

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

На правах рукописи
УДК: 618.177-089.888-036.8

ЗАЗУЛИНА ЯНА АЛЕКСАНДРОВНА

**ВЫЯВЛЕНИЕ И КОРРЕКЦИЯ УПРАВЛЯЕМЫХ КЛИНИЧЕСКИХ
ПРЕДИКТОРОВ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ МЕТОДА
ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор В. А. Мельников

Самара – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

	стр.
ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ПОВЫШЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ БЕСПЛОДИЯ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ	12
1.1 Эпидемиологические аспекты бесплодного брака.....	12
1.2 Результативность лечения бесплодия с помощью метода экстракорпорального оплодотворения в РФ и странах мира.....	13
1.3 Предикторы результативности метода экстракорпорального оплодотворения: определение индивидуальной вероятности успеха на этапе прегравидарной подготовки.....	14
1.4 Оптимизация тактики прегравидарной подготовки в программе экстракорпорального оплодотворения: версии и контраверсии.....	21
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	33
2.1 Объект, предмет и дизайн научного исследования.....	33
2.2 Клинико-лабораторные и инструментальные методы исследования.....	39
2.3 Специальные методы исследования.....	42
2.4 Этапы программы экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов в полость матки.....	49
2.5 Коррекция управляемых клинических предикторов результативности метода экстракорпорального оплодотворения.....	51
2.6 Статистическая обработка данных.....	53
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	52
3.1 Сравнительная характеристика клинических данных участников исследования на этапе прегравидарной подготовки.....	55
3.2 Сравнительная характеристика данных реализации программы экстракорпорального оплодотворения.....	72

3.3 Разработка математических моделей прогнозирования результативности метода экстракорпорального оплодотворения на основе мультиномиальной логистической регрессии.....	81
3.4 Разработка математических моделей прогнозирования результативности метода экстракорпорального оплодотворения на основе бинарной логистической регрессии.....	84
3.5 Клиническая оценка возможности прогнозирования результативности метода экстракорпорального оплодотворения с помощью алгоритма Темплтона.....	97
3.6 Разработка и апробация алгоритма повышения результативности лечения бесплодия с помощью метода экстракорпорального оплодотворения.....	104
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	114
ВЫВОДЫ.....	133
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	136
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	138
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ.....	139
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	143

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Отсутствие тенденции к снижению частоты бесплодных браков является актуальным вопросом современного здравоохранения. Согласно данным ВОЗ, распространенность бесплодия в мире составляет 10–15% [Mascarenhas M.N. et al., 2012]. В развитых странах высокая распространенность бесплодия коррелирует как с неблагоприятными факторами экологической обстановки, так и с изменением социальных стратегий современного человека, характеризующимся высокой миграционной активностью и тенденцией к более поздней реализации репродуктивного потенциала.

В условиях невысокой эффективности методов восстановления естественной фертильности внедрение методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), в частности экстракорпорального оплодотворения преовуляторных ооцитов и переноса дробящихся эмбрионов в полость матки пациентки (метод ЭКО и ПЭ), расширило возможности преодоления проблемы бесплодного брака. Методы ВРТ являются областью максимальной реализации физических и финансовых ресурсов как отдельной семьи, так и системы здравоохранения, однако также демонстрируют недостаточно высокую эффективность. Согласно отчету РАРЧ за 2013 год, клиническая беременность регистрируется лишь в 38,5% случаев реализованных переносов эмбрионов в полость матки, тогда как частота завершения индуцированной беременности родами составляет 28,0% [Российская ассоциация репродукции человека. XXXV Юбилейная международная конференция РАРЧ. Регистр ВРТ. Отчет за 2013 год, 2015]. Данное обстоятельство объясняет необходимость поиска модифицируемых факторов, влияющих на результативность программ вспомогательных репродуктивных технологий. Персонализированный подход к оценке и элиминации прогностически неблагоприятных факторов на этапе прегравидарной подготовки супружеской пары, а также формирование и дифференцированное сопровождение групп риска неудачного исхода программы на основании наличия

неуправляемых неблагоприятных прогностических факторов представляется наиболее перспективным направлением повышения эффективности программы вспомогательных репродуктивных технологий.

Степень разработанности темы исследования. Несмотря на достаточное количество соответствующих исследований, в научном сообществе отсутствует единая точка зрения относительно значимости влияния тех или иных факторов на результативность программы ЭКО и ПЭ, а также возможности прогнозирования исхода лечения на этапе прегравидарной подготовки супругов [Амирова А.А., 2011; Краснопольская К.В., Назаренко Т.А., 2013; Bhattacharia S., Maheshwari A., Mollison J., 2013; Владимирова И.В., Калинина Е.А., Донников А.Е., 2014; Maxwell S.M. et al., 2015]. Наименее изученным и наиболее экономически доступным аспектом реализации программ ЭКО и ПЭ является возможность значимого повышения эффективности лечения бесплодия в результате коррекции латентного железодефицита в ходе прегравидарной подготовки супружеской пары, а также коррекции состояния микроценоза и колонизационной резистентности половых путей на этапе стимуляции суперовуляции [Pelzer E.S., Allan J.A., 2012, Nyman R.V., Herndon C.N., Jiang H., 2012; Самыкина О.В., 2014]. В условиях значительной гетерогенности основных клинических характеристик супругов, состоящих в бесплодном браке, приоритетным является использование многофакторного анализа предикторов результативности ЭКО и ПЭ, что и обусловило актуальность методологии настоящего исследования.

Цель исследования: повышение эффективности лечения супружеского бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения путем оптимизации тактики раннего выявления и коррекции управляемых факторов риска неблагоприятного исхода программы.

Для достижения цели исследования были поставлены следующие **задачи:**

1. Определить предикторы результативности метода ЭКО и ПЭ, выявляемые на этапе прегравидарной подготовки супружеской пары.
2. Выявить распространенность латентного дефицита железа на этапе прегравидарной подготовки у пациенток, состоящих в бесплодном браке, и

определить прогностическую значимость латентного дефицита железа при определении вероятности неблагоприятного исхода программы ЭКО и ПЭ.

3. Выявить предикторы результативности метода ЭКО и ПЭ, регистрируемые в ходе реализации стандартных протоколов стимуляции суперовуляции, пункции фолликулов, оплодотворения ооцитов, культивирования и переноса эмбрионов в полость матки.

4. Провести мониторинг состояния микроценоза и колонизационной резистентности влагалища у пациенток в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ и определить прогностическую значимость полученных результатов.

5. Оценить возможности прогнозирования результативности метода ЭКО и ПЭ на этапе прегравидарной подготовки супружеской пары и на различных этапах реализации программы с помощью математического моделирования.

6. Разработать алгоритм повышения результативности метода ЭКО и ПЭ, основанный на выявлении и коррекции управляемых факторов риска неблагоприятного исхода программы.

Научная новизна исследования. С помощью метода бинарной логистической регрессии разработана система этапного прогнозирования результативности метода ЭКО и ПЭ, позволяющая осуществлять персонафицированное сопровождение пациентов групп высокого риска неудачного исхода программы. Разработан способ определения амилотической активности отделяемого влагалища, позволяющий исследовать потенциал колонизационной резистентности репродуктивного тракта женщины. Впервые произведено патогенетическое обоснование эффективности применения пребиотика из растительных моносахаридов с целью профилактики дисбиоза влагалища в программе ЭКО и ПЭ. На основании собственных результатов впервые разработан алгоритм повышения результативности ЭКО и ПЭ, включающий персонафицированную диагностику и коррекцию латентного дефицита железа у пациентки на этапе прегравидарной подготовки, а также мониторинг и коррекцию состояния микроценоза влагалища в программе ЭКО и ПЭ.

Теоретическая и практическая значимость работы. Практическое значение результатов исследования заключается в повышении результативности лечения бесплодия с помощью ЭКО и ПЭ путем оптимизации тактики реализации программы согласно предложенному алгоритму. Разработанные прогностические модели могут использоваться для стратификации риска неблагоприятного исхода программы ЭКО и ПЭ. Разработанный способ диагностики амилолитической активности отделяемого влагалища может быть использован для персонализации противорецидивной терапии дисбиоза влагалища. Полученные результаты и сформированные на основе материалов исследования теоретические положения и практические рекомендации могут быть включены в процесс обучения студентов медицинских ВУЗов и программы последипломного обучения врачей акушеров-гинекологов и репродуктологов. Результаты исследования могут применяться для оптимизации тактики прегравидарной подготовки пациенток и реализации программы ЭКО и ПЭ в центрах вспомогательных репродуктивных технологий.

Методология и методы диссертационного исследования. Методология диссертационного исследования построена на изучении и обобщении литературных данных по проблеме идентификации и модификации управляемых клинических предикторов результативности лечения бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения, оценке степени разработанности и актуальности темы. В соответствии с поставленной целью и задачами был разработан план выполнения этапов диссертационного исследования, выбраны объекты исследования, подобран комплекс современных методов исследования. Объектами исследования стали супружеские пары с верифицированным бесплодием и наличием показаний для лечения методом экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов в полость матки. В процессе исследования для выявления значимых предикторов результативности метода экстракорпорального оплодотворения были использованы методы дескриптивной статистики, а также методы множественной и бинарной логистической регрессии. Математическая обработка данных проводилась с использованием современных компьютерных технологий.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. При определении индивидуальной вероятности успешного исхода программы ЭКО и ПЭ на этапе прегравидарной подготовки супружеской пары в качестве значимых прогностических факторов следует рассматривать возраст пациентки, наличие в анамнезе пациентки самопроизвольной беременности и родов живым плодом, передне-задний размер матки, наличие седловидной матки, уровень антимюллера гормона, наличие бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, наличие тромбофилии у пациентки, наличие латентного дефицита железа у пациентки, совпадение более двух локусов системы HLA в супружеской паре.
2. Основными прогностически значимыми факторами, определяемыми в ходе реализации стандартных протоколов ЭКО и ПЭ, являются общее число ооцитов, полученных при трансвагинальной пункции фолликулов, число полученных эмбрионов хорошего качества и момент переноса эмбрионов в полость матки.
3. Нарушение состояния микроценоза влагалища в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ имеет значительную распространенность и является предиктором отсутствия клинической беременности.
4. Возможности математического моделирования вероятности неблагоприятного исхода программы ЭКО и ПЭ на этапе прегравидарной подготовки супружеской пары ограничены; наибольшую прогностическую точность имеют математические алгоритмы, использующие данные эмбриологического этапа программы ЭКО и ПЭ.
5. Персонализированная диагностика и коррекция латентного дефицита железа у пациентки на этапе прегравидарной подготовки, а также профилактика дисбиоза влагалища путем назначения на этапе стимуляции суперовуляции пребиотика из моносахаридов является патогенетически обоснованной и сопровождается значимым снижением риска неблагоприятного исхода программы ЭКО и ПЭ.

Степень достоверности полученных результатов. Степень достоверности полученных в настоящем диссертационном исследовании выводов и положений основана на достаточном по количеству клиническом материале, современных методах исследования, адекватной статистической обработке данных. Результаты

исследования проанализированы согласно принципам доказательной медицины с помощью традиционных методов дескриптивной статистики, а также методов мультиномиальной и бинарной логистической регрессии.

Апробация результатов диссертации. Основные положения работы были представлены на VIII Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 2014), Юбилейном Всероссийском Конгрессе с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь – в эпицентре женского здоровья» (Москва, 2014), Всероссийской научно-практической конференции «Теоретические и прикладные исследования в области естественных и гуманитарных наук» (Прокопьевск, 2014), Всероссийской медико-биологической научной конференции молодых ученых с международным участием «Фундаментальная наука и клиническая медицина» (Санкт-Петербург, 2014), II межрегиональной конференции молодых учёных и специалистов «Медицинская наука: взгляд в будущее» (Ставрополь, 2014), Всероссийской конференции с международным участием «Молодые ученые 21 века – от современных технологий к инновациям» (Самара, 2014), Всероссийской конференции с международным участием «Инновационные технологии в современной медицине» (Самара, 2014), Всероссийской конференции с международным участием «Молодые ученые 21 века – от идеи к практике» (Самара, 2015). Апробация диссертации проведена на межкафедральном заседании коллективов кафедр акушерства и гинекологии №1, акушерства и гинекологии №2, акушерства и гинекологии ИПО СамГМУ от 29.06.2016 (протокол №15).

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты исследования включены в программу практических занятий и лекционный курс кафедры акушерства и гинекологии №1 ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, используются в лечебной работе ГБУЗ «Самарский областной медицинский центр Династия» и ГБУЗ СО «Самарская городская поликлиника №1».

Личный вклад автора. Личный вклад автора заключается в непосредственном участии в выборе темы диссертационной работы, самостоятельном отборе участников исследования, активном участии в

обследовании и лечении пациентов на этапах подготовки и реализации программы ЭКО и ПЭ, осуществлении динамического наблюдения пациенток в I триместре индуцированной беременности, мониторинге исходов достигнутых беременностей, формировании массива анализируемых данных путем выкопировки из медицинской документации, участии в проведении статистического анализа и графической обработки полученных данных, внедрении результатов диссертационного исследования в процесс обучения студентов на кафедре акушерства и гинекологии №1 ФГБОУ ВО СамГМУ, а также в лечебную работу ГБУЗ «Самарский областной медицинский центр Династия» и ГБУЗ СО «Самарская городская поликлиника №1».

Связь темы диссертации с планом основных научно-исследовательских работ университета. Диссертационная работа выполнена согласно плану открытых НИОКР в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России в рамках научной темы «Клинические аспекты и медико-организационные технологии сохранения репродуктивного здоровья семьи» (номер государственной регистрации: 01201053583).

Соответствие паспорту специальности. Настоящая диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.01.01 – Акушерство и гинекология, а именно следующим областям исследований:

1. Исследование эпидемиологии, этиологии, патогенеза гинекологических заболеваний.
2. Разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики осложненного течения беременности и родов, гинекологических заболеваний. Оптимизация диспансеризации беременных и гинекологических больных.
3. Экспериментальная и клиническая разработка методов оздоровления женщины в различные периоды жизни, вне и во время беременности и внедрение их в клиническую практику.

Публикации по теме диссертации. По материалам диссертации опубликовано 15 научных работ, в том числе 6 статей – в журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ. Получено свидетельство о

государственной регистрации программы для ЭВМ № 2014614686. Получено удостоверение на рационализаторское предложение № 374.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 172 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав, заключения, а также выводов, практических рекомендаций, описания перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и списка литературы. Библиографический указатель включает 225 источников, из них 86 отечественных и 139 зарубежных. Работа содержит 50 таблиц, 14 рисунков, 1 схему.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ПОВЫШЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ БЕСПЛОДИЯ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

1.1 Эпидемиологические аспекты бесплодного брака

В соответствии с определением ВОЗ, бесплодным считается брак, в котором по тем или иным причинам, происходящим в организме женщины или мужчины, либо обоих партнеров, беременность не наступает при регулярной половой жизни без применения противозачаточных средств в течение 12 месяцев при условии детородного возраста супругов.

Согласно данным отчета Департамента репродуктивного здоровья и научных исследований ВОЗ, к 2010 году распространенность первичного бесплодия в мире составила 1,9% (95% ДИ 1,7–2,2%), вторичное бесплодие выявлено у 10,5% (95% ДИ 9,5–11,7%) женщин репродуктивного возраста. Наименьшие показатели распространенности первичного бесплодия (0,8–1% женщин репродуктивного возраста) зарегистрированы в странах Латинской Америки (Перу, Боливия, Эквадор), а также в Польше и Корее. В странах Восточной Европы и Северной Африки распространенность первичного бесплодия является наибольшей и составляет более 2%. Вторичное бесплодие регистрируется с наименьшей частотой в экономически высокоразвитых странах (7,2%; 95% ДИ 5,0–10,2%). Наибольшая распространенность вторичного бесплодия выявлена в странах Центральной и Восточной Европы, а также Центральной Азии (18%, 95% ДИ 13,8 – 24,1%). Сравнительный анализ динамики показателей распространенности бесплодия в странах мира за период с 1990 по 2010 год не выявил значимых тенденций к росту или снижению данного показателя [Mascarenhas M.N. et al., 2012].

Данные отчета Федеральной службы государственной статистики и Министерства здравоохранения Российской Федерации свидетельствуют о том, что в 2011 году распространенность бесплодного брака в исследуемой когорте респондентов составила 4%, при этом нозологическая структура факторов бесплодия была представлена следующим образом: ановуляторное бесплодие – 36%, трубно-перитонеальный фактор – 30%, мужской фактор – 28%, эндометриоз – 18%, другие факторы – 15% [Репродуктивное здоровье населения России 2011: резюме отчета, 2012].

1.2 Результативность лечения бесплодия с помощью метода экстракорпорального оплодотворения в РФ и странах мира

Согласно данным отчета ESHRE, в 2011 году в странах Европы было реализовано 438687 циклов ЭКО/ИКСИ и ПЭ, что в среднем составило 6556 циклов на 1 миллион женщин репродуктивного возраста. Частота наступления беременности в расчете на перенос эмбриона составила 29,1% для циклов ЭКО и 27,9% для циклов ИКСИ. Частота живорождения при расчете на перенос эмбриона составила 24,8% и 22,7% для циклов ЭКО и ИКСИ, соответственно [Kupka M.S. et al., 2016].

Отчет Национального регистра SART свидетельствует о том, что в 2013 году в США частота наступления беременности в результате ЭКО/ИКСИ и ПЭ при расчете на перенос эмбриона составила 45,4%, частота живорождения – 37,3% [2013 Assisted reproductive technology. National Summary Report, 2015].

Данные отчета Российской Ассоциации Репродукции Человека за 2013 год указывают на следующие достигнутые результаты: частота наступления беременности в расчете на перенос эмбриона в циклах ЭКО и ИКСИ составила 38,5% и 36,9%, соответственно. Частота завершения индуцированной беременности родами в расчете на перенос эмбрионов в циклах ЭКО и ИКСИ

составила 28,0% и 25,7%, соответственно [Российская ассоциация репродукции человека. XXXV Юбилейная международная конференция РАРЧ. Регистр ВРТ. Отчет за 2013 год, 2015].

1.3 Предикторы результативности метода экстракорпорального оплодотворения: определение индивидуальной вероятности успеха на этапе прегравидарной подготовки

Решение вопроса о возможности лечения бесплодия с помощью вспомогательных репродуктивных технологий, в частности ЭКО и ПЭ, требует персонифицированного подхода и анализа совокупности клинических параметров конкретной супружеской пары. Объективная оценка индивидуальной вероятности успешной реализации стандартной программы ЭКО и ПЭ особенно актуальна при обсуждении целесообразности изменения тактики лечения в пользу репродуктивного донорства. Традиционная модель консультирования подразумевает последовательную оценку клинико-anamnestических данных, лабораторных и инструментальных параметров. Определение и ранжирование прогностической значимости информации, получаемой в ходе подготовки супругов к программе ЭКО и ПЭ, является предметом многочисленных исследований.

Клинические предикторы результативности метода ЭКО и ПЭ. В настоящее время *возраст пациентки* большинством исследователей рассматривается в качестве ключевого предиктора результативности лечения бесплодия с помощью вспомогательных репродуктивных технологий [Амирова А.А., 2011; Cai Q.F. et al., 2011; Multu M. F. et al., 2013; Ванян Р.Э., Долгушина Н.В., 2014; Ермоленко К.С., Радзинский В.Е., Рапопорт С.И., 2016].

Результаты многофакторного анализа данных 144018 наблюдений, включенных в регистр ВРТ Великобритании (HFEA), представленные S. M.

Nelson и D. A. Lawlor в 2011 году, наглядно демонстрируют динамику прогрессирующего снижения вероятности рождения живого ребенка в результате ЭКО и ПЭ у пациенток старше 35 лет. При прогнозировании живорождения в когорте пациенток 18–35 лет показатель ОШ (95% ДИ) составляет 1, в интервале 35–37 лет – 0,77 (0,75–0,79), в 38–39 лет – 0,53 (0,51–0,55), в 40–42 года – 0,29 (0,28–0,30), в 43–44 года – 0,10 (0,09–0,12) [Nelson N.S., Lawlor D.A., 2011].

Данные *репродуктивного анамнеза* супружеской пары также традиционно рассматриваются в качестве потенциальных предикторов результативности ЭКО и ПЭ [Stolwijk A.M., Wetzels A.M.M., Braat D.D., 2000; А.А. Амирова, 2011]. Прогностическая значимость *наличия в анамнезе беременности и живорождения* доказана результатами многочисленных исследований [Nelson N.S., Lawlor D.A., 2011; Bhattacharya S., Maheshwari A., Mollison J., 2013; Alebic M.Š, Stojanovic N., Zuvic-Butorac M., 2013].

Длительность бесплодия также является прогностически значимым фактором, влияние которого проявляется независимо от возраста пациентки [Nelson D.S., Lawlor D.A., 2011; Bhattacharya S., Maheshwari A., Mollison J., 2013].

В исследовании S. M. Nelson и D. A. Lawlor при сравнительном анализе *влияния различных факторов бесплодия* на частоту завершения 144018 циклов ЭКО и ПЭ родами живым плодом, выявлена сопоставимая прогностическая значимость основных нозологических форм, определяющих инфертильность супружеской пары: при прогнозировании живорождения показатель ОШ для трубного фактора бесплодия составил 0,87 (95% ДИ 0,83–0,90), ановуляторного бесплодия – 0,95 (95% ДИ 0,90–1,00), бесплодия, ассоциированного с эндометриозом – 0,96 (95% ДИ 0,89–1,03), мужского фактора бесплодия – 0,91 (95% ДИ 0,87–0,95), сочетанного бесплодия – 0,88 (95% ДИ 0,83–0,92). Согласно результатам данного исследования, наиболее значимым предиктором, определяющим риск неблагоприятного исхода программы ЭКО и ПЭ, является изолированный цервикальный фактор бесплодия: ОШ 0,39 (0,19–0,82) при прогнозировании живорождения, ОШ 9,09 (2,01–41,13) и 15,62 (2,59–94,06) при прогнозировании преждевременных родов и низкой массы тела плода при

рождении, соответственно [Nelson N.S., Lawlor D.A., 2011]. Представленные данные также согласуются с результатами S. Bhattacharia и соавт., полученными при исследовании взаимосвязи различных факторов бесплодия и результативности этапов стимуляции суперовуляции, оплодотворения ооцитов, имплантации эмбрионов и завершения индуцированной беременности родами в 121744 циклах ЭКО и ПЭ. На всех этапах реализации программы значимость отдельных факторов бесплодия оказалась сопоставимой, однако было доказано значимое снижение влияния мужского фактора бесплодия на этапе оплодотворения ооцитов при использовании технологии ИКСИ [Bhattacharya S., Maheshwari A., Mollison J., 2013].

Возможность использования в качестве предикторов результативности ЭКО и ПЭ *параметров овариального резерва* пациентки является предметом дискуссии. Оценка числа антральных фолликулов яичников при первичном ультразвуковом исследовании, а также определение уровня АМГ используется при определении тактики стимуляции суперовуляции и прогнозировании результативности данного этапа программы ЭКО и ПЭ, однако многие авторы также рассматривают показатели овариального резерва в качестве факторов, определяющих прогноз этапа имплантации эмбрионов и живорождения в результате индуцированной беременности [Hendriks D.J. et al., 2005; Verhagen T.E.M. et al., 2008; Jayaprakasan K. et al., 2010; La Marca A. et al., 2011; Broer S.L. et al., 2011; Бобров К.Ю., Калугина А.С., 2012; Li H.W.R. et al., 2013; Broer S.L. et al., 2013; Khader A. et al., 2013; Lin W.Q. et al., 2013; La Marca A., Sunkara S. K., 2014; Гаспаров А.С., Дубинская Е.Д., Титов Д.С., 2014; Piodromiti S. et al., 2014; Yao L. et al., 2015; Tal R. et al., 2015; Fang T., Su Z., Wang L., 2015].

Морфофункциональный статус эндометрия традиционно рассматривается в качестве одного из ключевых факторов, определяющих репродуктивный потенциал пациентки [Корнеева И.Е., 2010; Клинышкова Т.В., Фролова Н.Б., Мозговой С.И., 2011; Калинина Е.А. и соавт., 2012; Колотовкина А.В., Калинина Е.А., Коган Е.А., 2012; Шуршалина А.В., 2013; Балетр Р.Б., Целкович Л.С., 2014; Целкович Л.С., Иванова Т.В., Балтер Р.Б., 2015; Краснопольская К.В., Назаренко

Т.А., Левиашвили М.М., Ершова И.Ю., 2016]. Репродуктивная медицина располагает широким спектром постоянно совершенствующихся методик оценки структуры и функции эндометрия, однако единая точка зрения относительно прогностической значимости различных клинических параметров, потенциально определяющих рецептивность эндометрия, до настоящего времени не сформирована. Так, первичная оценка соответствия архитектоники эндометрия фазе «окна имплантации» в естественном или стимулированном цикле традиционно проводится согласно данным измерения *толщины эндометрия* при трансвагинальном УЗИ, при этом широко используемое понятие «тонкий эндометрий» не имеет четкой общепринятой интерпретации [Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., Пальченко Н.А., 2013]. Прогностическая значимость показателя толщины эндометрия на момент индукции овуляции при определении вероятности наступления беременности в результате ЭКО и ПЭ также является предметом дискуссии. Согласно данным систематического обзора и мета-анализа, объединившего результаты 1170 исследований, абсолютное значение показателя толщины эндометрия на момент введения триггера овуляции не имеет самостоятельного прогностического значения при определении вероятности регистрации клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ, при этом отмечается тенденция к снижению частоты развивающейся беременности и живорождения (ОР 0,38 (95% ДИ 0,09–1,5) в относительно редких случаях регистрации толщины эндометрия менее 7 мм: 2,4% (260/10724 наблюдений). Согласно заключению авторов, решение вопроса об отмене переноса эмбрионов в полость матки, принятое на основании интерпретации показателя толщины эндометрия, в настоящее время не имеет убедительной доказательной базы [Kasius A. et al., 2014]. Данные ряда исследователей свидетельствуют о преимуществе трехмерной ультразвуковой морфометрии эндометрия при определении вероятности имплантации эмбрионов в программе ЭКО и ПЭ [Yaman S., Mayer R., 2012; Zhang T. et al., 2016]. Активное внедрение в клиническую практику трехмерного УЗИ с автоматизированным расчетом показателя *объема эндометрия* может разрешить существующие противоречия.

Прогностическая значимость параметров *ультразвукового паттерна эндометрия* также является предметом обсуждения. Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о более высоких показателях результативности программ ЭКО и ПЭ при наличии трехслойной структуры эндометрия на момент назначения триггера овуляции [Kuć P. et al., 2011; Zhao et al., 2012, Gingold J.A. et al., 2015], однако некоторые авторы представляют аргументы в опровержение данной концепции [Rashidi B.H. et al., 2005]. Результаты изучения прогностической значимости определяемых с помощью ультразвуковой доплерографии параметров эндометриального и субэндометриального кровотока также противоречивы. Дискриминационная адекватность показателей эндометриальной и субэндометриальной микроциркуляции на момент пункции фолликулов в программе ЭКО и ПЭ оказалась неудовлетворительной согласно данным исследования Ng E.H.Y. и соавт. [Ng E.H.Y. et al., 2006]. В последующих исследованиях были получены данные о значимой взаимосвязи показателей *пульсационного индекса и индекса резистентности маточной артерии*, а также *индекса васкуляризации, индекса кровотока и васкуляризационно-потокowego индекса эндометрия и субэндометриального слоя* на момент переноса эмбрионов с частотой регистрации клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ [Mercé L.T. et al., 2008; Kim A., 2014].

Исчерпывающую информацию о структуре и функции эндометрия дают результаты гистологического исследования. Комплексный иммуногистохимический анализ биоптата эндометрия, дополненный микробиологическим исследованием, является «золотым» стандартом диагностики хронического эндометрита. Изучение патогенеза нарушений репродуктивной функции на фоне персистирующего хронического эндометрита является областью активного исследовательского интереса [Сухих Г.Т., Шуршалина А.В., 2010; Серебренникова К.Г. и соавт., 2011; Сухих Г.Т. и соавт., 2011; Серебренникова К.Г. соавт., 2014; Мальцева Л.И. и соавт., 2015; Моисеева И.В., Васюхина А.А., 2015; Васюхина А.А., Целкович Л.С., 2016]. Следует отметить, что не все авторы разделяют точку зрения о значимом снижении

результативности лечения бесплодия с помощью ЭКО и ПЭ при наличии данной патологии. Так, Kasius J.C. и соавт. представили результаты рандомизированного контролируемого исследования, включившего 678 наблюдений. Этап подготовки к первой попытке ЭКО/ИКСИ у всех участниц исследования был дополнен проведением гистероскопии с биопсией и гистологическим исследованием эндометрия. Согласно полученным результатам, значимых различий по показателям частоты регистрации клинической беременности и живорождения в результате первой попытки ЭКО у пациенток с наличием и отсутствием хронического эндометрита выявлено не было [Kasius J.C. et al., 2011]. Следует отметить, что повышение частоты наступления беременности на фоне комплексной патогенетической терапии хронического эндометрита в когорте пациенток с множественными неудачными попытками ЭКО и ПЭ в анамнезе различными исследователями подтверждается единогласно [Cicinelli E. et al., 2015].

В настоящее время активно развиваются методики *оценки ультраструктурных параметров эндометрия*: экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону, динамики развития пиноподий и экспрессии белков клеточной адгезии [Шуршалина А.В., Демура Т.А., 2011; Кравчук Я.Н., 2012; Мартынова А.Е. и соавт., 2013; Коган Е.А. и соавт., 2014; Таболова В.К. и соавт., 2014; Коган Е.А. и соавт., 2015]. Проходят клиническую апробацию новейшие методы детекции «окна имплантации» на основе изучения секретомики эндометрия и экспрессии массива генов эндометрия (ERA - Endometrial receptivity array) [Berlanga O. et al., 2011; Garrido-Gómez T. et al., 2013]. Следует отметить, что вышеуказанные диагностические методы ограничено представлены в клинической практике, и прикладное значение оценки отдельных ультраструктурных характеристик эндометрия в настоящее время уточняется.

Определение прогностической значимости результатов *комплексного исследования системы гемостаза и аутоиммунной реактивности* пациенток на этапе подготовки к ЭКО и ПЭ является одним из приоритетных и дискуссионных вопросов современной репродуктологии [Владимирова И.В., Калинина Е.А.,

Донников А.Е., 2014; Ванян Р.Э. и соавт., 2015]. Согласно результатам систематического обзора и мета-анализа, опубликованным Di Nisio M. и соавт., обобщенные данные исследований «случай-контроль» свидетельствуют о значимой взаимосвязи неудачного исхода программ ЭКО и ПЭ с наличием у пациентки полиморфизма Лейден (ОР 3,08, 95% ДИ 1,77–5,36), а также циркуляцией антифосфолипидных антител (ОР 3,33, 95% ДИ 1,77–6,26). При последующем анализе результатов проспективных когортных исследований, включенных в данный систематический обзор, гипотеза о значимо более высокой частоте неудач ЭКО у пациенток с тромбофилией различного генеза была опровергнута [Di Nisio M. et al., 2011]. Отсутствие убедительных доказательств взаимосвязи наличия у пациенток циркулирующих антител к фосфолипидам и результативности ЭКО и ПЭ было подтверждено и в ходе работы экспертов XIV Международного конгресса по антифосфолипидным антителам [de Jesus G.R. et al., 2014]. Результаты мета-анализа, представленного Tan X. и соавт., также свидетельствуют об отсутствии значимых различий по показателям частоты имплантации эмбрионов и регистрации клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ в случаях наличия или отсутствия у пациентки различных сочетаний полиморфизмов генов F V, F II, MTHFR и резистентности к активированному протеину С [Tan X. et al., 2016]. Следует отметить, что авторы опубликованных в настоящее время систематических обзоров, посвященных анализу результативности ЭКО и ПЭ у пациенток с гиперкоагуляционным синдромом и АФС, указывают на высокую гетерогенность дизайна представленных исследований и актуальность дальнейшего изучения данной проблемы.

Математическое моделирование результативности метода ЭКО и ПЭ на основе клинических данных. Задача интегративной оценки множества клинических параметров при определении индивидуальной вероятности успешной реализации программы ЭКО и ПЭ на этапе прегравидарной подготовки супружеской пары может быть решена с помощью математического моделирования [Leushuis E., 2009; Petersson G. et al., 2010; Roberts S.A. et al., 2011; Jones C.A. et al., 2011, Porcu G. et al., 2013; Alebic M. Š, Stojanovic N., Zuvic-

Vutorac M., 2013]. За рубежом для первичной стратификации риска неблагоприятного исхода программы ЭКО и ПЭ используется математическая модель Темплтона, созданная в 1996 году на основе многофакторного анализа данных регистра ВРТ Великобритании. Для расчета индивидуальной вероятности рождения ребенка в результате индуцированной беременности в алгоритме Темплтона используются данные о возрасте пациентки, длительности и форме бесплодия, наличии в анамнезе самопроизвольных или индуцированных беременностей, завершившихся или не завершившихся родами живым плодом [Templeton A. et al., 1996]. Прогностическая мощность алгоритма Темплтона оценивалась в работах J.M.J. Smeenk, L.L. van Loendersloot, P. Arvis, S.M. Nelson. Авторами предлагались различные варианты адаптации оригинальной модели к условиям регионального центра ВРТ [Smeenk J.M.J. et al., 2000; van Loendersloot L.L. et al., 2011; Nelson S.M., Lawlor D.A., 2011; Arvis P., Lehert P., Guivarc'h-Levêque A., 2012]. Дискриминационная и калибрационная адекватность уравнения Темплтона при внешней оценке интерпретировалась как удовлетворительная, но требующая дальнейшего совершенствования с учетом современной практики ВРТ. Алгоритм Темплтона в настоящее время также рекомендуется в качестве базиса для создания новых математических моделей результативности ЭКО и ПЭ, адаптированных к условиям конкретного региона [van Loendersloot L.L., 2011; Arvis P., Lehert P., Guivarc'h-Levêque A., 2012].

1.4 Оптимизация тактики прегравидарной подготовки в программе экстракорпорального оплодотворения: версии и контраверсии

Выявление и коррекция факторов образа жизни.

Нутриенты и эффективность лечения бесплодия. Многочисленные исследования в настоящее время посвящены изучению механизма нарушений репродуктивной функции человека в рамках парадигмы *оксидативного стресса*

[Романова Е.Ю., Линева, О.И., Казакова, А.В., 2011, 2012; Линева О.И. и соавт., 2016; Opuwari C.S., Henkel R.R., 2016; de Castro L.S. et al., 2016]. Возможность оптимизации тактики прегравидарной подготовки пациенток в программе ЭКО и ПЭ с помощью антиоксидантной терапии является наиболее изученным аспектом повышения результативности лечения бесплодия с помощью микронутриентов.

Систематический обзор, представленный Cochrane collaboration в 2013 году, объединил результаты 28 рандомизированных контролируемых клинических исследований результативности ЭКО и ПЭ при назначении пациентке пищевых добавок, содержащих антиоксиданты, и включил в общей сложности 3548 наблюдений. Согласно полученным результатам, назначение на этапе прегравидарной подготовки перорально препаратов N-ацетилцистеина, мелатонина, L-аргинина, витамина E, миоинозитола, витамина C, витамина D и кальция, а также омега-3-полиненасыщенных жирных кислот не оказывает значимого влияния на частоту наступления беременности (ОШ 1,30, 95% ДИ 0,92–1,85, $p=0,14$), а также на частоту живорождения в результате ЭКО и ПЭ (ОШ 1,25, 95% ДИ 0,19–8,26, $p=0,82$). Результаты трех рандомизированных клинических исследований, включенных в данный систематический обзор, указывают на значимое повышение частоты наступления беременности при назначении пациентке пентоксифиллина (ОШ 2,03, 95% ДИ 1,19–3,44, $p=0,009$). Резюмируя полученные результаты, эксперты Cochrane collaboration указывают на значительную гетерогенность дизайна исследований, включенных в обзор, низкую степень доказательности полученных данных, и актуальность продолжения подобных исследований [Showell M.G. et al., 2013].

Систематический обзор исследований, посвященных оценке результативности ВРТ при назначении антиоксидантной терапии мужчинам, состоящим в бесплодном браке, представлен Cochrane collaboration в 2011 году. Согласно полученным результатам, назначение мужчинам пищевых добавок с антиоксидантной активностью связано со значимым повышением частоты наступления индуцированной беременности (ОШ 4,18, 95% ДИ 2,65–6,59, $p<0,00001$) и живорождения (ОШ 4,85, 95% ДИ 1,92–12,24, $p=0,0008$).

Полученные данные также были подтверждены в обновленном систематическом обзоре Cochrane collaboration, опубликованном в 2014 году [M.G. Showell et al., 2011, 2014].

Предметом активного исследовательского интереса в настоящее время является изучение патогенеза нарушений репродуктивной функции при дефиците витамина D, а также разработка оптимальной тактики подготовки к программам ВРТ с учетом выявленных взаимосвязей [Мальцева Л.И., Васильева Э.Н., 2013; Мальцева Л.И., Полукеева А.С., Гарифуллова Ю.В., 2015; Найми З.М.С., Калинина Е.А., Донников А.Е. и соавт., 2015; Мальцева Л.И., Гафарова Е.А., 2016].

Перспективным и наименее изученным в настоящее время направлением оптимизации прегравидарной подготовки супружеской пары в программах ВРТ является *диагностика и терапия латентного дефицита железа*. В настоящее время получены данные о значимом повышении частоты наступления беременности у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием в программе ЭКО и ПЭ в случае коррекции ЛДЖ применением железа протеин сукцинилата на этапе подготовки к стимуляции суперооуляции [Самыкина О.В., 2014].

Одним из наиболее дискуссионных вопросов является возможность повышения результативности ЭКО и ПЭ в группах пациенток с *повышенной массой тела и ожирением* с помощью нормализации показателей жирового обмена [Амирова А.А., 2011; Горшинова В.К. и соавт., 2015; Смольникова В.Ю. и соавт., 2015; Подзолкова Н.М. и соавт., 2016]. Согласно результатам систематического обзора и мета-анализа, представленным V. Rittenberg и соавт., в группах пациенток с ИМТ более 25 кг/м² регистрируются значимо более низкие показатели частоты наступления беременности (OR=0,90, p<0,0001) и живорождения (OR=0,84, p<0,0002) в результате ЭКО и ПЭ [Rittenberg V. et al., 2011]. Данные результаты не нашли подтверждения при анализе результативности ЭКО и ПЭ у пациенток при использовании донорских ооцитов: систематический обзор и мета-анализ данных 4758 наблюдений не выявил значимого изменения частоты наступления беременности, потери

индуцированной беременности и живорождения у пациенток с ИМТ более 30 кг/м² [Jungheim E.S., et al., 2013]. Патогенетическое обоснование имеющихся противоречий представлено в 2015 году Z. Merhi и соавт.: исследование РНК клеток гранулезы и кумулюса яичников участниц программы ЭКО и ПЭ выявило значимые изменения экспрессии генов ключевых медиаторов воспаления и клеточного роста у пациенток с ИМТ более 25 кг/м². На основании полученных данных авторы сделали вывод о значимой взаимосвязи нарушения жирового обмена и патологии фолликулогенеза [Merhi Z. et al., 2015]. Существенным ограничением данного исследования является малый объем выборки (8 наблюдений), что объясняет необходимость дальнейшего исследования патогенеза инфертильности у пациенток с избыточной массой тела и ожирением. Актуальным является дифференцированный подход к изучению взаимосвязи снижения репродуктивного потенциала и нарушения жирового обмена у пациенток с абдоминальным и глутеофеморальным типами ожирения [Калинкина О.Б., 2013].

Неоднозначной является и оценка влияния *хронической никотиновой интоксикации супругов* на результативность лечения бесплодия с помощью вспомогательных репродуктивных технологий. Данные систематического обзора, представленного С. Dechanet и соавт., свидетельствуют о значимом негативном влиянии как активного, так и пассивного табакокурения, реализующемся на этапах фолликулогенеза, стероидогенеза, преимплантационного развития и имплантации эмбриона [Dechanet C. et al., 2011]. Результаты исследования S. Firns и соавт. указывают на значимое повышение частоты потери индуцированной беременности в программах ЭКО и ПЭ в случае хронической никотиновой интоксикации партнера [Firns S. et al., 2015]. В исследовании О. Cinar и соавт. первоначальная гипотеза о значимом негативном влиянии табакокурения не подтвердилась: показатели частоты оплодотворения ооцитов, качества полученных эмбрионов и частоты наступления беременности в программах ЭКО и ПЭ были сопоставимы как при отсутствии никотиновой интоксикации, так и в случаях курения одного или обоих партнеров [Cinar O. et al., 2015].

Неблагоприятное влияние как чрезмерного, так и умеренного *потребления алкоголя* на результативность лечения бесплодия подтверждено результатами многочисленных исследований. Так, проведенный P. Nicolau и соавт. обзор 389 проспективных когортных исследований указывает на снижение вероятности благоприятного исхода программы ЭКО и ПЭ в 4,14 и 2,86 раза в случае потребления пациенткой более 12 грамм алкоголя в день за неделю и месяц до начала стимуляции суперовуляции, соответственно [Nicolau P. et al., 2014]. Снижение показателей количества и подвижности сперматозоидов в группе участников программы ЭКО и ПЭ, указывающих на умеренное употребление алкоголя в период, предшествующий лечению бесплодия, доказано в исследовании E. Vellani и соавт. Предположение о взаимосвязи этаноловой интоксикации и высоких показателей фрагментации ДНК сперматозоидов в данном исследовании, однако, подтверждено не было [Vellani E. et al., 2013].

Целесообразность расширения базового спектра диагностических и лечебных мероприятий с целью повышения результативности вспомогательных репродуктивных технологий является предметом обсуждения.

Необходимость внедрения в рутинную практику обследования супружеской пары *диагностической гистероскопии* обоснована возможностью выявления потенциально корригируемой внутриматочной патологии, не диагностируемой при первичном ультразвуковом исследовании, однако вопрос о повышении эффективности вспомогательных репродуктивных технологий в результате обязательного использования гистероскопии на подготовительном этапе остается дискуссионным [Копылова Т.П., 2011; Мальцева Л.И., Юпатов Е.Ю., 2012; Борцвадзе Ш.Н., Джибладзе Т.А., Ищенко А.И., 2012; Bosteels J. et al., 2015].

Данные систематического обзора и мета-анализа, представленного J. Pundir и соавт., указывают на значимо более высокие показатели частоты наступления беременности (ОР 1,44, 95% ДИ 1,08–1,92) и живорождения (ОР 1,33, 95% ДИ 1,00–1,67) в результате первой попытки ЭКО и ПЭ при проведении на этапе прегравидарной подготовки гистероскопии [Pundir J. и соавт., 2014]. В исследовании K. Elsetohy и соавт. доказана эффективность стратегии подготовки

к ИКСИ и ПЭ, включающей проведение офисной гистероскопии при отсутствии патологических изменений согласно УЗИ органов малого таза. При проведении гистероскопии корригируемая внутриматочная патология была выявлена в 43,3% наблюдений, частота наступления беременности при последующем ИКСИ и ПЭ составила 70,1% и 45,8% ($p=0,001$) в основной и контрольной группах исследования, соответственно [Elsetohy K. et al., 2015]. Результаты многоцентрового рандомизированного контролируемого исследования, представленные J.G. Smit и соавт., противоречат сложившейся ранее точке зрения: авторами не выявлено значимого повышения частоты живорождения в результате первой попытки ЭКО и ПЭ в случаях дополнения стандартного диагностического алгоритма проведением гистероскопии на этапе прегравидарной подготовки (ОР 1,06, 95% ДИ 0,93–1,20, $p=0,41$). На основании полученных данных авторы пришли к выводу о сомнительной необходимости проведения гистероскопии в отсутствие патологических изменений на ультрасонограмме у пациенток, впервые вступающих в программу ЭКО и ПЭ [Smith J. G. et al., 2016]. Дополнение этапа прегравидарной подготовки проведением диагностической гистероскопии у пациенток с множественными неудачными попытками ЭКО и ПЭ в анамнезе также не оказало значимого влияния на повышение частоты живорождения согласно результатам многоцентрового рандомизированного контролируемого исследования TROPHY [El-Toukhy T. et al., 2016].

Существующие противоречия в ближайшем будущем частично могут быть разрешены внедрением в широкую клиническую практику трехмерного УЗИ, однако сторонники рутинного эндоскопического исследования полости матки аргументируют свою точку зрения не только возможностью прецизионной диагностики и коррекции минорной внутриматочной патологии, но и вероятным положительным влиянием на исход программы ЭКО и ПЭ сопутствующего гистероскопии микроповреждения эндометрия [Potdar N., Gelbaya T., Nardo L. G., 2012; El-Toukhy T., Sunkara S., Khalaf Y., 2012; Охрименко М.А., Смольникова В.Ю., 2014; Nastri C.O. et al., 2014; Yeung T.W.Y., 2014].

Возможность значимого повышения эффективности ЭКО и ПЭ в результате хирургического лечения наружного генитального эндометриоза на этапе прегравидарной подготовки так же является предметом дискуссий [Краснопольская К.В. и соавт., 2012; Dunselman G.A. et al., 2014]. Согласно данным Н.К. Ороіен и соавт., эксцизия эндометриоидных гетеротопий при подготовке к первому циклу ЭКО и ПЭ у пациенток с I и II стадией НГЭ по классификации rAFS ассоциирована со значимым повышением частоты наступления беременности и живорождения [Ороіен Н.К. et al., 2011].

В случае более распространенных стадий процесса возможность существенного повышения показателей результативности ЭКО и ПЭ после хирургического лечения различными исследователями оценивается неоднозначно [Гаспаров А.С. и соавт., 2013; Т.В. Клинышкова и соавт., 2015; Roustan A. et al., 2015]. Отсутствие значимого повышения частоты наступления беременности в программах ЭКО и ПЭ после хирургического лечения эндометриомы было подтверждено результатами систематического обзора и мета-анализа, представленного I. Tsomprou и соавт. [Tsomprou I. et al., 2009]. Данная точка зрения впоследствии была подтверждена X. Dong и соавт., проанализировавшими исходы 292 программ ЭКО/ИКСИ и ПЭ у пациенток с эндометриоидными кистами яичников в зависимости от наличия или отсутствия хирургического этапа лечения: показатели частоты наступления беременности и живорождения в группах сравнения значимо не отличались [Dong X. et al., 2014].

Дальнейшие исследования данной тематики демонстрируют аргументы в пользу противоположной точки зрения. Е. М. Nesbitt-Hawes и соавт. проанализировали частоту наступления спонтанной и индуцированной беременности у пациенток после хирургического лечения III и IV стадии НГЭ: в послеоперационном периоде беременность наступила у 73% участниц исследования, при этом лишь 37% беременностей были индуцированы. Частота наступления беременности при использовании ВРТ составила 67,8% [Nesbitt-Hawes E.M. et al., 2015].

Тактика прегравидарной подготовки пациенток с *миомой матки* малых размеров также является предметом дискуссии [Сидорова И.С., Унанян А.Л., Агеев М.Б., 2013, Долинский А.К., 2013; Спиридонова Н.В., 2013; Хаитова Д.Т., Давидян Л.Ю., 2013; Синчихин С.П., Мамиев О.Б., Степанян Л.В., 2014; Радзинский В.Е., Архипова М.П., 2014; Спиридонова Н.В. и соавт., 2015; Е.Ф. Кира и соавт., 2016]. Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о значимом нарушении параметров субэндометриальной микроциркуляции в проекции субмукозных миоматозных узлов, сопровождающимся значимым снижением как естественной фертильности, так и результативности ВРТ [Moon J.W. et al., 2015]. Результаты систематического обзора и мета-анализа, представленные S. Sunkara и соавт. свидетельствуют о значимом снижении частоты наступления беременности (OR=0,85, 95% ДИ 0,77–0,94, p=0,002) и живорождения (OR=0,79, 95% ДИ 0,70–0,88, p<0,0001) в программах ЭКО и ПЭ в случае наличия интрамуральных миоматозных узлов [Sunkara S.K. et al., 2010]. Однако вопрос о возможности существенного повышения результативности ЭКО и ПЭ в результате хирургического лечения миомы матки до настоящего времени не решен. Заключение систематического обзора, представленного Cochrane collaboration в 2015 году, свидетельствует об отсутствии убедительных доказательств повышения частоты наступления беременности в программах ЭКО и ПЭ после проведения эндоскопической миомэктомии [Boosteels J. et al., 2015].

Наибольшие противоречия вызывает тактика прегравидарной подготовки и реализации программы ЭКО и ПЭ у пациенток с бесплодием, сопровождающимся *рецидивирующим дисбиозом влагалища*.

Согласно результатам систематического обзора и мета-анализа, представленного N. van Oostrum, распространенность нарушений микроэкологии влагалища среди пациенток с бесплодием составляет 39% (95% ДИ 26–52%), что значительно превышает показатели, регистрируемые среди фертильных пациенток. Бактериальный вагиноз значимо чаще (OR 2,77, 95% ДИ 1,62 – 4,75) встречается у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием [van Oostrum N. et al., 2013].

Частота рецидивирующего дисбиоза влагалища составляет 15-30%, при этом рецидив заболевания возникает через 3-12 месяцев после терапии вне зависимости от тактики лечения [Bunge K.E. et al., 2009]. Согласно результатам исследования Е.Б. Рудаковой, 18% пациенток с диагностированным на этапе подготовки к программе ЭКО и ПЭ бактериальным вагинозом сообщают о завершении курса лечения дисбиоза влагалища за 1-2 месяца до настоящего обращения [Рудакова Е.Б., Замаховская Л.Ю., 2016].

В качестве патогенетической основы рецидивирующего течения нарушений микроэкологии влагалища в настоящий момент рассматривают формирование патогенными микроорганизмами биопленки [Molobela I. Ph., Cloete T. E., Beukes M., 2010; Kalpana B.J. et al., 2012; Hardy L. et al., 2015; Machado D. et al., 2016; Hardy L. et al., 2016]. Механизм нарушения колонизационной резистентности влагалища также изучается с позиций ферментативного потенциала вагинального биотопа: в качестве значимых факторов рассматриваются активность α -амилазы, матриксной металлопротеиназы, гиалуронидазы-1 [Spear G.T. et al., 2014; Spear G.T. et al., 2015; Nasiodus D. et al., 2015].

Многочисленные исследования посвящены изучению механизма взаимосвязи нарушения микроэкологии половых путей и снижения репродуктивного потенциала, а также разработке патогенетически обоснованной тактики коррекции дисбиоза влагалища в данной когорте пациенток [Целкович Р.Б., 2004; Сударикова Е.Г., Билимова С.И., Бызова Т.Е., 2010; Анкирская А.С., Муравьева В.В., 2011; Спиридонова Н.В., Буданова М.В., Мелкадзе Е.В., 2011; Кира Е.Ф. и соавт., 2012; Попкова С.М. и соавт., 2012; Спиридонова Н.В., Басина Е.И., Мелкадзе Е.В., 2012; Шляпников М.Е., 2012; Pelzer E.S., Allan J.A., 2012; Радзинский В.Е. и соавт., 2013; Mangot-Bertrand J. et al., 2013; Кира Е.Ф. и соавт., 2014; Радзинский В.Е. и соавт., 2014; Sirota I., Zarek S. M., Segars J. H., 2014; Hуman R.W. et al., 2014; Кира Е.Ф. и соавт., 2015; Шляпников М.Е. и соавт., 2015; Шляпников М.Е., Ларина Д.М., 2016].

С.М. Voomsma и соавт. провели сравнительный анализ профиля цитокинов, хемокинов и факторов роста в образцах аспирата полости матки на момент

переноса эмбриона в программе ЭКО и ПЭ у пациенток в зависимости от наличия или отсутствия бактериального вагиноза. Результаты анализа свидетельствовали о значимом повышении содержания интерлейкина- β в эндометриальном секрете пациенток с БВ, однако отсутствие изменения уровня других медиаторов не позволило авторам сделать окончательное заключение о взаимосвязи бактериального вагиноза и снижения частоты имплантации эмбрионов в программах ЭКО и ПЭ [Boomsma С.М. et al., 2010].

J. M. Franasiak и соавт. с помощью технологии секвенирования генома изучили состав микрофлоры полости матки 33 пациенток на момент переноса эмбриона в программе ЭКО и ПЭ. Доминирующими представителями микробиома матки всех участниц исследования были *Lactobacillus* spp., значимых отличий в составе минорных компонентов микробных ассоциаций у пациенток с успешными и безрезультатными попытками ЭКО и ПЭ выявлено не было [Franasiak J.M. et al., 2016].

E.S. Pelzer и соавт. представили результаты сравнительного анализа микробиома влагалища и фолликулярной жидкости, полученной при трансвагинальной пункции фолликулов в программе ЭКО и ПЭ, а также изучили взаимосвязь характера микробных ассоциаций фолликулярного аппарата с факторами бесплодия и частотой наступления индуцированной беременности. Культуральное исследование фолликулярной жидкости 99% пациенток (262/263) выявило наличие 1–5 видов микроорганизмов. Микробные ассоциации включали *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Actinomyces* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Propionibacterium* spp., *Staphylococcus* spp., *S. agalactiae*, *C. albicans*. В 29% наблюдений (75/262) в фолликулярной жидкости присутствовала микрофлора, не выявленная при исследовании вагинального секрета пациентки, значительную долю данных наблюдений составили пациентки с эндометриозом. Значимых взаимосвязей видового состава микробных ассоциаций и факторов бесплодия выявлено не было. При анализе результативности программ ЭКО и ПЭ в зависимости от бактериологической характеристики фолликулярной жидкости авторы выявили значимо более высокие показатели частоты наступления

беременности и живорождения в случаях микробиома, представленного только *Lactobacillus* spp., а также значимое преобладания случаев преимплантационной остановки развития эмбрионов и отсутствия имплантации после эмбриотрансфера у пациенток, микрофлора фолликулярного аппарата которых характеризовалась отсутствием *Lactobacillus* spp. и доминированием одного из представителей *Actinomyces* spp., *Bifidobacterium* spp., *Streptococcus* spp. ($p < 0,01$), *Propionibacterium* spp., *Staphylococcus* spp. ($p < 0,05$), [Pelzer E.S., Allan J.A., Waterhouse M.A., 2013].

Полученные данные позволяют предположить необходимость расширения показаний для системной антибактериальной терапии и назначения пробиотиков на этапе прегравидарной подготовки у пациенток с рецидивирующим дисбиозом влагалища, а также хроническим эндометритом и сальпингоофоритом и неудачными попытками ЭКО и ПЭ в анамнезе.

Результаты систематического обзора, представленного Cochrane Collaboration в 2012 году, свидетельствуют об отсутствии значимого повышения частоты наступления беременности в случае назначения при подготовке к переносу эмбриона в полость матки амоксициллина с клавулановой кислотой (ОШ 1,02; 95% ДИ 0,66–1,58) [Kroon B. et al., 2008]. Опыт применения пробиотиков в программе ЭКО и ПЭ в настоящее время ограничен результатами исследования Y. Gilboa и соавт.: интравагинальное назначение пробиотика, содержащего штаммы *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, непосредственно после трансвагинальной пункции фолликулов не сопровождалось значимым повышением частоты наступления беременности и живорождения в результате ЭКО и ПЭ [Gilboa Y. et al., 2005]. Результативность программ ЭКО и ПЭ в случае системной антибактериальной терапии, назначения пробиотиков, а также пребиотиков на этапе прегравидарной подготовки является предметом изучения.

Современные представления о микробиоме женской репродуктивной системы, активно развивающиеся благодаря внедрению методики секвенирования генома, позволяют рассматривать такие нозологические формы, как

рецидивирующий дисбиоз влагалища, хронический эндометрит, хронический сальпингоофорит в едином контексте дисбиоза репродуктивного тракта, ключевой характеристикой которого является снижение доминирующего влияния *Lactobacillus* spp. [Pelzer E.S., Allan J.A., Waterhouse M.A., 2013; Braundmeier A.G. et al., 2015; Franasiak J.M., 2016]. Изучение механизмов поддержки колонизационной резистентности репродуктивного тракта и вагинального биотопа в частности, а также разработка патогенетической терапии генитального дисбиоза является резервом восстановления как естественной фертильности женщины, так и повышения результативности ВРТ [Кира Е.Ф., 2012; Кира Е.Ф., Душкина Е.А., Бадикова Н.С., 2013].

Поиск модифицируемых предикторов результативности лечения бесплодия с помощью ЭКО и ПЭ является неисчерпаемой областью научного и практического интереса, однако в условиях значительной ресурсоемкости ВРТ важным аспектом выбора программы исследования является экономическая доступность предлагаемых диагностических и лечебных мероприятий. Данное обстоятельство обосновало выбор в качестве приоритетного направления настоящей диссертационной работы изучения прогностической и клинической значимости диагностики и коррекции латентного дефицита железа, а также состояния микроценоза влагалища пациенток в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ. Значительная гетерогенность клинических параметров, регистрируемых в ходе прегравидарной подготовки супружеской пары и на различных этапах протокола ЭКО и ПЭ, обосновала применение методов мультиномиальной и бинарной логистической регрессии для выявления значимых закономерностей и создания математических моделей прогнозирования исхода лечения.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объект, предмет и дизайн научного исследования

Настоящее проспективное исследование проводилось в период с сентября 2013 года по май 2016 года в ГБУЗ «Самарский областной медицинский центр Династия» (руководитель – к.м.н. О.В. Тюмина).

Этические аспекты диссертационного исследования «Выявление и коррекция управляемых клинических предикторов результативности метода экстракорпорального оплодотворения» рассмотрены Комитетом по биоэтике при ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России на заседании от 25 сентября 2013 года (председатель – д.м.н., профессор Л.Т. Волова) и признаны соответствующими требованиям Этического кодекса Российского врача и Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

Объектом исследования являлись супружеские пары, направленные на лечение бесплодия методом ЭКО и ПЭ в ГБУЗ «Самарский областной медицинский центр Династия».

Критериями включения пациентов в исследование считались: наличие показаний для проведения программы ЭКО и ПЭ согласно Приказу Минздрава России от 30.08.2012 №107н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению», подписанное добровольное информированное согласие пациентов на участие в исследовании.

В качестве *критериев исключения* рассматривались: наличие у супругов противопоказаний к проведению базовой программы ВРТ согласно Приложению №2 к Приказу Минздрава России от 30.08.2012 №107н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению», использование в программе ВРТ половых

клеток и эмбрионов донора, суррогатное материнство, наличие в супружеской паре наследственных заболеваний согласно заключению генетика, несостоявшийся перенос эмбрионов в полость матки, отсутствие данных об исходе программы ЭКО и ПЭ.

Предметом исследования являлись данные клинического, лабораторного, инструментального исследования супружеской пары на подготовительном этапе и в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ, а также показатели результативности ВРТ (частота наступления беременности, исход индуцированной беременности).

Клиническое исследование было проведено в два этапа.

На **первом этапе** исследования осуществлялось решение задач диссертационной работы, направленных на определение предикторов результативности программы ЭКО и ПЭ на этапах наступления и пролонгирования индуцированной беременности. На данном этапе в соответствии с выбранными критериями включения и известными на момент вступления в программу критериями исключения в исследование вошли 350 супружеских пар. План клинического, лабораторного и инструментального обследования супружеской пары в рамках программы ЭКО и ПЭ соответствовал требованиям Приказа Минздрава России от 30.08.2012 №107н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению», а также включал следующие дополнительные диагностические мероприятия:

- Диагностику латентного дефицита железа (ЛДЖ) у пациентки на момент вступления в программу ЭКО и ПЭ на основе данных определения сывороточного железа (СЖ), сывороточного ферритина (СФ), трансферрина (ТФ) с подсчетом коэффициента насыщения трансферрина железом (КНТ);
- Определение аллельных вариантов гена ингибитора активатора плазминогена первого типа (PAI-1), гена рецептора тромбоцитарного гликопротеина (GP IIa/IIIb), гена фактора свертывания V (FV), гена

протромбина (FII), гена β -цепи фибриногена (FGB), гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) у пациентки на этапе прегравидарной подготовки;

- Микроскопическое исследование отделяемого влагалища на момент переноса эмбрионов в полость матки, а также через 21 день после переноса эмбрионов вне зависимости от наличия или отсутствия клинической беременности, верификацию дисбиоза влагалища методом ПЦР в реальном времени с количественной оценкой результата;
- Определение амилалитической активности отделяемого влагалища на момент переноса эмбрионов.

В рамках первого этапа исследования при сравнительном анализе данных определения амилалитической активности отделяемого влагалища дополнительно были выделены следующие подгруппы: подгруппа пациенток с верифицированным на момент переноса эмбрионов дисбиозом влагалища (43 пациентки), а также подгруппа пациенток с нормоценозом влагалища (305 пациенток).

Данные клинического, лабораторного, инструментального исследования супружеской пары, данные протоколов реализации стимуляции суперовуляции, трансвагинальной пункции фолликулов, оплодотворения ооцитов, культивирования и переноса эмбрионов, ведения посттрансферного периода фиксировались в индивидуальной карте участников исследования с момента вступления супругов в программу ЭКО и ПЭ до регистрации клинического исхода. В случае наступления беременности индивидуальная карта участников исследования завершалась при установлении исхода гестации.

На **втором этапе** исследования была проведена апробация разработанного алгоритма оптимизации программы ЭКО и ПЭ, включающего выявление на этапе прегравидарной подготовки пациенток высокой группы риска по развитию ЛДЖ

с помощью программы прогнозирования наличия латентного дефицита железа, верификацию диагноза с помощью комплексного исследования гематологических и феррокинетических показателей, коррекцию ЛДЖ в случае подтверждения диагноза, мониторинг микроценоза влагалища для раннего выявления и коррекции вагинального дисбиоза, а также профилактику дисбиоза влагалища применением на этапе стимуляции суперовуляции пребиотика из растительных моносахаридов.

Для решения поставленной задачи на данном этапе в исследование были включены 239 супружеских пар с верифицированным диагнозом «женское бесплодие трубно-перитонеального происхождения», впервые вступающие в протокол ЭКО и ПЭ. В качестве дополнительных *критериев исключения*, используемых на данном этапе исследования, рассматривались: наличие других факторов бесплодия помимо трубно-перитонеального, возраст пациентки старше 35 лет. Участники второго этапа исследования были распределены на следующие группы сравнения:

- I_{II} группа сравнения (82 пациентки, реализация базовой программы ЭКО и ПЭ согласно действующим стандартам);
- II_{II} группа сравнения (80 пациенток, реализация программы ЭКО и ПЭ с выявлением и коррекцией ЛДЖ на этапе прегравидарной подготовки, а также мониторингом микроценоза влагалища в цикле стимуляции суперовуляции);
- III_{II} группа сравнения (77 пациенток, реализация программы ЭКО и ПЭ с выявлением и коррекцией ЛДЖ на этапе прегравидарной подготовки, мониторингом микроценоза влагалища в цикле стимуляции суперовуляции, профилактикой дисбиоза влагалища с помощью назначения пребиотика из растительных моносахаридов в цикле стимуляции суперовуляции).

Сформированные на втором этапе исследования группы сравнения (ГС) были сопоставимы по основным клинико-анамнестическим данным (таблица 2.1.1)

Таблица 2.1.1. – Критерии сопоставимости основных клинических данных участников второго этапа исследования

Критерий сопоставимости	Медиана (межквартильный размах)			Уровень значимости «р»
	I _{II} ГС	II _{II} ГС	III _{II} ГС	
Возраст пациентки, лет	27 (26–28)	29 (26–31)	27 (26–31)	0,099
Длительность бесплодия, лет	3 (2–3)	3 (2–5)	3 (2–5)	0,213
ИМТ, кг/м ²	22,5 (20–27)	22,5 (20–25)	23 (19–28)	0,462
АМГ, нг/мл	3,4 (3,2–3,5)	3,4 (2,8–3,5)	3,4 (3,0–3,5)	0,593
Количество самопроизвольных беременностей в анамнезе	1 (0–2)	1 (0–2)	1 (0–1)	0,223
Количество родов в результате самопроизвольной беременности в анамнезе	0 (0–1)	0 (0–0)	0 (0–0)	0,085

Информация о супружеских парах, выбывших на различных этапах исследования в соответствии установленными критериями исключения, представлена в таблице 2.1.2.

Таблица 2.1.2 – Супружеские пары, выбывшие из исследования

Период наблюдения	Количество участников, выбывших из исследования				Причины исключения из исследования
	I этап	II этап			
		I группа	II группа	III группа	
Стимуляция суперовуляции	1 (n=350)*	0 (n=82)*	0 (n=80)*	0 (n=77)*	Отмена переноса эмбрионов, риск СГЯ
Перенос эмбрионов в полость матки	1 (n=349)*	0 (n=82)*	0 (n=80)*	0 (n=77)*	Отсутствие оплодотворения ооцитов

*количество супружеских пар, участвующих в исследовании в соответствующий период наблюдения

Детализация дизайна исследования представлена на рисунке 2.1.1.

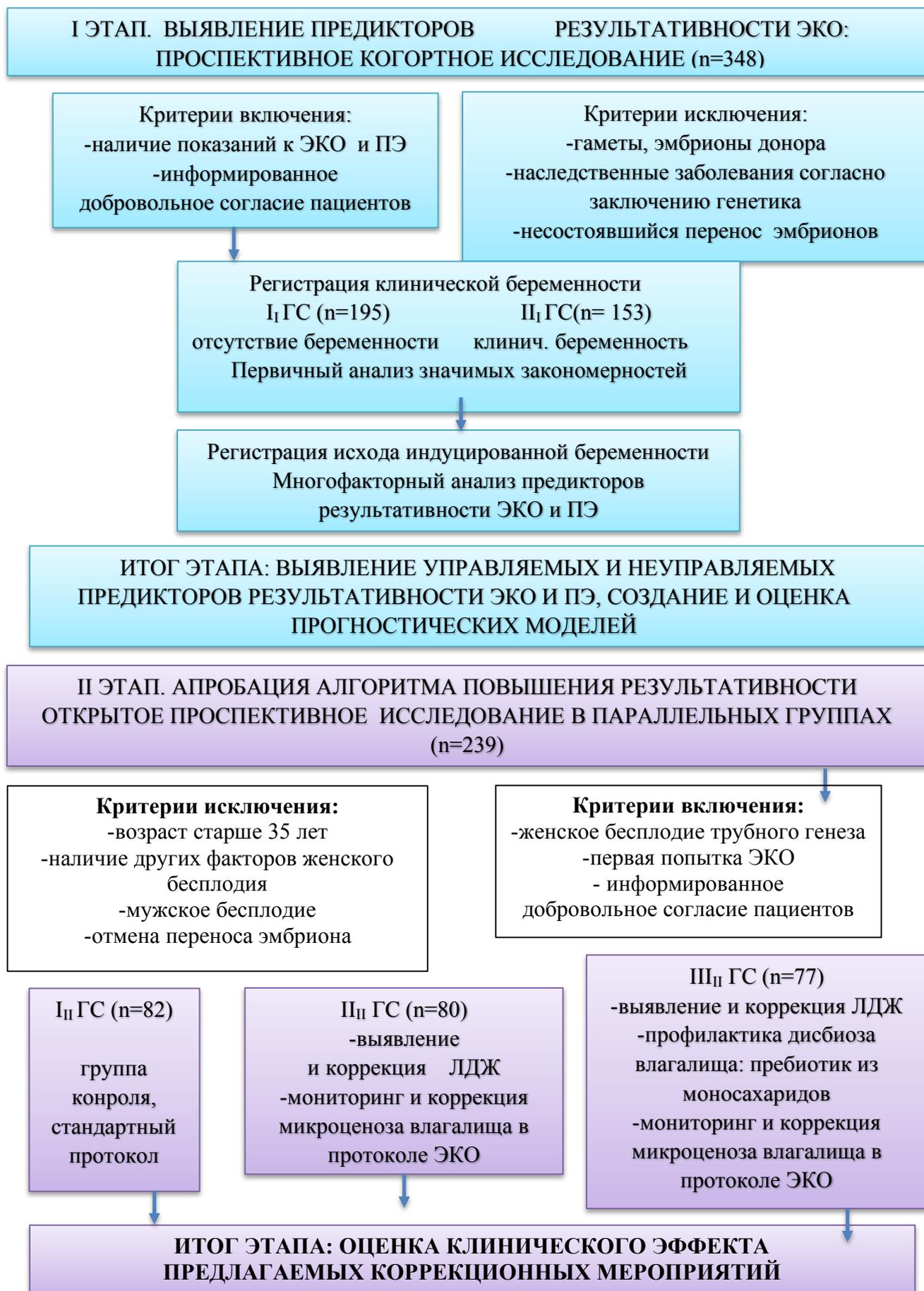


Рисунок 2.1.1 – Дизайн исследования

2.2. Клинико-лабораторные и инструментальные методы исследования

Общеклинические методы исследования. При обследовании пациентки на этапе прегравидарной подготовки применялся традиционный методологический подход, включающий уточнение семейного анамнеза, анамнеза экстрагенитальной патологии, аллергологического и гемотрансфузионного анамнеза, общий осмотр, антропометрию с вычислением индекса массы тела (ИМТ) и соотношения окружности талии и бедер (ИТБ), физикальные методы оценки состояния нервной, эндокринной, дыхательной, сердечно-сосудистой, пищеварительной и мочевыделительной систем.

Общее и специальное гинекологическое исследование включало уточнение акушерско-гинекологического анамнеза с дифференцированной оценкой патологии детского, препубертатного, пубертатного и постпубертатного периодов.

Характер и степень оволосения интерпретировали согласно шкале Ферримана-Голлвея.

При *гинекологическом осмотре* регистрировали состояние наружных половых органов, характер и степень оволосения, состояние слизистой преддверия влагалища. При осмотре в зеркалах оценивали морфологию влагалищной порции шейки матки, состояние эпителиального покрова экзоцервикса и слизистой оболочки влагалища. При бимануальном влагалищно-абдоминальном исследовании регистрировали положение, размер, консистенцию, подвижность, болезненность матки, а также пальпаторные характеристики параметриев, крестцово-маточных связок и проекции придатков.

Объем *лабораторных методов* исследования включал следующие диагностические мероприятия:

- общий (клинический) анализ крови пациентки с определением эритроцитарных индексов: MCV (средний объем эритроцита), MCH (среднее содержание гемоглобина в эритроците), MCHC (средняя

концентрация гемоглобина в эритроците), RDW (показатель распределения эритроцитов по объему);

- биохимический анализ крови пациентки с определением уровня общего белка, креатинина, мочевины, общего холестерина, общего билирубина, глюкозы, АлАТ, АсАТ;
- анализ коагуляционного потенциала крови пациентки с определением показателей ПТИ, АЧТВ, МНО, Д-димера; определение аллельных вариантов генов системы гемостаза;
- определение группы крови и резус-фактора супругов;
- исследования уровней фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), пролактина (ПРЛ), эстрадиола (Е₂), общего тестостерона (Т), кортизола (К), тиреотропного гормона (ТТГ), трийодтиронина (Т₃), тироксина (Т_{4св}), дегидроэпиандростерон-сульфата (ДЭА-S), 17-гидроксипрогестерона (17-ОН), Анти-Мюллерова гормона (АМГ) в плазме крови на 2-5 день цикла (реагенты Beckman Coulter АМН ELISA GEN II) ; прогестерона (П) – на 20-22 день цикла.
- определение в крови пациентки антител к бледной трепонеме, антител класса М и G к ВИЧ 1, 2 типов, антител к вирусу гепатита С, определение HBsAg;
- определение в крови пациентки антител к вирусу простого герпеса, цитомегаловирусу, токсоплазме, вирусу краснухи;
- общий анализ мочи;
- микроскопическое исследование мазков отделяемого уретры, цервикального канала, влагалища;
- микробиологическое исследование отделяемого уретры, цервикального канала, влагалища на хламидии, микоплазмы, уреаплазмы;
- цитологическое исследование эпителия цервикального канала и экзоцервикса;

- исследование эякулята супруга с проведением смешанной антиглобулиновой реакции сперматозоидов.

Объем *инструментальных методов исследования* включал следующие диагностические мероприятия:

- регистрацию электрокардиограммы;
- крупнокадровую органов грудной клетки;
- ультразвуковое исследование (УЗИ) молочных желез, щитовидной железы, почек, надпочечников;
- маммографию у пациенток старше 35 лет, а также при выявлении патологии молочной железы по результатам УЗИ;
- кольпоскопию;
- УЗИ органов малого таза;
- диагностическую гистероскопию, диагностическую лапароскопию;
- метросальпингографию при отказе пациентки от диагностической лапароскопии;
- биопсию эндометрия с гистологическим и микробиологическим исследованием биоптата.

Заключение о состоянии здоровья и возможности вынашивания беременности предоставлялось терапевтом. При выявлении показаний проводились консультации узких специалистов (эндокринолога, маммолога, нарколога, психиатра, гематолога, флеболога, инфекциониста) с расширением стандартного профиля диагностических мероприятий согласно полученным рекомендациям.

2.3 Специальные методы исследования

Диагностика латентного дефицита железа. С целью выявления ЛДЖ на этапе подготовки пациентки к программе ЭКО и ПЭ стандартный объем лабораторных методов исследования был дополнен следующими диагностическими мероприятиями: определение концентрации СЖ, ТФ, СФ на биохимическом анализаторе «Копе Ultra» (Финляндия) с использованием стандартных реактивов, подсчет КНТ. Вычисление КНТ производилось по стандартной формуле (Долгов В.В. и соавт., 2001):

$$\text{КНТ} = \frac{\text{СЖ} \left(\frac{\text{мкмоль}}{\text{л}} \right) \times 5,6}{\text{ТФ} \left(\frac{\text{г}}{\text{л}} \right) \times 1,41 \times 100} \times 100\% \quad (1)$$

Верификация ЛДЖ проводилась с использованием критериев, разработанных В.Н. Серовым и соавт. (2007) для небеременных женщин репродуктивного возраста: Нв – 115-125 г/л, RBC – $3,75-3,9 \times 10^{12}/\text{л}$, Нt – 35,5-37%, СФ – 16-30 нг/мл, КНТ $\leq 20\%$, СЖ $\leq 12,5$ мкмоль/л.

На втором этапе исследования алгоритм диагностики ЛДЖ был дополнен выявлением пациенток группы риска по наличию ЛДЖ с помощью программы для ЭВМ «Программа для прогнозирования наличия латентного дефицита железа у женщин репродуктивного возраста», разработанной сотрудниками кафедры акушерства и гинекологии №1 СамГМУ (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2014614686). Алгоритм данной программы основан на определении вероятности наличия ЛДЖ с помощью следующего уравнения логистической регрессии:

$$p = \frac{e^{\text{beta}}}{1 + e^{\text{beta}}} \quad (1)$$

$$\text{Beta} = E + 1,9657 \times A + 0,9302 \times B + 0,6111 \times C + 1,3433 \times D + 2,1402 \times I + 1,4563 \times F + 1,2242 \times G \quad (2)$$

Для определения значений предикторов представленного уравнения в ходе опроса пациентки на этапе прегравидарной подготовки уточняются следующие данные:

- условия проживания ($A=1$ при наличии неудовлетворительных бытовых условий, в ином случае $A=0$);
- интенсивность занятий спортом ($I=1$ при наличии регулярных в течение года занятий спортом не менее 10 часов в неделю, в ином случае $A=0$);
- доля молочно-растительной пищи в рационе питания ($F=1$, если доля молочно-растительных продуктов составляет более 70% дневного рациона питания, в ином случае $F=0$);
- уровень потребления кофе ($D=1$ при употреблении более 28 чашек кофе в неделю, в ином случае $D=0$);
- частота простудных заболеваний ($G=1$ при частоте простудных заболеваний более 4 эпизодов в год, в ином случае $G=0$);
- количество беременностей в анамнезе (C , абсолютное число);
- длительность и обильность менструальных выделений ($B=1$ при длительности менструации более 5 дней и/или необходимости использования более 6 гигиенических прокладок в сутки, при наличии крупных сгустков и ограниченных по времени эпизодов во время менструации, требующих смены гигиенической прокладки каждый час в течение 3 часов подряд; в ином случае $B=0$).

Высокая вероятность наличия ЛДЖ у пациентки на этапе прегравидарной подготовки регистрируется в случае вычисления значения зависимой переменной p , превышающего 0,5. Чувствительность и специфичность прогностического алгоритма в точке разделения 0,5 составляет 88% и 74%, соответственно.

Подробная характеристика компонентов уравнения бинарной логистической регрессии, являющегося основой алгоритма представленной

программы для ЭВМ №2014614686 «Программа для прогнозирования наличия латентного дефицита железа у женщин репродуктивного возраста», представлена в таблице 2.3.1.

Таблица 2.3.1 – Математическая модель прогноза ЛДЖ у пациентки

Предиктор	Коэффициент регрессии	SE	Wald χ^2	p	Станд. коэффициент регрессии
Интерсепт (E)	- 9,4774	1,4970	40,0819	<0,0001	-
Условия проживания (A)	1,9657	0,5381	13,3425	0,0003	0,4596
Количество менструальных выделений (B)	0,9302	0,3552	6,8592	0,0088	0,3330
Количество беременностей в анамнезе (C)	0,6111	0,2563	5,6841	0,0171	0,2937
Количество чашек кофе в день (D)	1,3433	0,3311	16,4562	<0,0001	0,5562
Интенсивные занятия спортом (I)	2,1402	0,6502	10,8347	0,0010	0,4464
Преобладание молочно-растительной пищи в рационе (F)	1,4563	0,5066	8,2623	0,0040	0,3648
Частые простуды (G)	1,2242	0,4608	7,0581	0,0079	0,3377

Исследование аллельных вариантов генов системы гемостаза PAI-1, GP IIa/IIIb, FV, FII, FGB, MTHFR проводилось всем пациенткам на этапе прегравидарной подготовки методом мультиплексной ПЦР с последующей гибридизацией на биологическом гидрогелевом микрочипе с использованием набора реагентов «ПФ – Биочип (Фибр)» (Рег. Уд. № ФС 01262006/5317–06) и универсального аппаратно-программного комплекса для анализа биочипов УАПК (Регистрационное удостоверение Росздравнадзора № ФС 022a2006/3777-06) с программным обеспечением «Imageware»® (ООО «БИОЧИП–ИМБ», РФ).

Мониторинг микроценоза и потенциала колонизационной резистентности влагалища. В рамках настоящего исследования проводилась динамическая оценка состояния биоценоза влагалища в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ. Для решения поставленной задачи использовалась оценка клинических критериев Амсела с измерением pH влагалищного секрета с помощью индикаторных полосок Кольпо-тест pH (Биосенсор АН, РФ), а также микроскопия мазка влагалищного отделяемого с интерпретацией результата согласно шкале Ньюджента и классификации Е.Ф. Кира [Федеральные клинические рекомендации по ведению больных бактериальным вагинозом, 2015; Федеральные клинические рекомендации по ведению больных урогенитальным кандидозом, 2015]. Состояние микроценоза влагалища регистрировалось на этапе прегравидарной подготовки, на момент переноса эмбрионов в полость матки, через 21 день после переноса эмбрионов в полость матки. При выявлении на основании перечисленных методов дисбиоза влагалища верификация диагноза проводилась с помощью исследования влагалищного секрета методом ПЦР в реальном времени с количественной оценкой результата (набор реагентов «Фемофлор», ООО «НПО ДНК-Технология», РФ).

С целью изучения взаимосвязи *потенциала колонизационной резистентности влагалища* и результативности лечения бесплодия с помощью ЭКО и ПЭ в настоящем исследовании проводилось определение амилолитической активности отделяемого влагалища на момент переноса эмбрионов в полость матки.

Способ определения амилолитической активности отделяемого влагалища разработан и использован в настоящем исследовании под руководством доцента кафедры технологии органического и нефтехимического синтеза ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет», к.х.н. И. Л. Глазко (удостоверение на рационализаторское предложение № 374).

Принцип метода основан на колориметрическом определении концентрации крахмала до и после ферментативного гидролиза.

Подготовка реактивов

1. Фосфатно-щелочной буферный раствор. Для приготовления буферного раствора готовили раствор дигидрофосфата калия (KH_2PO_4), для этого навеску 3,4032 г дигидрофосфата калия переносили в мерную колбу на 250 мл, растворяли в дистиллированной воде и доводили объем до метки (раствор А). Раствор 0,1 N гидроксида натрия готовили из фиксанала (раствор Б). Для приготовления буферного раствора рН 7, в 100 мл колбу отмеряли 50 мл раствора А и 29,63 мл раствора Б, доводили объем до 100 мл дистиллированной водой.
2. Раствор крахмала – 0,08 г /100 мл 0,08 г «растворимого» крахмала взвешивали на аналитических весах, переносили в термостойкий стакан и добавляли 10-15 мл дистиллированной воды, перемешивали стеклянной палочкой, нагревали до кипения следя за полным растворением крахмала. Далее полученный раствор переносили в мерную колбу на 100 мл, стакан промывали тремя порциями по 20-25 мл буферного раствора в ту же мерную колбу и доводили объем буферным раствором до метки. Выбранная концентрация крахмала позволяет получить рабочие растворы с начальной оптической плотностью близкой к единице, что уменьшает погрешность измерений.
3. Раствор йода 0,01 N готовили разбавлением дистиллированной водой 0,1 N раствора приготовленного из фиксанала.

Подготовка биологического материала

Забор вагинального отделяемого производили с помощью ложки Фолькмана из заднего свода влагалища. Полученный материал отбирался с рабочей поверхности ложки Фолькмана автоматической одноканальной пипеткой с одноразовым наконечником емкостью 200 мкл. Отобранную пробу в объеме 200 мкл переносили в пробирку для центрифугирования Eppendorf с замком Safe-lock, емкостью 5 мл, содержащую 2 мл стерильного физиологического раствора. Образец транспортировался в лабораторию в течение 2 часов в термоконтейнере при температуре 2–8°C. В условиях лаборатории пробирку центрифугировали в

течение 5 минут со скоростью 6000 оборотов в секунду. Для исследования использовали надосадочную жидкость в объеме 0,5 мл.

Ход определения

В 50 мл мерную колбу вносили с помощью мерной пипетки 5 мл буферного раствора крахмала. Колбу прогревали в водяном термостате при 37 °С в течение 5 минут. Затем колбу извлекали из термостата и быстро вносили 0,5 мл анализируемой биологической жидкости. Содержимое колбы перемешивали легким встряхиванием и помещали в водяной термостат на 30 минут. По истечении времени инкубации для остановки реакции ферментативного гидролиза в колбу вносили 1 мл 1 N раствора соляной кислоты, затем приливали с помощью мерной пипетки 5 мл 0,01N раствора йода и доводили общий объем до 50 мл дистиллированной водой. Быстро перемешивали содержимое колбы и тотчас же определяли оптическую плотность полученного раствора при длине волны 640 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм (Рисунок 2.3.1). При фотометрировании проб в качестве раствора сравнения использовали дистиллированную воду.

Контрольную пробу обрабатывали точно так же, как и опытную, но соляную кислоту прибавляли до внесения 0,5 мл биологического материала. Амилолитическую активность отделяемого влагилица выражали в мг/л·с (миллиграмм крахмала гидролизованного 1 л биологической жидкости за секунду инкубации при температуре 37 °С) и вычисляли по формуле:

$$A = \frac{E_k - E_o}{E_k} \cdot \frac{4 \cdot 1000 \cdot 4,08}{30 \cdot 60 \cdot 0,02} = \frac{E_k - E_o}{E_k} \cdot 453 \quad \frac{\text{мг}}{\text{л} \cdot \text{с}} \quad (1)$$

где:

E_k – оптическая плотность контрольной пробы

E_o – оптическая плотность опытной пробы

4 – количество внесенного крахмала, содержащегося в 5 мл буферного раствора, представленное в мг.

30 – время инкубации в минутах.

0,02 – объем физиологической пробы в мл.

4,08 – коэффициент, учитывающий разведение пробы

60 – коэффициент пересчета для представления времени инкубации в секундах.

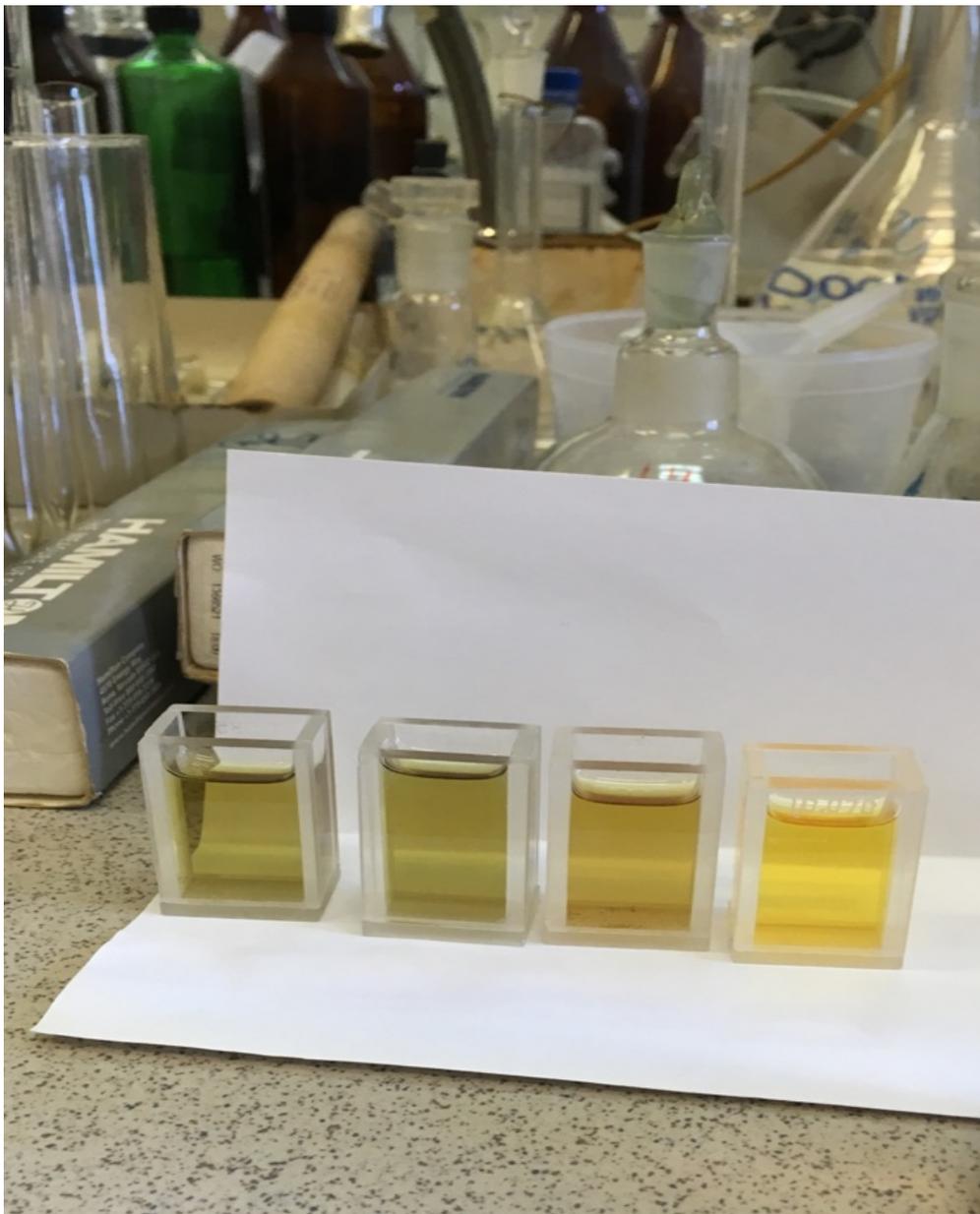


Рисунок 2.3.1 – Определение амилолитической активности отделяемого влагалища (этап работы – подготовка к оценке оптической плотности проб)

2.4 Этапы программы экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов в полость матки

Этап *контролируемой стимуляции суперовуляции* был реализован согласно стандартным протоколам с применением менотропинов (производитель Ferring, Германия), рекомбинантных α -фоллитропина (производитель MERCK SERONO, S.A., Швейцария) или β -фоллитропина (производитель ORGANON, N.V., Нидерланды) на фоне введения стандартных стартовых и курсовых доз агонистов (трипторелин, производитель IPSEN PHARMA, Франция) или антагонистов ГнРГ (цетрореликс, производитель GmbH Baxter Oncology, Германия). В качестве критериев индукции овуляции рассматривались: диаметр лидирующего фолликула не менее 18 мм, а также двух других фолликулов – не менее 14 мм, толщина эндометрия не менее 7–8 мм. В качестве индуктора овуляции использовался препарат ХГЧ (производитель ORGANON, N.V., Нидерланды) в дозе 5000–10000 МЕ в зависимости от данных ультразвуковой фолликулометрии и индивидуального риска развития синдрома гиперстимуляции яичников.

Трансвагинальная пункция фолликулов проводилась через 36 часов после введения триггера овуляции. Под контролем УЗИ производилась пункция и аспирация содержимого всех фолликулов, диаметр которых превышал 13 мм. Морфологическая оценка полученных ооцитов проводилась согласно рекомендациям Стамбульского консенсуса по оценке качества эмбрионов [The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology, 2011].

Оплодотворение *in vitro* производилось через 2–6 часов после трансвагинальной пункции фолликулов. Обработанный согласно действующим стандартам эякулят добавляли в лунки с ооцитами до достижения концентрации не менее 50000–100000 активно подвижных сперматозоидов на один ооцит. При наличии показаний для ИКСИ через 6 часов после преинкубации ооцита

проводили интрацитоплазматическую инъекцию сперматозоида в яйцеклетку. Через 24 часа после экстракорпорального оплодотворения согласно наличию 2 пронуклеусов регистрировался факт оплодотворения.

Культивирование ооцитов и эмбрионов производилось в термостатах в присутствии 5% CO₂ в воздухе при температуре 37±0,1°C и влажности 80–90% в стерильной изотонической среде «MediCult» (Universal IVF Medium и BlastAssist System). Интерпретация морфологической характеристики эмбрионов проводилась согласно рекомендациям Стамбульского консенсуса по оценке качества эмбрионов [The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology, 2011].

Перенос эмбрионов в полость матки производился под контролем УЗИ на 2, 3, 4 или 5 сутки развития эмбрионов с использованием одноразовых катетеров Wallace, Cook или TDT. После извлечения из полости матки катетер просматривалась под микроскопом. После завершения процедуры эмбриотрансфера пациентка находилась в горизонтальном положении под наблюдением 30 минут.

Ведение посттрансферного периода и диагностика индуцированной беременности. Медикаментозная терапия, направленная на поддержание функции желтого тела, назначалась всем участницам исследования после переноса эмбрионов в полость матки. Дидрогестерон или микронизированный прогестерон в капсулах назначались согласно стандартным схемам через сутки после трансвагинальной пункции фолликулов. Введение препаратов поддержки посттрансферного периода продолжалось до 14 дня после переноса эмбрионов в полость матки, когда производилось определение уровня β-субъединицы ХГЧ в плазме крови.

Регистрация клинической беременности производилась через 21 день после переноса эмбрионов в полость матки при ультразвуковом исследовании органов малого таза вагинальным датчиком.

2.5 Коррекция управляемых клинических предикторов результативности метода экстракорпорального оплодотворения

Коррекция латентного дефицита железа. При выявлении ЛДЖ на этапе прегравидарной подготовки составлялся индивидуальный план коррекционных мероприятий, включающий немедикаментозные и медикаментозные методы воздействия.

Рекомендации по коррекции факторов образа жизни включали:

- снижение интенсивности спортивных тренировок;
- рациональное снижение массы тела при регистрации ИМТ более 25 кг/м²;
- ограничение употребления танин-содержащих напитков, снижение доли молочно-растительной пищи при ее значительном преобладании в рационе.

Медикаментозная коррекция ЛДЖ проводилась с использованием препарата железа протеин сукцинилата (регистрационный номер: П N013855/01 от 21.11.2007, код АТХ: В03АВ09, производитель: Италфармако С.А., Испания). Препарат является полусинтетическим железо-протеиновым комплексом, в котором атомы Fe³⁺ окружены белковым носителем, получаемым из казеина. В кислой среде желудка протеиновый компонент подвергается преципитации, что исключает контакт микроэлемента со слизистой желудка, нивелируя раздражающее действие препарата на ЖКТ. В нейтральной или слабощелочной среде кишечника происходит растворение протеинового носителя, высвобождение и всасывание железа. Биодоступность препарата не обусловлена алиментарными факторами. Один флакон препарата – 15 мл раствора для приема внутрь – содержит 800 мг железа протеин сукцинилата, что эквивалентно 40 мг элементарного железа и является адекватной суточной дозой для коррекции ЛДЖ [Серов В.Н. и соавт., 2010].

На этапе *прегравидарной подготовки* при выявлении ЛДЖ проводилось назначение железа протеин сукцинилата по 15 мл в день в течение 6 недель.

В случае *отсутствия беременности в результате ЭКО и ПЭ* после завершения приема железа протеин сукцинилата рекомендовалось продолжение применения препаратов железа и фолиевой кислоты в соответствии с рекомендациями ВОЗ (2012): 60 мг элементарного железа и 2,8 мг фолиевой кислоты 1 раз в неделю в течение 3 месяцев, далее перерыв в течение 3 месяцев и возобновление приема в интермиттирующем режиме согласно указанной схеме.

В случае *регистрации клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ* рекомендовалось наблюдение согласно существующим стандартам, включающее контроль ОАК каждые 4 недели, определение уровня СФ, СЖ и КНТ каждые 12 недель. Также рекомендовался прием витаминно-минеральных комплексов, содержащих не менее 20 мг элементарного железа.

В случае выявления лабораторных признаков ЛДЖ рекомендовался прием препаратов железа в суточной дозе, эквивалентной 50–100 мг элементарного железа, в течение 6 недель с дальнейшим назначением половинной дозы в течение 4 недель на фоне динамического контроля лабораторных показателей (ОАК каждые 2 недели, СФ, СЖ, КНТ – каждые 8 недель).

Коррекция нарушений микроценоза влагалища. При выявлении дисбиоза влагалища проводилась двухэтапная схема терапии, включающая на первом этапе назначение таблеток деквалиния хлорида 10 мг (Мединова Лтд., Швейцария) вагинально ежедневно в течение 6 дней, на втором этапе – назначение пребиотика из растительных моносахаридов (регистрационный номер РЗН 2013/943 от 26.07.2013, производитель ООО «ИнБио», Российская Федерация) вагинально ежедневно в течение 14 дней.

В качестве профилактики развития дисбиоза влагалища в программе ЭКО и ПЭ проводилось назначение пребиотика из растительных моносахаридов вагинально с 5 дня стимуляции суперовуляции в течение 14 дней.

2.6 Статистическая обработка данных

Анализ данных выполнялся с помощью статистических пакетов SAS 9.3, STATISTICA 10, IBM-SPSS-22, StatPlus:mac Pro-6. При проверке нулевых гипотез критическое значение уровня статистической значимости принималось равным 0,05. Нулевая гипотеза принималась при регистрации уровня значимости статистического критерия более 0,05.

Проверка нормальности распределения количественных признаков проводилась с помощью критериев Колмогорова и Шапиро-Уилка. Принимая во внимание отсутствие нормального распределения 82% анализируемых количественных переменных для сравнения центральных параметров групп далее использовались непараметрические методы: дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса для сравнения нескольких независимых выборок, критерий Манна-Уитни для сравнения двух независимых выборок. Характеристика количественных параметров представлялась в виде медианы, межквартильного размаха, минимального и максимального значений.

Качественные переменные характеризовались абсолютным числом наблюдений, соответствующих анализируемому критерию, и долями в процентах относительно общего числа наблюдений. Исследование взаимосвязи между дискретными качественными признаками проводилось на основании анализа парных таблиц сопряженности с использованием критерия Пирсона χ^2 с поправкой Йетса, а также двустороннего точного критерия Фишера при наличии условий для его применения [Реброва О.Ю., 2002].

Анализ взаимосвязи качественного признака, выступающего в роли результирующего показателя, с подмножеством количественных и качественных переменных, проводился с помощью методов мультиномиальной и бинарной логистической регрессии с пошаговым алгоритмом включения и исключения предикторов. Результирующие уравнения логистической регрессии характеризовались набором коэффициентов регрессии с уровнем значимости для

каждого предиктора, отношением шансов с 95% доверительным интервалом отношения шансов (ОШ, 95% ДИ) для каждого предиктора, показателем конкордантности фактической и вычисленной принадлежности наблюдения к изучаемым градациям зависимой переменной. Дискриминационная адекватность уравнения бинарной логистической регрессии оценивалась с помощью ROC-анализа. Оценка показателя AUC (Area under the curve, площадь под ROC-кривой) производилось согласно экспертной шкале, представленной в Таблице 2.6.1 [Zweig, M.H., Campbell B., 1993].

Таблица 2.6.1. – Экспертная шкала оценки показателя AUC

AUC	Дискриминационная адекватность прогностического алгоритма
0,5–0,6	неудовлетворительная
0,6–0,7	средняя
0,7–0,8	хорошая
0,8–0,9	очень хорошая
0,9–1,0	отличная

Калибрационная адекватность уравнения логистической регрессии определялась с помощью критерия Хосмера-Лемешова, а также с помощью метода Сох, детализированного Miller [M.E. Miller et al., 1991].

Интерпретация клинического эффекта предлагаемых коррекционных стратегий проводилась согласно стандартам доказательной медицины с расчетом показателей частоты исходов в группе лечения (ЧИЛ), частоты исходов в контрольной группе (ЧИК), повышения относительной пользы (ПОП), повышения абсолютной пользы (ПАП), «числа больных, которых необходимо лечить» (ЧБНЛ) [Котельников Г.П., Шпигель А.С., 2012].

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Сравнительная характеристика клинических данных участников исследования на этапе прегравидарной подготовки

На первом этапе исследования были проанализированы данные 348 супружеских пар. Информация о результатах программы ЭКО и ПЭ, достигнутых в данной когорте пациентов, представлена на рисунке 3.1.1.



Рисунок 3.1.1. Результаты программы ЭКО и ПЭ в исследуемой когорте пациентов

С целью первичного сравнительного анализа участники первого этапа исследования ретроспективно были разделены на группы в зависимости от наличия клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ (Таблица 3.1.1). В I

группу сравнения пациенты включались в случае отсутствия беременности по результатам определения уровня β -ХГЧ в плазме крови на 14 день после переноса эмбрионов, отсутствия визуализации плодного яйца в полости матки при ультразвуковом исследовании вагинальным датчиком на 21 день после переноса эмбрионов. В случае регистрации маточной беременности на 21 день после эмбриотрансфера супружеские пары включались во II группу сравнения независимо от исхода гестации. Таким образом, в настоящем исследовании клиническая беременность в результате ЭКО и ПЭ была диагностирована в 43,9% (153/348) наблюдений.

Таблица 3.1.1 – **Распределение пациентов по группам сравнения**

Группы сравнения	Количество супружеских пар
I группа сравнения (I ГС): отсутствие клинической беременности в результате данной попытки ЭКО и ПЭ	195
II группа сравнения (II ГС): клиническая беременность в данной попытке ЭКО и ПЭ	153
Всего	348

В сформированных группах был проведен сравнительный анализ основных клинических, лабораторных и инструментальных данных, выявляемых на этапе прегравидарной подготовки и в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ.

Данные сравнительного анализа *возраста* пациенток, включенных в программу первого этапа исследования, представлены в Таблице 3.1.2.

Таблица 3.1.2 – **Сравнительная характеристика возраста пациенток**

Показатель	ГС	Медиана	Межквартильный размах	min	max	p
Возраст пациентки, лет	I	34,00	31,00–38,00	21,00	42,00	0,06
	II	33,00	30,00–35,00	22,00	37,00	

Согласно данным таблицы 3.1.2, сформированные на первом этапе исследования группы сравнения по показателю возраста пациенток были

сопоставимы. При анализе возраста мужчин, состоящих в бесплодном браке, также не было выявлено значимых различий в изучаемых группах. Медиана возраста супруга в I группе сравнения составила 36,0 (32,0–40,0) лет, во II группе данный показатель составил 35,0 (32,0–38,0) лет ($p=0,2690$).

При изучении анамнеза *экстрагенитальной патологии и негинекологических оперативных вмешательств* значимых различий по частоте встречаемости и структуре определенных нозологий в группах сравнения выявлено не было. Наиболее часто пациентки указывали на перенесенные детские инфекционные заболевания: 135 (69,2%) пациентки I группы сравнения и 95 (62,1%) пациенток II группы сравнения ($\chi^2=1,6448$, $p=0,2004$), среди которых были наиболее распространены ветряная оспа и краснуха: 116 (59,5%) пациенток I группы сравнения и 90 (58,8%) пациенток II группы сравнения ($\chi^2= 0,0007$, $p=0,9885$), а также 82 (42,0%) пациенток I группы сравнения и 57 (37,2%) пациентки II группы сравнения ($\chi^2=0,6348$, $p=0,4263$), соответственно. В структуре хронической экстрагенитальной патологии отмечено преобладание компенсированной формы хронического тонзиллита: 96 (49,2%) пациенток I группы сравнения и 59 (38,5%) пациентки II группы сравнения ($\chi^2=3,5307$ $p=0,0603$). Значительную долю в структуре экстрагенитальной патологии составили случаи выявления у пациенток тромбофилии: 15,9% (31/195) и 19,6% (30/153) наблюдений в I и II группах сравнения, соответственно ($\chi^2=0,5804$, $p=0,4468$). В структуре эндокринопатий, требующих постоянной медикаментозной терапии, преобладали случаи выявления хронического аутоиммунного тиреоидита: 5,1% (10/195) пациенток I группы сравнения и 7,8 % (12/153) пациенток II группы сравнения ($\chi^2=0,0005$, $p=1,0005$), соответственно. Следует отметить, что в исследуемой когорте пациентов не было выявлено случаев патологии надпочечников, в частности врожденной дисфункции коры надпочечников. При анализе частоты и структуры патологии молочной железы была установлена достаточно высокая распространенность фиброзно-кистозной мастопатии, однако частота регистрации данной нозологии в группах сравнения

значимо не отличалась: 20% (39/195) и 16,3% (25/153) наблюдений у пациенток с отсутствием и наличием клинической беременности, соответственно ($\chi^2=0,5413$ $p=0,4625$).

В структуре негинекологических оперативных вмешательств преобладали тонзилэктомия и аппендэктомия: 38 (19,5%) пациенток I группы сравнения и 36 (23,5%) пациенток II группы сравнения ($\chi^2= 0,6131$, $p=0,4343$), а также 23 (11,8%) пациентки I группы сравнения и 13 (9,6%) пациенток II группы сравнения ($\chi^2=0,1947$, $p=0,6594$), соответственно.

Общая характеристика экстрагенитальной патологии в исследуемой когорте женщин, состоящих в бесплодном браке, представлена в таблице 3.1.3.

Таблица 3.1.3 – Структура экстрагенитальной патологии пациенток

Патология	Код МКБ-10	I ГС		II ГС		χ^2	p
		абс.	%	абс.	%		
Заболевания органов пищеварения	K00-K93	63	32,3	42	27,4	0,7436	0,3893
Болезни системы кровообращения	I00-I99	18	9,2	12	7,8	0,0709	0,7912
Заболевания ЛОР-органов	H60-H95	140	71,7	95	62,0	3,2526	0,0713
Заболевания щитовидной железы	E00-E07	59	30,2	32	20,9	3,4058	0,0650
Заболевания мочевой системы	N00-N39	62	31,8	35	22,9	2,9636	0,0852
Заболевания органов дыхания	J00-J99	23	11,7	16	10,4	0,0494	0,8254
Заболевания органов зрения	H00-H59	54	35,3	46	30,0	0,1346	0,7143

При анализе данных о менструальной функции в группах сравнения не было выявлено значимых различий. Медиана возраста менархе составила 12 (13;14) лет и 13 (12;14) лет в I и II группах сравнения, соответственно ($p=0,2857$). Регулярный ритм менструаций установился в течение первого года после менархе у 85 (43,5%) пациенток I группы сравнения и 70 (45,7%) пациентки II группы сравнения ($\chi^2= 0,0869$, $p=0,7690$). Нарушения менструального цикла по типу олигоменореи в пубертатном периоде имели место в у 79 (40,5%) пациенток I

группы сравнения и 58 (37,9%) пациентки II группы сравнения ($\chi^2=0,1472$, $p=0,7018$). Аномальные маточные кровотечения в пубертатном периоде наблюдались у 23 (11,7%) пациенток I группы сравнения и 12 (7,8%) пациенток II группы сравнения ($\chi^2=1,0759$, $p=0,3006$). Подробная сравнительная характеристика менструальной функции пациенток в течение 5 лет до момента настоящего исследования представлена в Таблице 3.1.4.

Таблица 3.1.4 – Сравнительный анализ параметров менструального цикла

Параметры менструального цикла пациенток		I ГС		II ГС		χ^2	p
		абс.	%	абс.	%		
Регулярность	регулярные	137	70,3	93	60,8	3,0231	0,0821
	нерегулярные	58	29,7	60	39,2		
Длина цикла (дней)	21-35	118	60,5	90	58,8	0,0441	0,8352
	>35	77	39,5	63	41,2		
Длительность менструации (дней)	3-7	164	84,1	141	92,1	2,9666	0,0850
	>7	31	15,9	12	7,8		
Объем выделений	скудные	14	7,2	18	11,8	0,1031	0,0640
	умеренные	103	52,8	106	69,3		
	обильные	78	40,0	29	18,9		
Выраженность болевого синдрома	болезненные	117	60,0	89	58,2	0,0824	0,7751
	безболезненные	78	40,0	64	41,8		

Сравнительная характеристика анамнеза гинекологической патологии участниц исследования представлена в таблице 3.1.5.

Таблица 3.1.5 – Структура гинекологической патологии в группах сравнения

Гинекологические заболевания	Код МКБ-10	I ГС (n=195)		II ГС (n=153)		χ^2	p
		абс.	%	абс.	%		
Патология шейки матки	N86	92	47,2	78	50,9	0,3557	0,5512
Рецидивирующий дисбиоз влагалища	-	142	72,8	96	62,7	3,5738	0,0587
Хронический эндометрит	N71.1	43	22,0	36	23,5	0,0396	0,8439
Миома матки размером до 3 см с интерстициальным, субсерозным и субсерозно-интерстициальным расположением узлов	D25	55	28,2	38	24,8	0,3401	0,5601
Хронический сальпингоофорит	N70	96	49,2	64	41,8	1,6047	0,2060
Киста яичника	N83	18	9,2	12	7,8	0,7090	0,7912

Согласно представленным данным, изучаемые группы сравнения были сопоставимы по частоте встречаемости и структуре гинекологической патологии.

Данные о перенесенных ВЗОМТ специфической этиологии среди участниц исследования представлены в таблице 3.1.6.

Таблица 3.1.6 – Структура ВЗОМТ в группах сравнения

ВЗОМТ специфической этиологии	I ГС		II ГС		χ^2	p
	абс.	%	абс.	%		
Хламидиоз	15	7,7	10	6,5	0,0427	0,8379
Гонорея	4	2,0	1	0,6	0,4021	0,5264
Трихомониаз	5	2,6	2	1,3	0,1979	0,6568
Уреаплазмоз	18	9,2	12	7,8	0,0709	0,7912
Микоплазмоз	10	5,1	13	8,5	1,0780	0,3002
Всего случаев	52	26,6	38	24,8	0,0700	0,7925

Данные таблицы 3.1.6 свидетельствуют об отсутствии значимых различий по частоте и структуре воспалительных заболеваний специфической этиологии в группах сравнения.

Данные анамнеза оперативных вмешательств на органах малого таза, выполненных у пациенток первого этапа исследования в различные периоды жизни (данные операций, выполненных на этапе подготовки к изучаемому протоколу ЭКО и ПЭ, анализировались отдельно), представлены в таблице 3.1.7.

Таблица 3.1.7 – Анализ частоты и структуры гинекологических операций, выполненных пациенткам изучаемых групп

Оперативное вмешательство	I ГС		II ГС		χ^2	p
	абс.	%	абс.	%		
тубэктомия	41	21,0	34	22,2	0,0195	0,8910
сальпинооовариолизис	74	37,9	54	35,2	0,1586	0,6909
операции на матке	12	6,1	11	7,2	0,0289	0,8669
операции на яичниках	35	17,9	25	16,3	0,0637	0,8020

Согласно представленным данным, наиболее часто в исследуемой когорте пациентов выполнялись операции по восстановлению архитектоники малого таза

при спаечной болезни, однако различий по частоте и характеру оперативных вмешательств в группах сравнения выявлено не было.

Сравнительная характеристика репродуктивной функции участниц исследования. В группах сравнения не было выявлено различий по показателю *возраста начала половой жизни*: 18 (16;19) лет и 17 (16; 20) лет в I и II группах сравнения, соответственно ($p=0,2857$).

Первичное бесплодие выявлено у 113 (58%) пациенток I группы сравнения и 92 (60,1%) пациенток II группы сравнения, вторичное бесплодие – у 82 (42%) и 61 (39,9%) пациентки соответствующих групп ($\chi^2=0,0910$, $p=0,7638$). В I группе сравнения у пациенток с вторичным бесплодием было зарегистрировано 106 предшествующих беременностей, во II группе сравнения – 93 случая ($\chi^2= 1,1956$, $p=0,2752$). Сравнительная характеристика акушерского анамнеза пациенток представлена в таблице 3.1.8.

Таблица 3.1.8 – Сравнительная характеристика репродуктивного анамнеза участниц исследования

Исход гестации	I ГС		II ГС		χ^2	p
	абс.	%	абс.	%		
Самопроизвольная беременность, завершившаяся живорождением	11	5,6	19	12,4	4,1760	0,0411
Беременность в результате ЭКО, завершившаяся живорождением	5	2,6	12	7,8	4,0691	0,0438
Преждевременные роды в результате самопроизвольной / индуцированной беременности, гибель плода	8	4,1	5	3,3	0,0155	0,9032
Потеря самопроизвольной маточной беременности	28	14,3	23	15,0	0,0010	0,9818
Потеря индуцированной маточной беременности	7	3,6	8	5,2	0,2322	0,6302
Эктопическая беременность	18	9,2	11	7,2	0,2390	0,6252
Медицинский аборт	29	14,9	15	9,8	1,5616	0,2123

Согласно представленным данным, во II группе сравнения значимо чаще регистрировались роды живым плодом в результате самопроизвольной и индуцированной беременности. Значимых различий по частоте потери

беременности, а также эктопической беременности и медицинского аборта в группах сравнения выявлено не было.

Данные о *длительности бесплодия* к моменту настоящего исследования в группах сравнения представлены в таблице 3.1.9.

Таблица 3.1.9 – Распределение участниц первого этапа исследования по длительности бесплодия

Показатель	ГС	Медиана	Межквартильный размах	min	max	p
Длительность бесплодия, лет	I	5,00	3,00–8,00	1	10	0,153
	II	6,00	4,00–9,00	2	16	

Данные таблицы 3.1.9 свидетельствуют о том, что группы сравнения были сопоставимы по показателю длительности бесплодия к настоящей попытке ЭКО и ПЭ.

Данные о *структуре факторов бесплодия* в исследуемой когорте пациентов представлены в таблице 3.1.10. Согласно данным таблицы 3.1.10, в исследуемой когорте пациентов в большинстве наблюдений отмечалось сочетание нескольких факторов бесплодия. Наиболее часто регистрировались мужской фактор и трубно-перитонеальный фактор бесплодия, однако значимых различий в группах сравнения по частоте встречаемости данных показателей выявлено не было. В структуре ановуляторного бесплодия преобладали случаи выявления синдрома поликистозных яичников (СПКЯ): 26% (52/195) и 32,0% (49/153) наблюдений в I и II группе сравнения, соответственно ($\chi^2=0,7966$, $p=0,3730$).

Таблица 3.1.10 – Распределение участников исследования по факторам бесплодия

Фактор бесплодия	I ГС		II ГС		χ^2	p
	абс.	%	абс.	%		
Трубно-перитонеальное бесплодие	103	52,8	77	50,3	0,1258	0,7235
Ановуляторное бесплодие	62	31,7	58	37,9	1,1611	0,2822
Бесплодие, ассоциированное с эндометриозом	58	29,7	59	38,6	2,6058	0,1066
Мужской фактор бесплодия	123	63,0	107	69,9	1,5066	0,2205

Следует отметить, что 68 супружеских пар в ходе первичной консультации предоставили результаты ранее проведенного HLA-типирования по антигенам 1 и 2 класса, при этом совпадение более 2 локусов было выявлено у 15,4% (30/195) и 19,6% (30/153) пациентов I и II группы сравнения ($\chi^2=0,7966$, $p=0,3730$).

Сравнительный анализ данных о предшествующей настоящему исследованию терапии бесплодия представлен в таблице 3.1.11.

Таблица 3.1.11 – Характеристика ранее проведенного лечения бесплодия с помощью ВРТ

Методы и результаты лечения	I ГС		II ГС		χ^2	p
	абс.	%	абс.	%		
Общее число реализованных КИО	72	36,9	58	37,9	0,0064	0,9395
Число КИО, завершившихся живорождением	1	0,5	2	1,3	0,0452	0,8332
Общее число реализованных ВИ	74	37,9	59	38,5	0,0005	0,9959
Число ВИ, завершившихся живорождением	1	0,5	2	1,3	0,0452	0,8332
Общее число реализованных циклов ЭКО	55	28,2	56	36,6	2,4096	0,1208
Число циклов ЭКО и ПЭ, завершившихся живорождением	5	2,6	12	7,8	4,0691	0,0438

Согласно представленным данным, в анамнезе пациенток II группы сравнения достоверно чаще регистрировались успешные попытки ЭКО и ПЭ.

Сравнительный анализ клинико-лабораторных данных, выявленных на этапе прегравидарной подготовки. Характеристика особенностей распределения пациенток по показателям индекса массы тела (ИМТ) и соотношения обхвата талии к обхвату бедер (ОТБ) в исследуемых группах представлены в таблице 3.1.12. Согласно представленным данным, при первичной оценке ИМТ и ОТБ группы сравнения по данным показателям были сопоставимы.

Таблица 3.1.12 – Показатели ИМТ в группах сравнения

Показатель	ГС	Медиана (межквартильный размах)		min	max	p
		I	II			
ИМТ, кг/м ²	I	22,49	20,28–27,06	17	37,64	0,07
	II	23,14	20,42–26,13	16,36	38,01	
ОТБ	I	0,80	0,72–0,92	0,6	1,0	0,06
	II	0,75	0,72–0,84	0,7	1,0	

Данные сравнительного анализа частоты встречаемости дефицита массы тела, нормальной массы тела и избыточной массы тела в исследуемой когорте пациентов представлены в таблице 3.1.13. Согласно представленным данным, у большинства участниц исследования регистрировалась нормальная масса тела. Значимых различий по частоте и распределению нарушений жирового обмена в группах сравнения выявлено не было.

Таблица 3.1.13 – Распределение участниц исследования по характеру ИМТ

Фактор	I ГС		II ГС		χ^2	p
	абс.	%	абс.	%		
Дефицит массы тела	20	10,2	20	13,1	0,4204	0,5171
Нормальная масса тела	107	54,9	90	58,9	0,3965	0,5293
Избыточная масса тела	33	16,9	28	18,3	0,0379	0,8473
Абдоминальное ожирение I степени	16	8,2	8	5,2	0,7652	0,3826
Глютеофеморальное ожирение I степени	19	9,7	7	4,5	2,6078	0,1065

Особенности оволосения в изучаемой когорте пациенток интерпретировались согласно шкале Ферримана-Голвея. У 121 (62%) женщин I группы сравнения и 106 (69%) женщин II группы сравнения регистрировались значения гирсутного числа в интервале от 2 до 7 баллов ($\chi^2=0,89$, $p=0,2186$). Пограничное оволосение (8-12 баллов) было выявлено у 45 (23%) пациенток I группы сравнения и 28 (18,3 %) пациенток II группы сравнения ($\chi^2=1,32$, $p=0,2993$). У 29 (14,8%) и 19 (12,4%) женщин I и II групп ($\chi^2=0,04$, $p=0,8426$) был выявлен гирсутизм (гирсутное число более 12 баллов).

Оценка функционального состояния оси гипоталамус—гипофиз—яичники на этапе прегравидарной подготовки выполнялась на основании исследования уровней фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), пролактина (ПРЛ), эстрадиола (E_2), общего тестостерона (Т), кортизола (К), тиреотропного гормона (ТТГ), трийодтиронина (T_3), тироксина (T_{4cb}), дегидроэпиандростерон-сульфата (ДЭА-S), 17-гидроксипрогестерона (17-ОН), антимюллерова гормона (АМГ) в плазме крови на 2-5 день натурального цикла; прогестерона (П) – на 20-22 день цикла. Результаты проведенного обследования представлены в таблице 3.1.14.

Таблица 3.1.14 – Концентрации гормонов в плазме крови у пациенток изучаемых групп

Показатель	Норма	Медиана (межквартильный размах)		p
		I ГС	II ГС	
ФСГ (Ме/л)	3,09-7,9	5,6 (4,5–9,0)	5,4 (4,2–8,2)	0,1592
ЛГ (Ме/л)	2,39-6,60	4,2 (3,2–6,2)	4,0 (3,6–6,8)	0,0663
ПРЛ (мМе/л)	108,78-557,13	292 (188,2–320,0)	280 (200,2–312,6)	0,4841
E ₂ (пмоль/л)	77-921	120 (90–180)	142 (100–212)	0,0587
T (нмоль/л)	0,31-3,78	1,2 (0,8–2,2)	1,0 (0,7–2,4)	0,3678
ТТГ(мМе/л)	0,35-4,94	1,6 (1,2–2,2)	1,0 (0,8–1,8)	0,6321
T ₃ (нмоль/л)	1,213-2,289	1,8 (1,4–3,0)	1,9 (1,2–3,2)	0,3767
T _{4св} (пмоль/л)	9,138-23,809	14,0 (12,4–18,0)	14,0 (12,0–18,2)	0,0887
K (нмоль/л)	116-1060	420 (386–442)	432 (398–464)	0,2520
ДЭА-S (мкг/дл)	35-430	210 (128–312)	224 (198–286)	0,7000
17-ОН (нмоль/л)	0,9-8,7	1,8 (0,8–2,4)	1,2 (0,8–3,2)	0,2016
П (нмоль/л)	3,82-50,56	30,3 (20,2–42,8)	36,8 (26,6–42,4)	0,0975

Согласно представленным данным, медианы уровней изучаемых гормонов в группах сравнения соответствовали референтным границам и не имели статистически значимых различий. Данные детального анализа показателей АМГ в группах с положительным и отрицательным результатом этапа регистрации клинической беременности представлены в таблице 3.1.15.

Таблица 3.1.15 – Сравнительный анализ уровня АМГ в изучаемой когорте пациенток

Показатель	ГС	Медиана	Межквартильный размах	min	max	p
АМГ, нг/мл	I	2,00	2,00–3,00	1	7	0,002
	II	3,00	2,00–5,00	1	8	

Данные таблицы 3.1.15 свидетельствуют о том, что у пациенток с отрицательным результатом этапа регистрации клинической беременности регистрировались значимо более низкие показатели уровня АМГ. Следует также отметить, что у 16,4% (32/195) пациенток I группы сравнения и 7,8% (12/153) пациенток II группы сравнения показатели АМГ находились в пределах 1–1,5 нг/мл, что соответствовало тенденции к снижению овариального резерва, при

этом наличие данной тенденции также значимо чаще регистрировалось у пациенток с неудачным исходом изучаемой программы ЭКО и ПЭ.

Данные исследования эритроцитарных индексов и параметров различных фондов обмена железа, зарегистрированные у пациенток первого этапа исследования на момент ввода в протокол ЭКО и ПЭ, представлены в таблице 3.1.16.

Таблица 3.1.16 – Характеристика эритроцитарных индексов и показателей фондов обмена железа у пациенток первого этапа исследования

Гематологические показатели, эритроцитарные индексы и показатели обмена железа	Медиана (межквартильный размах)		P
	I ГС	II ГС	
RBC, $\times 10^{12}$ /л	4,0 (3,8–4,2)	4,2 (4,0–4,4)	0,0697
Hb, г/л	120 (118–124)	122 (120–126)	0,0844
Ht, %	40,0 (37,2–41,2)	41,2 (38,6–43,2)	0,0592
MCV, мкм ³	88,2 (86,4–90,2)	90,0 (88,4–92,0)	0,7611
MCH, пг	30,4 (29,6–31,2)	30,6 (29,8–32,0)	0,0590
MCHC, г/л	33,8 (33,6–34,0)	34,0 (33,8–34,2)	0,0553
RDW, %	12,0 (11,8–12,2)	11,8 (11,6–12,0)	0,0644
СЖ, мкмоль/л	13,0 (12,6–13,4)	13,2 (12,8–13,8)	0,0673
СФ, нг/мл	38,4 (34,0–42,2)	43,2 (38,6–46,8)	0,0632
КНТ, %	24,6 (22,4–26,8)	27,8 (24,2–30,4)	0,0781

Согласно данным таблицы 3.1.16, при сравнительном анализе показателей различных фондов обмена железа в исследуемых группах не было выявлено значимых различий, при этом меры центральной тенденции для всех изучаемых показателей соответствовали референтным значениям. Частота выявления ЛДЖ в I и II группе сравнения составила 32,8% (64/195) и 22,9% (35/153), соответственно ($\chi^2=3,6916$ $p=0,0547$). Общая распространенность ЛДЖ в изучаемой когорте составила 28,4%. Средние значения гематологических показателей у пациенток с ЛДЖ на этапе прегравидарной подготовки составили: RBC – $3,9 (3,8–4,0) \times 10^{12}$ /л, Hb – 124,2 (116,8–132,2) г/л, Ht – 36,3 (35,8–36,7)%, СЖ – 11,2 (10,4–12,0) мкмоль/л, СФ – 19,6 (14,2–24,4) нг/мл, КНТ – 14,4 (12,2–16,6)%.

Данные сравнительного анализа параметров коагуляционного потенциала крови, зарегистрированные на момент вступления в программу ЭКО и ПЭ в изучаемой когорте пациенток, представлены в таблице 3.1.17.

Таблица 3.1.17 – Сравнительный анализ показателей коагулограммы у пациенток первого этапа исследования на момент вступления в программу

Параметр	Медиана (межквартильный размах)		p
	I ГС	II ГС	
МНО	1 (0,90–1,10)	1 (0,88–1,12)	0,0654
АЧТВ, сек	29 (25–32)	30 (28–34)	0,5649
Протромбин, %	100 (92–132)	110 (98–128)	0,2341
Тромбиновое время, сек	14 (11–16)	16 (12–17)	0,2412
Фибриноген, г/л	3,4 (2,0–3,8)	3,3 (2,4–3,7)	0,3451
Д-димер, мг/л	0,0 (0,0–0,2)	0,0 (0,0–0,1)	0,4327

При сравнительном анализе параметров коагулограммы на момент вступления в программу показатели пациенток I и II группы сравнения были сопоставимы. Следует отметить, что при обследовании на этапе прегравидарной подготовки у 8,2% (16/195) пациенток I группы сравнения и 6,5% (10/153) пациенток II группы сравнения ($\chi^2=0,1467$, $p=0,7022$) впервые был диагностирован гиперкоагуляционный синдром. Повышенный уровень Д-димера регистрировался у 5,1% (10/195) пациенток I группы сравнения и 3,9% (6/153) пациенток II группы сравнения ($\chi^2=0,0764$, $p=0,7833$). Патологическое превышение уровня фибриногена выявлено в 4,1% наблюдений (8/195) I группы сравнения и в 2,6% (4/153) наблюдений II группы сравнения ($\chi^2=0,2113$, $p=0,6461$). При последующем обследовании гематолога у 92,3% пациенток с выявленными в ходе первичного обследования отклонениями показателей коагулограммы (14 пациенток I группы сравнения, 10 пациенток II группы сравнения, $\chi^2=0,0009$, $p=0,9831$) была верифицирована тромбофилия, ассоциированная с наличием нескольких факторов тромбогенного риска. Носительство тромбогенных аллелей генов системы гемостаза впервые было выявлено у 10 пациенток I группы сравнения и 8 пациенток II группы сравнения

($\chi^2=0,0005$, $p=1,0005$), гиперагрегация тромбоцитов выявлена у 4 пациенток I группы сравнения и 5 пациенток II группы сравнения ($\chi^2=0,1370$, $p=0,7118$), дефицит антитромбина III выявлен у 2 пациенток I группы сравнения, дефицит протеина С был выявлен у 1 пациентки I группы сравнения и 2 пациенток II группы сравнения. У 1 пациентки I группы сравнения на этапе прегравидарной подготовки была диагностирована циркуляция антифосфолипидных антител в диагностическом титре. У 61,5% пациенток с впервые выявленным на этапе подготовки к изучаемому протоколу ЭКО и ПЭ гиперкоагуляционным синдромом был отягощенный семейный тромботический анамнез (10 пациенток I группы сравнения и 6 пациенток II группы сравнения, $\chi^2=0,0764$, $p=0,7833$), варикозная болезнь вен нижних конечностей была выявлена у 4 пациенток с диагностированной тромбофилией (3 пациентки I группы сравнения, 1 пациентка II группы сравнения). При уточнении акушерского анамнеза 46,1% пациенток, впервые направленных к гематологу, сообщили о наличии 2 и более случаев потери беременности до 12 недель (10 пациенток I группы сравнения и 2 пациентки II группы сравнения). Таким образом, к моменту начала программы ЭКО и ПЭ общее число пациенток с верифицированной как ранее, так и впервые тромбофилией составило 85 человек: 23,1% (45/195) пациенток и 26,1% (40/153) пациентки I и II группы сравнения, соответственно ($\chi^2=0,2869$, $p=0,5925$). В каждом случае индивидуальная тактика коррекционных мероприятий в данной когорте пациенток была реализована специалистами по профилю выявленной патологии (гематолог, флеболог).

Подробные данные исследования аллельных вариантов генов системы гемостаза, проведенного нами у всех участниц первого этапа исследования как при наличии, так и в отсутствие изменений показателей коагулограммы, представлены в таблице 3.1.18.

Таблица 3.1.18 – Распределение аллельных вариантов генов системы гемостаза у пациенток групп сравнения

Ген	Полиморфизм	Генотип	I ГС		II ГС		χ^2	p
			Абс.	%	Абс.	%		
РАI 1	4G/5G	4G/4G	50	25,6	36	23,5	0,1081	0,7431
		4G/5G	96	49,2	67	43,8	0,8126	0,3683
GP IIa/IIIb	Leu33Pro	Pro33Pro	2	1,0	1	0,6	0,0005	1,0005
		Leu33Pro	38	19,5	26	17,0	0,2089	0,6479
F V	G1691A	AA	0	0	0	0	-	-
		GA	11	5,6	9	5,8	0,0005	1,0005
F II	G20210A	AA	0	0	0	0	-	-
		GA	3	1,5	2	1,3	0,0005	1,0005
FGB	G455A	AA	2	1,0	2	1,3	0,0005	1,0005
		GA	38	19,5	25	16,3	0,3806	0,5376
MTHFR	C677T	TT	0	0	0	0	-	-
		CT	66	33,8	46	30,0	0,4021	0,5264

Данные таблицы 3.1.18 свидетельствуют об отсутствии значимых различий в распределении аллельных вариантов генов системы гемостаза у пациенток групп сравнения. У 15,4% (30/195) пациенток I группы сравнения и 18,3% (28/153) пациенток II группы сравнения полиморфизмов генов системы гемостаза выявлено не было. В 28,7% (56/195) наблюдений первой группы сравнения и 27,4% (42/153) второй группы сравнения был выявлен полиморфизм единственного гена системы гемостаза (гетерозиготная мутация РАI 1 в 52,3% наблюдений, гетерозиготная мутация МТНFR в 46,3% общего числа наблюдений единственного полиморфизма независимо от группы сравнения), наличие полиморфизмов 2 генов выявлено в 26,1% (51/195) случаев и 22,9% (35/153) случаев в I и II группе сравнения, соответственно. В 20,5% (40/195) случаев I группы сравнения и в 16,9% (26/153) случаев II группы сравнения регистрировались сочетания полиморфизмов трех генов системы гемостаза. Во II группе сравнения не было выявлено случаев наличия полиморфизма более 3 генов, тогда как в I группе сравнения сочетание полиморфизма 4 генов системы гемостаза выявлено у 8 пациенток, наличие 5 полиморфизмов – у одной пациентки.

Всем участницам исследования выполнялось *УЗИ органов малого таза* вагинальным датчиком на 2-5 день менструального цикла.

При сравнительном анализе частоты выявления при *УЗИ* патологических изменений органов малого таза значимых различий в группах сравнения выявлено не было. Подробная характеристика частоты и структуры патологии, выявленной в изучаемой когорте пациенток на этапе прегравидарной подготовки, представлена в таблице 3.1.19.

Таблица 3.1.19 – Характеристика ультразвуковой морфологии органов малого таза участниц исследования на этапе прегравидарной подготовки

Методы и результаты лечения	I ГС		II ГС		χ^2	p
	абс.	%	абс.	%		
Миома матки 1-2 узла до 3 см, тип II,III, исключая субмукозные	47	24,1	35	22,9	0,0202	0,8892
Миома матки 1-2 узла до 3 см, тип II, III, в том числе субмукозные	45	23,1	23	15,0	3,0360	0,0815
Аденомиоз I степени	12	6,1	10	6,5	0,0005	1,0005
Аденомиоз II степени	8	4,1	7	4,6	0,0005	1,0005
Седловидная матка	13	6,6	15	9,8	0,7563	0,3853
Эндометриоидная киста яичника до 2 см	5	2,6	2	1,3	0,1979	0,6568

Данные сравнительной характеристики *инвазивных лечебно-диагностических мероприятий, реализованных на этапе прегравидарной подготовки* в группах сравнения, представлены в таблице 3.1.20. Согласно данным таблицы 3.1.20, наиболее часто выполняемыми на этапе прегравидарной подготовки инвазивными манипуляциями были аспирационная биопсия эндометрия, диагностическая гистероскопия, диагностическая лапароскопия. При сравнительном анализе структуры и частоты инвазивных лечебно-диагностических мероприятий, выполненных на этапе прегравидарной подготовки к данной программе ЭКО и ПЭ, значимых различий в группах сравнения выявлено не было. Следует отметить, что согласно данным гистологического и микробиологического исследования биоптатов эндометрия на этапе прегравидарной подготовки у 16,9% (33/195) пациенток I группы сравнения и 18,9% пациенток (29/153) II группы сравнения был выявлен хронический

эндометрит ($\chi^2=0,1232$, $p=0,7262$). Всем пациенткам при подготовке к ЭКО и ПЭ был реализован курс комплексной противовоспалительной терапии.

Таблица 3.1.20 – Сравнительная характеристика инвазивных лечебно-диагностических манипуляций на органах малого таза, выполненных на этапе прегравидарной подготовки

Описание манипуляции	I ГС		II ГС		χ^2	p
	Абс.	%	Абс.	%		
Диагностическая лапароскопия	92	47	81	53	0,9201	0,3384
Эксцизия эндометриoidных гетеротопий при НГЭ I-II степени	12	6,1	18	11,8	1,1321	0,2883
Эксцизия эндометриoidных гетеротопий при НГЭ III-IV степени	9	4,6	6	3,9	0,1638	0,6861
Тубэктомия	20	10	12	8	0,3443	0,5577
Консервативная миомэктомия лапароскопическим доступом	22	11	21	14	0,2744	0,6007
Удаление кисты яичника	20	10	18	12	0,0759	0,7840
Диагностическая гистероскопия	127	65	88	58	1,7942	0,1811
Консервативная миомэктомия при гистерорезектоскопии	23	12	23	15	0,5271	0,4684
Полипэктомия	16	8	14	9	0,0147	0,9059
Гистерография	110	56	95	62	0,9209	0,3382
Аспирационная биопсия эндометрия	140	72	121	79	2,0572	0,1519

Сравнительная характеристика ультразвуковых морфометрических параметров органов малого таза, зарегистрированных у пациенток на момент вступления в программу, представлена в таблице 3.1.21.

Таблица 3.1.21 – Данные ультразвукового исследования органов малого таза пациенток на момент вступления в программу ЭКО и ПЭ

Показатель	ГС	Медиана	Межквартильный размах	p
Длина матки, мм	I	46	44–52	0,2348
	II	48	45–53	
Ширина матки, мм	I	48	45–57	0,3456
	II	48	45–58	
Передне-задний размер матки, мм	I	35	32–40	0,2315
	II	37	34–42	
Средний объем яичников, см ³	I	6,8	5,4–8,2	0,5432
	II	7,0	6,0–8,2	
Число антральных фолликулов	I	16	12–22	0,0004
	II	18	16–22	

Представленные в таблице 3.1.21 данные свидетельствуют об отсутствии значимых различий по показателям ультразвуковой морфометрии органов малого таза в группах сравнения, за исключением значимо более низких показателей числа антральных фолликулов, регистрировавшихся в I группе сравнения. Следует отметить, что у пациенток I группы сравнения выявлялись значимо более низкие уровни АМГ, а также значимо чаще регистрировались показатели АМГ менее 1,5 нг/мл, указывающие на наличие тенденции к снижению овариального резерва.

3.2 Сравнительная характеристика данных реализации программы экстракорпорального оплодотворения

Стимуляция суперовуляции была произведена по короткому протоколу с антГРГ у 82% (160/195) пациенток I группы сравнения и 76,5% (117/153) пациенток II группы сравнения ($\chi^2=1,3189$, $p=0,2517$). Длинный протокол с аГРГ был реализован у 18% (35/195) пациенток I группы сравнения и 23,5% (36/153) пациенток II группы сравнения ($\chi^2=1,3189$, $p=0,2517$). Данные сравнительного анализа параметров этапа стимуляции суперовуляции в исследуемой когорте пациентов подробно представлены в таблице 3.2.1. Согласно данным таблицы 3.2.1, у пациенток с отсутствием и наличием клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ не было выявлено значимых различий по показателям суммарной дозы использованных на этапе стимуляции суперовуляции препаратов, так и по основным фолликулометрическим показателям. Следует отметить, что у пациенток с успешным результатом этапа регистрации клинической беременности в программе ЭКО и ПЭ выявлены значимо более высокие показатели общего числа ооцитов, полученных при трансвагинальной пункции фолликулов.

Доля пациенток, у которых при пункции фолликулов было получено 3 и менее ооцитов, составила 6,2% (12/195) в I группе сравнения и 5,2% (8/153) во II группе сравнения ($\chi^2=0,0189$, $p=0,8927$).

Таблица 3.2.1 – Характеристика этапа стимуляции суперовуляции

Показатель	ГС	Медиана	Межквартильный размах	p
Суммарная доза ЧМГ, МЕ	I	2250,0	1500,0–3075,0	0,231
	II	2175,0	1575,0–2700,0	
Суммарная доза α -фоллитропина, МЕ	I	2075,0	1875,0–2250,0	0,234
	II	2100,0	1800,0–2475,0	
Суммарная доза β -фоллитропина, МЕ	I	2100,0	1900,0–2200,0	0,321
	II	2200,0	1875,0–2475,0	
Число дней стимуляции суперовуляции	I	10,0	9,0–12,0	0,456
	II	10,0	9,0–11,0	
Овуляторная доза триггера овуляции	I	10,0	8,0–10,0	0,432
	II	10,0	8,0–10,0	
Толщина эндометрия в день введения триггера овуляции	I	9,5	9,0–10,0	0,435
	II	10,0	9,0–11,0	
Макс. диаметр фолликулов в день введения ХГЧ, мм	I	21,0	20,0–22,0	0,786
	II	21,0	20,0–22,0	
Мин. диаметр фолликулов в день введения ХГЧ, мм	I	15,0	13,0–17,0	0,432
	II	15,0	14,0–17,0	
Число полученных ооцитов при ТВП	I	7,0	4,0–12,0	0,011
	II	9,5	5,75–14,00	
Число ооцитов M2 при ТВП	I	6,0	3,0–9,0	0,004
	II	7,0	4,0–12,0	

При оплодотворении ооцитов у всех участников исследования использовалась нативная сперма супруга. На момент наблюдения группы сравнения значимо не отличались по основным характеристикам спермограммы: концентрация сперматозоидов менее 1 млн/мл с подвижностью классов А,В,С была зарегистрирована у 2,4% и 3,6% наблюдений I и II группы сравнения, концентрация сперматозоидов 1-10 млн/мл с подвижностью классов А, В зарегистрирована у 12,6% и 15,4% пациентов I и II группы сравнения, концентрация сперматозоидов более 10 млн/мл с подвижностью классов А, В зарегистрирована у 35% и 31% пациентов I и II группы сравнения, соответственно ($p=0,381$).

В соответствии с наличием показаний оплодотворение ооцитов методом ИКСИ было реализовано у 21,4% пациенток I группы сравнения и 24,0% пациенток II группы сравнения ($p=0,983$).

Доля пациенток с числом оплодотворенных ооцитов менее 20%, составила 12,3% (24/195) в I группе сравнения и 18,3% (28/153) во II группе сравнения ($\chi^2=1,9745$, $p=0,1605$).

Данные анализа результатов эмбриологического этапа программы представлены в таблице 3.2.2.

Таблица 3.2.2 – Сравнительная характеристика данных эмбриологического этапа программы ЭКО и ПЭ в изучаемой когорте пациентов

Показатель	ГС	Медиана	Межквартильный размах	p
Число оплодотворенных ооцитов	I	4,0	2,0–6,0	0,002
	II	5,0	3,0–7,0	
Число аномалий оплодотворения	I	0,0	0,0–1,0	0,402
	II	1,0	0,0–2,0	
Число полученных эмбрионов	I	5,0	2,0–8,0	0,003
	II	6,0	4,0–9,0	
Число эмбрионов хорошего качества на день переноса (GQE)	I	1,0	0,0–1,0	<0,0001
	II	1,0	1,0–2,0	
Число перенесенных эмбрионов	I	2	1–2	0,983
	II	2	1–2	

Представленные данные свидетельствуют о значимо более высоких показателях числа оплодотворенных ооцитов, общего числа полученных эмбрионов и числа полученных эмбрионов хорошего качества, зарегистрированных у пациентов с успешным результатом этапа регистрации клинической беременности. Значимые различия были зарегистрированы и при анализе показателя момента переноса эмбрионов в полость матки: перенос эмбрионов в полость матки состоялся на вторые сутки у 57(29,2%) и 30(19,6%) пациентов I и II групп сравнения, на третьи сутки – у 109(55,9%) и 55 (35,9%) пациентов I и II групп сравнения, на четвертые сутки – 7(4,6%) пациентов II

группы сравнения, на пятые сутки – у 29(14,9%) и 61(39,8%) пациентов I и II групп сравнения ($p=0,002$).

В соответствии с планом исследования, всем пациенткам на момент переноса эмбрионов в полость матки проводилось исследование микроценоза влагалища.

Характеристика данных мониторинга микроценоза влагалища в программе ЭКО и ПЭ представлена в таблице 3.2.3.

Таблица 3.2.3 – Данные мониторинга микроценоза влагалища в программе ЭКО и ПЭ в группах сравнения

Оценка по Nugent на момент ПЭ			
Интерпретация	I ГС	II ГС	p
	Абс.	Абс.	
0-3	124	108	0,2084
4-6, отсутствие ключевых клеток	48	25	0,0802
4-6, ключевые клетки	23	20	0,8459
7 и более	0	0	-
Оценка по Nugent на 21 день после ПЭ			
0-3	154	134	0,0492
4-6, отсутствие ключевых клеток	15	9	0,6540
4-6, ключевые клетки	26	10	0,0588
7 и более	0	0	-

Согласно полученным данным, на момент переноса эмбрионов частота выявления дисбиоза влагалища составила 12% (23/195) в I группе сравнения и 13% (20/153) во II группе сравнения ($\chi^2=0,0386$, $p=0,8459$). На 21 день после эмбриотрансфера дисбиоз влагалища выявлен у 13,3% (26/195) и 6,5% (10/153) пациенток I и II группы сравнения, соответственно ($\chi^2=3,5700$, $p=0,0588$). Представленные данные также свидетельствуют о том, что у пациенток с успешным результатом этапа регистрации клинической беременности значимо чаще регистрировался нормоценоз влагалища на 21 день после переноса эмбрионов. Общая частота регистрации дисбиоза влагалища на момент переноса эмбрионов в исследуемой когорте пациентов составила 12,6% (43/348), на 21 день после эмбриотрансфера – 10,3% (36/348). На момент переноса эмбрионов общее

число наблюдений, не соответствующих критериям абсолютного нормоценоза влагалища, составило 71/195 (36,4%) в I группе сравнения и 45/153 (29,4%) во II группе сравнения ($\chi^2=1,5882$, $p=0,2084$). На 21 день после переноса эмбрионов критериям абсолютного нормоценоза не удовлетворяли результаты 41/195 (21%) и 19/153 (12,4%) пациенток I и II групп, соответственно ($\chi^2=3,8691$, $p=0,0492$). Следует также отметить, что при отсутствии коррекции дисбиоза влагалища, выявленного на этапе переноса эмбрионов, частота регистрации патологического состояния вагинальной микробиоты на 21 день после эмбриотрансфера предположительно могла быть большей.

В случае регистрации дисбиоза влагалища по данным бактериоскопии далее нами проводилась верификация диагноза методом ПЦР в реальном времени. Полученные данные представлены в таблице 3.2.4, а также на рисунках 3.2.1 и 3.2.2.

Таблица 3.2.4 – Характеристика вагинального микроценоза пациенток с дисбиозом влагалища, выявленным в программе ЭКО и ПЭ

Исследование на момент переноса эмбрионов					
Микроорганизм	I ГС		II ГС		P _{nI,nII}
	n _I (%)*	Lg**	n _{II} (%)*	Lg**	
Lactobacillus spp.	23 (100)	-0,8(-1,0;-0,7)	20 (100)	-0,8(-1,0;-0,7)	1,0005
Enterobacterium spp.	19 (82,6)	-0,2 (-0,4;-0,1)	17 (85)	-0,3 (-0,4;-0,1)	1,0005
Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.	12(52,7)	-0,3 (-0,5;-0,1)	9 (45)	-0,7 (-0,8;-0,4)	0,8709
Eubacterium spp.	6 (26,0)	-0,7(-1,0;-0,5)	4 (20)	-0,8(-1;-0,6)	0,9138
Candida spp.	5 (21,7)	-1,8 (-2;-1,6)	3 (15)	-2,0 (-2,4;-1,8)	0,8630
Исследование на 21 день после переноса эмбрионов					
Lactobacillus spp.	26 (100)	-0,9 (-1,0;-0,8)	10 (100)	-0,8 (-1,0;-0,6)	1,0005
Enterobacterium spp.	16 (61,5)	-0,3 (-0,5;-0,1)	7 (70)	-0,3 (-0,4;-0,1)	0,9323
Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.	18 (69,2)	-0,2 (-0,3;-0,1)	6 (60)	-0,6 (-0,8;-0,5)	0,8962
Eubacterium spp.	10 (38,4)	-0,7(-1,0;-0,5)	4 (40)	-0,8 (-1;-0,4)	1,0005
Candida spp.	8 (30,1)	-1,6 (-1,8;-1,4)	2 (20)	-1,8 (-2,0;-1,6)	0,8181

* Число наблюдений относительно общего числа пациенток в группе

** Медиана и межквартильный размах показателей логарифма отношения содержания микроорганизма к общей бактериальной массе, расчет по случаям выявления соответствующего микроорганизма

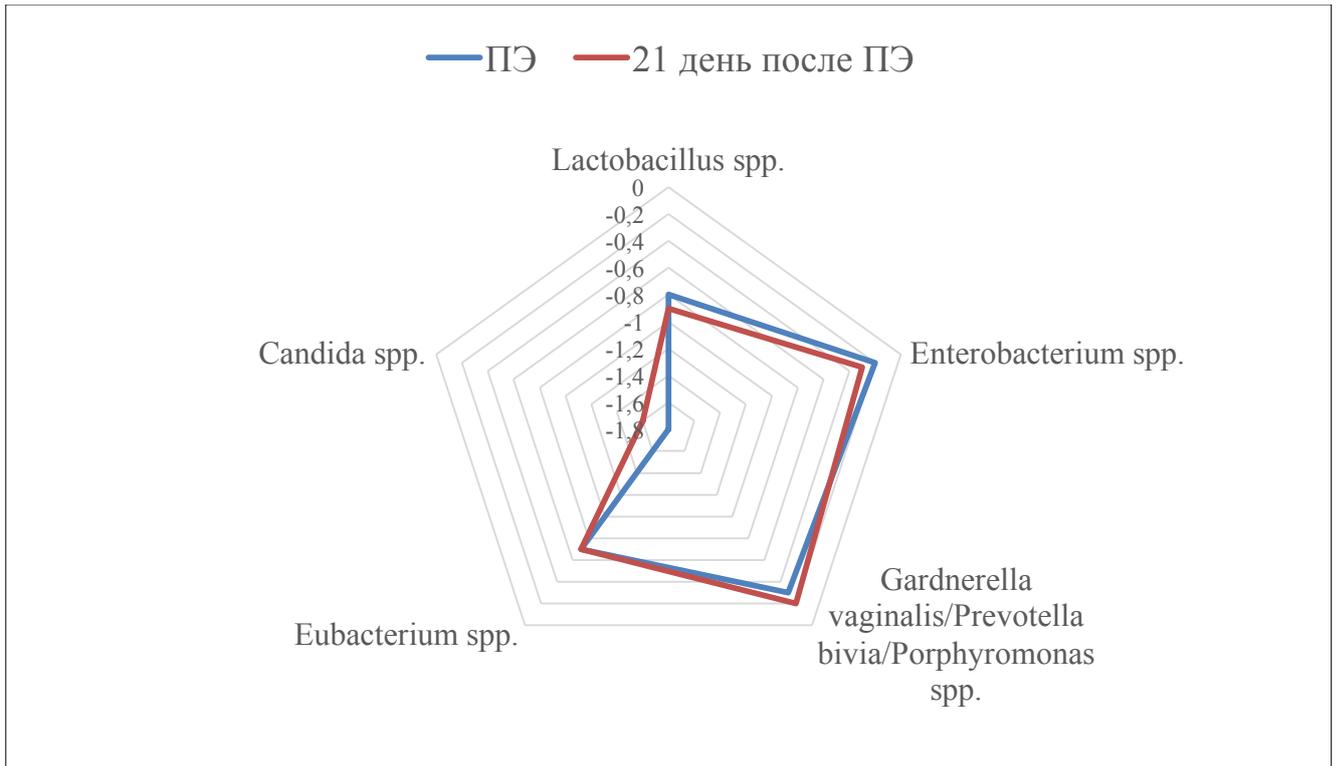


Рисунок 3.2.1. Состав микроценоза при дисбиозе влагалища у пациенток с отсутствием беременности в результате ЭКО и ПЭ

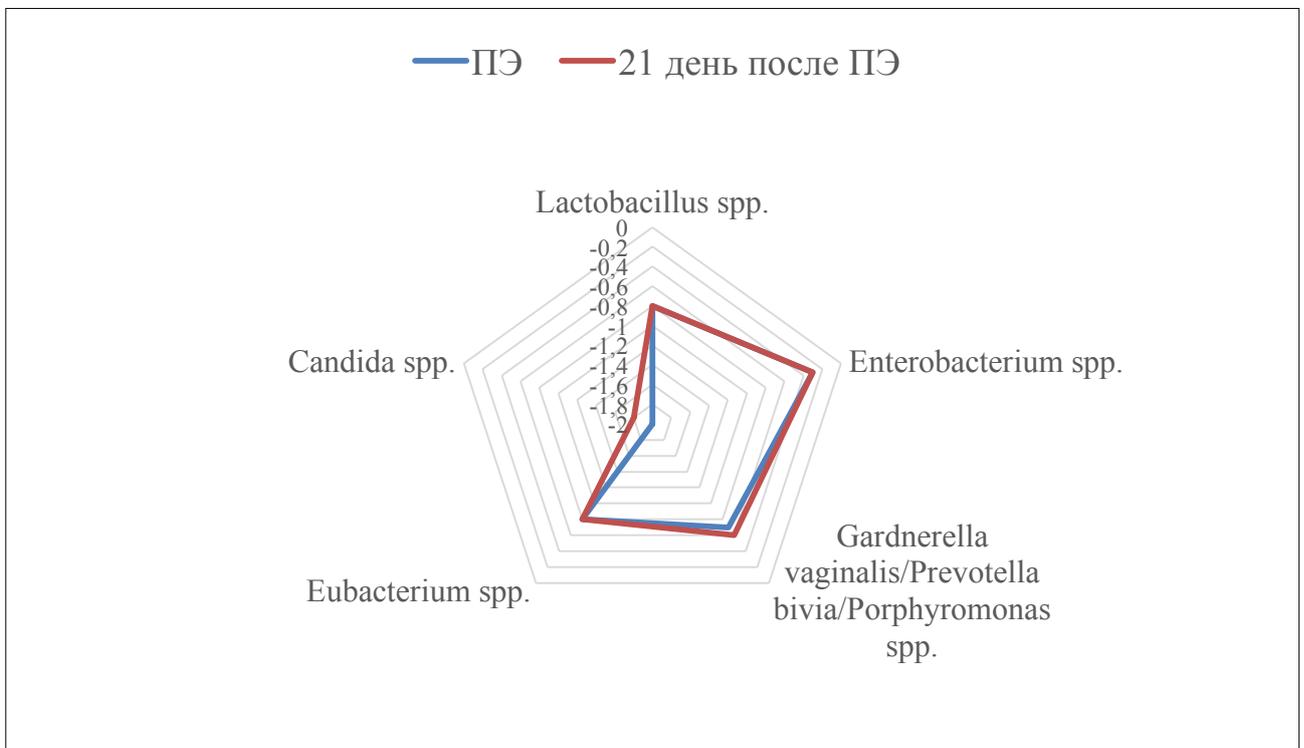


Рисунок 3.2.2. Состав микроценоза при дисбиозе влагалища у пациенток с клинической беременностью в результате ЭКО и ПЭ

Согласно полученным результатам, у всех пациенток с выявленным при бактериоскопии дисбиозом влагалища первичный диагноз был верифицирован согласно данным ПЦР. Наиболее часто в качестве лидирующего компонента микроценоза влагалища на момент переноса эмбрионов в исследуемой когорте пациентов выявлялись факультативно-анаэробные микроорганизмы (*Enterobacterium spp.*): 10/23 (43,5%) наблюдений и 9/20 (45%) наблюдений в I и II группе сравнения, соответственно. Смешанный тип дисбиоза влагалища на момент переноса эмбрионов регистрировался в 7/23 (30,4%) и 8/20 (40%) наблюдений I и II группы сравнения, соответственно. При исследовании на 21 день после переноса эмбрионов преобладающим типом нарушения микроэкологии влагалища был смешанный дисбиоз: 16/26 (61,5%) и 5/10 (50%) наблюдений I и II группы сравнения, соответственно.

Согласно данным таблицы 3.2.4, значимых различий по распределению компонентов вагинальной микробиоты как на этапе переноса эмбрионов, так и через 21 день после эмбриотрансфера, в группах с отрицательным и успешным этапом регистрации клинической беременности выявлено не было.

Исследование *амилолитической активности отделяемого влагалища* проводилось на момент переноса эмбриона в полость матки. Полученные данные представлены в таблице 3.2.5.

Таблица 3.2.5 – Исследование амилолитической активности отделяемого влагалища на момент переноса эмбрионов в группах сравнения

Показатель	Группа сравнения			
	I ГС	II ГС	Нормоценоз влагалища (n= 305)	Дисбиоз влагалища (n=43)
Медиана, мг/с-л	40	36	40	27
Межквартильный размах, мг/с-л	22–63	18–58	22–63	13–37
Уровень значимости «р»	0,086		0,002	

Согласно данным таблицы 3.2.5, различия уровней амилолитической активности отделяемого влагалища на момент переноса эмбрионов у пациенток с успешными и отрицательными результатами программы не достигли уровня статистической значимости, однако в когорте пациенток с выявленным на момент переноса эмбрионов дисбиозом влагалища регистрировались значимо более низкие показатели амилолитической активности вагинального отделяемого. Наглядно полученные результаты представлены на рисунке 3.2.3.

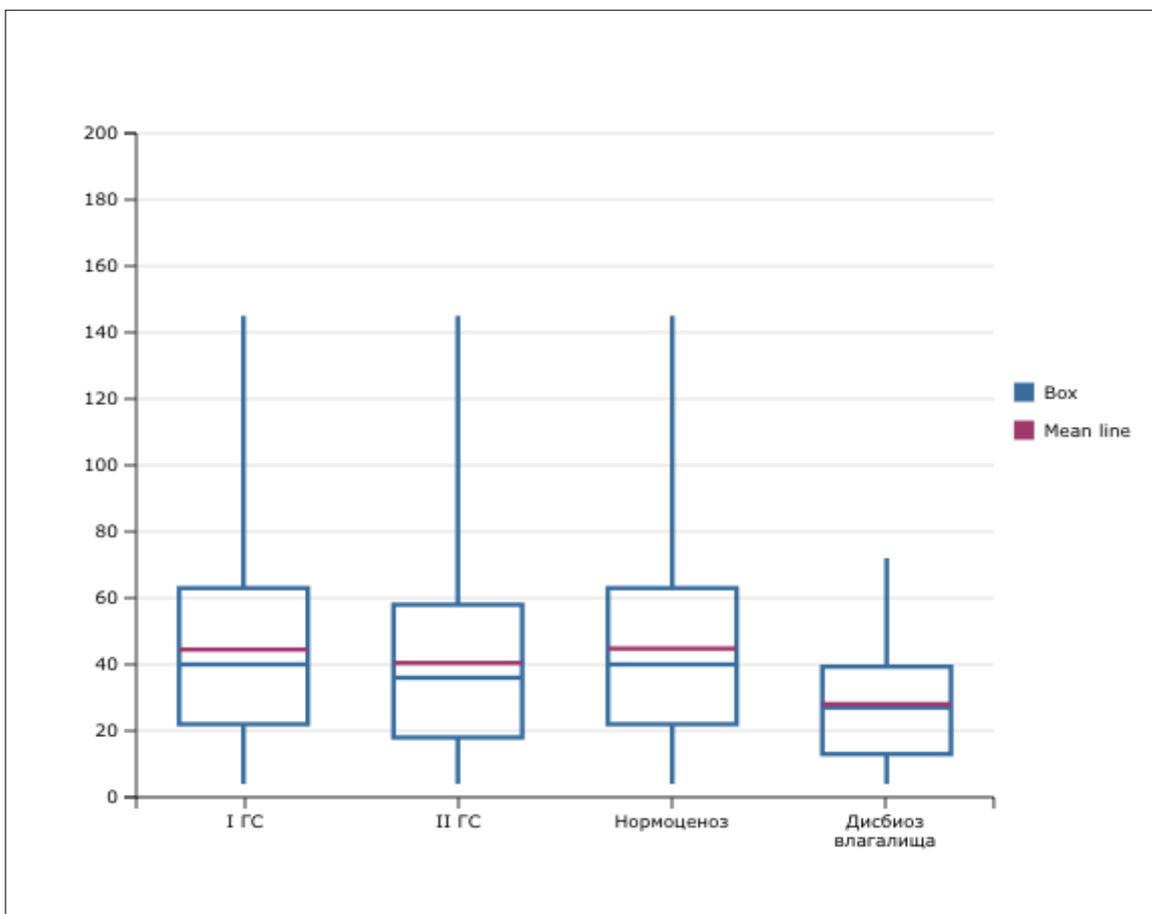


Рисунок 3.2.3. Сравнительный анализ амилолитической активности отделяемого влагалища (мг/с·л) на момент переноса эмбрионов в полость матки

Таким образом, на основании результатов первичного сравнительного анализа данных, полученных на этапе прегравидарной подготовки и в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ, можно сделать следующие выводы:

1. На этапе прегравидарной подготовки выявлены значимые различия в группах сравнения по показателям наличия в анамнезе пациентки самопроизвольной и индуцированной беременности, завершившейся родами живым плодом, показателям АМГ, числа антральных фолликулов у пациентки, состоящей в бесплодном браке.
2. В ходе реализации программы ЭКО и ПЭ группе пациенток с неудачным исходом программы регистрируются значимо более низкие показатели общего числа полученных при трансвагинальной пункции фолликулов ооцитов, числа полученных зрелых ооцитов, числа оплодотворенных ооцитов, общего числа полученных эмбрионов и числа эмбрионов хорошего качества. В группе пациенток с отрицательным результатом этапа регистрации клинической беременности на 21 день после переноса эмбрионов регистрируются значимо более низкие показатели частоты выявления абсолютного нормоценоза влагалища.
3. На момент переноса эмбрионов в полость матки состояние микроценоза влагалища участниц программы ЭКО и ПЭ не соответствует критериям абсолютного нормоценоза в 33,3% наблюдений.
4. В группе пациенток с развитием дисбиоза вагины в программе ЭКО и ПЭ выявлены значимо более низкие показатели общей амилолитической активности отделяемого влагалища.

3.3 Разработка математических моделей прогнозирования результативности метода экстракорпорального оплодотворения на основе мультиномиальной логистической регрессии

На втором этапе настоящего исследования с целью интегративной оценки прогностической значимости различных клинических параметров, выявляемых как на этапе прегравидарной подготовки, так и в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ, мы использовали методы многофакторного анализа, а именно методы мультиномиальной и бинарной логистической регрессии.

С целью выявления предикторов общей результативности метода ЭКО и ПЭ, проявляющих свою значимость на всех этапах реализации программы, был использован метод мультиномиальной логистической регрессии. В качестве зависимой переменной на данном этапе рассматривался исход программы ЭКО и ПЭ, представленный следующими градациями: отсутствие беременности в результате ЭКО и ПЭ, потеря индуцированной беременности до 12 недель гестации, потеря индуцированной беременности после 12 недель гестации, роды живым плодом. Первоначально в качестве потенциальных предикторов общей результативности метода ЭКО и ПЭ рассматривались клинические данные, выявляемые на этапе прегравидарной подготовки. Результаты исследования взаимосвязи исходных клинических данных пациентов с исходом программы ЭКО и ПЭ представлены в таблице 3.3.1. Согласно представленным данным, значимыми негативными предикторами общей результативности метода ЭКО и ПЭ, имеющими обратную корреляцию с положительной вероятностью наступления и пролонгирования индуцированной беременности, являются возраст пациентки и уровень АМГ. Наличие в анамнезе живорождения в результате самопроизвольной беременности является благоприятным прогностическим фактором, значимо повышающим вероятность успешной реализации программы ЭКО и ПЭ.

Таблица 3.3.1 – Математическая модель прогнозирования результата программы ЭКО и ПЭ по исходным клиническим данным

Предиктор	Коэффициент регрессии	SE	Wald χ^2	p	Стандарт. коэффициент уравнения регрессии
Интерсепт (А)	-2,2689	0,9096	6,2225	0,0126	-
Интерсепт (В)	-1,7234	0,9057	3,6207	0,0571	-
Интерсепт (С)	-1,6529	0,9053	3,3336	0,0679	-
Возраст пациентки	0,0616	0,0278	4,9137	0,0266	0,1422
Роды живым плодом в результате самопроизвольной беременности в анамнезе	-0,7178	0,3429	4,3831	0,0363	-0,1347
АМГ менее 1,5 нг/мл	0,9512	0,2789	11,6343	0,0006	0,2247

Детальная характеристика прогностической значимости выявленных предикторов представлена в таблице 3.3.2.

Таблица 3.3.2 – Прогностическая значимость параметров общей результативности метода ЭКО и ПЭ, выявляемых на этапе прегравидарной подготовки

Предиктор	Отношение шансов	95% доверительный интервал для отношения шансов	
		Нижняя граница	Верхняя граница
Возраст пациентки	1,064	1,007	1,123
Роды живым плодом в результате самопроизвольной беременности в анамнезе	0,488	0,249	0,955
АМГ менее 1,5 нг/мл	2,589	1,499	4,472

При анализе общей прогностической мощности полученного уравнения мультиномиальной логистической регрессии (соответствие предсказанных вероятностей отнесения изучаемого наблюдения к одной из градаций зависимой переменной) процент верных отнесений (процент конкордантности) составил 59,0%, показатель D Зоммера – 0,217.

На следующем этапе обработки данных в качестве потенциальных предикторов результативности ЭКО и ПЭ мы использовали данные протоколов стимуляции суперовуляции, пункции фолликулов, оплодотворения ооцитов, культивирования и переноса эмбрионов в полость матки. Результаты исследования взаимосвязи исхода ЭКО и ПЭ с клиническими факторами, регистрируемыми в ходе реализации программы, представлены в таблице 3.3.3.

Таблица 3.3.3 – Математическая модель прогнозирования результата ЭКО и ПЭ по данным протоколов реализации программы

Предиктор	Коэффициент регрессии	SE	Wald χ^2	p	Стандарт. коэффициент уравнения регрессии
Интерсепт (А)	1,7425	0,4269	16,6623	<0,0001	-
Интерсепт (В)	2,3265	0,4383	28,1715	<0,0001	-
Интерсепт (С)	2,3654	0,4392	29,0110	<0,0001	-
Число полученных эмбрионов хорошего качества	-0,6155	0,1510	16,6114	<0,0001	-0,3219
Момент переноса эмбрионов в полость матки	-0,3301	0,1165	8,0244	0,0046	-0,2013

Согласно представленным данным, значимыми положительными предикторами общей результативности ЭКО и ПЭ являются число полученных эмбрионов хорошего качества и момент переноса эмбрионов в полость матки. Показатель момента переноса эмбрионов в полость матки при анализе данных был представлен нами в качестве категориальной качественной переменной, принимающие значения «2», «3», «4», «5», соответствующие реализованному переносу эмбрионов в полость матки на 2, 3, 4, 5 сутки эмбрионального развития, соответственно. Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о преимуществе продленного культивирования эмбрионов до 5 суток и переноса эмбрионов в полость матки на стадии бластоцисты.

Характеристика прогностической значимости выявленных предикторов представлена в таблице 3.3.4.

Таблица 3.3.4 – Прогностическая значимость параметров общей результативности ЭКО и ПЭ, выявляемых в ходе реализации программы

Предиктор	Отношение шансов	95% доверительный интервал для отношения шансов	
		Нижняя граница	Верхняя граница
Число полученных эмбрионов хорошего качества	0,540	0,402	0,727
Момент переноса эмбрионов в полость матки	0,719	0,572	0,903

Процент верных отнесений для полученного уравнения составил 63,4%, показатель D Зоммера – 0,379.

3.4 Разработка математических моделей прогнозирования результативности метода экстракорпорального оплодотворения на основе бинарной логистической регрессии

С целью дифференцированной оценки прогностических факторов, значимо влияющих на результативность отдельных этапов реализации программы ЭКО и ПЭ, нами был использован метод бинарной логистической регрессии, предусматривающий использование в качестве зависимой переменной показателя с двумя градациями. Для решения поставленной задачи мы использовали следующие варианты представления зависимой переменной, характеризующие наиболее часто используемые показатели результативности ВРТ: отсутствие клинической беременности/клиническая беременность в программе ЭКО и ПЭ, отсутствие живорождения/роды живым плодом в результате ЭКО и ПЭ.

Данные исследования взаимосвязи клинических параметров, выявляемых на этапе прегравидарной подготовки, и наступления беременности в результате ЭКО и ПЭ, представлены в таблице 3.4.1.

Таблица 3.4.1 – Математическая модель прогнозирования отсутствия клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ по исходным клиническим данным

Предиктор	Коэффициент регрессии	SE	Wald χ^2	p	Станд. коэффициент уравнения регрессии
Интерсепт	-1,4713	1,0709	1,8877	0,1695	
Возраст пациентки (А)	0,0863	0,0316	7,4598	0,0063	0,1988
Передне-задний размер матки (В)	-0,0461	0,0216	4,5344	0,0332	-0,1524
АМГ менее 1,5 нг/мл (С)	0,9407	0,2886	10,6258	0,0011	0,2235
Седловидная матка (D)	0,8427	0,4174	4,0760	0,0435	0,1355

Согласно полученным данным, выявлена значимая взаимосвязь отсутствия клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ с параметрами возраста пациентки, уровня АМГ менее 1,5 нг/мл, наличия седловидной матки (прямая связь), а также передне-заднего размера матки (обратная связь). Характеристика прогностической значимости перечисленных факторов представлена в таблице 3.4.2.

Таблица 3.4.2 – Характеристика предикторов уравнения прогнозирования результата программы ЭКО и ПЭ по исходным клиническим данным

Предиктор	Отношение шансов	95% доверительный интервал для отношения шансов	
		Нижняя граница	Верхняя граница
Возраст пациентки	1.090	1.025	1.160
Передне-задний размер матки	0.955	0.915	0.996
АМГ менее 1,5 нг/мл	2.562	1.455	4.510
Седловидная матка	2.323	1.025	5.263

Вероятность отсутствия клинической беременности в результате предстоящей попытки ЭКО и ПЭ согласно полученным результатам может быть вычислена по следующей формуле:

$$p = \frac{\exp(beta)}{1 + \exp(beta)} \quad (1)$$

Параметр beta в приведенном уравнении вычисляется с использованием данных таблицы 3.4.1 согласно следующей формуле:

$$Beta = -1,4713 + 0,0863 \times A - 0,0461 \times B + 0,9407 \times C + 0,8427 \times D \quad (2)$$

Используемый для расчетов согласно представленной формуле показатель «А» является абсолютным числом, соответствующим возрасту пациентки; показатель «В» является абсолютным числом, соответствующим передне-заднему размеру матки, измеренному в миллиметрах; показатель «С» принимает значение «1» и «0» при уровне АМГ менее 1,5 нг/мл и более 1,5 нг/мл, соответственно; показатель «D» принимает значение «1» при выявлении у пациентки седловидной матки, в иных случаях значение показателя принимается равным нулю.

Показатель конкордантности представленного уравнения (процент верных отнесений) составил 65,5%, интенсивность взаимосвязи реального и предсказанного исхода согласно критерию D Зоммера составила 0,313. Результаты теста Хосмера-Лемешова ($\chi^2 = 7,5590$, число степеней свободы – 8, $p = 0,4777$) свидетельствуют об адекватной калибрационной способности модели.

Данные оценки дискриминационной способности разработанной прогностической модели представлены на рисунке 3.4.1. Показатель AUC (площадь под ROC-кривой) для представленного уравнения составил 0,65, что свидетельствует об удовлетворительном качестве прогностической модели. Чувствительность и специфичность в точке отсечения 0,50 составили 54,6% и 72,5%, соответственно. Таким образом, при значениях вычисленной вероятности

отсутствия клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ, превышающих 0,5, пациентка может быть отнесена в группу высокого риска неудачного исхода программы.

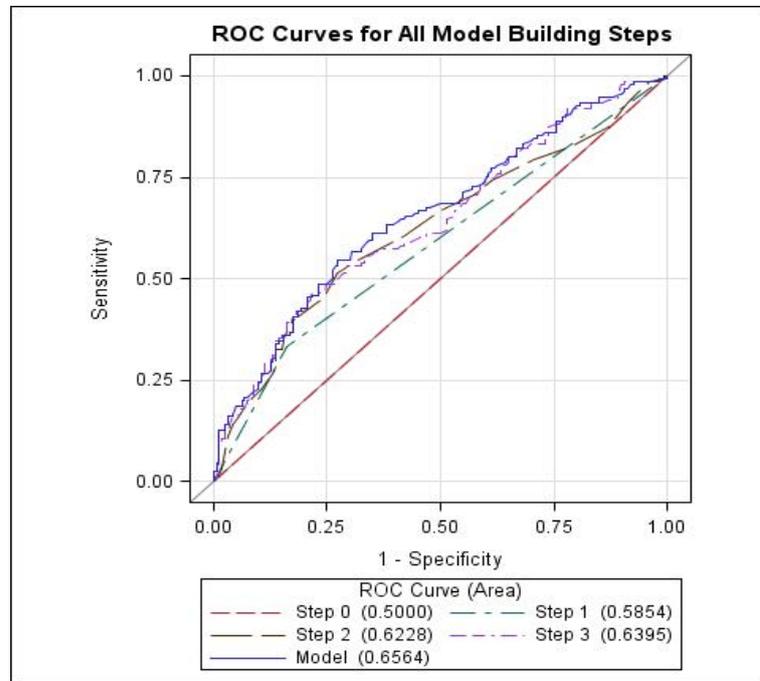


Рисунок 3.4.1. ROC-анализ алгоритма прогнозирования отсутствия беременности в результате ЭКО и ПЭ, основанного на исходных клинических данных

Принимая во внимание ограниченную прогностическую мощность алгоритма, основанного на анализе данных этапа прегравидарной подготовки, на следующем этапе обработки данных мы включили в подмножество потенциальных предикторов наступления индуцированной беременности клинические параметры, выявляемые в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ. Полученные результаты представлены в таблице 3.4.3. Согласно представленным данным, значимым негативным предиктором отсутствия клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ является наличие у пациентки ЛДЖ. Число полученных эмбрионов хорошего качества и момент переноса эмбрионов в полость матки демонстрируют прямую взаимосвязь с успешным результатом этапа регистрации клинической

беременности. Следует также отметить, что показатель модуля стандартизованного коэффициента уравнения регрессии, согласно которому интерпретируется интенсивность взаимосвязи изучаемого предиктора и зависимой переменной, оказался наибольшим для параметра числа полученных эмбрионов хорошего качества.

Таблица 3.4.3 – Математическая модель прогнозирования отсутствия имплантации эмбрионов в результате ЭКО и ПЭ по исходным клиническим данным и данным протоколов реализации программы

Предиктор	Коэффициент регрессии	SE	Wald χ^2	p	Станд. коэффициент уравнения регрессии
Интерсепт	2.5062	0.5054	24.5936	<0.0001	-
Число полученных эмбрионов хорошего качества (А)	-0.7021	0.1724	16.5745	<0.0001	-0.3601
ЛДЖ у пациентки (В)	0.7479	0.3535	4.4761	0.0344	0.1731
Момент переноса эмбрионов в полость матки (С)	-0.4922	0.1282	14.7391	0.0001	-0.3108

Детальная характеристика прогностической значимости компонентов полученной математической модели представлена в таблице 3.4.4.

Таблица 3.4.4 – Характеристика предикторов уравнения прогнозирования результата программы ЭКО и ПЭ по исходным клиническим данным и данным реализации протоколов программы

Предиктор	Отношение шансов	95% доверительный интервал для отношения шансов	
		Нижняя граница	Верхняя граница
Число полученных эмбрионов хорошего качества	0,496	0,353	0,695
ЛДЖ у пациентки	2,112	1,057	4,224
Момент переноса эмбрионов в полость матки	0,611	0,475	0,786

Вероятность отсутствия клинической беременности в результате изучаемой попытки ЭКО и ПЭ согласно полученным данным может быть вычислена по следующей формуле:

$$p = \frac{\exp(beta)}{1 + \exp(beta)} \quad (1)$$

Параметр beta в представленном уравнении вычисляется согласно данным таблицы 3.4.3 следующим образом:

$$Beta = 2,5062 - 0,7021 \times B + 0,7479 \times C - 0,4922 \times D \quad (2)$$

Процент верных отнесений для представленного алгоритма составил 71,8%, показатель D Зоммера – 0,5. Результаты теста Хосмера – Лемешова свидетельствуют о калибрационной адекватности прогностической модели: $\chi^2=2,5619$, число степеней свободы – 7, $p=0,9224$.

Характеристика дискриминационной адекватности полученного уравнения представлена на рисунке 3.4.2.

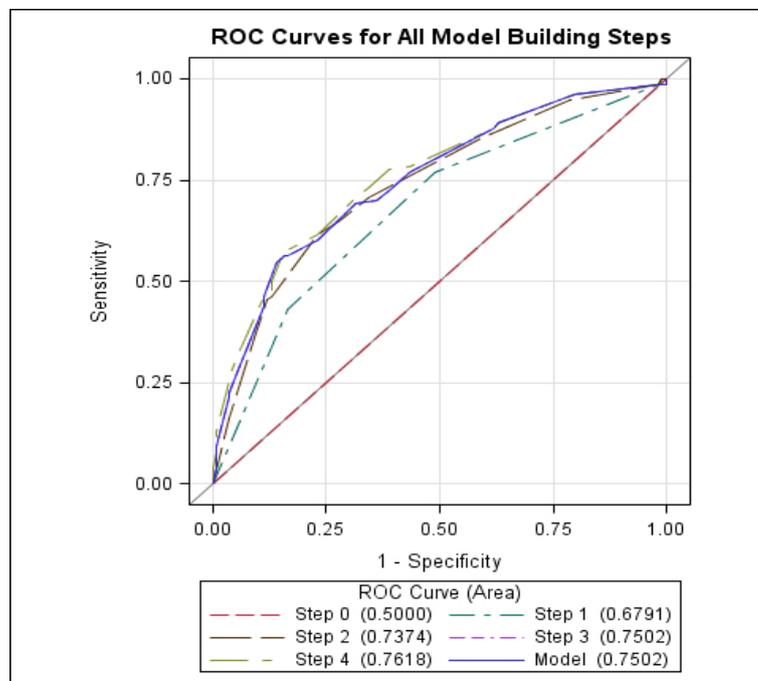


Рисунок 3.4.2. ROC-анализ алгоритма прогнозирования отсутствия беременности в результате ЭКО и ПЭ, основанного на данных реализации программы

Показатель AUC (площадь под ROC-кривой) для разработанного алгоритма составил 0,75, что соответствует хорошему качеству модели. Чувствительность и специфичность в точке отсечения 0,69 составили 54,6% и 86,1%, соответственно. При вычислении вероятности отсутствия клинической беременности в результате данной попытки ЭКО и ПЭ, превышающей 0,69, пациентка может быть отнесена в группу высокого риска неудачного исхода программы.

Показатель «take home baby» является наиболее значимым параметром результативности ВРТ. На следующем этапе нашего исследования в качестве зависимой переменной мы рассматривали факт завершения индуцированной беременности родами живым плодом.

Результаты поиска клинических параметров, значимо влияющих на частоту завершения программ ЭКО и ПЭ родами живым плодом, представлены в таблице 3.4.5.

Таблица 3.4.5 – Математическая модель прогнозирования завершения индуцированной беременности срочными родами

Предиктор	Коэффициент регрессии	SE	Wald χ^2	p	Станд. коэффициент уравнения регрессии
Интерсепт	-2,0097	0,4942	16,5352	<0,0001	
Число полученных эмбрионов хорошего качества (A)	0,6335	0,1642	14,8828	0,0001	0,3313
Тромбофилия у пациентки (B)	-0,7315	0,3473	4,4366	0,0352	-0,1754
Совпадение более 2 локусов системы HLA в супружеской паре (C)	-0,8102	0,3858	4,4093	0,0357	-0,1814
Момент переноса эмбрионов в полость матки (D)	0,3186	0,1292	6,0834	0,0136	0,1943

Полученные данные свидетельствуют о значимой взаимосвязи факторов совпадения более 2 локусов системы HLA в супружеской паре и наличия тромбофилии у пациентки с отсутствием живорождения в результате ЭКО и ПЭ. Также выявлена прямая взаимосвязь вероятности рождения живого ребенка в

результате ЭКО и ПЭ с параметрами числа полученных эмбрионов хорошего качества и момента переноса эмбрионов в полость матки. Характеристика прогностической значимости выявленных предикторов представлена в таблице 3.4.6.

Таблица 3.4.6 – Характеристика предикторов уравнения прогнозирования результата программы ЭКО и ПЭ по исходным клиническим данным и данным реализации протоколов программы

Предиктор	Отношение шансов	95% доверительный интервал для отношения шансов	
		Нижняя граница	Верхняя граница
Число полученных эмбрионов хорошего качества	1.884	1.366	2.599
Тромбофилия у пациентки	0.481	0.244	0.950
Совпадение более 2 локусов системы HLA в супружеской паре	0.445	0.209	0.947
Момент переноса эмбрионов в полость матки	1.375	1.068	1.771

Вероятность рождения живого ребенка в результате ЭКО и ПЭ согласно полученным результатам может быть вычислена по формуле:

$$p = \frac{\exp(beta)}{1 + \exp(beta)} \quad (1)$$

Для вычисления параметра beta используются данные таблицы 3.4.5 :

$$Beta = -2,0097 + 0,6335 \times A - 0,7315 \times B - 0,8102 \times C + 0,3186 \times D \quad (2)$$

Процент конкордантности полученного уравнения (процент верных предсказаний) составил 70,1% , коэффициент D Зоммера – 0,472. Результаты оценки калибрационной адекватности прогностического алгоритма согласно тесту Хосмера-Лемешова свидетельствуют об адекватности модели: $\chi^2 = 4,6637, 9$

степеней свободы, $p=0,8626$. Результаты оценки дискриминационной адекватности модели представлены на рисунке 3.4.3.

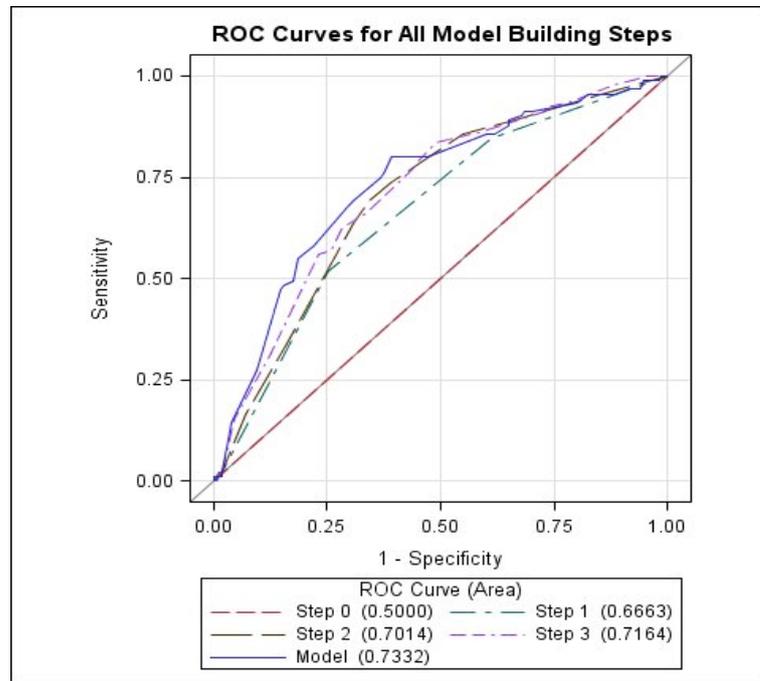


Рисунок 3.4.3. ROC-анализ алгоритма прогнозирования завершения индуцированной беременности родами

Значение показателя AUC (площадь под ROC-кривой) составило 0,73, что соответствует хорошему качеству прогностического алгоритма. Чувствительность и специфичность в точке отсечения 0,35 составили 60,6% и 80,2%, соответственно. В случае регистрации вычисленной вероятности рождения живого ребенка менее 0,35 пациентка может быть отнесена в группу высокого риска неудачного исхода программы.

Таким образом, согласно результатам анализа предикторов результативности ЭКО и ПЭ с использованием как мультиномиальной, так и бинарной логистической регрессии, а также различных способов представления зависимой переменной, наиболее значимым параметром, определяющим вероятность наступления индуцированной беременности и рождения живого ребенка, является *число полученных в программе эмбрионов хорошего качества*.

Для изучения факторов, значимо влияющих на результирующее число эмбрионов хорошего качества, также были построены модели бинарной логистической регрессии.

В исследуемой когорте пациентов не было получено эмбрионов хорошего качества в 30,2% наблюдений (105/348), 1 эмбрион хорошего качества получен в 35% наблюдений (122/348), 2 эмбриона хорошего качества – в 29,3% наблюдений (102/348), 3 эмбриона – в 3,7% (13/348) наблюдений, 4 эмбриона – в 1,1% наблюдений (4/348), 6 эмбрионов – в 0,6% наблюдений (2/348). В ходе анализа был использован следующий вариант представления зависимой переменной: отсутствие эмбрионов хорошего качества/наличие эмбрионов хорошего качества. Данные анализа взаимосвязи исходных клинических факторов и параметров реализации программы ЭКО и ПЭ с показателем наличия эмбрионов хорошего качества представлены в таблице 3.4.7.

Таблица 3.4.7 – Математическая модель прогнозирования наличия эмбрионов хорошего качества в программе ЭКО и ПЭ

Предиктор	Коэффициент регрессии	SE	Wald χ^2	p	Отношение шансов (95% ДИ)
Интерсепт	-0,90	0,40	5,07	0,02	-
Самопроизвольная беременность в анамнезе (А)	0,85	0,34	6,28	0,01	2,33 (1,20–4,52)
Количество полученных ооцитов (В)	0,08	0,03	7,82	0,01	1,09 (1,03–1,15)
Бесплодие, ассоциированное с эндометриозом (С)	-0,79	0,34	5,35	0,02	0,45 (0,23–0,89)

Как демонстрируют данные таблицы 3.4.7, наиболее значимые предикторы результативности эмбриологического этапа программы ЭКО и ПЭ (наличие бесплодия, ассоциированного с эндометриозом и самопроизвольной беременности в анамнезе) могут быть выявлены на этапе прегравидарной подготовки. Параметр количества полученных ооцитов, регистрируемый на этапе пункции фолликулов, демонстрирует наименьшую прогностическую значимость.

Согласно полученным данным, наличие бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, является значимым негативным прогностическим фактором, снижающим вероятность наличия в предстоящей программе ЭКО и ПЭ эмбрионов хорошего качества. Интересно отметить, что данный клинический предиктор не проявил свою значимость при формировании моделей общей результативности ЭКО и ПЭ, прогноза этапа регистрации клинической беременности и завершения индуцированной беременности родами живым плодом.

Согласно характеристике компонентов представленной математической модели вероятность наличия эмбрионов хорошего качества вычисляется по следующей формуле:

$$p = \frac{\exp(beta)}{1 + \exp(beta)} \quad (1)$$

Параметр beta вычисляется с использованием данных таблицы 3.4.7 :

$$Beta = -0,90 + 0,85 \times A + 0,08 \times B - 0,79 \times C \quad (2)$$

Используемый для расчетов согласно представленной формуле показатель «А» принимает значение «1» и «0» при наличии и отсутствии в анамнезе пациентки самопроизвольной беременности, соответственно; показатель «В» является абсолютным числом, соответствующим общему числу полученных ооцитов; показатель «С» принимает значение «1» и «0» при наличии и отсутствии у пациентки бесплодия, ассоциированного с эндометриозом.

Процент верных отнесений для данного уравнения составил 65,5%, коэффициент D Зоммера – 0,310. Результаты оценки калибрационной адекватности прогностического алгоритма согласно тесту Хосмера-Лемешова свидетельствуют об адекватности модели: $\chi^2 = 0,964$, 8 степеней свободы, $p = 0,998$.

Данные ROC-анализа для представленной прогностической модели представлены на рисунке 3.4.4. Показатель AUC (площадь под ROC-кривой) составил 0,70, что соответствует хорошему качеству модели. Чувствительность и специфичность в точке отсечения 0,50 составили 64,7% и 66,3%, соответственно. Регистрация значения вычисленной вероятности менее 0,5 соответствует высокому риску отсутствия эмбрионов хорошего качества в данной попытке ЭКО и ПЭ.

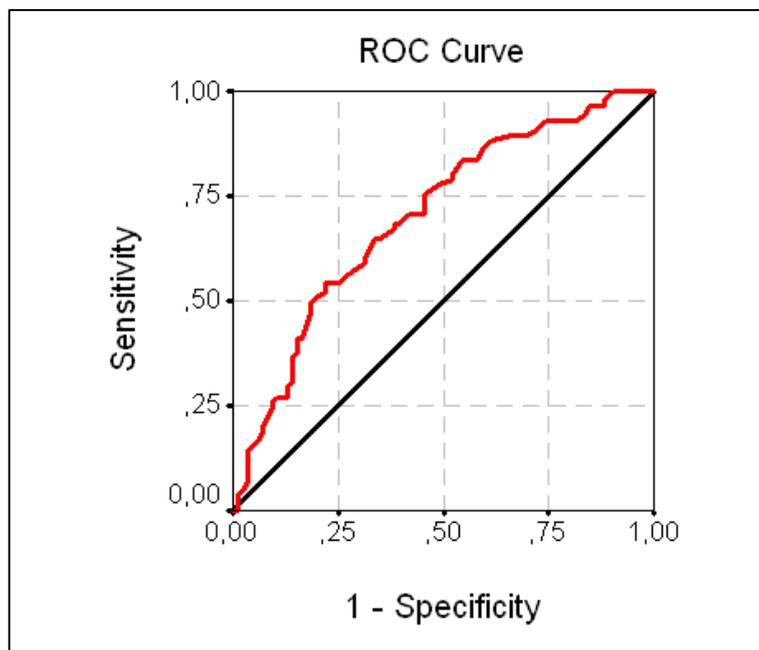


Рисунок 3.4.4. ROC-анализ алгоритма прогнозирования наличия эмбрионов хорошего качества в программе ЭКО и ПЭ

На основании результатов проведенного многофакторного анализа предикторов результативности метода ЭКО и ПЭ можно сделать следующие выводы:

1. При определении индивидуальной вероятности отсутствия клинической беременности в программе ЭКО и ПЭ на этапе прегравидарной подготовки значимыми прогностическими факторами являются: возраст пациентки (ОШ 1,090, 95% ДИ 1,025–1,160), передне-задний размер матки (ОШ 0,955, 95% ДИ

0,915–0,996), уровень АМГ менее 1,5 нг/мл (ОШ 2,562, 95% ДИ 1,455–4,510), седловидная матка (ОШ 2,323, 95% ДИ 1,025–5,263), ЛДЖ у пациентки (ОШ 2,112, 95% ДИ 1,057–4,224).

2. Прогностическая точность определения индивидуальной вероятности отсутствия клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ с помощью математической модели, включающей параметры возраста, морфометрической характеристики матки и характеристики овариального резерва пациентки и на этапе прегравидарной подготовки составляет 65,5%, чувствительность и специфичность прогностического алгоритма – 54,6% и 72,5%, соответственно.

3. В ходе реализации программы ЭКО и ПЭ выявляются следующие значимые прогностические факторы, определяющие вероятность отсутствия индуцированной беременности: число полученных эмбрионов хорошего качества (ОШ 0,496, ДИ 0,353–0,695), момент переноса эмбрионов в полость матки (ОШ 0,611, 95% ДИ 0,475–0,786).

4. Прогностическая точность определения индивидуальной вероятности отсутствия клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ с помощью математической модели, включающей параметры наличия у пациентки ЛДЖ, количества полученных эмбрионов хорошего качества и момента переноса эмбриона в полость матки составляет 71,8%, чувствительность и специфичность прогностического алгоритма – 54,6% и 86,1% соответственно.

5. На этапе прегравидарной подготовки выявляются следующие значимые факторы, определяющие вероятность завершения программы ЭКО и ПЭ родами живым плодом: наличие совпадения более 2 локусов системы HLA в супружеской паре (ОШ 0,445, 95% ДИ 0,209–0,947), наличие тромбофилии у пациентки (ОШ 0,481, 95% ДИ 0,244–0,950).

6. В ходе реализации программы ЭКО и ПЭ выявляются следующие значимые прогностические факторы, определяющие вероятность завершения программы родами живым плодом: число полученных эмбрионов хорошего качества (ОШ 1,884, ДИ 1,366–2,599), момент переноса эмбрионов в полость матки (ОШ 1,375, 95% ДИ 1,068–1,771).

7. Прогностическая точность определения индивидуальной вероятности завершения программы ЭКО и ПЭ родами живым плодом с помощью математической модели, включающей параметры наличия тромбофилии у пациентки, совпадения более 2 локусов системы HLA в супружеской паре, количества полученных эмбрионов хорошего качества и момента переноса эмбриона в полость матки составляет 70,1%, чувствительность и специфичность прогностического алгоритма – 60,6% и 80,2%, соответственно.

8. Значимыми прогностическими факторами, определяющими вероятность получения эмбрионов хорошего качества в программе ЭКО и ПЭ являются: наличие в анамнезе пациентки самопроизвольной беременности (ОШ 2,33, 95% ДИ 1,20–4,52), бесплодие, ассоциированное с эндометриозом (ОШ 0,45, 95% ДИ 0,23–0,89), количество ооцитов, полученных при трансвагинальной пункции фолликулов (ОШ 1,09, 95% ДИ 1,03–1,15).

9. Прогностическая точность определения индивидуальной вероятности получения в программе ЭКО и ПЭ эмбрионов хорошего качества с помощью математической модели, включающей параметры наличия в анамнезе пациентки самопроизвольной беременности, наличия бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, и количества ооцитов, полученных при трансвагинальной пункции фолликулов, составляет 65,5%, чувствительность и специфичность прогностического алгоритма – 64,7% и 66,3%, соответственно.

3.5 Клиническая оценка возможности прогнозирования результативности метода экстракорпорального оплодотворения с помощью алгоритма Темплтона

С целью первичной стратификации риска неблагоприятного исхода программы ЭКО и ПЭ за рубежом широко используется математическая модель Темплтона, созданная в 1996 году на основании анализа данных Национального

регистра ВРТ Великобритании. В настоящем исследовании нами проведена клиническая апробация и сравнительная оценка прогностической мощности алгоритма Темплтона и математических моделей прогнозирования результативности ЭКО и ПЭ, полученных в результате анализа собственных данных.

Прогностическая модель Темплтона является уравнением бинарной логистической регрессии. На этапе прегравидарной подготовки вероятность живорождения в результате ЭКО и ПЭ согласно алгоритму Темплтона вычисляется по следующей формуле:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-y}} \quad (1)$$

$$y = -2,028 + 0,00551 \times (A - 16)^2 - 0,00028 \times (A - 16)^3 + i - 0,069 \times (B) - 0,0711 \times (C) + 0,7587 \times (D) + 0,2986 \times (E) + 0,2277 \times (F) + 0,1117 \times (G) \quad (2)$$

Предикторами представленного уравнения являются следующие клинические параметры:

- возраст пациентки (А);
- длительность бесплодия ($i = 0,2163$ в случае 1-3 лет, $i = -0,0839$ в случае 4-9 лет, $i = -0,1036$ в случае 7-12 лет, $i = -0,4179$ в случае более 13 лет бесплодия);
- число безуспешных попыток ЭКО и ПЭ в анамнезе (В);
- наличие трубного фактора бесплодия (С);
- рождение живого ребенка в результате ЭКО и ПЭ в анамнезе (D);
- беременность в результате ЭКО и ПЭ в анамнезе, не закончившаяся родами (Е);
- рождение живого ребенка в результате самопроизвольной беременности в анамнезе (F);
- самопроизвольная беременность в анамнезе, не закончившаяся родами (G).

Параметры С, D, E, F, G являются бинарными качественными переменными, принимающими значение 0 и 1 в случае отсутствия и наличия клинического фактора, соответственно.

В настоящем исследовании на этапе прегравидарной подготовки для каждой супружеской пары определялась индивидуальная вероятность успешного исхода программы ЭКО и ПЭ с помощью алгоритма Темплтона. На основании данных об исходе программы проводилась ретроспективная оценка прогностической мощности модели Темплтона.

Результаты исследования дискриминационной адекватности алгоритма Темплтона при прогнозировании клинической беременности и живорождения в результате ЭКО и ПЭ представлены в таблице 3.5.1.

Таблица 3.5.1 – Результаты оценки дискриминационной адекватности алгоритма Темплтона

Прогностический алгоритм	AUC	SE	95% доверительный интервал AUC	p
Оценка вероятности наступления беременности	0,57	0,031	0,51–0,63	0,032
Оценка вероятности живорождения	0,61	0,031	0,55–0,67	0,001

Согласно полученным данным, при использовании модели Темплтона для определения вероятности клинической беременности в программе ЭКО и ПЭ качество прогноза, интерпретируемое согласно значению показателя AUC (площадь под РОК-кривой), оказалось неудовлетворительным. При использовании модели Темплтона для прогноза живорождения показатель AUC составил 0,61, что соответствует среднему качеству модели. Следует заметить, что значение нижней границы доверительного интервала для AUC при прогнозе живорождения составило 0,55, что также указывает на неудовлетворительную дискриминационную способность прогностического алгоритма. Данные ROC-анализа алгоритма Темплтона для прогноза живорождения представлены на рисунке 3.5.1.

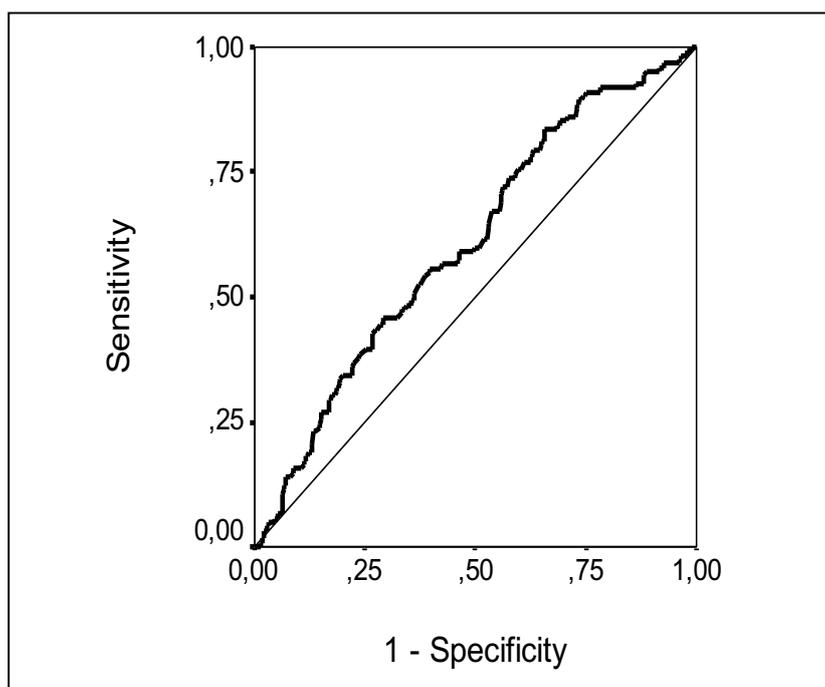


Рисунок 3.5.1. ROC-анализ алгоритма Темплтона для прогнозирования вероятности рождения живого ребенка в результате ЭКО и ПЭ

Показатели чувствительности и специфичности в точке отсечения 0,13 для прогностической модели Темплтона составили 56% и 60%, соответственно. Оценка соответствия реальных и предсказанных результатов программы ЭКО и ПЭ (калибрационная адекватность) проводилась согласно методу Cox, детализированному Miller: качество модели интерпретируется согласно коэффициентам линейных регрессионных моделей зависимости наблюдаемой частоты удачного исхода программы от предсказанной. Идеальная калибрационная способность модели характеризуется следующими параметрами: константа регрессионного уравнения (свободный член a , соответствует подъему графика в точке $x=0$ относительно оси абсцисс) равна нулю, угловой коэффициент наклона линии регрессии (коэффициент b , соответствует тангенсу угла наклона графика к оси абсцисс) равен единице. При графическом изображении в данном случае линия регрессии соответствует биссектрисе первого координатного угла. Значения $a > 0$ указывают на систематическое занижение прогнозируемой вероятности исследуемого исхода, при $a < 0$ имеет место завышение прогнозируемых вероятностей. Значения b , отличные от 1,

указывают на диспропорциональное завышение/занижение прогнозируемых вероятностей изучаемого исхода.

Данные оценки калибрационной адекватности алгоритма Темплтона при прогнозировании клинической беременности и живорождения представлены в таблице 3.5.2.

Таблица 3.5.2 – Коэффициенты линейных регрессионных моделей зависимости наблюдаемой частоты клинической беременности и рождения живого ребенка в результате ЭКО и ПЭ от предсказанной вероятности согласно алгоритмам Темплтона

Алгоритм прогноза	Интервализация вычисленных вероятностей	Коэффициент уравнения линейной регрессии	Значение коэффициента	SE	p
Оценка вероятности наступления беременности	децили	a	0,44	0,07	<0,001
		b	0,99	0,52	0,092
Оценка вероятности живорождения	децили	a	0,13	0,06	0,074
		b	1,70	0,46	0,006

Уровни статистической значимости p, представленные в таблице 3.5.2, являются результатом проверки гипотезы о равенстве коэффициентов линейных регрессионных уравнений нулю. На рисунке 3.5.2 представлен калибрационный график зависимости наблюдаемой частоты клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ от предсказанной вероятности согласно алгоритму Темплтона.

Согласно данным таблицы 3.5.2 и рисунка 3.5.2, алгоритм Темплтона демонстрирует пропорциональное занижение вычисленных вероятностей клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ на 44%.

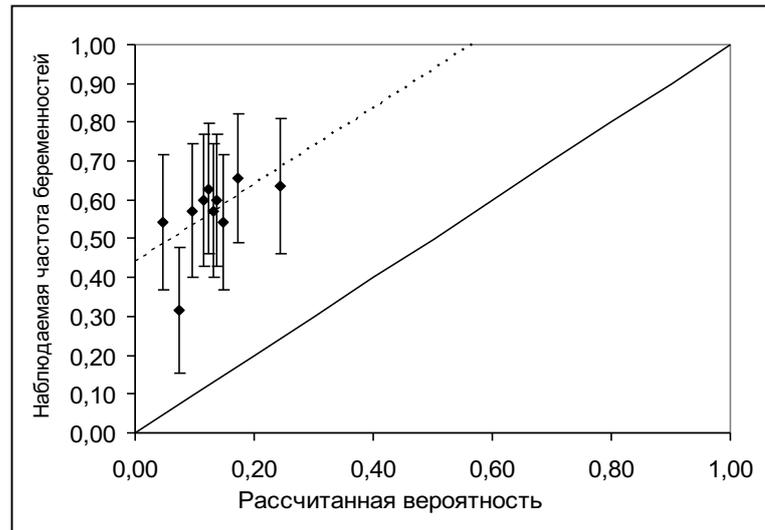


Рисунок 3.5.2. Зависимость наблюдаемой частоты наступления беременности от предсказанной согласно алгоритму Темплтона: линейная регрессионная модель, интервализация вычисленных вероятностей по децилям

На рисунке 3.5.3 представлен калибрационный график зависимости наблюдаемой частоты живорождения в результате ЭКО и ПЭ от предсказанной вероятности согласно алгоритму Темплтона.

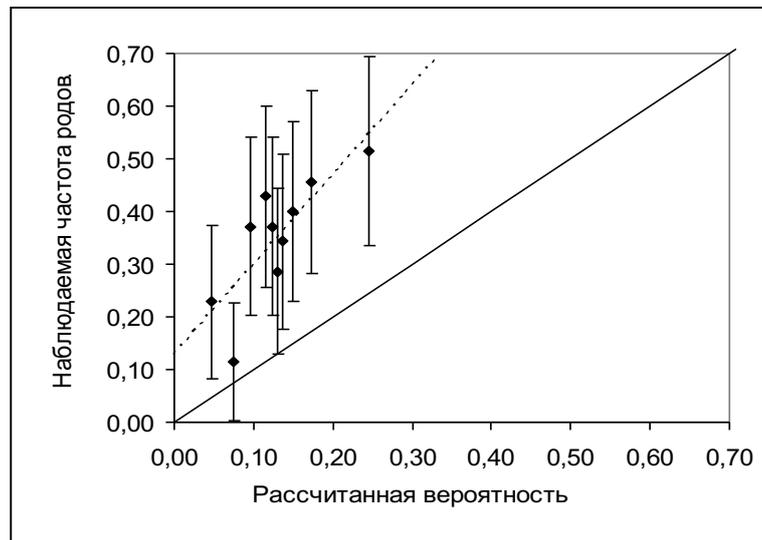


Рисунок 3.5.3. Зависимость наблюдаемой частоты рождения живого ребенка от предсказанной согласно алгоритму Темплтона: линейная регрессионная модель, интервализация вычисленных вероятностей по децилям

Данные таблицы 3.5.2 и рисунка 3.5.3 свидетельствуют о диспропорциональном ($b > 1$) занижении предсказываемых согласно модели Темплтона вероятностей рождения живого ребенка в результате ЭКО и ПЭ: алгоритм приемлемо работает в области плохого прогноза (в случае предсказанной вероятности рождения живого ребенка менее 10%) и существенно занижает вероятность удачи при более высоких оценках.

Данные сравнительного анализа прогностической мощности алгоритма Темплтона и математических моделей прогнозирования исхода программы ЭКО и ПЭ, разработанных в настоящем исследовании, представлены в таблице 3.5.3.

Таблица 3.5.3 – Сравнительный анализ прогностической адекватности различных алгоритмов прогнозирования результативности ЭКО и ПЭ

Прогностический алгоритм	AUC
Templeton, прогнозирование клинической беременности на этапе прегравидарной подготовки	0,57
Математическая модель прогнозирования клинической беременности на основании данных возраста, морфометрической характеристики матки и характеристики овариального резерва пациентки	0,65
Templeton, прогнозирование живорождения в результате ЭКО и ПЭ	0,61
Математическая модель прогнозирования живорождения в результате ЭКО и ПЭ на основании параметров наличия гиперкоагуляционного синдрома в анамнезе пациентки, совпадения более 2 локусов системы HLA в супружеской паре, количества полученных эмбрионов высокого качества и момента переноса эмбриона в полость матки	0,73

На основании проведенной клинической апробации алгоритма Темплтона можно сделать следующие выводы:

1. Использование модели Темплтона для прогнозирования наступления беременности в результате ЭКО и ПЭ является нецелесообразным ввиду неудовлетворительной дискриминационной адекватности алгоритма (AUC 0,57, 95% ДИ 0,51–0,63), а также наличия пропорционального занижения вычисленных вероятностей наступления клинической беременности на 44%.

2. Алгоритм Темплтона при прогнозе живорождения в результате ЭКО и ПЭ демонстрирует среднюю дискриминационную адекватность (AUC 0,61, 95% ДИ 0,55–0,67), а также диспропорциональное занижение вычисленных вероятностей рождения ребенка в результате ЭКО и ПЭ в области значений более 0,13.

Следует также отметить, что несмотря на ограниченную прогностическую мощь, алгоритм Темплтона представляет несомненный практический интерес, поскольку позволяет осуществлять первичную стратификацию риска неблагоприятного исхода программы на основании анамнестических данных, выявляемых в ходе первичной консультации супружеской пары.

3.6 Разработка и апробация алгоритма повышения результативности лечения бесплодия с помощью метода экстракорпорального оплодотворения

На заключительном этапе исследования был проведен сравнительный анализ показателей результативности лечения бесплодия в группах, сформированных в зависимости от тактики реализации программы ЭКО и ПЭ. На данном этапе в исследовании участвовали 239 пациенток в возрасте до 35 лет, с верифицированным диагнозом трубно-перитонеального бесплодия, впервые вступающих в программу ЭКО и ПЭ. Тактика этапа прегравидарной подготовки вне зависимости от группы сравнения включала определение вероятности наличия ЛДЖ у пациентки с помощью программы прогнозирования, верификацию диагноза с помощью определения эритроцитарных индексов, СЖ, ТФ, СФ, КНТ, а также коррекцию выявленного ЛДЖ назначением железа протеина сукцинилата в течение 6 недель.

Первую группу сравнения составили 82 пациентки. Тактика реализации программы ЭКО и ПЭ в данной когорте пациентов соответствовала принятым стандартам.

Во второй группе сравнения (80 пациенток) стандартная схема прегравидарной подготовки была дополнена определением вероятности наличия ЛДЖ у пациентки с помощью программы прогнозирования, верификацией диагноза с помощью определения эритроцитарных индексов, СЖ, ТФ, СФ, КНТ, а также коррекцией выявленного ЛДЖ назначением железа протеина сукцинилата в течение 6 недель. Тактика реализации протокола ЭКО и ПЭ включала дополнительное проведение мониторинга состояния биоценоза влагалища на момент переноса эмбрионов в полость матки и через 21 день после эмбриотрансфера. При выявлении промежуточного типа биоценоза влагалища пациенткам данной группы назначался пребиотик из растительных моносахаридов вагинально ежедневно в течение 14 дней. При выявлении дисбиоза влагалища проводилась двухэтапная схема терапии, включающая на первом этапе назначение таблеток деквалиния хлорида 10 мг (Мединова Лтд., Швейцария) вагинально ежедневно в течение 6 дней, на втором этапе – назначение пребиотика из растительных моносахаридов вагинально ежедневно в течение 14 дней.

В третьей группе сравнения (77 пациенток) тактика прегравидарной подготовки соответствовала таковой во второй группе сравнения; с 5 дня стимуляции суперовуляции в данной группе проводилась профилактика дисбиоза влагалища с назначением пребиотика из растительных моносахаридов в течение 14 дней, также проводился мониторинг состояния микроценоза влагалища на момент переноса эмбрионов и через 21 день после эмбриотрансфера. Тактика коррекции выявленных нарушений соответствовала таковой во второй группе сравнения.

При сравнительном анализе основных клинико-анамнестических данных пациентки I_{II}, II_{II}, III_{II} групп сравнения были сопоставимы ($p > 0,05$).

На этапе прегравидарной подготовки ЛДЖ был выявлен у 32,5% пациенток (26/80) II_{II} группы сравнения и 31,2% (24/77) пациенток III_{II} группы сравнения ($p = 0,9944$). Через 6 недель после терапии железа протеин сукцинилатом

показатели фонда обмена железа у данных пациенток соответствовали норме для небеременных женщин репродуктивного возраста.

На этапе контролируемой стимуляции суперовуляции в группах сравнения использовался короткий протокол с антГРГ. Значимых различий в суммарной дозе препаратов, количестве дней стимуляции, максимальном и минимальном диаметре пунктируемых фолликулов в группах сравнения выявлено не было ($p>0,05$).

Результаты эмбриологического этапа программы в группах сравнения представлены в таблице 3.6.1

Таблица 3.6.1 – Результаты эмбриологического этапа программы в группах сравнения

Показатель	Медиана (межквартильный размах)			Р I,II	Р I,III	Р II,III
	I _{II} ГС	II _{II} ГС	III _{II} ГС			
Общее число полученных ооцитов	6 (4–10)	7 (5–12)	8 (4–10)	0,623	0,721	0,815
Число оплодотворенных ооцитов	5 (3–7)	6 (3–7)	6 (3–8)	0,713	0,831	0,725
Общее число полученных эмбрионов	6 (4–9)	5 (4–10)	5 (4–9)	0,648	0,754	0,671
Число полученных эмбрионов хорошего качества	2 (0–3)	1 (0–3)	2 (0–3)	0,126	0,872	0,118

Согласно представленным данным, значимых различий в показателях результативности эмбриологического этапа программы в группах сравнения выявлено не было.

На пятые сутки после оплодотворения ооцитов состоялся перенос 2 эмбрионов в полость матки у всех пациенток.

В таблице 3.6.2 представлены результаты динамического мониторинга микроценоза влагалища в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ в группах сравнения.

Таблица 3.6.2. – Данные мониторинга микроценоза влагалища в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ в группах сравнения

Оценка по Nugent на момент ПЭ, абс. число наблюдений									
Интерпретация	I _{II} группа сравнения, регистрация клинической беременности			II _{II} группа сравнения, регистрация клинической беременности			III _{II} группа сравнения, регистрация клинической беременности		
	Нет n=57	Да n=25	p	Нет n=42	Да n=38	p	Нет n=38	Да n=39	p
0-3	-	-	-	22	24	0,4553	28	32	0,5418
4-6, отсутствие ключевых клеток	-	-	-	12	10	1,0005	6	5	0,9637
4-6, ключевые клетки	-	-	-	8	4	0,4522	4	2	0,6467
7 и более	-	-	-	0	0	-	0	0	-
Оценка по Nugent на 21 день после ПЭ, абс. число наблюдений									
0-3	14	8	0,6678	26	28		31	35	0,4855
4-6, отсутствие ключевых клеток	28	16	0,0160	8	6		5	3	0,6801
4-6, ключевые клетки	15	1	0,0410	8	4		2	1	0,9823
7 и более	0	0	-	0	0	-	0	0	-

Согласно представленным данным, во II группе сравнения на момент переноса эмбрионов дисбиоз влагалища был зарегистрирован в 15% (12/80) наблюдений, промежуточный тип микроценоза влагалища – в 27,5% случаев (22/80). Выявленные нарушения были скорректированы согласно плану исследования, при этом значимых различий по частоте нарушений состояния микроценоза влагалища на момент переноса эмбрионов в подгруппах пациенток с отрицательным и положительным результатом регистрации клинической беременности выявлено не было. Согласно данным повторного исследования, проведенного во II группе сравнения через 21 день после переноса эмбрионов, промежуточный тип биоценоза влагалища выявлен у 17,5% пациенток (14/80) в отсутствие значимых различий по результатам программы, дисбиоз влагалища выявлен у 12 пациенток (15%).

В III группе сравнения, на фоне назначения пребиотика из растительных моносахаридов, на этапе переноса эмбрионов в полость матки промежуточный тип биоценоза выявлен у 11 (14,2%) пациенток, дисбиоз влагалища – у 6 (7,8%) пациенток. На 21 день после эмбриотрансфера абсолютный нормоценоз влагалища подтвержден у 85,7% участниц исследования, в 8 наблюдениях (10,4%) был выявлен промежуточный тип биоценоза, в 3 случаях (3,9%) диагностирован дисбиоз влагалища. Таким образом, во II группе сравнения, в отсутствие превентивной поддержки колонизационной резистентности влагалища, зарегистрированы значимо более высокие показатели частоты выявления нарушений состояния вагинального микроценоза через 21 день после эмбриотрансфера (12/80 и 3/77, $p=0,0364$).

Согласно полученным данным, общая частота выявления дисбиоза влагалища на 21 день после переноса эмбрионов в I группе сравнения составила 19,5% (16/82), при этом дисбиоз влагалища значимо чаще выявлялся у пациенток с отсутствием клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ ($p=0,0410$). Частота регистрации промежуточного типа микроценоза влагалища в I группе сравнения составила 53,6% (44/82), значимо более высокие показатели частоты выявления промежуточного типа биоценоза также были выявлены у пациенток с отсутствием беременности в результате ЭКО и ПЭ. Таким образом, в отсутствие раннего мониторинга и коррекции состояния вагинальной микробиоты в программе ЭКО и ПЭ в I группе сравнения на 21 день после эмбриотрансфера дисбиоз влагалища регистрировался значимо чаще при сопоставлении с данными III группы сравнения: 16/82 и 3/77, $p_{I,III} = 0,0062$.

Данные о регистрации индуцированной беременности в группах сравнения представлены в таблице 3.6.3.

Таблица 3.6.3 – Частота наступления беременности в программе ЭКО и ПЭ в группах сравнения

Параметр	Число наблюдений			p _{I,II}	p _{I,III}	p _{II,III}
	I _{II} ГС (n=82)	II _{II} ГС (n=80)	III _{II} ГС (n=77)			
Отсутствие беременности	48	39	37	0,2760	0,2447	1,0005
Биохимическая беременность	9	3	1	0,1459	0,0292	0,6399
Клиническая беременность	25	38	39	0,0396	0,0158	0,8148

Данные таблицы 3.6.3 свидетельствуют о значимо более низкой частоте преклинической потери беременности, зарегистрированной в III группе сравнения по сравнению с аналогичным показателем I группы сравнения, а также о значимо более высоких показателях частоты регистрации клинической беременности у пациенток II и III группы сравнения.

Данные о частоте клинической беременности в группах сравнения наглядно представлены на рисунке 3.6.1.

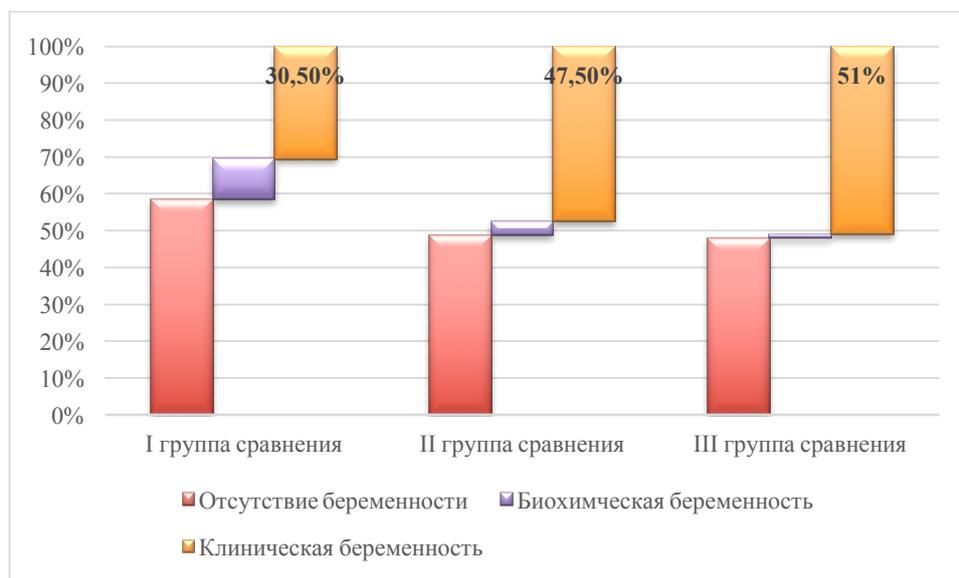


Рисунок 3.6.1. Частота регистрации клинической беременности у пациенток анализируемых групп

Данные анализа структуры и частоты осложнений I триместра индуцированной гестации приведены в таблице 3.6.4.

Таблица 3.6.4 – Структура осложнений I триместра гестации

Показатель	Число наблюдений						p _{I,II}	p _{I,III}	p _{II,III}
	I _{II} ГС (n=25*)		II _{II} ГС (n=38*)		III _{II} ГС (n=39*)				
	абс.	%	абс.	%	абс.	%			
Дисбиоз влагалища	9	36	7	18,4	4	10,2	0,2039	0,0296	0,4855
Ранний токсикоз беременных	7	28	10	26,3	11	28,2	1,0005	1,005	1,0005
Угроза прерывания беременности	17	68	19	50	15	38,5	0,2501	0,0405	0,4301
Отслойка хориона с формированием ретрохориальной гематомы	5	20	6	15,8	10	25,6	0,7878	0,8286	0,3166
Потеря беременности	4	16	4	10,5	1	2,6	0,8018	0,1401	0,3404

*число пациенток, находящихся на динамическом наблюдении после регистрации клинической беременности

Согласно полученным данным, у пациенток III группы сравнения выявлены значимо более низкие показатели частоты регистрации дисбиоза влагалища и угрозы прерывания беременности в I триместре гестации по сравнению аналогичными показателями I группы сравнения.

Данные об исходах индуцированной беременности в группах сравнения представлены в таблице 3.6.5.

Таблица 3.6.5 – Исходы индуцированных беременностей

Показатель	Число наблюдений						p _{I,II}	p _{I,III}	p _{II,III}
	I _{II} ГС (n=25*)		II _{II} ГС (n=38*)		III _{II} ГС (n=39*)				
	абс.	%	абс.	%	абс.	%			
Потеря беременности 12–22 недель	2	8	1	2,6	0	0	0,7083	0,2908	0,9901
Роды, 22–27 недель гестации	1	4	2	5,2	1	2,6	1,0005	1,0005	0,9823
Роды, 28–37 недель гестации	5	20	8	21	8	20,5	1,0005	1,0005	1,0005
Роды, 38 недель гестации и более	13	52	23	60,5	29	74,3	0,6827	0,1171	0,2934
Всего живорождений	18	72	31	81,6	37	94,9	0,5586	0,0282	0,1445

*число пациенток, находящихся на динамическом наблюдении после регистрации клинической беременности

Следует отметить, что частота срочных родов живым плодом при расчете на всех участников исследования составила 15,8% (13/82) в I группе сравнения, 28,75% (23/80) во II группе сравнения, 37,6% (29/77) в III группе сравнения. Значимые различия по показателю частоты завершения программы ЭКО и ПЭ срочными родами живым плодом были зарегистрированы между I и III группами сравнения ($\chi^2=8,6277$, $p=0,0042$).

Данные оценки клинического эффекта мониторинга микроценоза влагалища и профилактики дисбиоза влагалища в программе ЭКО и ПЭ с позиций доказательной медицины представлены в таблице 3.6.6.

Таблица 3.6.6 – Показатели эффективности алгоритмов оптимизации тактики ЭКО и ПЭ

ГС	Показатели				
	ЧИЛ %	ЧИК %	ПОП %	ПАП%	ЧБНЛ
	Частота регистрации клинической беременности				
I _{II} и II _{II}	47,5	30,5	55,7	17	6
I _{II} и III _{II}	50,6	30,5	65,9	20,1	5
Частота родов живым плодом					
I _{II} и II _{II}	38,75	21,9	76,9	16,85	6
I _I и III _{II}	48,0	21,9	81,19	26,1	4

Согласно представленным данным, показатель повышения относительной пользы (ПОП), характеризующий клиническую значимость лечебно-диагностических мероприятий, превышал критический уровень 50% как при анализе эффективности раннего мониторинга и коррекции дисбиоза влагалища в программе ЭКО и ПЭ, так и в случае оценки тактики ранней профилактики дисбиоза влагалища с помощью назначения с 5 дня стимуляции суперовуляции пребиотика из растительных моносахаридов, при этом эффективность алгоритма повышения результативности ЭКО и ПЭ, реализованного в III группе сравнения, оказалась наибольшей.

На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. В отсутствие диагностики и лечения ЛДЖ у пациентки на этапе прегравидарной подготовки, а также мониторинга и коррекции микроценоза влагалища в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ частота выявления дисбиоза влагалища на 21 день после переноса эмбрионов составляет 19,5%, при этом дисбиоз влагалища значимо чаще выявляется у пациенток с отсутствием клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ ($p=0,0410$).
2. На фоне диагностики и лечения ЛДЖ с проведением профилактики дисбиоза влагалища пребиотиком из растительных моносахаридов в цикле стимуляции суперовуляции нормальное состояние влагалищной микробиоты при исследовании на 21 день после эмбриотрансфера регистрируется у 85,7% пациенток, что значимо превышает показатели частоты выявления нормоценоза влагалища в отсутствие ранее проведенных коррекционных мероприятий.
3. На фоне диагностики и коррекции ЛДЖ с проведением мониторинга и коррекции микроценоза влагалища в цикле стимуляции суперовуляции в программе ЭКО и ПЭ частота регистрации клинической беременности у пациенток выше в 1,56 раза, чем при отсутствии коррекционных мероприятий ($p=0,0396$). На фоне дополнительной профилактики дисбиоза влагалища с назначением пребиотика из растительных моносахаридов в цикле стимуляции суперовуляции частота наступления клинической беременности у пациенток выше в 1,67 раза, чем при отсутствии коррекционных мероприятий ($p=0,0158$).
4. У пациенток, получавших пребиотик из растительных моносахаридов в цикле стимуляции суперовуляции в программе ЭКО и ПЭ на фоне предшествующей коррекции ЛДЖ, отмечается значимое снижение частоты следующих осложнений I триместра индуцированной гестации: дисбиоз влагалища – в 3,56 раза ($p=0,0296$), угроза прерывания беременности в I триместре – 1,76 раза ($p=0,0405$) по сравнению с аналогичными показателями в случае реализации программы ЭКО и ПЭ по общепринятым стандартам.
5. Завершение программы ЭКО и ПЭ родами живым плодом у пациенток, получавших превентивную поддержку колонизационной резистентности

влагалища пребиотиком из растительных моносахаридов в цикле стимуляции суперовуляции на фоне предшествующего выявления и лечения ЛДЖ, регистрируется значимо чаще ($p=0,0042$) по сравнению с пациентками, которым коррекционные мероприятия не проводились.

6. В процессе проспективного сравнительного исследования в параллельных группах доказана клиническая эффективность и целесообразность диагностики и лечения ЛДЖ на этапе прегравидарной подготовки пациентки с последующим мониторингом и профилактикой нарушений микроценоза влагалища путем назначения пребиотика из растительных моносахаридов в цикле стимуляции суперовуляции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На первом этапе настоящего исследования с помощью методов дескриптивной статистики, мультиномиальной и бинарной логистической регрессии нами были определены предикторы результативности метода ЭКО и ПЭ, выявляемые на этапе прегравидарной подготовки, а также в ходе реализации протоколов стимуляции суперовуляции, трансвагинальной пункции фолликулов, оплодотворения ооцитов, культивирования и переноса эмбрионов в полость матки.

Согласно полученным результатам, при определении индивидуальной вероятности успешного исхода программы ЭКО и ПЭ на этапе прегравидарной подготовки супружеской пары в качестве значимых прогностических факторов следует рассматривать возраст пациентки, наличие в анамнезе пациентки самопроизвольной беременности и родов живым плодом, передне-задний размер матки, наличие седловидной матки, уровень АМГ, наличие бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, наличие тромбофилии у пациентки, наличие ЛДЖ у пациентки, совпадение более двух локусов системы HLA в супружеской паре.

Проведенный в рамках настоящего исследования первичный сравнительный анализ *возраста пациентки* в группах с отсутствием и наличием клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ не выявил значимых различий по данному параметру: средние показатели возраста женщины, состоящей в бесплодном браке, составили 34 (31–38) года и 33 (30–35) года в случае неудачной и успешной попытки ЭКО и ПЭ, соответственно ($p=0,06$). Использование методов мультиномиальной и бинарной логистической регрессии, позволяющих осуществлять интегративную оценку прогностической значимости множества параметров с учетом неоднородности групп сравнения и взаимного влияния различных клинических факторов, позволило нам доказать значимость возраста пациентки как независимого предиктора результативности программы ЭКО и ПЭ

при определении вероятности регистрации клинической беременности (ОШ 1,090; ДИ 1,025–1,160 при прогнозе отрицательного результата). Полученные данные согласуются с результатами исследования S. Bhattacharya и соавт.: согласно итогам многофакторного анализа 121744 циклов ЭКО и ПЭ, ключевым предиктором как общей результативности, так и результативности отдельных этапов реализации программы ЭКО и ПЭ является возраст пациентки [Bhattacharya S., Maheshwari A., Mollison J., 2013].

При первичном сравнительном анализе данных репродуктивного анамнеза пациенток, состоящих в бесплодном браке, мы установили значимо более высокую частоту самопроизвольной и индуцированной беременности, завершившейся родами живым плодом, в анамнезе у пациенток с подтвержденной в результате настоящей попытки ЭКО и ПЭ клинической беременностью. Самопроизвольная беременность, завершившаяся родами, отмечена у 5,6% (11/195) и 12,4% (19/153) пациенток с отсутствием и наличием клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ, соответственно ($p=0,0411$). Беременность в результате ЭКО, завершившаяся родами живым плодом, отмечена у 2,6% (5/195) и 7,8% (12/153) пациенток с отрицательным и успешным результатом этапа регистрации клинической беременности в настоящем исследовании ($p=0,0438$). При интегративной оценке данных с помощью метода мультиномиальной логистической регрессии мы установили *прогностическую значимость наличия в анамнезе пациентки родов живым плодом в результате самопроизвольной беременности*: данный параметр является независимым положительным предиктором при определении вероятности регистрации клинической беременности, потери беременности и родов живым плодом в результате ЭКО и ПЭ (ОШ 0,488, 95% ДИ 0,249–0,955 при оценке вероятности отрицательного результата). Согласно нашим данным, *наличие в анамнезе пациентки самопроизвольной беременности* также является значимым положительным прогностическим фактором при определении вероятности получения в программе ЭКО и ПЭ эмбрионов высокого качества (ОШ 2,33, 95% ДИ 1,20–4,52).

Данные о взаимосвязи структурно-функциональных особенностей матки и результативности ЭКО и ПЭ до настоящего времени противоречивы. В нашем исследовании при первичном сравнительном анализе ультразвуковых морфометрических параметров матки, в том числе толщины эндометрия как на этапе прегравидарной подготовки, так и на момент переноса эмбрионов, значимых различий в группах с отрицательным и успешным результатом лечения выявлено не было. При последующем многофакторном анализе данных мы определили прогностическую значимость параметра *передне-заднего размера матки* при определении вероятности клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ (ОШ 0,955; ДИ 0,915–0,996). Полученные результаты согласуются с данными А. А. Амировой: при анализе 279 циклов ЭКО и ПЭ в группах сравнения, сформированных в зависимости от наличия клинической беременности, были выявлены значимые различия по показателям передне-заднего размера матки и толщины эндометрия в день введения разрешающей дозы ХГЧ, при этом результаты последующего многофакторного анализа массива данных с помощью метода бинарной логистической регрессии позволили автору сделать вывод о том, что показатель передне-заднего размера матки менее 36 мм является значимой характеристикой, прогнозирующей отсутствие беременности в результате ЭКО и ПЭ [Амирова А.А., 2011].

В исследовании Р. Lesny представлены данные сравнительного анализа зональной анатомии матки на различных этапах программы ЭКО и ПЭ: в группах сравнения, сформированных согласно наличию клинической беременности, не было выявлено значимых различий по показателям передне-заднего размера матки, толщины эндометрия и миометрия, а также толщины переходной зоны на этапе начала стимуляции суперовуляции, однако в группе пациенток с успешным результатом программы были выявлены более высокие показатели передне-заднего размера матки и толщины переходной зоны при исследовании на момент переноса эмбрионов в полость матки (передне-задний размер матки $36,2 \pm 4,1$ мм и $38,9 \pm 4,9$ мм, $p < 0,02$, толщина переходной зоны $4,2 \pm 1,5$ мм и $5,1 \pm 1,1$ мм, $p < 0,01$, в группах с отсутствием и наличием клинической беременности, соответственно),

[Lesny P. et al., 1999]. Взаимосвязь морфометрических особенностей матки и результата программы ЭКО и ПЭ также выявлена L.K. Hawkins и соавт.: при анализе 8981 циклов ЭКО и ПЭ, реализованных у пациенток без структурных аномалий матки, значимо более низкая частота наступления беременности и родов, а также высокая частота ранней потери беременности регистрировалась в случаях наличия длины матки менее 6 см (ОР 0,53, 95% ДИ 0,35–0,81 при прогнозе живорождения) [Hawkins L.K. et al., 2013].

Согласно полученным в настоящем исследовании результатам, частота выявления *седловидной матки* у пациенток с отсутствием и наличием клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ была сопоставимой: 6,6% (13/195) и 9,8% (15/153), соответственно ($p=0,3853$). Интегративная оценка клинических данных пациентов с помощью метода бинарной логистической регрессии позволила нам определить *наличие седловидной матки* в качестве *независимого прогностического фактора*, снижающего вероятность регистрации клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ (ОШ 2,323, 95% ДИ 1,025–5,263 при оценке вероятности отрицательного результата). Полученные данные согласуются с результатами ряда исследований, свидетельствующими о значимом снижении частоты наступления беременности и живорождения как в случаях наличия неполной маточной перегородки и двурогой матки, так и в случаях седловидной матки [Tomažević T., Van-Frangež H., Virant-Klun I., 2010; Abuzeid M. et al., 2014]. В качестве патогенетической основы выявленной связи рассматриваются локальные аномалии архитектоники микроциркуляторного русла в миометрии и эндометрии, а также локальное нарушение экспрессии в эндометрии лиганда MECA 79 к L-селектину бластоцисты [Red-Horse K. et al., 2004]. Ряд авторов оспаривает взаимосвязь малых аномалий развития матки и снижения репродуктивного потенциала [Rackow B.W., Arici A., 2007, S.J. Mucowski et al., 2010]. Существующие противоречия в значительной степени объясняются различными подходами к терминологии, классификации, принципам диагностики малых аномалий развития матки [Grimbizis G.F. et al., 2012; Smit J.G., Overdijkink S., Mol B.W., 2015]. Использование в клинической и

исследовательской практике новой классификационной системы аномалий развития матки, представленной Европейским обществом репродукции человека и эмбриологии в 2013 году, позволит сформировать единые представления о тактике реализации вспомогательных репродуктивных технологий в данной когорте пациентов [Grimbizis G.F. et al., 2013]. Таким образом, выявленная нами прогностическая значимость показателей *передне-заднего размера матки* и *наличия седловидной матки* дополняет существующие противоречивые данные о взаимосвязи морфометрических особенностей матки и результативности ЭКО и ПЭ и обосновывает актуальность дальнейших исследований в данном направлении.

Результаты нашего исследования свидетельствуют о значимой взаимосвязи уровня АМГ, соответствующего тенденции к снижению овариального резерва, и результата этапа регистрации клинической беременности в программе ЭКО и ПЭ: при наличии показателя АМГ менее 1,5 нг/мл данный параметр является прогностически значимым с ОШ 2,562 (95% ДИ 1,455–4,510) для оценки отрицательного результата. Полученные данные согласуются с результатами систематического обзора и мета-анализа, представленными R. Tal и соавт. в 2015 году: уровень АМГ является независимым предиктором результата этапа имплантации эмбрионов с ОШ 1,83 (95% ДИ 1,49–2,25) в общей популяции и ОШ 2,1 (95% ДИ 1,82–2,41) в когорте пациенток с диагностированным снижением овариального резерва [Tal R. et al, 2015].

Согласно полученным в нашем исследовании результатам, вероятность получения эмбрионов высокого качества в программе ЭКО и ПЭ значимо снижается при наличии у пациентки бесплодия, ассоциированного с эндометриозом (ОШ 0,45; 95% ДИ 0,23 – 0,89 при прогнозировании наличия 2 и более эмбрионов высокого качества). Патогенетическое обоснование взаимосвязи снижения качества эмбрионов у пациенток с эндометриозом представлено в исследовании В. Ху, опубликованном в 2015 году. Авторами проведен сравнительный анализ ультраструктурных особенностей ооцитов, полученных в результате пункции фолликулов в программах ЭКО и ПЭ у пациенток с малыми

формами эндометриоза (группа исследования) и изолированным трубным фактором бесплодия (группа контроля). Согласно данным трансмиссионной электронной микроскопии и ПЦР в реальном времени, ооциты пациенток с малыми формами эндометриоза характеризуются значимо более низким числом митохондрий по сравнению с группой сравнения, а также высоким уровнем аномальной вакуолизации митохондриального аппарата [Xu B. et al., 2015].

Согласно полученным в нашем исследовании данным, *тромбофилия* у пациентки, состоящей в бесплодном браке, является одним из значимых прогностических факторов, выявляемых на этапе подготовки к программе ЭКО и ПЭ (ОШ 0,481, 95% ДИ 0,244–0,950 при определении вероятности завершения программы родами живым плодом). В изучаемой когорте пациентов тромбофилия была диагностирована у 23,1% (45/195) и 26,1% (40/153) женщин с отсутствием и наличием клинической беременности, соответственно ($p=0,5925$). Следует отметить, что в рамках настоящего исследования при подготовке данных для статистического анализа в подгруппу «тромбофилия» включались только пациентки, имеющие документально подтвержденные данные о ранее выявлявшихся или впервые выявленных на этапе прегравидарной подготовки лабораторных признаках гиперкоагуляционного синдрома. Все пациентки с верифицированной тромбофилией имели те или иные наследственные и приобретенные факторы тромбогенного риска (семейный тромботический анамнез, носительство тромбогенных аллелей генов системы гемостаза, выявление антифосфолипидных антител в диагностическом титре в анамнезе, варикозная болезнь вен нижних конечностей, гиподинамия). Индивидуальная тактика прегравидарной подготовки и реализации программы ЭКО и ПЭ у пациенток с тромбофилией в рамках настоящего исследования проводилась в сопровождении специалистов по профилю выявленной патологии (гематолог, флеболог). При сравнительном анализе отдельных показателей коагулограммы, зарегистрированных на этапе начала стимуляции суперовуляции, а также частоты и структуры полиморфизмов генов системы гемостаза у пациенток с отсутствием и наличием клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ значимых

различий выявлено не было, при последующем многофакторном анализе самостоятельная прогностическая значимость отдельных параметров коагуляционного потенциала крови также не была установлена. Отсутствие значимых различий по отдельным показателям может объясняться адекватным объемом проводившихся на этапе прегравидарной подготовки коррекционных мероприятий, однако, с другой стороны, на основании результатов последующего многофакторного анализа мы также можем рассматривать наличие у пациентки тромбофилии как неблагоприятный прогностический фактор, сохраняющий свою значимость и на фоне комплексной патогенетической терапии.

Роль повышенного тромбогенного потенциала крови в формировании дефектов плацентогенеза, а следовательно и в развитии синдрома привычной потери беременности, представляется очевидной, однако результаты многочисленных исследований прогностической значимости параметров гемостаза, а также эффективности антикоагулянтной и антиагрегантной терапии в группах пациенток с синдромом привычного невынашивания беременности, бесплодием неясного генеза, множественными неудачами ЭКО и ПЭ, до настоящего времени противоречивы. Согласно данным M. Di Nisio и соавт., у пациенток с отсутствием имплантации эмбрионов в программе ЭКО и ПЭ наблюдаются значимо более высокие показатели уровня D-димера в плазме крови на момент назначения триггера овуляции, при этом выявленная взаимосвязь остается значимой при обработке данных с помощью многофакторного анализа [Di Nisio M. et al., 2014]. Полученные данные обосновывают гипотезу о возможности значимого повышения эффективности лечения бесплодия в результате проведения антитромботической терапии у пациенток с множественными неудачами ЭКО и ПЭ. Согласно результатам систематического обзора и мета-анализа, представленного N. Potdar и соавт., применение низкомолекулярных гепаринов у пациенток с тремя и более эпизодами отсутствия имплантации эмбрионов в анамнезе ассоциировано с повышением показателя частоты родов живым плодом в результате изучаемой попытки ЭКО и ПЭ (ОР 1,79, 95% ДИ 1,10–2,90) [Potdar N. et al., 2013]. Аргументы в пользу противоположной точки

зрения поддерживают результаты систематического обзора Cochrane collaboration, объединившего данные изучения эффективности профилактической антитромботической терапии у 1228 пациенток с привычной потерей беременности, как в отсутствие патологии системы гемостаза, так и с верифицированной тромбофилией. Согласно полученным данным, значимого повышения частоты родов живым плодом в результате применения различных схем профилактической антитромботической терапии (аспирин, нефракционированный гепарин, низкомолекулярные гепарины) по сравнению с плацебо выявлено не было [de Jong P.G. et al., 2014]. Таким образом, полученные нами данные о прогностической значимости отдельных параметров гемостаза, а также тромбофилии как управляемого предиктора результативности ЭКО и ПЭ дополняют существующие противоречивые сведения и обосновывают актуальность дальнейших исследований в данном направлении.

Согласно результатам нашего исследования, *латентный дефицит железа*, регистрируемый у пациентки на этапе прегравидарной подготовки, является независимым предиктором отсутствия имплантации эмбрионов в программе ЭКО и ПЭ (ОШ 2,122; 95% ДИ 1,057–4,224). Полученные данные согласуются с результатами исследования О.В. Самыкиной: при анализе 443 протоколов ЭКО и ПЭ у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия выявлено снижение частоты наступления беременности в 1,7 раза в группе пациенток с ЛДЖ [Самыкина О.В., 2014]. Функциональной основой выявленной взаимосвязи может являться снижение экспрессии в эндометрии железосодержащего фермента циклооксигеназы-2, опосредующего изменение проницаемости сосудов микроциркуляторного русла на этапе имплантации эмбрионов [Цаплина Л.А., 2007]. Значимость ЛДЖ как *управляемого клинического предиктора* результативности ЭКО и ПЭ также была подтверждена на втором этапе нашего исследования: частота регистрации клинической беременности у пациенток с трубным бесплодием в отсутствие диагностики и коррекции ЛДЖ на этапе прегравидарной подготовки и при наличии таковой составила 30,5% (25/82) и 47,5% (38/80), соответственно ($p=0,0396$).

Согласно результатам нашего исследования, *совпадение 2 и более локусов системы HLA в супружеской паре* является независимым прогностическим фактором, снижающим вероятность завершения предстоящей попытки ЭКО и ПЭ родами живым плодом (ОШ 0,445, 95% ДИ 0,209–0,947). Следует отметить, что при первичном анализе данных в группах, сформированных в зависимости от результатов этапа регистрации клинической беременности, мы выявили невысокую распространенность случаев совпадения более 2 локусов системы HLA у супругов при отсутствии значимых различий по данному показателю: 10,3% (20/195) и 9,8% (15/153) наблюдений в группах с отрицательным результатом и верифицированной клинической беременностью, соответственно ($p=1,0005$). Полученные данные могут быть подтверждением широко обсуждаемой гипотезы о патогенетической роли аллоиммунного фактора, в частности совпадения по локусам системы HLA в супружеской паре, в генезе привычного невынашивания беременности и множественных неудачных попыток ЭКО и ПЭ [Creus M. et al, 1998; Beydoun H., Saftlas A.F., 2005; Varla-Leftherioti M. et al., 2010; Сухих Г.Т., Ванько Л.В., 2012; Gharesi-Fard B., Askarinejad-Behbahani R., Behdin S., 2014; Zheng J. et al., 2016; Хорошкеева О.В. и соавт., 2016]. Обоснованность идентификации иммунологического фактора бесплодия на основании результатов HLA-типирования, определения спектра цитотоксических антител, активности NK-клеток многими исследователями ставится под сомнение ввиду отсутствия единых диагностических критериев и убедительной доказательной базы [Porter T.F., La Coursiere Y., Scott J.R., 2006; Wong L.F., Porter T.F., Scott J.R., 2014]. Результаты систематического обзора и мета-анализа, представленные Т. Meuleman и соавт. в 2015 году, не разрешают существующие противоречия: авторы сообщают о выявленной значимой взаимосвязи привычного невынашивания беременности с наличием совпадений по локусам HLA-B (ОР 1,39, 95% ДИ 1,11–1,75) и HLA-DR (ОР 1,57, 95% ДИ 1,10–1,25) в супружеской паре, однако указывают на необходимость осторожной интерпретации полученных данных [Meuleman T. et al, 2015]. Решение вопроса о целесообразности рутинного HLA-типирования супружеской пары и

прогностической значимости полученных результатов имеет несомненный интерес для организации практики ВРТ, однако еще более значимой проблемой является разработка единой тактики верификации и коррекции аллоиммунного фактора бесплодия. Результаты систематического обзора и мета-анализа, представленные Cochrane collaboration в 2006 году и дополненные 2014 году, свидетельствуют об отсутствии значимого повышения частоты родов живым плодом в когорте пациентов с привычным невынашиванием беременности после проведения лимфоцитоиммунотерапии, так же как и после внутривенного введения иммуноглобулина, по сравнению с плацебо [Porter T.F., La Coursiere Y., Scott J.R., 2006; Wong L.F., Porter T.F., Scott J.R., 2014]. Таким образом, прогностическая значимость отдельных иммунологических параметров в настоящее время уточняется, при этом обоснованные методы коррекции аллоиммунного фактора бесплодия, согласно доминирующей в мировом научном сообществе точке зрения, в настоящее время отсутствуют.

Согласно результатам нашего исследования, основными прогностически значимыми факторами, определяемыми в ходе реализации стандартных протоколов ЭКО и ПЭ, являются общее число ооцитов, полученных при трансвагинальной пункции фолликулов, число полученных эмбрионов хорошего качества и момент переноса эмбрионов в полость матки.

Взаимосвязь результативности программы ЭКО и ПЭ и *момента переноса эмбрионов в полость матки* является наиболее контроверсионным вопросом современной репродуктологии [Maheshwari A. et al., 2013]. Результаты нашего исследования свидетельствуют о преимуществе переноса эмбрионов на 5 сутки (стадия бластоцисты), при этом прогностическая значимость данного параметра была выявлена как при расчете вероятности имплантации эмбрионов и пролонгирования клинической беременности, так и при прогнозе живорождения в результате ЭКО и ПЭ (ОШ для показателя момента переноса эмбрионов в полость матки 0,611 (95% ДИ 0,475–0,786) при прогнозе отсутствия имплантации; ОШ 0,705, 95% ДИ 0,547–0,907 при прогнозе потери беременности до 12 недель; ОШ 1,375, 95% ДИ 1,068–1,771 при прогнозе живорождения). Результаты

систематического обзора, представленного D. Glujovsky и соавт. в 2012 году, свидетельствуют о более высокой частоте живорождения в случае переноса эмбрионов на стадии бластоцисты (12 РКИ, 1510 пациенток, ОР 1,40, 95% ДИ 1,13–1,74), однако при сравнительном анализе частоты наступления беременности результаты программ с переносом эмбрионов на 2-3 и 5-6 сутки были сопоставимы (23 РКИ, 95% ДИ 0,99–1,32), [Glujovsky D., 2012]. Согласно данным систематического обзора, представленного S. Dar и соавт. в 2014 году, при переносе эмбрионов на 5 сутки наблюдается значимо более высокая частота родов в сроке 32-37 недель гестации (ОШ 1,32, 95% ДИ 1,19–1,46), однако при сравнении частоты очень ранних преждевременных родов, а также показателей массы тела при рождении значимых различий в программах с переносом эмбрионов на 2-3 сутки и 5-6 сутки выявлено не было [Dar S. et al., 2014]. Результаты исследования M. Maxwell, представленные в 2015 году, свидетельствуют об отсутствии значимой взаимосвязи момента переноса эмбрионов в полость матки и частоты преждевременных родов, гестационного возраста и массы плода при рождении [Maxwell M. et al., 2015].

При сравнительной оценке предикторов результативности ЭКО и ПЭ, выявляемых в ходе реализации программы, мы установили наибольшую прогностическую значимость параметра *общего числа эмбрионов хорошего качества*. Данному показателю соответствовали наибольшие модули стандартизованного коэффициента регрессии как в математической модели прогнозирования общей результативности метода, так и в моделях прогнозирования наличия клинической беременности и родов живым плодом. Сделанные нами выводы подтверждаются результатами многофакторного анализа 2450 циклов ЭКО и ПЭ, представленными Q.F. Cai и соавт. в 2011 году: наиболее значимым независимым предиктором успешного исхода программы ЭКО и ПЭ является общее число полученных эмбрионов хорошего качества. Интересно отметить, что сравнительный анализ прогностической мощности параметров возраста пациентки и числа полученных эмбрионов хорошего качества, проведенный авторами в различных возрастных группах, свидетельствует о

преимущественной значимости эмбриологических параметров в когорте пациенток до 35 лет (AUC 0,756, 95% ДИ 0,735–0,777 для показателя GQE, AUC 0,540, 95% ДИ 0,515–0,566 для показателя возраста пациентки). В группе пациенток старше 35 лет значимость показателей возраста и данных эмбриологического этапа программы по данным Q.F. Cai и соавт. оказалась сопоставимой (AUC 0,654, 95% ДИ 0,477–0,831 для показателя GQE, AUC 0,734, 95% ДИ 0,586–0,883 для показателя возраста пациентки) [Cai Q.F. et al., 2011].

Предположение о преимущественной прогностической значимости данных эмбриологического этапа подтверждается и результатами проведенной в нашем исследовании сравнительной оценки адекватности различных математических моделей результативности ЭКО и ПЭ. Так, математическая модель прогнозирования общей результативности ЭКО и ПЭ на основе данных о возрасте пациентки, наличии родов живым плодом в анамнезе, уровне АМГ обеспечивала 59% точных отнесений. Использование в качестве потенциальных предикторов данных эмбриологического этапа программы позволило повысить качество прогноза: показатель конкордантности для модели, использующей данные о моменте переноса эмбрионов в полость матки и общем числе эмбрионов хорошего качества составил 63,4%. Математическая модель прогнозирования вероятности регистрации клинической беременности в результате ЭКО и ПЭ с использованием параметров возраста, морфометрической характеристики матки и характеристики овариального резерва пациентки обеспечила точность прогноза 65,5%, чувствительность и специфичность – 54,6% и 72,5%, соответственно. Включение в перечень потенциальных предикторов результативности этапа регистрации клинической беременности данных эмбриологического этапа программы так же повысило прогностическую мощность полученной модели: процент верных отнесений для алгоритма, использующего данные о наличии ЛДЖ у пациентки, числе полученных эмбрионов высокого качества и моменте переноса эмбрионов в полость матки, составил 71,8%, чувствительность и специфичность составили 54,6% и 86,1%, соответственно. Наибольшую прогностическую мощность продемонстрировал полученный нами алгоритм

определения вероятности завершения программы ЭКО и ПЭ родами живым плодом: математическая модель, использующая данные о наличии тромбофилии у пациентки, совпадении более 2 локусов системы HLA в супружеской паре, количестве полученных эмбрионов хорошего качества и моменте переноса эмбрионов в полость матки, характеризовалась точностью прогноза 70,1%, чувствительностью и специфичностью – 60,6% и 80,2%, соответственно. Таким образом, на основании полученных в ходе нашего исследования результатов можно утверждать, что возможности математического моделирования вероятности неблагоприятного исхода программы ЭКО и ПЭ на этапе прегравидарной подготовки супружеской пары ограничены, тогда как наибольшую прогностическую точность имеют математические алгоритмы, использующие данные эмбриологического этапа программы ЭКО и ПЭ.

Особого внимания заслуживают полученные в настоящем исследовании результаты *мониторинга микроценоза и потенциала колонизационной резистентности влагалища* в программе ЭКО и ПЭ. В отсутствие профилактических мероприятий в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ частота выявления дисбиоза влагалища на момент переноса эмбрионов в полость матки составила 12,6%, на 21 день после переноса эмбрионов – 19,5%. Развитие дисбиоза влагалища в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ является значимым управляемым предиктором отсутствия клинической беременности (ОШ 1,375, 95% ДИ 1,068–1,771).

В доступной нам литературе данные изучения динамики биоценоза влагалища на различных этапах программы ЭКО и ПЭ ограничены результатами небольшого числа исследований.

В исследовании Т. Jacobsson и U. Forsum проведен анализ динамики видового состава *Lactobacillus* во влагалище в сопоставлении с уровнем эстрадиола плазмы крови в цикле стимуляции суперовуляции программы ЭКО и ПЭ. У 10 из 17 обследованных пациенток состав *Lactobacillus* вагинального микроценоза был представлен *L. crispatus*, *L. gasseri* и/или *L. jensenii*, в 3 наблюдениях отмечено преобладание видов *L. delbrueckii*, *L. rhamnosus*, *L.*

vaginalis, у одной пациентки – *L. iners*. У большинства пациенток в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ отмечалась минимальная вариация состава *Lactobacillus* в пределах исходно выявленного спектра микроорганизмов. В 3 наблюдениях из 17 в составе *Lactobacillus* исходно доминировали *L. rhamnosus* и *L. reuteri*, однако при прогрессирующем повышении уровня эстрадиола в плазме крови в цикле стимуляции суперовуляции у данных пациенток произошло изменение состава доминирующей микрофлоры в пользу *L. crispatus*, *L. gasseri* и *L. jensenii*. На основании полученных данных авторы высказали предположение о том, что прогрессирующее повышение уровня эстрадиола в цикле стимуляции суперовуляции является промотором преимущественной колонизации влагалища видами *Lactobacillus*, характерными для стабильного вагинального нормоценоза, однако выявление статистически значимых закономерностей в данном исследовании не проводилось. Дизайн исследования также не предполагал оценку состава других представителей микроценоза влагалища в цикле ЭКО и ПЭ [Jakobsson T., Forsum U., 2008].

В исследовании R.W. Нутан и соавт. с помощью метода секвенирования генома проведен мониторинг микробиома влагалища в сопоставлении с уровнем эстрадиола и прогестерона плазмы крови 30 пациенток в программе ЭКО и ПЭ на этапах начала стимуляции суперовуляции, поздней фолликулиновой фазы индуцированного цикла (за день до назначения триггера овуляции), на момент переноса эмбрионов в полость матки и на 6–8 неделе индуцированной беременности. На момент начала стимуляции суперовуляции у 26 из 29 обследованных в микрофлоре влагалища доминировали представители *Lactobacillus*, при этом данная тенденция сохранялась до назначения триггера овуляции (27 из 29 пациенток), что соответствовало фазе прогрессирующего роста уровня эстрадиола в плазме крови. К моменту переноса эмбрионов в полость матки, на фоне значимого снижения уровня эстрадиола, микробиом влагалища был представлен только *Lactobacillus* лишь у 18 из 30 обследованных. В 8 из 30 наблюдений в вагинальном микроценозе доминировал один из представителей *Enterococcus*, *Anaerococcus*, *Finegoldia*, *Flavobacterium*,

Escherichia, *Prevotella*. Промежуточный тип микроценоза, характеризующийся сочетанием *Lactobacillus* с *Flavobacteria* и *Prevotella*, был выявлен у 4 пациенток. При статистическом анализе полученных данных авторы выявили значимую взаимосвязь параметров относительного снижения уровня эстрадиола в плазме крови и изменения состава микрофлоры влагалища, регистрирующихся в период от назначения триггера овуляции до переноса эмбрионов в полость матки ($p=0,003$). При анализе взаимосвязи динамики микробиома влагалища и живорождения в результате ЭКО и ПЭ авторы выявили значимо более высокий индекс разнообразия Шеннона, регистрирующийся при анализе вагинального секрета в день переноса эмбрионов в полость матки в группе пациенток с неудачным исходом программы. Нулевые значения индекса Шеннона, соответствующие стабильному паттерну микроценоза влагалища с доминированием *Lactobacillus* на всех этапах реализации программы ЭКО и ПЭ, являлись значимым предиктором живорождения в результате индуцированной беременности [Hyman R.W. et al., 2012].

В нашем исследовании выявлены достоверно более низкие значения *амилолитической активности отделяемого влагалища* у пациенток с дисбиозом влагалища в цикле ЭКО и ПЭ. Активность тканевых амилолитических ферментов, определяющая биодоступность эпителиального гликогена, в настоящее время рассматривается в качестве одного из факторов колонизационной резистентности репродуктивного тракта.

Пероксид-продуцирующие штаммы *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus jensenii*, наиболее часто выявляемые в качестве доминирующих представителей микроценоза влагалища, не обладают способностью ферментировать гликоген, демонстрируют умеренный рост в среде мальтодекстрина и хорошо культивируются при наличии мономеров, димеров, тримеров и тетрамеров глюкозы [Martin R. et al., 2008, Spear G.T. et al., 2014]. Согласно данным G. T. Spear и соавт., амилолитическая активность вагинального секрета обусловлена наличием α -амилазы, кислой α -глюкозидазы и глюкоамилазы. Амилолитический профиль вагинальной жидкости соответствует

профилю активности слюнной α -амилазы с оптимумом pH 6,0–7,0, однако в ряде наблюдений выявляется стабильно высокая активность вагинального секрета в диапазоне pH 4,0–5,0 [Spear G.T. et al., 2015].

В исследовании D. Nasioudis и соавт. при сравнительном анализе компонентов вагинального секрета у пациенток с нормоценозом, вагинальным кандидозом и бактериальным вагинозом выявлена значимая корреляция уровня α -амилазы и концентрации D-изомера молочной кислоты, гиалуронидазы-1, матриксной металлопротеиназы-8, секреторного ингибитора лейкоцитарной протеазы, нейтрофильного желатиназо-ассоциированного липокалина. На основании полученных данных авторы представили концепцию механизма колонизационной резистентности влагалища, основанную на тонкой взаимосвязи процессов десквамации и лизиса эпителиальных клеток, гидролиза свободного гликогена и секреции ингибиторов роста транзитной микрофлоры [Nasioudis D. et al., 2015].

В нашем исследовании была выявлена значимая взаимосвязь снижения амилолитической активности отделяемого влагалища и развития дисбиоза влагалища в программе ЭКО и ПЭ, а также значимо более *высокие показатели пренатальной потери беременности в группе пациенток с дисбиозом влагалища*. Полученные результаты согласуются с данными систематического обзора и мета-анализа, представленными N. van Oostrum и соавт. и свидетельствующими об отсутствии значимой взаимосвязи бактериального вагиноза и частоты имплантации эмбрионов в программе ЭКО и ПЭ (ОШ 1,03, 95% ДИ 0,79–1,33) и значимом повышении риска пренатальной потери индуцированной беременности (ОШ 2,36, 95% ДИ 1,24–4,51) при наличии патологического состояния микрофлоры половых путей [van Oostrum N. et al, 2013].

Полученные нами результаты позволяют предположить патогенетическую взаимосвязь снижения результативности лечения бесплодия с помощью ЭКО и ПЭ с *нарушением колонизационной резистентности влагалища*, реализующимся за счет *снижения амилолитической активности вагинального отделяемого*.

Согласно результатам исследований микробиома человека с помощью метода секвенирования генома, доминирующими представителями нормальной микрофлоры как влагалища, так и верхнего отдела репродуктивного тракта являются *Lactobacillus*. Общность механизмов формирования микроценоза нижних и верхних отделов репродуктивной системы позволяет нам также предположить, что снижение амилолитической активности влагалища у пациенток, состоящих в бесплодном браке, может сопровождаться нарушением биодоступности гликогена, а следовательно дисбиозом верхних отделов репродуктивного тракта. Таким образом, патогенез снижения репродуктивного потенциала пациентки может быть рассмотрен в концепции общего *снижения колонизационной резистентности половых путей*.

Взаимосвязь активности амилолитических ферментов женской репродуктивной системы и снижения репродуктивного потенциала может быть интерпретирована и в ином аспекте. Результаты ряда исследований доказывают значимое влияние активности амилазы на процесс капацитации сперматозоидов [Esterhuizen A.D. et al., 1995; El-Bahrawy K.A., El-Hassanein E.E., 2009]. Активность внутриклеточных и внеклеточных ферментов эндометрия и эпителиального покрова маточных труб, обеспечивающих биодоступность эпителиального гликогена, также рассматривается в качестве ключевого фактора обеспечения преимплантационного развития эмбриона.

A. Gupta и соавт. провели гистохимическое исследование биоптатов эндометрия 350 пациенток с первичным бесплодием в динамике менструального цикла. В 24,7% наблюдений секреторная трансформация эндометрия сопровождалась дефицитом внутриклеточного гликогена [Gupta A., Mathur S.K., Gupta A., 2013]. В исследовании C.J. Girish и соавт. в группе пациенток с первичным и вторичным бесплодием выявлены значимо более низкие показатели содержания гликогена в биоптатах эндометрия поздней секреторной фазы по сравнению с группой контроля [Girish C.J., et al., 2012].

В исследовании S. Ishihara и соавт. выявлены значимо более низкие показатели содержания гликогена, а также активности ферментов

внутриклеточного синтеза и фосфолиза гликогена в секреторном эндометрии пациенток с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом [Ishihara S., Taketani Y., Mizuno M., 1991]. N.W. Singh провел сравнительный анализ активности амилазы эндометриального секрета у пациенток без нарушения генеративной функции, а также в случае бесплодия более 5 лет при отсутствии патологии маточных труб и ановуляции. У инфертильных пациенток регистрировались значимо более низкие показатели амилолитической активности эндометриального секрета при исследовании во всех фазах менструального цикла [Singh V. N. , 1995].

Таким образом, образование моносахаридов и олигосахаридов в результате ферментативного гидролиза гликогена, депонированного в эпителии половых путей, является универсальным механизмом энергообеспечения как процессов оплодотворения и раннего эмбриогенеза, так и стабильности автохтонной микрофлоры репродуктивной системы. Нарушение биодоступности эпителиального гликогена является одним из звеньев патогенеза снижения репродуктивного потенциала пациентки, состоящей в бесплодном браке. Согласно данной концепции, доступным в настоящее время способом повышения результативности лечения бесплодия с помощью ЭКО и ПЭ является патогенетически обоснованная профилактика развития дисбиоза влагалища применением *пребиотика из растительных моносахаридов* на этапе стимуляции суперовуляции.

Полученные в рамках настоящего исследования данные позволили нам разработать алгоритм повышения результативности метода ЭКО и ПЭ, основанный на выявлении и коррекции управляемых клинических предикторов неблагоприятного исхода программы (схема 1). Клиническая эффективность предложенной тактики выявления и лечения ЛДЖ на этапе прегравидарной подготовки пациентки, а также мониторинга и профилактики дисбиоза влагалища в ходе реализации протокола ЭКО и ПЭ была подтверждена на втором этапе нашего исследования.

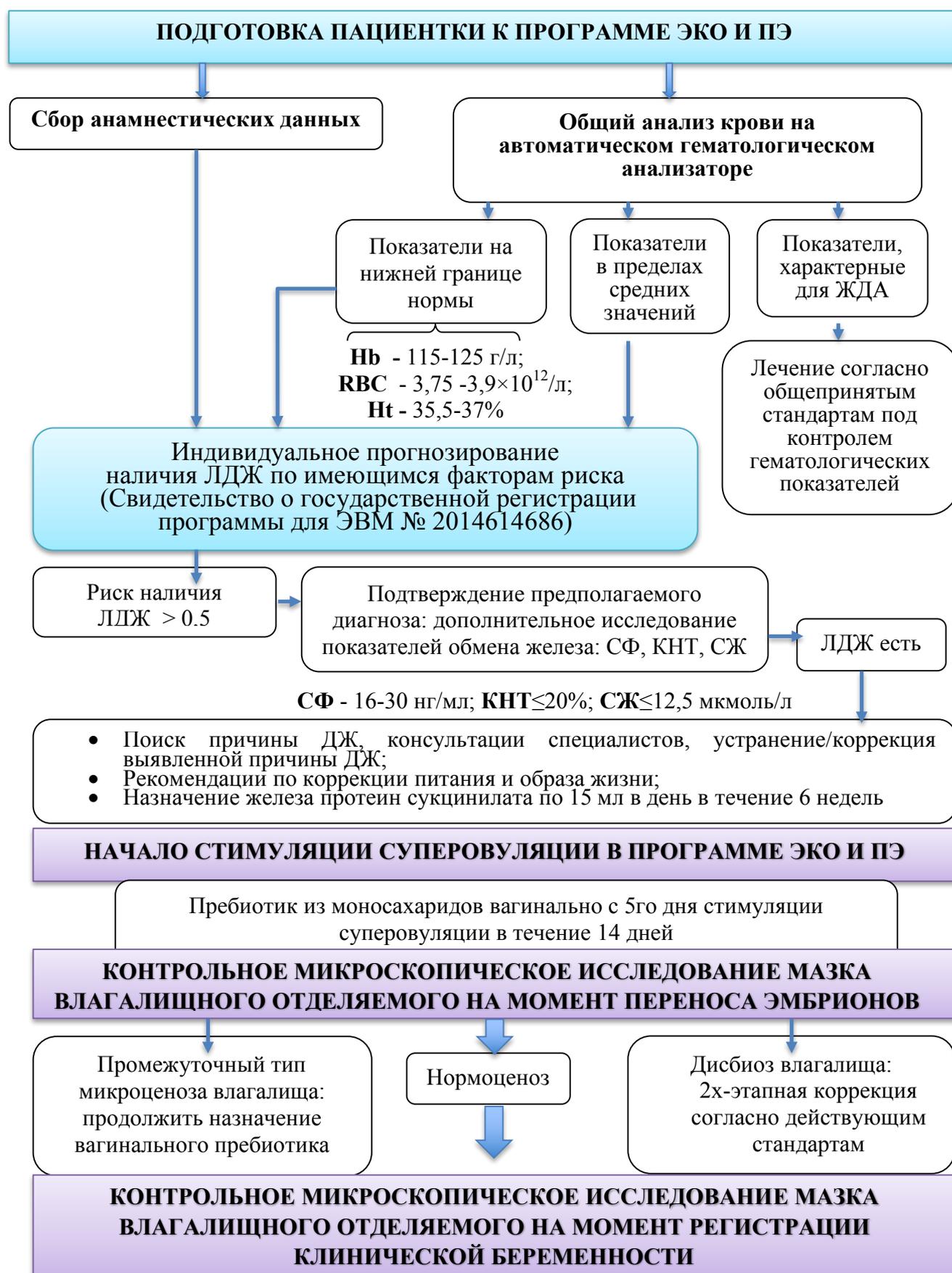


Схема 1. Алгоритм выявления и коррекции управляемых клинических предикторов результативности ЭКО и ПЭ

ВЫВОДЫ

1. На этапе прегравидарной подготовки супружеской пары в качестве значимых клинических предикторов результативности ЭКО и ПЭ следует рассматривать возраст пациентки (ОШ 1,09, 95% ДИ 1,02–1,16 при прогнозе отсутствия клинической беременности), наличие в анамнезе пациентки самопроизвольной беременности и родов живым плодом (ОШ 0,49, 95% ДИ 0,25–0,96 при прогнозе отсутствия клинической беременности), передне-задний размер матки (ОШ 0,96, 95% ДИ 0,92–0,99 при прогнозе отсутствия клинической беременности), наличие седловидной матки (ОШ 2,32, 95% ДИ 1,03–5,26 при прогнозе отсутствия клинической беременности), уровень АМГ менее 1,5 нг/мл (ОШ 2,56, 95% ДИ 1,45–4,51 при прогнозе отсутствия клинической беременности), наличие бесплодия, ассоциированного с эндометриозом (ОШ 0,45, 95% ДИ 0,23–0,89 при прогнозе наличия эмбрионов высокого качества), наличие тромбофилии у пациентки (ОШ 0,481, 95% ДИ 0,244–0,950 при прогнозе родов живым плодом), совпадение более двух локусов системы HLA в супружеской паре (ОШ 0,445, 95% ДИ 0,209–0,910 при прогнозе родов живым плодом).

2. Распространенность латентного дефицита железа у пациенток, состоящих в бесплодном браке, составляет 28,4%. Наличие латентного дефицита железа является независимым управляемым предиктором отсутствия клинической беременности в программе ЭКО и ПЭ (ОШ 2,112, 95% ДИ 1,057–4,224).

3. В ходе реализации программы ЭКО и ПЭ регистрируются следующие основные факторы, определяющие индивидуальную вероятность благоприятного исхода: общее число ооцитов, полученных при трансвагинальной пункции фолликулов (ОШ 1,09, 95% ДИ 1,03–1,15 при определении вероятности наличия эмбрионов высокого качества), число полученных эмбрионов хорошего качества (ОШ 1,884, ДИ 1,366–2,599 при определении вероятности завершения индуцированной беременности родами живым плодом), момент переноса

эмбрионов в полость матки (ОШ 1,375, 95% ДИ 1,068–1,771 при определении вероятности завершения индуцированной беременности родами живым плодом).

4. В отсутствие коррекционных мероприятий в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ частота выявления дисбиоза влагалища на момент переноса эмбрионов в полость матки составляет 12,6%, на 21 день после переноса эмбрионов – 19,5%. У пациенток с установленным на момент переноса эмбрионов в полость матки дисбиозом влагалища регистрируются значимо более низкие показатели амилотической активности вагинального отделяемого: 27 (13–37) мг/с·л и 40 (22–63) мг/с·л при наличии дисбиоза и нормоценоза влагалища, соответственно ($p=0,002$). Развитие дисбиоза влагалища в ходе реализации программы ЭКО и ПЭ является значимым управляемым предиктором отсутствия клинической беременности (ОШ 1,375, 95% ДИ 1,068–1,771).

5. На этапе прегравидарной подготовки супружеской пары возможно определение индивидуальной вероятности наступления беременности в результате ЭКО и ПЭ с использованием параметров возраста, морфометрической характеристики матки и характеристики овариального резерва пациентки с точностью 65,5%, чувствительностью и специфичностью 54,6% и 72,5%, соответственно. На основании данных о наличии тромбофилии у пациентки на этапе прегравидарной подготовки, совпадения более 2 локусов системы HLA в супружеской паре, количества полученных эмбрионов хорошего качества и момента переноса эмбрионов в полость матки возможно определение вероятности завершения программы ЭКО и ПЭ родами живым плодом с точностью 70,1%, чувствительностью и специфичностью 60,6% и 80,2%, соответственно.

6. В результате персонифицированной диагностики и коррекции латентного дефицита железа на этапе прегравидарной подготовки пациентки частота регистрации клинической беременности у пациенток выше в 1,56 раза, чем при отсутствии дополнительных мероприятий ($p=0,0396$). На фоне выявления и коррекции латентного дефицита железа на этапе прегравидарной подготовки с проведением профилактики дисбиоза влагалища назначением пребиотика из растительных моносахаридов в цикле стимуляции суперовуляции частота

регистрации клинической беременности у пациенток выше в 1,67 раза, чем при отсутствии дополнительных мероприятий ($p=0,0158$) и в 1,2 раза, чем при коррекции латентного дефицита железа без профилактики дисбиоза влагалища.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. На этапе подготовки пациенток к ЭКО и ПЭ рекомендуется осуществлять определение индивидуальной вероятности наличия ЛДЖ на основании интегративной оценки факторов анамнеза и образа жизни с использованием программы для ЭВМ № 2014614686 «Программа для прогнозирования наличия латентного дефицита железа у женщин репродуктивного возраста».
2. При определении высокой вероятности наличия ЛДЖ план обследования пациентки на этапе прегравидарной подготовки необходимо дополнить определением следующих гематологических показателей и индикаторов обмена железа: RBC, Hb, Ht, СЖ, СФ, КНТ.
3. Рекомендуемая тактика коррекции ЛДЖ на этапе прегравидарной подготовки заключается в коррекции факторов образа жизни и пищевого поведения, а также включает назначение перорально препарата железа протеин сукцинилата по 15 мл в день в течение 6 недель под контролем лабораторных показателей накануне ПЭ.
4. С целью профилактики нарушений микроценоза влагалища с 5 дня контролируемой стимуляции суперовуляции в программе ЭКО и ПЭ рекомендуется назначение пребиотика из растительных моносахаридов вагинально в течение 14 дней.
5. С целью раннего выявления и коррекции дисбиоза влагалища в программе ЭКО и ПЭ целесообразно проводить дополнительно микроскопическое исследование отделяемого влагалища на момент переноса эмбриона в полость матки, а также на 21 день после ПЭ (на момент регистрации клинической беременности при ультразвуковом исследовании).
6. При выявлении согласно данным микроскопии промежуточного типа микроценоза влагалища рекомендуется назначение пребиотика из растительных моносахаридов вагинально в течение 14 дней с последующей повторной оценкой состояния микроценоза влагалища.

7. При выявлении дисбиоза влагалища в программе ЭКО и ПЭ назначается стандартная двухэтапная коррекционная терапия, этап восстановления индигенной микрофлоры при этом также рекомендуется проводить с помощью назначения пребиотика из растительных моносахаридов.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Проблема повышения результативности лечения бесплодия методом ЭКО и ПЭ с помощью выявления и коррекции управляемых клинико-прогностических факторов является приоритетным направлением современной репродуктологии. Перспективным и наименее разработанным направлением данной темы является изучение механизма взаимосвязи динамических аспектов состояния микробиома репродуктивного тракта и результативности различных этапов реализации программы экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов в полость матки. Разработка патогенетически обоснованной стратегии сохранения колонизационной резистентности половых путей пациентки на этапах прегравидарной подготовки, наступления и пролонгирования индуцированной беременности является резервом повышения эффективности лечения бесплодия с помощью вспомогательных репродуктивных технологий.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ

аГРГ – агонисты гонадолиберина

АлАТ– аланинаминотрансфераза

АМГ– антимюллеров гормон

антГРГ– антагонисты гонадолиберина

АсАТ – аспартатаминотрансфераза

АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время

ВЗОМТ – воспалительные заболевания органов малого таза

ВИ – внутриматочная инсеминация

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии

ГнРГ – гонадолиберин

ГС – группа сравнения

ДИ – доверительный интервал

ДЭА-S – дегидроэпиандростерона сульфат

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИКСИ (ICSI, intra cytoplasmic sperm injection) – интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида в яйцеклетку

ИМТ – индекс массы тела

ИТБ – соотношение окружности талии и бедер

К – кортизол

КИО – контролируемая индукция овуляции

ККФ – крупнокадровая флюорография

КНТ – коэффициент насыщения трансферина железом

ЛГ – лютеинизирующий гормон

ЛДЖ – латентный дефицит железа

МЕ – международные единицы

МНО – международное нормализованное отношение

НГЭ – наружный генитальный эндометриоз

НИОКР – научно-исследовательские и опытно-конструкторские работы

ОАК – общий анализ крови

ОР – отношение рисков

ОШ – отношение шансов

П – прогестерон

ПАП – повышение абсолютной пользы

ПОП – повышение относительной пользы

ПРЛ – пролактин

ПТИ – протромбиновый индекс

ПЦР – полимеразно-цепная реакция

ПЭ – перенос эмбрионов

РАРЧ – Российская ассоциация репродукции человека

РКИ – рандомизированное контролируемое исследование

РПО – реконструктивно-пластические операции

РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы

СЖ – сывороточное железо

СПКЯ – синдром поликистозных яичников

СФ – сывороточный ферритин

Т3 – трийодтиронин

Т4св – тироксин свободный

ТВП – трансвагинальная пункция фолликулов

ТТГ – тиреотропный гормон

ТФ – трансферрин

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

ХГЧ – хорионический гонадотропин человека

ЧБНЛ – число больных, которых необходимо лечить (англ. number need to treat)

ЧИК – частота исходов в группе контроля

ЧИЛ – частота исходов в группе лечения

ЧМГ – человеческие менопаузальные гонадотропины

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

ЭВМ – электронно-вычислительная машина

ЭКГ – электрокардиография

17-ОП – 17-гидроксипрогестерон

ART – assisted reproductive technology – вспомогательные репродуктивные технологии

AUC – area under ROC curve – площадь под ROC-кривой

CA-125 – carbohydrate antigen 125 – углеводный антиген 125

E2 – estradiol – эстрадиол

ESHRE – European Society of Human Reproduction and Embryology – Европейское общество репродукции человека и эмбриологии

F II – clotting factor II gene – ген протромбина

F V – clotting factor V gene – ген фактора свертывания V

FGB – fibrinogen beta chain gene – ген β -цепи фибриногена

GP IIb/IIIa – glycoprotein IIb/IIIa gene – ген рецептора тромбоцитарного гликопротеина

GQE – good quality embryos – эмбрионы хорошего качества

Hb – hemoglobin – гемоглобин

HFEA – The Human Fertilisation and Embryology Authority – Национальное управление по оплодотворению и эмбриологии человека Великобритании

HLA – Human Leukocyte Antigen – человеческий лейкоцитарный антиген

Ht – hematocrit – гематокрит

M2 – metaphase II oocytes, mature oocytes – зрелые ооциты (метафаза II мейоза)

MCV – mean corpuscular volume – средний объём эритроцита

MCH – mean corpuscular hemoglobin – среднее содержание гемоглобина в эритроците

MCHC – mean corpuscular hemoglobin concentration – средняя концентрация гемоглобина в эритроците

Me – median – медиана

MTHFR – the methylenetetrahydrofolate reductase gene – ген метилентетрагидрофолатредуктазы

PAI-1 – plasminogen activator inhibitor-1 gene – ген ингибитора активатора плазминогена первого типа

RBC – red blood cells – эритроциты

RDW – red cell distribution width – показатель распределения эритроцитов по объему

ROC – receiver operating characteristic – рабочая характеристика приемника

SART – Society for assisted reproductive technology – Общество вспомогательных репродуктивных технологий Соединенных штатов Америки

SE – standart error – стандартная ошибка

TROPHY – Trial of outpatient hysteroscopy – исследование эффективности офисной гистероскопии

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Амирова, А.А. Прогнозирование исходов ЭКО и ЭКО/ИКСИ у бесплодных супружеских пар при некоторых формах бесплодия [Текст]: дис. ... канд. мед. наук / А.А. Амирова. - М., 2011. - 191 с.
2. Анкирская, А.С. Интегральная оценка состояния микробиоты влагалища [Текст] / А.С. Анкирская, В.В. Муравьёва // Диагностика оппортунистических вагинитов (медицинская технология). - М., 2011. - С. 19.
3. Аномальное гиперметилирование генов НОХА10 и НОХА11 при бесплодии, ассоциированном с хроническим эндометритом [Текст] / Г.Т. Сухих, А.И. Осипьянц, Л.И. Мальцева [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2015. - №12. - С. 69-74.
4. Балтер, Р.Б. Гормональные исследования у больных с гиперпластическими заболеваниями эндометрия в условиях экологического неблагополучия [Текст] / Р.Б. Балтер, Л.С. Целкович // Сборник статей международной научно-практической конференции «Инновационная наука и современное общество». - Уфа, 2014. - С.151-154.
5. Бобров, К.Ю. Овариальный резерв и выбор оптимального протокола контролируемой стимуляции суперовуляции у женщин с синдромом поликистозных яичников [Текст] / К.Ю. Бобров, А.С. Калугина // Журнал акушерства и женских болезней. - 2012. - Т.LXI, №1. - С. 12-19.
6. Борцвадзе, Ш.Н. Значение офисной гистероскопии в диагностике маточного фактора бесплодия и лечении таких больных [Текст] / Ш.Н. Борцвадзе, Т.А. Джибладзе, А.И. Ищенко // Рос. вестн. акушера-гинеколога. - 2012. - № 12 (35). - С. 53-56.
7. Боярский, К.Ю. Современный взгляд на проблему рецептивности и тонкого эндометрия в программах ВРТ (обзор литературы) [Текст] / К.Ю. Боярский, С.Н. Гайдуков, Н.А. Пальченко // Проблемы репродукции. - 2013. - №4. - С. 51-60.

8. Васюхина, А.А. Иммуногистохимические особенности эндометрия у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием [Текст] / А.А. Васюхина, Л.С. Целкович // Аспирантский вестник Поволжья. - 2016. - №1-2. - С. 13-16.
9. Владимирова, И.В. Прогнозирование исходов программ вспомогательных репродуктивных технологий с использованием молекулярно-генетических маркеров [Текст] / И.В. Владимирова, Е.А. Калинина, А.Е. Донников // Гинекология. - 2014. - № 6. - С. 33-36.
10. Влияние ожирения на исходы лечения в программе экстракорпорального оплодотворения. Ретроспективное исследование за 2013г. [Текст] / В.К. Горшинова, М.А. Н.В. Десяткова, Н.А. Беляева [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2015. - №6. - С. 79-83.
11. Влияние размера эндометриомы яичника на состояние овариального резерва пациенток с бесплодием [Текст] / Т.В. Клинышкова, О.Н. Перфильева, Н.Г. Гордиенко [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. - 2015. - Т. 15, № 1. - С. 47-51.
12. Гаспаров, А.С. Биохимические маркеры оценки овариального резерва (обзор литературы) [Текст] / А.С. Гаспаров, Е.Д. Дубинская, Д.С. Титов // Гинекология. - 2014. - № 03. - С. 60-63.
13. Долинский, А.К. Роль миомэктомии в преодолении бесплодия [Текст] / А.К. Долинский // Журнал акушерства и женских болезней. - 2013. - №62(1). - С. 42-47.
14. Ермоленко, К.С. Современное состояние проблемы реализации фертильной функции женщин позднего репродуктивного возраста [Текст] / К.С. Ермоленко, В.Е. Радзинский, С.И. Рапопорт // Клиническая медицина. - 2016. - Т.94, № 1. - С. 10-15.
15. Исходы ЭКО/ИКСИ у женщин с ожирением и метаболическим синдромом [Текст] / Н.М. Подзолкова, Ю.А. Колода, М.Б. Аншина, О.Л. Глазкова // Фарматека. - 2016. - №3. - С. 68-73.
16. Калинкина, О.Б. Беременность и ожирение. Акушерские и перинатальные аспекты [Текст] : автореф. дис. ... докт. мед. наук / О.Б. Калинкина. - Самара,

2013. - 302 с.

17. Кира, Е.Ф. Бактериальный вагиноз [Текст] / Е.Ф. Кира. - М: Медицинское информационное агентство, 2012. - 472 с.
18. Кира, Е.Ф. Биологическая роль кислотности влагалища, механизмы стабильности и методы коррекции [Текст] / Е.Ф. Кира, Е.А. Душкина, Н.С. Бадикова // Акушерство и гинекология. - 2013. - № 3. - С. 102-106.
19. Кира, Е.Ф. Биологическая роль молочной кислоты в обеспечении стабильности микрэкосистемы влагалища [Текст] / Е.Ф. Кира, О.Л. Молчанов, К.Е. Семенова // Акушерство и гинекология. - 2014. - № 12. - С. 31-36.
20. Клинико-anamнестические факторы риска развития «бедного» овариального ответа в программах вспомогательных репродуктивных технологий [Текст] / Р.Э. Ванян, Н.В. Долгушина // Гинекология. - 2014. - № 5. - С. 73-77.
21. Клинико-прогностические аспекты содержания аутоантител к ХГЧ у пациенток с миомой матки репродуктивного возраста [Электронный ресурс] / Н.В. Спиридонова, Е.И. Басина, О.В. Клыкова, В.Ю. Щукин // Современные проблемы науки и образования. - 2015. - № 4. - Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=21303>, свободный. (дата обращения: 16.06.2016).
22. Клинические исходы стандартных программ ЭКО у пациенток с ультразвуковыми признаками «тонкого» эндометрия и влияние на его рецептивность интенсивной поддержки эстрогенами [Текст] / К.В. Краснопольская, Т.А. Назаренко, М.М. Левиашвили, И.Ю. Ершова // Проблемы репродукции. - 2016. - Т.22, №3. - С. 57-62.
23. Клинышкова, Т.В. Клиническое значение комплексной оценки рецепторного статуса эндометрия при эндометриальных полипах [Текст] / Т.В. Клинышкова, Н.Б. Фролова, С.И. Мозговой // Акушерство и гинекология. - 2011. - № 3. - С. 37-41.
24. Клинышкова, Т.В. Эффективность лечения пациенток с бесплодием и эндометриозом яичников [Текст] / Т.В. Клинышкова, О.Н. Перфильева // Гинекология. - 2014. - № 6. - С. 54-57.

25. Колотовкина, А.В. Морфофункциональные особенности эндометрия у больных эндометриозом ассоциированным бесплодием (обзор литературы) [Текст] / А.В. Колотовкина, Е.А. Калинина, Е.А. Коган // Консилиум медиком. - 2012. - № 4. - С. 74-79.
26. Копылова, Т.П. Гистероскопия как этап подготовки к программе ЭКО: необходимость и целесообразность [Текст] / Т.П. Копылова // Репродуктивная медицина: науч.-практич. жур. Казахстанской ассоциации репродуктивной медицины. - 2011. - № 1. - С. 19-21.
27. Корнеева, И.Е. Роль эндометрия в неудачах реализации репродуктивной функции [Текст] / И.Е. Корнеева // Проблемы репродукции. - 2010. - №2. - С.16-20.
28. Котельников, Г.П. Доказательная медицина. Научно обоснованная медицинская практика: монография [Текст] / Г.П. Котельников, А.С. Шпигель. - изд. 2-е, перераб. и доп. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 242 с.
29. Кравчук, Я.Н. Оценка рецептивности эндометрия с помощью биомаркеров [Текст] / Я.Н. Кравчук, К.Ю. Бобров, А.С. Калугина // Журнал акушерства и женских болезней. - 2012. - Т.LXI, №1. - С. 12-19.
30. Краснопольская, К.В. Клинические аспекты лечения бесплодия в браке. Диагностика и терапевтические программы с использованием восстановления методов естественной фертильности и вспомогательных репродуктивных технологий: руководство [Текст] / К.В. Краснопольская, Т.А. Назаренко. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. - 376 с.
31. Лечение манифестного дефицита железа у беременных и родильниц (медицинская технология) [Текст] / В.Н. Серов [и др.] // Разрешение (серия АА №0000151) федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития на применение новой медицинской технологии ФС №2010/003 от 18.01.2010. - М.: МедЭкспертПресс, 2010. - 28 с.
32. Мальцева, Л.И. Витамин D и риск метаболического синдрома у больных с нарушением репродуктивной функции [Текст] / Л.И. Мальцева, Е.А. Гафарова // Акушерство и гинекология. - 2016. - №4. - С. 120-125.

33. Мальцева, Л.И. Новые подходы к оценке роли витамина D в репродуктивном здоровье женщины [Текст] / Л.И. Мальцева, Э.Н. Васильева // Практическая медицина. - 2013. - №7(76). - С. 42-47.
34. Мальцева, Л.И. Офисная гистероскопия – новая технология в амбулаторной практике акушера-гинеколога [Текст] / Л.И. Мальцева, Е.Ю. Юпатов // Практическая медицина. - 2012. - №5(60). - С. 44-48.
35. Мальцева, Л.И. Роль витамина D в сохранении здоровья и репродуктивного потенциала женщин [Текст] / Л.И. Мальцева, А.С. Полукеева, Ю.В. Гарифуллова // Практическая медицина. - 2015. - №1(86). - С. 26 - 31.
36. Микробиом влагалища – стабильность и нестабильность: современный взгляд на проблему [Текст] / В.Е. Радзинский, М.Б. Хамошина, М.С. Тулупова, Т.В. Смирнова // Доктор.ру. - 2014. - № 1(5). - С. 21-24.
37. Микрoэкологические сочетания вагинального и кишечного биотопов у женщин с воспалительными заболеваниями нижнего этажа полового тракта [Текст] / С.М. Попкова, Е.Б. Ракова, Е.Л. Кичигина [и др.] // Междунар. междисциплинарный форум «Шейка матки и вульвовагинальные болезни». - М.: StatusPraesens, 2012. - С. 68-70.
38. Моисеева, И.В. Сравнительный анализ результатов ЭКО у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием, получавших комплексную подготовку эндометрия [Текст] / И.В. Моисеева, А.А. Васюхина // Аспирантский вестник Поволжья. - 2015. - №1-2. - С. 22-28.
39. Морфологический и молекулярный субстрат нарушения рецептивности эндометрия у бесплодных пациенток с наружно-генитальным эндометриозом [Текст] / Е.А. Коган, Е.А. Калинина, А.В. Колотовкина [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2014. - №8. - С. 47-52.
40. Оксидативный стресс и гипергомоцистеинемия: профилактика гестационных осложнений [Текст] / О.И. Линева, Е.Ю. Романова, С.В. Михальченко, А.В. Казакова // Амбулаторно-поликлиническая практика: диагностика, лечение и профилактика. Всероссийский конгресс с международным участием. Сборник тезисов. - М., 2016. - С. 86-87.

41. Особенности функционального состояния митохондриального аппарата у женщин с избыточным весом и ожирением в программах ЭКО [Текст] / В.Ю. Смольникова, В.К. Горшинова, М.А. Володина [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2015. - №11. - С. 5-10.
42. Отдаленные результаты лечения бесплодия с использованием вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с эндометриодными кистами яичников [Текст] / А.С. Гаспаров, Е.Д. Дубинская, Н.В. Дмитриева [и др.] // Тез. VI Общерос. науч.-практич. семинара «Репродуктивный потенциал России: версии и контрверсии». - М. : Status Praesens, 2013. - 248 с.
43. Охрименко, М.А. Локальное повреждение эндометрия как фактор, способствующий имплантации [Текст] / М.А. Охрименко, В.Ю. Смольникова // Гинекология. - 2014. - № 01. - С. 54-57.
44. Подготовка эндометрия к программам ВРТ у пациенток с бесплодием [Текст] / К.Г. Серебренникова, Е.П. Кузнецова, Е.С. Ванке [и др.] // Проблемы репродукции. - 2014. - № 4. - С. 62-67.
45. Применение молочной кислоты в сочетании с гликогеном для лечения бактериального вагиноза [Текст] / Е.Ф. Кира, Н.В. Артымук, А.М. Савичева [и др.] // Гинекология. - 2015. - Т.17, № 2. - С. 93-96.
46. Профилактика манифестного дефицита железа у беременных и родильниц (медицинская технология) [Текст] / В.Н. Серов [и др.] // Разрешение (серия АА №0000150) федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития на применение новой медицинской технологии ФС №2010/004 от 18.01.2010. - М.: МедЭкспертПресс, 2010. - 16 с.
47. Профиль локальной экспрессии генов ростовых факторов и цитокинов в эндометрии периода «имплантационного окна» при хроническом эндометрите [Текст] / В.К. Таболова, И.Е. Корнеева, А.Е. Донников [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2014. - №12. - С. 74-78.
48. Радзинский, В.Е. Миома матки: проблемы и перспективы начала века [Текст] / В.Е. Радзинский, М.П. Архипова // Медицинский совет. - 2014. - № 9. - С.30-33.

- 49.Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA [Текст] / О.Ю. Реброва. - М., МедиаСфера, 2002. - 312 с.
- 50.Репродуктивное здоровье населения России 2011 [Текст]: резюме отчета / Федеральная служба государственной статистики (Росстат); Министерство здравоохранения РФ; Отдел репродуктивного здоровья, Центр по контролю и профилактике заболеваний, Атланата, США (DRH/CDC). - [Б. м.]: Информ.-издат. центр «Статистика России», 2012. - 58 с.
- 51.Рецептивность эндометрия у пациенток с эндометриозассоциированным бесплодием (обзор литературы) [Текст] / Е.А. Калинина, А.В. Колотовкина, Е.А. Коган [и др.] // Проблемы репродукции. - 2012. - № 4. - С. 55-62.
- 52.Роль антигенов главного комплекса гистосовместимости в реализации привычного выкидыша [Текст] / О.В. Хорошкеева, Н.К. Тетруашвили, О.В. Бурменская [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2016. – №3. – С. 5–10.
- 53.Роль витамина D в исходах программ вспомогательных репродуктивных технологий [Текст] / З.М.С. Найми, Е.А. Калинина, А.Е. Донников [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2015. - №11. - С. 5-10.
54. Роль лапароскопической робот-ассистированной миомэктомии при восстановлении фертильности у больных с миомой матки в репродуктивном периоде [Текст] / Е.Ф. Кира, А.К. Политова, В.А. Гудебская [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2016. - № 3. - С. 58-63.
- 55.Романова, Е.Ю. Применение S-аденозил-L-метионина в комплексном лечении оксидативного стресса при гестационных осложнениях [Текст] / Е.Ю. Романова, О.И. Линева, А.В. Казакова // Кремлевская медицина. Клинический вестник. - 2012. - № 3. - С. 85-87.
- 56.Романова, Е.Ю. Профилактика гестационных осложнений при окислительном стрессе [Текст] / Е.Ю. Романова, О.И. Линева, А.В. Казакова // Тольяттинский медицинский консилиум. - 2011. - № 1-2. - С. 71-73.
- 57.Российская ассоциация репродукции человека. XXXV Юбилейная междунар. конф. РАРЧ. Регистр ВРТ [Текст]: отчет за 2013 г. / РАРЧ; презид. РАРЧ, проф.

- В.С. Корсак. - СПб.: Лакшери Принт, 2015. - 44 с.
- 58.Рудакова, Е.Б. Коррекция дисбиоза влагалища как способ улучшения репродуктивных исходов программ ВРТ у пациенток с замершей беременностью после ЭКО и ПЭ в анамнезе [Текст] / Е.Б. Рудакова, Л.Ю. Замаховская // Лечащий врач. - 2016. - №3. - С. 29-33.
- 59.Самыкина, О.В. Влияние латентного железодефицита у женщин с трубным бесплодием на результативность метода экстракорпорального оплодотворения [Текст]: дис. ... канд. мед. наук / О.В. Самыкина. - Самара, 2014. - 161 с.
- 60.Сидорова, И.С. Современное состояние вопроса о патогенезе, клинике, диагностике и лечении миомы матки у женщин репродуктивного возраста [Текст] / И.С. Сидорова, А.Л. Унанян, М.Б. Агеев // Акушерство, гинекология, репродукция. - 2013. - № 4. - С. 22-28.
- 61.Синчихин, С.П. Консервативная монотерапия пациенток с миомой матки [Текст] / С.П. Синчихин, О.Б. Мамиев, Л.В. Степанян // Акушерство и гинекология. - 2014. - № 3. - С. 79-83.
- 62.Современные аспекты коррекции дисбиотических нарушений в гинекологической практике [Текст] / В.Е. Радзинский, И.М. Ордянец, О.С. Побединская, Н.В. Буянова // Акушерство и гинекология. - 2013. - № 2. - С. 72.
- 63.Современные подходы к выбору препарата локального действия в терапии бактериального вагиноза [Текст] / Е.Ф. Кира, В.Н. Прилепская, М.Н. Костава [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2012. - № 7. - С. 59-67.
- 64.Спектр аутоантител к гормонам и фосфолипидам у пациенток с «бедным» овариальным ответом в программе экстракорпорального оплодотворения [Текст] / Р.Э. Ванян, И.В. Менжинская, Л.В. Ванько [и др.] // Иммунология. - 2015. – Т.36, №3. - С. 167-172.
- 65.Спиридонова, Н.В. Клиническая эффективность применения препарата вагинорм-С при бактериальном вагинозе вне и во время беременности [Текст] / Н.В. Спиридонова, М.В. Буданова, Е.В. Мелкадзе // Тольяттинский медицинский консилиум. - 2011. - № 1-2. - С. 74-78.
- 66.Спиридонова, Н.В. Миома матки: этиология, патогенез, тактика акушера–

- гинеколога: учебное пособие для врачей [Текст] / Н.В. Спиридонова, Е.П. Шатунова, Е.И. Басина - Самара: ООО «Офорт», 2013. - 159с.
67. Спиридонова, Н.В. Неспецифический вагинит у беременных: возможно ли лечение с сохранением вагинальных лактобацилл? [Текст] / Н.В. Спиридонова, Е.И. Басина, Е.В. Мелкадзе // Акушерство, гинекология и репродукция. - 2012. - Т.6, № 1. - С. 6-15.
68. Сударикова, Е.Г. Состояние микробиоценоза влагалища у пациенток в программах вспомогательных репродуктивных технологий [Текст] / Е.Г. Сударикова, С.И. Билимова, Т.Е. Бызова // Российский вестник акушера-гинеколога. - 2010. - № 2. - С. 49-51.
69. Сухих, Г.Т. Иммунные факторы в этиологии и патогенезе осложнений беременности [Текст] / Г.Т. Сухих, Л.В. Ванько // Акушерство и гинекология. – 2012. –№1. – 128–136.
70. Сухих, Г.Т. Хронический эндометрит [Текст]: руководство / Г.Т. Сухих, А.В. Шуршалина. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 64 с.
71. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных бактериальным вагинозом [Электронный ресурс]. - М., 2015. - Режим доступа: http://www.cnikvi.ru/docs/clinic_recs/infektsii-peredavaemye-polovym-putem/, свободный. - Загл. с экрана. - (дата обращения 12.04.16).
72. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных урогенитальным кандидозом [Электронный ресурс]. - М., 2015. - Режим доступа: http://www.cnikvi.ru/docs/clinic_recs/infektsii-peredavaemye-polovym-putem/, свободный. - Загл. с экрана. - (дата обращения 12.04.16).
73. Хаитова, Д.Т. Возможности реализации репродуктивной функции женщин с миомой матки после эмболизации маточных артерий [Текст] / Д.Т. Хаитова, Л.Ю. Давидян // Ульяновский медико-биологический журнал. - 2013. - № 3. - С. 76-85.
74. Хронический эндометрит в практике акушера-гинеколога [Текст] / Л.И. Мальцева, Г.Р. Смолина, Р.И. Шарипова [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. - 2015. - Т.15, №5. - С. 102-105.

75. Хронический эндометрит. Особенности подготовки к программам ВРТ [Текст] / К.Г. Серебренникова, А.А. Лапшихин, Е.П. Кузнецова [и др.] // Репродуктивные технологии сегодня и завтра. Материалы XXI междунар. конф. Российской ассоциации репродукции человека. - СПб., 2011. - С. 65-67.
76. Цаплина, Л.А. Кинетические закономерности циклооксигеназной и пероксидазной реакций, катализируемых простагландин-Н-синтазой [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Л.А. Цаплина. - М., 2007. - 46с.
77. Целкович, Л.С. Гиперпластические заболевания эндометрия у больных, проживающих в условиях экологического неблагополучия [Текст] / Л.С. Целкович, Т.В. Иванова, Р.Б. Балтер // Аспирантский вестник Поволжья. - 2015. - №5-6. - С. 10-13.
78. Целкович, Р.Б. Особенности репродуктивной функции и состояние новорожденных у женщин с бактериальным вагинозом в зависимости от техногенной нагрузки среды проживания [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Р.Б. Целкович. - Самара, 2004. - 28 с.
79. Шляпников, М.Е. Вагинальный дисбиоз и доброкачественные гиперпластические заболевания матки как мультифакториальная сочетанная генитальная патология [Текст] / М.Е. Шляпников, Д.М. Ларина // Сборник материалов 3-й всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии». - Курск, 2016. - С.110-111.
80. Шляпников, М.Е. Дисбиоз влагалища. Учебное пособие для врачей акушеров-гинекологов, проходящих последипломную подготовку, клинических ординаторов и врачей-интернов [Текст] / М.Е. Шляпников - Самара: ООО «Офорт», 2012. - 116с.
81. Шуршалина, А.В. Морфо-функциональные перестройки эндометрия в «окно имплантации» [Текст] / А.В. Шуршалина, Т.А. Демура // Акушерство и гинекология. - 2011. - №7-2. - С. 9-13.
82. Шуршалина, А.В. Прегравидарная подготовка эндометрия и вспомогательные репродуктивные технологии [Текст] / А.В. Шуршалина // Гинекология. - 2013.

- № 2. - С. 12-14.
83. Экспрессия эстрина в эндометрии женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и повторными неудачами программы ЭКО [Текст] / Е.А. Коган, Т.А. Демура, Л.А. Сеидова, С.Г. Перминова // *Акушерство и гинекология*. - 2015. - №10. - С. 68-72.
84. Эффективность лечения бесплодия, ассоциированного с перитонеальным и яичниковым эндометриозом [Текст] / К.В.Краснопольская, А.А. Попов, К.Э. Киракосян, Ю.М. Михайлова // *Акушерство и гинекология*. - 2012. - №8-1. - С. 46-50.
85. Эффективность локальной коррекции вагинального дисбиоза у женщин с сочетанными воспалительными и гиперпластическими заболеваниями матки и придатков [Текст] / М.Е. Шляпников, Д.М. Ларина, И.С. Кияшко, О.И. Хохлова // *Акушерство и гинекология*. - 2015. - №5. - С. 87-91.
86. Эффективность программы ЭКО у женщин с миомой матки с учетом маркеров рецептивности эндометрия – пиноподий, LIF, VEGF-A, клаудина-5 [Текст] / А.Е. Мартынова, В.Ю. Смольникова, Т.А. Демура, Е.А.Коган // *Акушерство и гинекология*. - 2013. - №8. - С. 40-45.
87. 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force report on obstetric antiphospholipid syndrome [Text] / G.R. de Jesus, N. Agmon-Levin, C.A. Andrade [et al.] // *Autoimmun Rev*. - 2014. - Vol. 13(8). - P.795-813.
88. 2013 Assisted Reproductive Technology. National Summary Report [Text] / National Center for Chronic Disease Prevention; Health Promotion of the Centers for Disease Control and Prevention in consultation; American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology. - Atlanta (GA): US Dept of Health and Human Services, 2015. - 76 p.
89. α -Amylase in Vaginal Fluid: Association With Conditions Favorable to Dominance of Lactobacillus [Text] / Dimitrios Nasioudis, Joziani Beghini, Ann Marie Bongiovanni [et al.] // *Reprod Sci*. - 2015. - Nov., Vol. 22(11). - P.11393-1398.
90. A comparison of pregnancy outcomes between day 3 and day 5/6 embryo transfers: does day of embryo transfer really make a difference? [Text] / Susan M. Maxwell,

- Katherine Melzer-Ross, David H. McCulloh [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* - 2015. - Vol. 32. - P. 249-254.
91. A correlative study of endometrial glycogen content and other contributory factors on female infertility [Text] / C.J. Girish, Naveen S. Kotur, A.H. Nagarajappa [et al.] // *IJBAR.* - 2012. - Vol. 03(01). - P. 30-35.
92. A fruitful alliance: the synergy between *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* in bacterial vaginosis-associated biofilm [Text] / Liselotte Hardy, Vicky Jespers, Said Abdellati [et al.] // *Sexually Transmitted Infections.* - 2016. - Vol. 0. - P. 1-5.
93. [Analysis of the association of human leukocyte antigen DQ gene polymorphisms with unexplained recurrent spontaneous abortion among ethnic Han Chinese from Wenzhou region] [Text] / J. Zheng, H. Zhang, X. Xu [et al.] // *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* - 2016. - №33(1). - P. 81-84.
94. A prospective, comparative analysis of anti-Müllerian hormone, inhibin-B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation [Text] / Kannamannadiar Jayaprakasan, Bruce Campbell, James Hopkisson [et al.] // *Fertility and sterility.* - 2010. - Feb., Vol. 93, № 3. - P. 855-864.
95. Added value of ovarian reserve testing on patient characteristics in the prediction of ovarian response and ongoing pregnancy: an individual patient data approach [Text] / Simone L. Broer, Jeroen van Disseldorp, Kimiko A. Broeze [et al.] // *Human Reproduction Update.* - 2013. - Vol. 19, № 1. - P.26-36.
96. Adiposity Alters Genes Important in Inflammation and Cell Cycle Division in Human Cumulus Granulosa Cell [Text] / Zaher Merhi, Alex J. Polotsky, Andrew P. Bradford et al. // *Reproductive Sciences.* - 2015. - Oct., Vol. 22, № 10. - P. 1220-1228.
97. Adjunct low-molecular-weight heparin to improve live birth rate after recurrent implantation failure: a systematic review and meta-analysis [Electronic resource] / N. Potdar, T.A. Gelbaya, J.C. Konje, L.G. Nardo // *Hum. Reprod. Update.* - 2013. - 19(6). -

- P.674-684.-Access mode: <http://humupd.oxfordjournals.org/content/19/6/674.long>, free.-Title screen. (date of access 22.12.15).
98. Alcohol consumption and in vitro fertilization: a review of the literature [Text] / Pau Nicolau, Ester Miralpeix, Ivan Sola [et al.] // *Gynecological Endocrinology*. - 2014. - Nov., Vol. 30, Issue 11. - P. 759-763.
99. Alterations in uterine hemodynamics caused by uterine fibroids and their impact on in vitro fertilization outcomes [Text] / Jei-Won Moon, Chung-Hoon Kim, Jun-Bum Kim [et al.] // *Clin. Exp. Reprod. Med.* - 2015. - Vol.42(4). - P.163-168.
100. AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: a meta-analysis [Text] / S.L. Broer, M. Dolleman, B.C. Opmeer [et al.] // *Human Reproduction Update*. - 2011. - Vol. 17, № 1. - P.46-54.
101. Anshu Gupta. Coorelation of Histological Dating and Glycogen Content by Histochemical Stain during Various Phases of Menstrual Cycle in Primary Infertility [Text] / Anshu Gupta, S.K. Mathur, Anjali Gupta // *Open Journal of Pathology*. - 2013. - Vol. 3. - P. 65-68.
102. Antibiofilm Activity of α -Amylase from *Bacillus subtilis* S8-18 Against Biofilm Forming Human Bacterial Pathogens [Text] / Balu Jancy Kalpana, Subramonian Aarthy, Shunmugiah Karutha Pandian [et al.] // *Appl. Biochem Biotechnol.* - 2012. - Vol. 167. - P. 1778-1794.
103. Antibiotics prior to embryo transfer in ART [Electronic resource] / B. Kroon, R.J. Hart, B.M.S. Wong et al. // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. - 2012. - Issue 3, Art. № CD008995. - Access mode: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD008995.pub2/abstract>, free. - Title screen. (date of access 22.12.15).
104. Antimüllerian hormone as predictor of implantation and clinical pregnancy after assisted conception: a systematic review and meta-analysis [Electronic resource] / Reshef Tal, Oded Tal, Benjamin J. Seifer [et al.] // *Fertility and Sterility*. - 2015. - Jan., Vol. 103, Issue 1. - P. 119-130.e3. - Access mode: [http://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(14\)02223-7/abstract](http://www.fertstert.org/article/S0015-0282(14)02223-7/abstract), free. - Title screen. (date of access 24.01.16).

105. Anti-Müllerian hormone-based prediction model for a live birth in assisted reproduction [Electronic resource] / A. La Marca, S.M. Nelson, G. Sighinolfi [et al.] // Reproductive BioMedicine Online. - 2011. - Vol. 22. - P. 341-349. - Access mode: [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(10\)00723-6/abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(10)00723-6/abstract), free. - Title screen. (date of access 24.10.15).
106. Antioxidants for female subfertility [Electronic resource] / M.G. Showell, J. Brown, J. Clarke [et al.] // Cochrane Database of Systematic Reviews. - 2013. - Issue 8., Art. № CD007807. - P. 1-99. - Access mode: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD007807.pub2/full>, free. - Title screen. (date of access 24.10.15).
107. Antioxidants for male subfertility [Electronic resource] / M.G. Showell, J. Brown, A. Jazdani [et al.] // Cochrane Database of Systematic Reviews. - 2011. - Issue 1., Art. № CD007411. - P. 1-191. - Access mode: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD007411.pub2/abstract>, free. - Title screen. (date of access 28.10.15).
108. Antioxidants for male subfertility [Electronic resource] / M.G. Showell, R. Mackenzie-Proctor, J. Brown [et al.] // Cochrane Database of Systematic Reviews. - 2014. - Issue 12., Art. № CD007411. - P. 1-191. - Access mode: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD007411.pub3/abstract>, free. - Title screen. (date of access 28.10.15).
109. Antral follicle count determines poor ovarian response better than anti-müllerian hormone but age is the only predictor for live birth in in vitro fertilization cycles [Text] / Mehmet Firat Mutlu, Mehmet Erdem, Ahmet Erdem [et al.] // J. Assist. Reprod. Genet. - 2013. - Vol. 30. - P. 657-665.
110. Are endometrial parameters by three-dimensional ultrasound and power Doppler angiography related to in vitro fertilization/embryo transfer outcome? [Text] / L.T. Mercé, M.J. Barco, S. Bau J. Troyano // Fertil. Steril. - 2008. - Vol. 89(1). - P.111-117.
111. Arvis, P. Simple adaptations to the Templeton model for IVF outcome prediction make it current and clinically useful [Text] / P. Arvis, P. Lehert, A Guivarc'h-

- Levêque // Human Reproduction. - 2012. - Vol.0, № 0. - P. 1-8.
112. Aspirin and/or heparin for women with unexplained recurrent miscarriage with or without inherited thrombophilia [Electronic resource] / P.G. de Jong, S. Kaandrop, M. Di Nisio [et al.] // Cochrane Database of Systematic Reviews. - 2014. - Issue 7, Art. № CD004734. Access mode: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD004734.pub4/abstract>, free. - Title screen. (date of access 22.12.15).
113. Assisted reproductive technology in Europe, 2011: results generated from European registers by ESHRE [Text] / M.S. Kupka, T. D'Hooghe, A.P. Ferraretti [et al.] // Human Reproduction. - 2016. - Vol. 31, № 2. - P. 233-248.
114. Association between in vitro fertilization outcomes and inherited thrombophilias: a meta-analysis [Text] / X. Tan, Z. Yu, L. Chen [et al.] // J. Assist. Reprod. Genet. - 2016. - Vol. 33(8). - P.1093-1098.
115. Association of state and trait anxiety to semen quality of in vitro fertilization patients: a controlled study [Electronic resource] / E. Vellani, A. Colosante, L. Mamazza [et al.] // Fertil. Steril. - 2013. - Vol. 99(6). - P. 1565-1572e. - Access mode: [http://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(13\)00141-6/abstract](http://www.fertstert.org/article/S0015-0282(13)00141-6/abstract), free. - Title screen. (date of access 29.11.15).
116. Bacterial Vaginosis Biofilms: Challenges to Current Therapies and Emerging Solutions [Electronic resource] / Daniela Machado, Joana Castro, Ana Palmeira-de-Oliveira [et al.] // Frontiers in Microbiology. - 2016. - Jan., Vol.6, Art. 1528. - P. 1-13.-Accessmode:<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2015.01528/full>, free. - Title screen. (date of access 12.03.16).
117. Beydoun, H. Association of human leucocyte antigen sharing with recurrent spontaneous abortions [Text] / H. Beydoun, A.F. Saftlas // Tissue Antigens. - 2005. - №65(2). - P. 123-135.
118. Characterization of indigenous vaginal lactobacilli from healthy women as probiotic candidates [Text] / Rebeca Martín, Nora Soberón, Mario Vaneechoutte [et al.] // International Microbiology. - 2008. - Vol. 11. - P. 261-266.
119. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive

- technology [Electronic resource] / D. Glujovsky, D. Blake, A. Bardach [et al.] // Cochrane Database of Systematic Reviews. - 2012. - Issue7, Art. № CD002118. - Access mode: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD002118/abstract>, free. - Title screen. (date of access 17.10.15).
120. Clinical approach for the classification of congenital uterine malformations [Text] / G.F. Grimbizis, Rudi Campo [et al.] // Gynecol. Surg. - 2012. - Vol.9. - P. 119-129.
121. Complete surgical removal of minimal and mild endometriosis improves outcome of subsequent IVF/ICSI treatment [Electronic resource] / H.K. Opøien, P. Fedorcsak, T. Abyholm // Reproductive BioMedicine Online. - 2011. - Vol. 23. - P. 389-395. - Access mode: [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(11\)00323-3/abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(11)00323-3/abstract), free. - Title screen. (date of access 19.07.15).
122. Creus, M. Parental human leukocyte antigens and implantation failure after in-vitro fertilization[Text] / M. Creus, J. Balasch, F. Fabreques [et al.]// Hum. Reprod. -1998. - №13(1). - P. 39-43.
123. Detection of endometrial and subendometrial vasculature on the day of embryo transfer and prediction of pregnancy during fresh in vitro fertilization cycles [Text] / A. Kim, H. Jung, W. J. Choi [et al.] // Taiwan J. Obstet. Gynecol. - 2014. - Vol. 53(3). - P. 360-365.
124. Diversity of the Vaginal Microbiome Correlates With Preterm Birth [Text] / Richard W. Hyman, Marilyn Fukushima, Hui Jiang [et al.] // Reproductive Sciences. - 2014. - Vol. 21(1). - P. 32-40.
125. Does cigarette smoking really have detrimental effects on outcomes of IVF? [Text] / Ozgur Cinar, Serdar Dilbaz, Fusun Terzioglu [et al.] // European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. - 2014. - Vol.174. - P. 106-110.
126. Does intravaginal probiotic supplementation increase the pregnancy rate in IVF–embryo transfer cycles? [Electronic resource] / Y. Gilboa et al. // Reproductive BioMedicine Online. - 2005. - Vol. 11, № 1. - P. 71-75. - Access mode: [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(10\)61301-6/abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(10)61301-6/abstract) , free. - Title

- screen. (date of access 19.07.15).
127. Endometrial Pattern but not Endometrial Thickness Impacts Implantation Rates in Euploid Embryo Transfers [Electronic resource] / J. A. Gingold, J.A. Lee, J. Rodriguez-Purata [et al.] // *Fertil. Steril.* - 2015 - Vol. 104(3). - P. 620-628e.-Access mode: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4561002/>, free. - Title screen. (date of access 29.11.15).
128. Effect of body mass index on IVF treatment outcome: an updated systematic review and meta-analysis [Electronic resource] / Vivian Rittenberg, Srividya Seshadri, Sesh K Sunkara [et al.] // *Reproductive BioMedicine Online.* - 2011. - Oct., Vol. 23, Issue 4. - P. 421-439. - Access mode: [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(11\)00422-6/abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(11)00422-6/abstract), free. - Title screen. (date of access 19.07.15).
129. Effect of pH on Cleavage of Glycogen by Vaginal Enzymes [Electronic resource] / Greg T. Spear, Mary McKenna, Alan L. Landay // *PLoS ONE.* - 2015. - 14 Jul. - P. 1-10. - Access mode: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0132646>, free. - Title screen. (date of access 19.08.15).
130. Effects of cigarette smoking on reproduction [Text] / C. Dechanet, T. Anahory, J.C. Mathieu Daude [et al.] // *Human Reproduction Update.* - 2011. - Vol. 17, № 1. - P. 76-95.
131. El-Bahrawy, K.A. Effect of Different Mucolytic Agents on Viscosity and Physical Characteristics of Dromedary Camel Semen [Text] / K.A. El-Bahrawy, E.E. El-Hassanein // *Alex. J. Agric. Res.* - 2009. - Vol. 54, № 3. - . P. 1-6.
132. El-Toukhy, T. Local endometrial injury and IVF outcome: a systematic review and meta-analysis [Electronic resource] / T. El-Toukhy, S. Sunkara, Y. Khalaf // *Reprod. Biomed Online* - 2012. - Vol. 25(4). - P. 345-354. - Access mode: [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(12\)00393-8/abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(12)00393-8/abstract). - Title screen. (date of access 29.11.15).
133. Endometrial microbiome at the time of embryo transfer: next-generation sequencing of the 16S ribosomal subunit [Text] / J.M. Franasiak, M.D. Werner, C.R. Juneau [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* - 2016. - Vol. 33. - P.129-136.

134. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and meta-analysis [Text] / A. Kasius, J.G. Smit, H.L. Torrance [et al.] // Hum. Reprod. Update. - 2014. - Vol.20(4). - P.530-541.
135. ESHRE guideline: management of women with endometriosis [Text] / G.A. Dunselman, N. Vermeulen, C. Becker [et al.] // Human Reproduction. - 2014. - Mar., Vol. 29(3). - P. 400-412.
136. External validation of anti-Müllerian hormone based prediction of live birth in assisted conception [Text] / Amani Khader, Suzanne M. Lloyd, Alex McConnachie [et al.] // Journal of Ovarian Research. - 2013. - Vol. 6, № 3. - P. 1-7.
137. External validation of the Templeton model for predicting success after IVF [Text] / J.M.J. Smeenk, A.M. Stolwijk, J.A.M. Kremer [et al.] // Human Reproduction. - 2000. - Vol. 15, № 5. - P. 1065-1068.
138. Factors predicting the cumulative outcome of IVF/ICSI treatment: a multivariable analysis of 2450 patients [Text] / Q.F. Cai, F. Wan, R. Huang [et al.] // Human Reproduction. - 2011. - Vol. 26, № 9. - P. 2532-2540.
139. Gharesi-Fard, B. The effect of HLA-DRB1 sharing between the couples with recurrent pregnancy loss on the pregnancy outcome after leukocyte therapy [Text] / B. Gharesi-Fard, R. Askarinejad-Behbahani, S. Behdin // Iran J. Immunol.–2014.–№11(1).–P.13–20.
140. HLA associations and HLA sharing in recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis [Text] / T. Meuleman, L.E. Lashley, O.M. Dekkers, J.M. van Lith [et al.] // Hum. Immunol.– 2015.–№76(5).–P. 362–373.
141. HLA-DQA1*0505 sharing and killer immunoglobulin-like receptors in subfertile couples: report from the 15th International Histocompatibility Workshop/ M. Varla-Leftherioti, T. Keramitsoglou, E. Parapanissiou [et al.] // Tissue Antigens. –2010. – №75(6). – P. 668–672.
142. How endometrial secretomics can help in predicting implantation [Text] / O. Berlanga, H.B. Bradshaw, F. Viella-Mitjana [et al.] // Placenta. - 2011. - Vol. 32(3). - P. 271-275.
143. Human α -amylase Present in Lower-Genital-Tract Mucosal Fluid Processes

- Glycogen to Support Vaginal Colonization by *Lactobacillus* [Text] / Gregory T. Spear, Audrey L. French, Douglas Gilbert [et al.] // *J. Infect. Dis.* - 2014. - Vol. 210(7). - P. 1019-1028.
144. Hysteroscopy before in-vitro fertilisation (inSIGHT): a multicentre, randomised controlled trial [Electronic resource] / Janine G. Smit, Jenneke C. Kasius, Marinus J. C. Eijkemans [et al.] // *The Lancet.* - 2016. - 27 Apr. - Access mode: [http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(16\)00231-2/fulltext](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(16)00231-2/fulltext), free. - Title screen. (date of access 29.04.16).
145. Hysteroscopy for treating subfertility associated with suspected major uterine cavity abnormalities [Electronic resource] / J. Bosteels, J. Kasius, S. Weyers [et al.] // *Cochrane Database of Systematic Reviews.* - 2015. - 21 febr. - Access mode: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD009461.pub3/full> , free. - Title screen. (date of access 29.04.16).
146. Hysteroscopy in recurrent in-vitro fertilisation failure (TROPHY): a multicentre, randomised controlled trial [Electronic resource] / Tarek El-Toukhy, Rudi Campo, Yacoub Khalaf [et al.] // *The Lancet.* - 2016. - 27 apr. - Access mode: [http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(16\)00258-0/abstract](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(16)00258-0/abstract), free. - Title screen. (date of access 29.04.16).
147. Hysteroscopy prior to the first IVF cycle: A systematic review and meta-analysis [Electronic resource] / Jyotsna Pundir, Vishal Pundir, Kireki Omanwa [et al.] // *Reproductive BioMedicine Online.* - 2014. - Feb., Vol. 28, Issue 2. - P. 151-161. - Access mode: [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(13\)00521-X/abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(13)00521-X/abstract), free. - Title screen. (date of access 29.04.16).
148. Individualized medicine and the microbiome in reproductive tract [Text] / Andrea G. Braundmeier, Katherine M. Lenz, Kristin S. Inman [et al.] // *Frontiers in Physiology.* - 2015. - Vol. 6, Art. 97. - P. 1-11.
149. Is bacterial vaginosis associated with a pro-inflammatory cytokine profile in endometrial secretions of women undergoing IVF? [Electronic resource] / C.M. Boomsma, A. Kavelaars, N. Bozkurt [et al.] // *Reproductive BioMedicine Online.* - 2010. - Jul., Vol. 21, Issue 1. - P. 133-141. - Access mode:

- [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(10\)00173-2/fulltext](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(10)00173-2/fulltext), free. - Title screen. (date of access 29.04.15).
150. Ishihara, S. Endometriosis impairs glycogen synthesis in human endometrium [Text] / S. Ishihara, Y. Taketani, M. Mizuno // *Int. J. Fertil.* - 1991. - Vol. 36(5). - P. 287-290.
151. IVF outcomes in obese donor oocyte recipients: a systematic review and meta-analysis [Text] / E.S. Jungheim, S.B. Schon, M.B. Schulte [et al.] // *Hum. Reprod.* - 2013. - Vol. 28(10). - P. 2720-2727.
152. Jakobsson, T. Changes in the predominant human *Lactobacillus* flora during in vitro fertilisation [Text] / Tell Jakobsson, Urban Forsum // *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials.* - 2008. - 30 Jun. - P. 7-14.
153. La Marca, A. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice [Text] / A. La Marca, Sesh Kamal Sunkara // *Human Reproduction Update.* - 2014. - Vol. 20, № 1. - P. 124-140.
154. Microorganisms within Human Follicular Fluid: Effects on IVF [Electronic resource] / Elise S. Pelzer, John A. Allan, Mary A. Waterhouse // *PLoS One.* - 2013. - Vol. 8, Issue 3. - e59062. - Access mode: <http://journals.plos.org/plosone/article/comments?id=10.1371/journal.pone.0059062>, free. - Title screen. (date of access 29.04.15).
155. Miller, M.E. Validation techniques for logistic regression models [Text] / M.E. Miller, S.L.Hui, W.M. Tierney // *Stat. Med.* - 1991. - Vol. 10(8). - P. 1213-1226.
156. Miro Šimun Alebic. The IVF Outcome Counseling Based on the Model Combining DHEAS and Age in Patients with Low AMH Prior to the First Cycle of GnRH Antagonist Protocol of Ovarian Stimulation [Electronic resource] / Miro Šimun Alebic, Nataša Stojanovic, Marta Zuvic-Butorac // *International Journal of Endocrinology.* - 2013. - Vol. 2013, Article ID 637919. - 7 p. - Access mode: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/637919>, free. - Title screen. (date of access 29.11.15).
157. Molecular diagnosis of bacterial vaginosis: impact on IVF outcome [Text] / J. Mangot-Bertrand, F. Fenollar, F. Bretelle [et al.] // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* - 2013. - Vol. 32. - P. 535-541.

158. Molobela, I.Ph. Protease and amylase enzymes for biofilm removal and degradation of extracellular polymeric substances (EPS) produced by *Pseudomonas fluorescens* bacteria [Text] / I. Phyllis Molobela, T. Eugene Cloete, Mervyn Beukes // *African Journal of Microbiology Research*. - 2010. - Vol. 4(14). - P. 1515-1524.
159. Mucowski, S.J. The arcuate uterine anomaly: a critical appraisal of its diagnostic and clinical relevance [Text] / S.J. Mucowski, C.N. Herndon, M.P. Rosen // *Obstet. Gynecol. Surv.* - 2010. - Vol. 65(7). - P. 449-454.
160. National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys [Electronic resource] / Maya N. Mascarenhas, Seth R. Flaxman, Ties Boerma [et al.] // *PLOS Medicine*. - 2012. - Vol. 9, Issue 12. - e1001356. - Access mode: <http://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1001356>, free. - Title screen. (date of access 29.11.15).
161. Neelam, Potdar. Endometrial injury to overcome recurrent embryo implantation failure: a systematic review and meta-analysis [Electronic resource] / Neelam Potdar, Tarek Gelbaya, Luciano G. Nardo // *Reproductive BioMedicine Online*. - 2012. - Dec., Vol. 25, Issue 6. - P. 561-571. - Access mode: [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(12\)00528-7/abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(12)00528-7/abstract), free. - Title screen. (date of access 29.11.15).
162. Nelson, S.M. Predicting Live Birth, Preterm Delivery, and Low Birth Weight in Infants Born from In Vitro Fertilisation: A Prospective Study of 144,018 Treatment Cycles [Electronic resource] / S.M. Nelson, D.A. Lawlor // *PLoS Medicine*. - 2011. - Vol. 8, Issue 1. - e1000386. - Access mode: <http://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1000386>, free. - Title screen. (date of access 29.11.15).
163. Neonatal outcomes among singleton births after blastocyst versus cleavage stage embryo transfer: a systematic review and meta-analysis [Text] / S. Dar, T. Lazer, P.S. Shah [et al.] // *Human Reproduction Update*. - 2014. - Vol. 20, № 3. - P. 439-448.
164. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the

- transfer of blastocyst-stage versus cleavage-stage embryos generated through in vitro fertilization treatment: a systematic review and meta-analysis [Text] / Abha Maheshwari, Theodoros Kalampokas, Jill Davidson [et al.] // *Fertility and Sterility*. - 2013. - Vol. 100, № 6. - P. 1615-1621.
165. Oocyte quality is decreased in women with minimal or mild endometriosis [Electronic resource] / Bo Xu, Nan Guo, Xiao-min Zhang [et al.] // *Scientific Reports*. - 2015. - 27 Jan., Vol. 5, Art. № 10779. - P. 1-8. - Access mode: <http://www.nature.com/articles/srep10779>, free. - Title screen. (date of access 29.11.15).
166. Opuwari, C.S. An Update on Oxidative Damage to Spermatozoa and Oocytes [Electronic resource] / C.S. Opuwari, Ralf R. Henkel // *BioMed. Research. International*. - 2016. - Vol. 2016, Art. ID 9540142. - P. 1-11. - Access mode: https://www.researchgate.net/publication/292565529_Opuwari_-_Henkel__BioMed_Research_Int, free. - Title screen. (date of access 29.04.16).
167. Pelzer, E.S. The Isolation and Identification of Microorganisms in the Reproductive Environment: The Potential Impact on the IVF Culture System and on IVF Outcomes [Text] / E.S. Pelzer, J.A. Allan // *The J. of Clin. Embryology*. - 2012. - Vol. 15, Issue 3. - P. 44-53.
168. Plasma concentrations of D-dimer and outcome of in vitro fertilization [Electronic resource] / M. Di Nisio, E. Porreca, V. Di Donato, G.M. Tiboni // *J. Ovarian Res.* – 2014. – 7:58. – Access mode: <http://doi.org/10.1186/1757-2215-7-58>, free. – Title screen. (date of access 29.11.15)
169. Porter, T.F. Immunotherapy for recurrent miscarriage [Electronic resource] / T.F. Porter, Y. LaCoursiere, J.R. Scott // *Cochrane Database Syst Rev.*–2006.– 19 Apr. – Accessmode:<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD000112.pub2/full>, free. - Title screen. (date of access 29.04.16).
170. Potdar, N. Endometrial injury to overcome recurrent embryo implantation failure: a systematic review and meta-analysis [Electronic resource] / N. Potdar, T. Gelbaya, L.G. Nardo // *Reprod. Biomed Online* - 2012. - Vol. 25(6). - P. 561-571. - Access mode: [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(12\)00528-7/abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(12)00528-7/abstract). - Title

- screen. (date of access 29.11.15).
171. Predicting live birth chances for women with multiple consecutive failing IVF cycles: a simple and accurate prediction for routine medical practice [Electronic resource] / Géraldine Porcu, Philippe Lehert, Carolina Colella [et al.] // *Reproductive Biology and Endocrinology*. - 2013. - Vol. 11, № 1. - DOI: 10.1186/1477-7827-11. - Access mode: <http://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7827-11-1#Abs1>, free. - Title screen. (date of access 29.03.16).
172. Prediction models in reproductive medicine: a critical appraisal [Text] / Esther Leushuis, Jan Willem van der Steeg, Pieter Steures [et al.] // *Human Reproduction Update*. - 2009. - Vol. 15, № 5. - P. 537-552.
173. Prediction of individual probabilities of livebirth and multiple birth events following in vitro fertilization (IVF): a new outcomes counseling tool for IVF providers and patients using HFEA metrics [Text] / Christopher A. Jones, Anna L. Christensen, Hamisu Salihu [et al.] // *J. Exp. Clin. Assist. Reprod.* - 2011. - Vol. 8, № 3. - P. 1-10.
174. Predictive value of age-specific FSH levels for IVF-ET outcome in women with normal ovarian function [Electronic resource] / Tingfeng Fang, Zheng Su, Liangan Wang // *Reproductive Biology and Endocrinology*. - 2015. - 17 Jun. - Access mode: <http://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12958-015-0056-6#Abs1>, free. - Title screen. (date of access 29.02.16).
175. Pre-stimulation parameters predicting live birth after IVF in the long GnRH agonist protocol [Electronic resource] / Göran Pettersson, Anders Nyboe Andersen, Per Broberg [et al.] // *Reproductive BioMedicine Online*. - 2010. - Vol. 20, Issue 5. - P. 572-581. - Access mode: [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(10\)00070-2/abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(10)00070-2/abstract), free. - Title screen. (date of access 29.04.15).
176. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy [Text] / E. Cicinelli, M. Matteo, R. Tinelli [et al.] // *Hum. Reprod.* - 2015. - Vol. 30(2). - P.323-330.
177. Profiling the gene signature of endometrial receptivity: clinical results [Text] / T. Garrido-Gómez, ., M. Ruiz-Alonso, D. Blesa [et al.] // *Fertil. Steril.* - 2013. - Vol.

99. - P. 1078-1085.
178. Rackow, B.W. Reproductive performance of women with müllerian anomalies [Text] / B.W. Rackow, A. Arici // *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. - 2007. - Vol. 19. - P.229-237.
179. Reducing the incidence of twins from IVF treatments: predictive modelling from a retrospective cohort [Text] / Stephen A. Roberts, Linda McGowan, W. Mark Hirst [et al.] // *Human Reproduction*. - 2011. - Vol. 26, № 3. - P.569-575.
180. Relationships between pregnancy rates following in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection and endometrial thickness and pattern [Text] / B.H. Rashidi, M. Sadeghi, M. Jafarabadi, E.S. Tehrani Nejad // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* - 2005. - Vol. 120(2). - P. 179-184.
181. Reproductive outcome after IVF following hysteroscopic division of incomplete uterine septum/arcuate uterine anomaly in women with primary infertility [Text] / M. Abuzeid, G. Ghourab, O. Abuzeid [et al.] // *Facts Views Vis. Obgyn.* - 2014. - Vol. 6(4). - P. 194-202.
182. Risks associated with bacterial vaginosis in infertility patients: a systematic review and meta-analysis [Text] / Noortje van Oostrum, Petra De Sutter, Joris Meys [et al.] // *Human Reproduction*. - 2013. - Vol. 28, № 7. - P. 1809-1815.
183. Role of Baseline Antral Follicle Count and Anti-Müllerian Hormone in Prediction of Cumulative Live Birth in the First In Vitro Fertilisation Cycle: A Retrospective Cohort Analysis [Text] / Hang Wun Raymond Li, Vivian Chi Yan Lee, Estella Yee Lan Lau [et al.] // *PLOS ONE*. - 2013. - Apr., Vol.8, Issue 4. - e61095. - P. 1-7.
184. Routine office hysteroscopy prior to ICSI vs. ICSI alone in patients with normal transvaginal ultrasound: a randomized controlled trial [Text] / Khaled Ahmed Abdel Aziz Elsetohy, Ahmed H. Askalany, Mohamed Hassan [et al.] // *Arch Gynecol. Obstet.* - 2015. - Vol. 291. - P. 193-199.
185. Septate, subseptate and arcuate uterus decrease pregnancy and live birth rates in IVF/ICSI [Electronic resource] / T. Tomaževič, H. Ban-Frangež, I. Virant-Klun // *Reproductive BioMedicine Online*. - 2010. - Nov., Vol. 21, Issue 5. - P. 700-705. -

Access mode: [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(10\)00437-2/abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(10)00437-2/abstract), free. - Title screen. (date of access 12.11.15).

186. Siladitya, Bhattacharya. Factors Associated with Failed Treatment: an Analysis of 121,744 Women Embarking on Their First IVF Cycles [Text] / Siladitya Bhattacharya, Abha Maheshwari, Jill Mollison // PLOS ONE. - 2013. - Vol. 8, Issue 12. - e82249. - P. 1-13.
187. Singh, V.N. Human Uterine Amylase in Relation to Infertility [Text] / V.N. Singh // Horm. nietab. Res. - 1995. - Vol. 27. - P. 35-36.
188. Single and Repeated GnRH Agonist Stimulation Tests Compared With Basal Markers of Ovarian Reserve in the Prediction of Outcome in IVF [Text] / D.J. Hendriks, F.J. Broekmans, L. F.J.M.M. Bancsi [et al.] // Journal of Assisted Reproduction and Genetics. - 2005. - Vol. 22, № 2. - P. 65-73.
189. Sirota, I. Potential Influence of the Microbiome on Infertility and Assisted Reproductive Technology [Text] / Ido Sirota, Shvetha M. Zarek, James H. Segars // Semin. Reprod. Med. - 2014. - Jan., Vol. 32(1). - P. 35-42.
190. Sperm Oxidative Stress Is Detrimental to Embryo Development: A Dose-Dependent Study Model and a New and More Sensitive Oxidative Status Evaluation [Electronic resource] / Letícia S. de Castro, Patrícia M. de Assis, Adriano F. P. Siqueira [et al.] // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. - 2016. - Vol. 2016, Art. ID 8213071. – Access mode: <http://www.hindawi.com/journals/omcl/2016/8213071/>, free. - Title screen. (date of access 14.01.16).
191. Stolwijk, A.M. Cumulative probability of achieving an ongoing pregnancy after in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection according to a woman's age, subfertility diagnosis and primary or secondary subfertility [Text] / A.M. Stolwijk, A.M.M. Wetzels, D.D. Braat // Human Reproduction. - 2000. - Vol. 15, № 1. - P. 203-209.
192. Surgical diminished ovarian reserve after endometrioma cystectomy versus idiopathic DOR: comparison of in vitro fertilization outcome [Text] / Audrey Roustan, Jeanne Perrin, Mathias Debals-Gonthier [et al.] // Human Reproduction. -

2015. - Vol. 30, № 4. - P. 840-847.
193. Surgical treatment for endometrioma does not increase clinical pregnancy rate or live birth/ongoing pregnancy rate after fresh IVF/ICSI treatment [Text] / Xiyuan Dong, Rui Wang, Yu Zheng [et al.] // *Am. J. Transl. Res.* - 2014. - Vol. 6(2). - P. 163-168.
194. Templeton prediction model underestimates IVF success in an external validation [Electronic resource] / L.L. van Loendersloot, M. van Wely, S. Repping [et al.] // *Reproductive BioMedicine Online.* - 2011. - Vol. 22. - P.597-602. - Access mode: [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(11\)00122-2/abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(11)00122-2/abstract), free. - Title screen. (date of access 14.01.16).
195. Templeton, A. Factors that affect outcome of in-vitro fertilisation treatment [Text] / A. Templeton, J.K. Morris, W. Parslow // *Lancet.* - 1996. - Vol. 348, № 23. - P. 1402-1406.
196. The accuracy of multivariate models predicting ovarian reserve and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis [Text] / T.E.M. Verhagen, D.J. Hendriks, L.F.J.M.M. Bancsi [et al.] // *Human Reproduction Update.* - 2008. - Vol. 14, № 2. - P. 95-100.
197. The dynamics of endometrial growth and the triple layer appearance in three different controlled ovarian hyperstimulation protocols and their influence on IVF outcomes [Text] / P. Kuć, A. Kuczyńska, M. Topczewska [et al.] // *Gynecol. Endocrinol.* - 2011. - Vol. 27(11). - P.867-873.
198. The dynamics of the vaginal microbiome during infertility therapy with in vitro fertilization-embryo transfer [Text] / Richard W. Hyman, Christopher N. Herndon, Hui Jiang [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* - 2012. - Vol. 29. - P.105-115.
199. The effect of alpha-amylase on the acrosomal membrane of human sperm [Text] / A.D. Esterhuizen, J.G. Lourens, H.W. Lindeque [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* - 1995. - Vol. 12(4). - P. 283-287.
200. The effect of cigarette smoking, alcohol consumption and fruit and vegetable consumption on IVF outcomes: a review and presentation of original data [Electronic resource] / Sarah Firms, Vinicius Fernandes Cruzat, Kevin Noel Keane

- [et al.] // *Reproductive Biology and Endocrinology*. - 2015. - 16 Dec. - Access mode: <http://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12958-015-0133-x>, free. - Title screen. (date of access 14.01.16).
201. The effect of endometrial injury on ongoing pregnancy rate in unselected subfertile women undergoing in vitro fertilization: a randomized controlled trial [Text] / Tracy Wing Yee Yeung, Joyce Chai, Raymond Hang Wun Li [et al.] // *Human Reproduction*. - 2014. - Vol. 29, № 11. - P. 2474-2481.
202. The effect of intramural fibroids without uterine cavity involvement on the outcome of IVF treatment: a systematic review and meta-analysis [Text] / Sesh Kamal Sunkara, Mohammed Khairy, Tarek El-Toukhy [et al.] // *Human Reproduction*. - 2010. - Vol. 25, № 2. - P. 418-429.
203. The effect of surgical treatment for endometrioma on in vitro fertilization outcomes: a systematic review and meta-analysis [Text] / Ioanna Tsoumpou, Maria Kyrgiou, Tarek A. Gelbaya [et al.] // *Fertility and Sterility*. - 2009. - Jul., Vol. 92, № 1. - P. 75-87.
204. The efficacy of retreatment with the same medication for early treatment failure of bacterial vaginosis [Text] / K. E. Bunge, R.H. Beigi, L.A. Meyn, S.L. Hillier // *Sex. Transm. Dis.* - 2009. - Vol. 36(11). - P. 711-713.
205. The ESHRE-ESGE consensus on the classification of female genital tract congenital anomalies [Text] / G.F. Grimbizis, S. Gordts, A. Di Spiezo Sardo [et al.] // *Gynecol. Surg.* - 2013. - Vol. 10(3). - P. 199-212.
206. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting/Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology [Text] // *Hum. Reprod.* - 2011. - №26(6). - P. 1270-1283.
207. The impact of chronic endometritis on reproductive outcome [Text] / J. C. Kasius, H.M. Fatemi, C. Bourgain [et al.] // *Fertil. Steril.* - 2011. - Vol. 96(6). - P.1451-1456.
208. The impact of diagnostic criteria on the reproducibility of the hysteroscopic diagnosis of the septate uterus: a randomized controlled trial [Text] / Janine G. Smit,

- Sanne Overdijkink, Ben W. Mol // *Human Reproduction*. - 2015. - 22 Apr., Vol. 0, № 0. - P. 1-8.
209. The overlooked endometrial injury underlying hysteroscopy procedures [Electronic resource] / C.O. Nastri, D.M. Teixeira, R.A. Ferriani, W.P. Martins// *Reprod. Biomed Online* - 2014. - Vol. 29(1). - P. 140. - Access mode: [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(14\)00230-2/abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(14)00230-2/abstract). - Title screen. (date of access 29.11.15).
210. The predictive accuracy of anti-Mullerian hormone for live birth after assisted conception: a systematic review and meta-analysis of the literature [Text] / S. Iliodromiti, T.W. Kelsey, O. Wu [et al.] // *Human Reproduction Update*. - 2014. - Vol. 20, № 4. - P. 560-570.
211. The predictive value of anti-mullerian hormone on embryo quality, blastocyst development, and pregnancy rate following in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) [Text] / Wen-Qin Lin, Ling-Nv Yao, Dong-Xue Zhang [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* - 2013. - Vol. 30. - P. 649-655.
212. The role of endometrial and subendometrial blood flows measured by three-dimensional power Doppler ultrasound in the prediction of pregnancy during IVF treatment [Text] / E.H. Ng, C.C. Chan, O.S. Tang [et al.] // *Hum. Reprod.* - 2006. - Vol. 21(1). - P.164-170.
213. The role of serum AMH and FF AMH in predicting pregnancy outcome in the fresh cycle of IVF/ICSI: a meta-analysis [Text] / Lingnv Yao, Wei Zhang, Hong Li [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Med.* - 2015. - Vol. 8(2). - P. 1755-1767.
214. The role of three-dimensional power Doppler ultrasound parameters measured on hCG day in the prediction of pregnancy during in vitro fertilization treatment [Electronic resource] / T. Zhang, Y. He, Y. Wang [et a.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* - 2016. - Vol. 203. - P.66-71. - Access mode: [http://www.ejog.org/article/S0301-2115\(16\)30230-5/abstract](http://www.ejog.org/article/S0301-2115(16)30230-5/abstract). - Title screen. (date of access 02.09.16).
215. The Surgical Treatment of Severe Endometriosis Positively Affects the Chance of Natural or Assisted Pregnancy Postoperatively [Electronic resource] / Erin M.

- Nesbitt-Hawes, Neil Campbell, Peta E. Maley [et al.] // *BioMed. Research International*. - 2015. - Vol. 2015, Art. ID 438790. - P. 1-7. - Access mode: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/438790/>, free. - Title screen. (date of access 14.01.16).
216. The vaginal microbiome during pregnancy and the postpartum period in a European population [Electronic resource] / David A. MacIntyre, Manju Chandiramani, Yun S. Lee [et al.] // *Sci Rep*. - 2015. - Vol. 5, Art. 8988. - Access mode: <http://www.nature.com/articles/srep08988>, free. - Title screen. (date of access 14.01.16).
217. Thrombophilia and outcomes of assisted reproduction technologies: a systematic review and meta-analysis [Text] / M. Di Nisio, A.W. Rutjes, N. Ferrante [et al.] // *Blood*. - 2011. - Vol. 118(10). - P.2670-2678.
218. Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface [Text] / Kristy Red-Horse, Yan Zhou, Olga Genbacev [et al.] // *The J. of Clin. Invest.* - 2004. - Sept., Vol. 114, № 6. - P.744-754.
219. Ultrasound evaluation of the uterine zonal anatomy during in-vitro fertilization and embryo transfer [Text] / P. Lesny, S.R. Killick, R.L. Tetlow [et al.] // *Human Reproduction*. - 1999. - Vol.14, № 6. - P. 1593-1598.
220. Unravelling the Bacterial Vaginosis-Associated Biofilm: A Multiplex *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* Fluorescence In Situ Hybridization Assay Using Peptide Nucleic Acid Probes [Text] / Liselotte Hardy, Vicky Jespers, Nassira Dahchour [et al.] // *PLOS ONE*. - 2015. - 25 Aug. - P. 1-16.
221. Uterine length and fertility outcomes: a cohort study in the IVF population [Text] / L.K. Hawkins, K.F. Correia, S.S. Srouji [et al.] // *Human Reproduction*. - 2013. - Vol. 28, №11. - P. 3000-3006.
222. Wong, L.F. Immunotherapy for recurrent miscarriage [Electronic resource] / L.F. Wong, T.F. Porter, J.R. Scott // *Cochrane Database Syst Rev*. - 2014. - 21 Oct. - Accessmode:<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD000112.pub3/full>, free. - Title screen. (date of access 29.04.16).
223. Yaman, C. Three-dimensional ultrasound as a predictor of pregnancy in patients

- undergoing ART [Text] / C. Yaman, R. Mayer// J. Turk. Ger. Gynecol. Assoc.-
2012. - Vol. 13(2). - P. 128-134.
224. Zhao, J. The effect of endometrial thickness and pattern measured by
ultrasonography on pregnancy outcomes during IVF-ET cycles [Electronic resource]
/ J. Zhao, Q. Zhang, Y. Li // *Reprod. Biol. Endocrinol.* - 10:100. - Access mode:
<https://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7827-10-100>, free. - Title
screen. (date of access 29.11.15).
225. Zweig, M.H. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental
evaluation tool in clinical medicine [Text] / M.H. Zweig, G. Campbell // *Clin. Chem.*
- 1993. - Vol. 39(4). - P. 561-577.