Prevalence of inherited thrombophilia in patients with severe ovarian hyperstimulation syndrome / S. Machac, M. Lubusky, M. Prochazka, R. Streda // *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub.* – 2006. – Vol. 150, № 2. – P. 289-292.

160. Profiling the influence of gene variants related to folate-mediated one-carbon metabolism on the outcome of in vitro fertilization (IVF) with donor oocytes in recipients receiving folic acid fortification / A. R. Palomares, M. Ruiz-Galdon, K. Liu, [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23, № 19. – P. 11298.

161. Qiao, J. Diseases caused by mutations in luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor / J. Qiao, B. Han // *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* – 2019. – Vol. 161. – P. 69-89.

162. Rare genetic variants suggest dysregulation of signaling pathways in low- and high-risk patients developing severe ovarian hyperstimulation syndrome / L. Borgwardt, K. W. Olsen, M. Rossing [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2020. – Vol. 37. – P. 11.

163. Recombinant human luteinizing hormone co-treatment in ovarian stimulation for assisted reproductive technology in women of advanced reproductive age: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials / A. Conforti, S. C. Esteves, P. Humaidan [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2021. – Vol. 19, № 1. – P. 91.

164. Recurrent miscarriage and implantation failure of unknown cause studied by a panel of thrombophilia conditions: increased frequency of FXIII Val34Leu polymorphism / M. Diaz-Nuñez, A. Rabanal, A. Expósito [et al.] // *J. Reprod. Infertil.* – 2019. – Vol. 20, № 2. – P. 76–82.

165. Relationships between lipids levels in blood plasma, follicular fluid and seminal plasma with ovarian response and sperm concentration regardless of age and body mass index / R. N. Calonge, J. A. Guijarro, C. Andrés [et al.] // *Rev. Int. Androl.* – 2022. – Vol. 20, № 3. – P. 178-188.

166. Rizzuto, I. Risk of ovarian cancer in women treated with ovarian stimulating drugs for infertility / I. Rizzuto, R. F. Behrens, L. A. Smith // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2019. – Vol. 6, № 6. – P. CD008215.

167. Sequential E2 levels not ovarian maximal diameter estimates were correlated with outcome of cetrotide therapy for management of women at high-risk of ovarian hyperstimulation syndrome: A randomized controlled study / K. M. Salama, H. M. Abo Ragab, M. F. El Sherbiny [et al.] // *BMC Womens Health.* – 2017. – Vol 17. – P. 108.

168. Serum concentrations of oocyte-secreted factors BMP15 and GDF9 during IVF and in women with reproductive pathologies / A. H. Riepsamen, K. Chan, S. Lien [et al.] // *Endocrinology.* – 2019. – Vol. 160, № 10. – P. 2298-2313.

169. Serum metabolomic signature predicts ovarian response to controlled stimulation / X. Mu, M. L. Pei, F. Zhu [et al.] // *Horm. Metab. Res.* – 2022. – Vol. 54, № 9. – P. 625-632.

170. Serum sex hormone binding globulin concentration as a predictor of ovarian response during controlled ovarian hyperstimulation / J. Zhai, S. Li, Y. Zhu [et al.] // *Front. Med. (Lausanne).* – 2021. – Vol. 8. – P. 719818.

171. Shahrokhi, S. Z. Anti-Müllerian Hormone: genetic and environmental effects / S. Z. Shahrokhi, F. Kazerouni, F. Ghaffari // *Clin. Chim. Acta.* – 2018. – Vol. 476. – P. 123-129.

172. Shaulov, T. Recurrent implantation failure in IVF: A Canadian fertility and andrology society clinical practice guideline / T. Shaulov, S. Sierra, C. Sylvestre // *Reprod. Biomed. Online.* – 2020. – Vol. 41, № 5. – P. 819-833.

173. Single nucleotide polymorphisms in premature ovarian failure-associated genes in a Chinese Hui population / L. Ma, Y. Chen, S. Mei [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2015. – Vol. 12, № 2. – P. 2529-2538.

174. Sookaromdee, P. Maternal thrombophilic and hypofibrinolytic genetic variants and idiopathic recurrent pregnancy loss: Correspondence / P. Sookaromdee, V. Wiwanitkit // *Reprod. Sci.* – 2022. – DOI: 10.1007/s43032-022-01069-9.

175. Study of the genetic etiology of primary ovarian insufficiency: FMR1 gene / M. Barasoain, G. Barrenetxea, I. Huerta [et al.] // *Genes (Basel)*. – 2016. – Vol. 7. – P. E123.

176. Szymanski, W. Effect of homocysteine concentration in follicular fluid on a degree of oocyte maturity / W. Szymanski, A. Kazdepka-Zieminska // *Ginekol. Pol.* – 2003. – Vol. 74. – P. 1392-1396.

177. Tanacan, A. Spontaneous pregnancies in patients with at least one failed IVF cycle after the management of autoimmune disorders, hereditary thrombophilia, and methylation disorders / A. Tanacan, M. Beksac // *JBRA Assist. Reprod.* – 2019. – Vol. 23, № 4. – P. 361–366.

178. The association between thrombophilic genes alterations and poor ovarian response in infertile women: a retrospective case-control study / P. Boroujeni, M. Zamanian, J. Saffari, A. Meybodi // *J. Obstet. Gynaecol.* – 2022. – Vol. 42, № 1. – P. 127-132.

179. The effect of A1298c polymorphism of the MTHFR gene on anti-Müllerian hormone levels: experimental and Web-based analysis / S. Z. Shahrokhi, F. Kazerouni, F. Ghaffari [et al.] // *J. Clin. Lab. Anal.* – 2021. – Vol. 35, № 9. – P. e23948.

180. The effect of Myo-inositol on fertility rates in poor ovarian responder in women undergoing assisted reproductive technique: a randomized clinical trial / S. Mohammadi, F. Eini, F. Bazarganipour [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2021. – Vol. 19, № 1. – P. 61.

181. The effect of polymorphisms in FSHR and FSHB genes on ovarian response: a prospective multicenter multinational study in Europe and Asia / N. P. Polyzos, A. R. Neves, P. Drakopoulos [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2021. – Vol. 36, № 6. – P. 1711–1721.

182. The European IVF-monitoring consortium (EIM) for the European Society of human reproduction and embryology (ESHRE) / C. Wyns, Ch. Geyter, C. Calhaz-Jorge [et al.] // *Hum. Reprod. Open.* – 2021. – Vol. 2021, № 3. – P. 1-17.

183. The future is coming: Artificial intelligence in the treatment of infertility could improve assisted reproduction outcomes. The value of regulatory frameworks / S. Medenica, D. Zivanovic, L. Batkoska [et al.] // *Diagnostics (Basel).* – 2022. – Vol. 12, № 12. – P. 2979.

184. The implication of single-nucleotide polymorphisms in ovarian hyperstimulation syndrome / S. M. H. Ghaderian, R. Akbarzadeh, F. Mohajerani [et al.] // *Mol. Reprod. Dev.* – 2019. – Vol. 86, № 8. – P. 964–971.

185. The incidence of unexpected poor ovarian response in Chinese young women / J. Zhuang, H. Li, X. Li [et al.] // *Medicine.* – 2019. – Vol. 98, № 7. – P. e14379.

186. The N680S variant in the follicle-stimulating hormone receptor gene identifies hyperresponders to controlled ovarian stimulation / H. A. Nenonen, I. A. Lindgren, A. S. Prahl [et al.] // *Pharmacogenet. Genomics.* – 2019. – Vol. 29, № 5. – P. 114–120.

187. The performance of the Elecsys® anti-Müllerian hormone assay in predicting extremes of ovarian response to corifollitropin alfa / A. R. Neves, C. Blockeel, G. Griesinger [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2020. – Vol. 41, № 1. – P. 29-36.

188. The polymorphism Asn680Ser on the FSH receptor and abnormal ovarian response in patients with normal values of AMH and AFC / G. M. Baldini, A. Catino, S. Palini [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol. 24, № 2. – P. 1080.

189. The possible role of hyperhomocysteinemia on IVF outcome / A. Pacchiarotti, M. A. Mohamed, G. Micara [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2007. – Vol. 24. – P. 459-462.

190. The procoagulant status. Hypercoagulability as a risk factor of primary and secondary infertility / S. D. Neamțu, L. Stanca, M. Siminel [et al.] // *Rom. J. Morphol. Embryol.* – 2021. – Vol. 62, № 3. – P. 829–834.

191. The relationship between serum FSH level and ovarian response during controlled ovarian stimulation / P. P. Sun, Y. M. Zhang, H. Y. Zhu [et al.] // *Ginekol. Pol.* – 2022. – DOI: 10.5603/GP.a2022.0010.

192. The relationship between the MTHFR C677T genotypes to serum anti-Müllerian Hormone concentrations and in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection outcome / S. Z. Shahrokhi, F. Kazerouni, F. Ghaffari [et al.] // *Clin. Lab.* – 2017. – Vol. 63, № 5. – P. 927-934.

193. The role of gene polymorphisms and AMH level in prediction of poor ovarian response in Egyptian women undergoing IVF procedure / T. M. K. Motawi, S. M. Rizk, N. W. Maurice [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2017. – Vol. 34, № 12. – P. 1659-1666.

194. The use of autologous platelet-rich plasma (PRP) versus no intervention in women with low ovarian reserve undergoing fertility treatment: a non-randomized interventional study / P. Melo, C. Navarro, C. Jones [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2020. – Vol. 37, № 4. – P. 855-863.

195. The use of ovarian reserve markers in IVF clinical practice: a national consensus / A. La Marca, A. P. Ferraretti, F. M. Ubaldi, R. Palermo // *Gynecol. Endocrinol.* – 2016. – Vol. 32. – P. 1-5.

196. Thrombophilia and recurrent pregnancy loss: The Enigma continues / M. U. Barut, M. Bozkurt, M. Kahraman [et al.] // *Med. Sci. Monit.* – 2018. – Vol. 24. – P. 4288–4294.

197. Update on the management of poor ovarian response in IVF: the shift from Bologna criteria to the POSEIDON concept / P. Drakopoulos, E. Bardhi, L. Boudry [et al.] // *Ther. Adv. Reprod. Health.* – 2020. – Vol. 14. – P. 2633494120941480.

198. Validation study of the access antimüllerian hormone assay for the prediction of poor ovarian response to controlled ovarian stimulation / V. L. Baker, M. J. Glassner, K. Doody [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2021. – Vol. 116, № 2. – P. 575-582.

199. Variations in folate pathway genes are associated with unexplained female infertility / S. Altmäe, A. Stavreus-Evers, J. R. Ruiz [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 94. – P. 130-137.

200. Women's morbid conditions are associated with decreased odds of live birth in the first IVF/ICSI treatment: a retrospective single-center study / J. J. Tarín, E. Pascual, M.-Á. García-Pérez [et al.] // Assist. Reprod. Genet. – 2019. – Vol. 36, № 4. – P. 697-708.

201. Wyniki położnicze u kobiet zakwalifikowanych do programu zapłodnienia pozaustrojowego powikłanego zespołem hiperstymulacji jajników / M. Serdyńska-Szuster, P. Jędrzejczak, K. Ożegowska [et al.] // Ginekol. Pol. – 2012. – Vol. 83. – P. 104-110.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2022618235

**OVARIAN RESPONSE PREDICTION -
ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ОТВЕТА ЯИЧНИКОВ НА
КОНТРОЛИРУЕМУЮ ОВАРИАЛЬНУЮ СТИМУЛЯЦИЮ
НА ОСНОВЕ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ
LHCGR, FSHR, GDF9**

Правообладатели: *Харисова Зарина Ирековна (RU), Сугурова Альфия
Тлешевна (RU), Ящук Альфия Галимовна (RU), Хусаинова Рита
Игоревна (RU)*

Авторы: *Харисова Зарина Ирековна (RU), Сугурова Альфия
Тлешевна (RU), Ящук Альфия Галимовна (RU), Хусаинова Рита
Игоревна (RU)*

Заявка № 2022616701

Дата поступления 14 апреля 2022 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре программ для ЭВМ 05 мая 2022 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов

Приложение Б

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2022618189

GENETIC NEURAL NETWORK PREDICTOR OF
OVARIAN RESPONSE (G4)

Правообладатели: *Харисова Зарина Ирековна (RU), Сугурова Альфия Тлешевна (RU), Нургалиев Азат Ахатович (RU), Хусаинова Рита Игоревна (RU)*

Авторы: *Харисова Зарина Ирековна (RU), Сугурова Альфия Тлешевна (RU), Нургалиев Азат Ахатович (RU), Хусаинова Рита Игоревна (RU)*



Заявка № 2022617157

Дата поступления 19 апреля 2022 г.

Дата государственной регистрации
в Реестре программ для ЭВМ 05 мая 2022 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов

Приложение В

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2022618186

GENETIC NEURAL NETWORK PREDICTOR OF
OVARIAN RESPONSE (G12)

Правообладатели: *Харисова Зарина Ирековна (RU), Сугурова
Альфия Тлешевна (RU), Нургалиев Азат Ахатович (RU),
Хусаинова Рита Игоревна (RU)*

Авторы: *Харисова Зарина Ирековна (RU), Сугурова Альфия
Тлешевна (RU), Нургалиев Азат Ахатович (RU),
Хусаинова Рита Игоревна (RU)*



Заявка № 2022617144

Дата поступления 19 апреля 2022 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре программ для ЭВМ 05 мая 2022 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов