

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Тимофеева Оксана Сергеевна

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОГРАММ
ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ
ПРИ АНОВУЛЯТОРНОМ БЕСПЛОДИИ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ
КИСТАХ ЯИЧНИКОВ
(клинико-экспериментальное исследование)**

3.1.4 – акушерство и гинекология

1.5.22 – клеточная биология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук,
доцент Петров И. А.,
доктор медицинских наук,
профессор Логвинов С. В.

Томск – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1 Бесплодие у пациентов с доброкачественными образованиями яичников	12
1.2 Современный взгляд на этипатогенез и морфологические особенности функциональных кист яичников	14
1.3 Роль паракринных факторов в фолликулогенезе и патологических состояниях яичников	17
1.4 Влияние функциональных кист яичников на исход программы ЭКО. Тактика ведения пациентов	23
1.4.1 Трансвагинальная пункция кисты яичника с последующим цитологическим исследованием.....	25
1.4.2 Консервативный подход к ведению пациентов с функциональными кистами яичников в программах ЭКО: сравнение трансвагинальной пункции и консервативного подхода.....	28
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	32
2.1 Экспериментальная часть	32
2.2 Клиническая часть	39
2.3 Статистическая обработка и анализ данных исследования	46
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.	
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	49
3.1 Общая характеристика экспериментальных животных	49
3.2 Морфологические изменения яичников крыс при моделировании функциональных кист.....	52
3.3 Морфологические изменения яичников крыс в группе II на фоне введения антаГнРГ	57
3.4 Морфометрическое сравнение яичников крыс при моделировании экспериментальных функциональных кист и введении антаГнРГ	60
3.5 Результаты иммуногистохимического исследования	62

3.5.1 Экспрессия IGF-1	62
3.5.2 Экспрессия LHR	67
3.5.3 Экспрессия AR	72
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.	
КЛИНИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	78
4.1 Клинико-anamнестические характеристики пациентов изучаемых групп	78
4.2 Оценка овариального резерва пациентов изучаемых групп	87
4.3 Результаты исследования программ экстракорпорального оплодотворения у пациенток с ретенционными образованиями яичников	89
4.3.1 Характеристика стимулированного цикла у пациенток с ановуляторным бесплодием и наличием/отсутствием ФКЯ	89
4.3.2 Оценка эффективности вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с ановуляторным бесплодием и наличием/отсутствием ФКЯ	92
4.4 Выбор программы экстракорпорального оплодотворения у пациентов с ретенционными образованиями яичников	93
4.4.1 Клинико-anamнестические особенности пациентов основной группы	94
4.4.2 Анализ показателей стимулированного цикла у пациенток с ановуляторным бесплодием с наличием ФКЯ и их отсутствием	95
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ	104
ВЫВОДЫ	117
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	119
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	120
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	122

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Одной из самых острых медико-демографических проблем является бесплодие. За последнее десятилетие количество бесплодных браков увеличилось на 10–15 % [12, 54, 213]. В России частота инфертильности составляет от 17,2 до 24 % [52]. Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) как основной метод вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) является наиболее эффективным методом преодоления бесплодия [19]. Несмотря на многочисленные достижения в области репродуктивной медицины, такие как усовершенствование методов культивирования, внедрение преимплантационного генетического тестирования эмбрионов (ПГТ-А) в рутинную практику большинства клиник ВРТ, исследование рецептивности эндометрия и «персонализации» переноса эмбриона, частота наступления клинической беременности в циклах ЭКО не превышает 40–50 % [45, 80, 92, 93, 167, 174]. Поиск способов повышения эффективности программ ЭКО – ключевое звено всех исследований в области репродукции [123, 168, 175, 198, 202, 207].

Перед началом цикла ЭКО базовое ультразвуковое исследование органов малого таза проводится для определения количества антральных фолликулов (КАФ), оценки состояния эндометрия и выявления аномалий полости матки и патологии яичников [13, 49]. У пациентов с бесплодием в 15–20 % случаев выявляются объемные образования яичников различного генеза, при этом 80 % из них представлены опухолевидными образованиями. В половине случаев опухолевидными образованиями являются функциональные кисты яичников (ФКЯ) [18, 82, 130]. Этиопатогенез формирования ФКЯ до сих пор до конца не известен [6, 41, 88, 144, 151]. В последние годы внимание исследователей сосредоточено на изучении экспрессии факторов паракринной регуляции яичника, играющих ключевую роль как в течении нормального фолликулогенеза, так и в его нарушении при различных патологических состояниях яичника, в том числе ФКЯ [17, 21, 22, 57, 68, 69, 101, 146, 180, 191, 212].

Обнаружение доброкачественных новообразований яичника, в том числе ФКЯ, является ограничением к началу овариальной стимуляции [49]. В литературе встречаются различные подходы к ведению ФКЯ в программах ВРТ: консервативный (введение агонистов или антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) с целью регресса ретенционного образования), хирургический (трансвагинальная пункция ФКЯ с последующим цитологическим исследованием) или выжидательная тактика [97, 100, 115, 127, 137, 163, 188, 190].

Значение ФКЯ, выявленных непосредственно перед началом контролируемой стимуляции овуляции, остается спорным. Некоторые авторы предполагают, что наличие кист яичников в начале программы ЭКО, вне зависимости от вида проведенного лечения, сопряжено с их негативным влиянием на ключевые параметры овариальной стимуляции, такие как количество ооцитов и топовых эмбрионов, а также сопряжено с более низкой частотой наступления беременности [97, 115, 163, 188].

В то же время другие авторы считают, что ФКЯ не имеют отрицательного воздействия на исходы программ ВРТ [100, 127, 137, 190], а выжидательная тактика и отмена программы ЭКО до физиологического регресса ФКЯ ассоциирована с потерей времени для реализации репродуктивного потенциала женщины, снижением овариального резерва и является дополнительным стрессовым фактором для многих супружеских пар.

Несмотря на большое количество работ на тему ФКЯ, на сегодняшний день недостаточно изучен этиопатогенез ФКЯ у пациентов с бесплодием, их влияние на течение и исход протокола ЭКО, а именно на особенности контролируемой овариальной стимуляции, количество и качество ооцитов, а также эмбриологические аспекты этих программ.

Степень разработанности темы

Единой тактики ведения ФКЯ, выявленных в начале лечения методом ЭКО, на сегодняшний день нет. Отдельные исследования показывают, что наличие кист яичников перед ВРТ требует более высоких доз гонадотропинов, сопряжено с более низким ответом яичников на стимуляцию и более низкой частотой

наступления беременности [97, 115, 163, 188]. Другие авторы считают, что ФКЯ не имеют отрицательного воздействия на исходы программ [81, 100, 127, 137, 190].

Также остается дискуссионным подход к лечению ретенционных образований в программах ЭКО. Отдельные исследования говорят о преимуществах проведения трансвагинальной пункции ретенционного образования с последующим цитологическим исследованием, другие исследователи, напротив, являются приверженцами консервативного подхода: подавления гипоталамо-гипофизарной оси введением агонистов или антагонистов ГнРГ. Третья группа ученых считает наиболее оптимальным выбор выжидательной тактики и отмену цикла ЭКО в течение 1–3 месяцев [25, 32, 94, 127, 137, 147, 157].

В настоящее время до сих пор не достигнут консенсус в выборе тактики лечения ФКЯ и нет обоснованного с точки зрения клинической практики алгоритма ведения пациентов с ретенционными образованиями в программе ЭКО.

На сегодняшний день недостаточно изучено воздействие антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона (антаГнРГ) на течение и регресс ФКЯ, а также его влияние на экспрессию факторов паракринной регуляции инсулиноподобного фактора-1 (IGF-1), рецепторов лютеинизирующего гормона (LHR), рецепторов андрогенов (AR).

Цель исследования

Повысить эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий при ановуляторном бесплодии и функциональных кистах яичников путем разработки персонализированного алгоритма ведения пациентов на основании изучения эффективности программ экстракорпорального оплодотворения и морфофункциональных особенностей яичников.

Задачи исследования

1. Выявить морфологические изменения яичников при моделировании функциональных кист яичников и их лечении антагонистом гонадотропин-рилизинг-гормона в эксперименте.

2. Оценить экспрессию факторов паракринной регуляции межклеточных взаимодействий овоцита и клеток гранулезы (инсулиноподобный фактор роста-1,

рецепторы лютеинизирующего гормона, рецепторы андрогенов) на экспериментальной модели функциональных кист яичников и при их коррекции антагонистом гонадотропин-рилизинг-гормона.

3. Проанализировать влияние коррекции функциональных кист яичников, выявленных перед вступлением в программу экстракорпорального оплодотворения, на показатели овариальной стимуляции и эмбриологический этап экстракорпорального оплодотворения.

4. Провести сравнительный анализ эффективности программ экстракорпорального оплодотворения при ановуляторном бесплодии у пациентов с ретенционными образованиями яичников в зависимости от выбранной тактики: трансвагинальная пункция кисты яичника или использование антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона.

5. Разработать прогностическую модель предполагаемого ответа на овариальную стимуляцию и персонифицированный алгоритм ведения пациентов с функциональными кистами яичников в программах экстракорпорального оплодотворения.

Научная новизна

Впервые на экспериментальной модели животных детально изучено морфофункциональное состояние яичников при моделировании ФКЯ и их коррекции антаГнРГ, обоснована возможность применения антаГнРГ для лечения ретенционных образований в циклах ЭКО. Установлено значимое снижение количества кист на 7-е и 30-е сутки от начала введения цетрореликса. Впервые выявлено, что введение антаГнРГ уменьшает выраженность дистрофических изменений клеток гранулезы фолликулов и стенки ФКЯ, что говорит о протективном воздействии антаГнРГ.

Получены новые экспериментальные данные о повышенной экспрессии факторов паракринной регуляции IGF-1, AR и преждевременной экспрессии LHR при формировании ФКЯ. Показано, что введение антаГнРГ снижает экспрессию данных факторов в гранулезных клетках растущих фолликулов и эпителиальной

выстилке кист, что свидетельствует о его положительном терапевтическом эффекте.

В данной работе проведен комплексный анализ программ ВРТ у пациентов с ФКЯ, определено влияние ретенционных образований на особенности овариальной стимуляции и эмбриологические характеристики программы, а также на частоту наступления беременности и живорождения в программах ЭКО. Впервые был выполнен сравнительный анализ эмбриологических характеристик программ ВРТ у пациентов с ретенционными образованиями яичников при проведении трансвагинальной пункции ФКЯ и введении антаГнРГ в зависимости от количества попыток ЭКО в анамнезе, возраста и диаметра ФКЯ. Выявлен клинически значимый параметр в выборе тактики лечения – диаметр ретенционного образования. При диаметре кисты более 4 см предпочтительным является проведение трансвагинальной пункции кисты, при меньшем диаметре ретенционного образования – введение антаГнРГ. На основании полученных данных автором предложен алгоритм ведения пациентов с ФКЯ в программе ЭКО.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные клинико-экспериментальные данные расширяют фундаментальные знания об этиопатогенезе ФКЯ, а также о морфофункциональном состоянии яичников после проведенного лечения антаГнРГ.

Получены данные об отсутствии негативного влияния ФКЯ на количество топовых эмбрионов, частоту наступления беременности и живорождения в программах ЭКО. Установлено, что проведение трансвагинальной пункции ретенционного образования и введение антаГнРГ являются высокоэффективными методами лечения ФКЯ в программах ЭКО, не имеют негативного влияния как на количество полученных ооцитов и топовых эмбрионов, так и на частоту наступления беременности и живорождения. При этом клинически значимым критерием выбора метода лечения ретенционного образования является диаметр ФКЯ.

На основании проведенного исследования предложены алгоритм ведения пациентов с ФКЯ в программах ЭКО и прогностическая модель предполагаемого ответа на стимуляцию овуляции, учитывающая, помимо известных ранее предикторов (возраст, концентрация антимюллера гормона (АМГ), количество антральных фолликулов), новые факторы относительно характеристик ретенционного образования: диаметр, метод лечения ФКЯ и количество попыток ЭКО. Разработанные алгоритмы успешно внедрены в практическую клиническую практику центра вспомогательных репродуктивных технологий Сибирского государственного медицинского университета (ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России).

Полученные данные используются при проведении практических и теоретических занятий со студентами и ординаторами лечебного и педиатрического факультетов на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии в разделе «Женская половая система», на кафедре акушерства и гинекологии по дисциплине «Репродуктология» ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России.

Методология и методы исследования

Для решения поставленных задач в рамках экспериментальной части исследования было проведено моделирование функциональных кист яичников и их последующее лечение введением антаГнРГ у 160 половозрелых крыс-самок. Для оценки состояния яичников использовали комплекс гистологических, морфометрических и иммуногистохимических методов исследования.

В клинической части работы выполнено проспективное сравнительное контролируемое исследование, в которое включены 114 женщин репродуктивного возраста, находящихся на лечении в центре вспомогательных репродуктивных технологий ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России.

Анализ результатов проводили на персональном компьютере с использованием программы SPSS 23.0.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Ретенционные образования яичников, выявленные непосредственно перед началом овариальной стимуляции, не имеют негативного влияния на исход

программ вспомогательных репродуктивных технологий при правильно подобранной тактике лечения. Проведение трансвагинальной пункции ретенционного образования и введение антагониста гонадотропин-рилизинг-гормона являются высокоэффективными методами лечения функциональных кист яичников в программах экстракорпорального оплодотворения и сопоставимы по клинической эффективности. Критерием выбора метода лечения является диаметр функциональной кисты яичника.

2. Разработанный персонифицированный алгоритм ведения пациентов с функциональными кистами яичников в программах экстракорпорального оплодотворения позволяет выбрать лечебную тактику, минимизировать риски необоснованной отсрочки старта овариальной стимуляции и способствует повышению эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий.

3. Сочетанная гиперэкспрессия инсулиноподобного фактора роста-1, рецептров андрогенов и преждевременная индукция рецепторов лютеинизирующего гормона в клетках гранулезы являются одним из этиопатогенетических факторов формирования функциональных кист яичников. Применение антагониста гонадотропин-рилизинг-гормона предотвращает патологическое повышение экспрессии указанных факторов в клетках гранулезы, снижает их содержание в эпителиальной выстилке сформированных кист и ускоряет их регресс.

Степень достоверности и апробация результатов

Высокая степень достоверности результатов клинико-экспериментального исследования подтверждается достаточным объемом материала, использованием современных методов исследований, применением необходимых методов статистической обработки. Материалы диссертационного исследования представлены на I межрегиональной научно-практической конференции Сибирского отделения Российской ассоциации репродукции человека «Современные репродуктивные технологии» (Кемерово, 2020), конкурсе молодых ученых в рамках III научно-практической конференции с международным

участием «Здоровье женщины, плода, новорожденного» (Санкт-Петербург, 2023), XII международной научно-практической конференции «Инноватика в современном мире: опыт, проблемы и перспектива развития» (Уфа, 2023), межрегиональном научно-практическом форуме с международным участием «Сибирский форум метаболического здоровья» (Томск, 2023), всероссийской конференции с международным участием «Реальная клиническая практика метаболических заболеваний» (Томск, 2024), IX всероссийском съезде анатомов, гистологов и эмбриологов России с международным участием «Фундаментальная и прикладная морфология в XXI веке» (Оренбург, 2025).

Личный вклад автора. Автор самостоятельно проанализировал данные литературы по теме диссертации, участвовал в сборе и обработке экспериментального и клинического материала, в статистической обработке полученных данных, выполнил их анализ и интерпретацию.

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 11 печатных работ, из них 9 (7 — научные статьи, 2 — тезисы докладов) — в рецензируемых журналах, включенных Высшей аттестационной комиссией в перечень периодических изданий, рекомендуемых к публикации основных результатов диссертационных исследований на соискание ученой степени кандидата и доктора медицинских наук.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 148 страницах компьютерного текста, содержит 23 таблицы и 22 рисунка. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований (экспериментальная и клиническая часть), обсуждений, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 214 литературных источников, из которых 69 на русском и 145 на иностранных языках.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Бесплодие у пациентов с доброкачественными образованиями яичников

Вопросы диагностики и лечения бесплодия относятся к числу актуальных проблем современной медицины, имеют большое социальное значение в связи с высокой частотой распространения различных факторов нарушения фертильности и тенденцией к их увеличению. Распространенность бесплодия среди пар репродуктивного возраста колеблется от 12,6 до 17,5 % во всем мире, с относительно более высокими показателями в некоторых регионах, таких как Америка, западная часть Тихого океана, Африка и Европа. По данным Всемирной организации здравоохранения, с проблемой бесплодия в течение жизни сталкивается около 17,5 % взрослого населения, то есть каждый шестой человек в мире, что свидетельствует о высоком клиническом и социальном значении преодоления инфертильности [54, 110].

В России одной из основных целей демографической политики является повышение рождаемости, для чего используется комплекс мер, в том числе направленных на максимизацию репродуктивных возможностей населения, в частности расширение доступности ВРТ. В настоящее время ВРТ вышли за пределы только медицинской проблемы и трактуются как методы коррекции бесплодия в рамках комплекса мер по регулированию рождаемости. В России ВРТ постепенно переходят к разряду рутинных процедур, не требующих от пациентов материальных, временных и эмоциональных затрат, что позволяет максимально использовать потенциал предлагаемых методов для роста рождаемости при сохранении ее качественных характеристик [54]. Согласно данным регистра Российской ассоциации репродукции человека, количество циклов ЭКО в Российской Федерации ежегодно растет: так, в 2023 году количество циклов ЭКО составило 182 568, что на 5,8 % выше в сравнении с 2022 годом (в 2021 году – 172 602 цикла) [52]. К лечению методом ЭКО прибегают женщины с разными

формами бесплодия, не поддающимся другим методам терапии. Основным показанием к ЭКО является неэффективность лечения бесплодия женщин до 35 лет другими методами в течение 12 месяцев, а также женщин старше 35 лет в течение 6 месяцев [19, 49].

Бесплодие у пациенток с доброкачественными образованиями яичников достигает 41 % [16, 18, 24, 25, 39, 130, 199]. При нарушении репродуктивной функции в 15–20 % случаев выявляются объемные яичниковые образования различного генеза, 80 % которых представлены опухолевидными образованиями, характеризующимися отсутствием истинного бластоматозного роста и гетерогенностью происхождения, на «истинные» опухоли приходится около 20 % [2, 18, 32, 61]. В половине случаев опухолевидными образованиями являются ФКЯ [4, 199]. К ФКЯ относятся фолликулярные кисты и кисты желтого тела [64, 151]. В структуре гинекологических заболеваний у женщин репродуктивного возраста ФКЯ занимают одно из ведущих мест (45–55 %) [16, 32, 66]. ФКЯ возникают преимущественно (60 %) в репродуктивном возрасте [2, 32]. За последние десять лет частота ФКЯ увеличилась с 6–12 до 25 % [2, 33]. При этом вызывает беспокойство не только прирост частоты встречаемости ретенционных образований, но и необоснованная хирургическая агрессия по отношению к ним. Значительное число операций на яичниках у женщин репродуктивного возраста (по некоторым данным – до 26 %) выполняется по поводу фолликулярных кист и кист желтого тела [9, 28, 33, 41, 148, 185].

Вместе с тем доказано, что хирургическое воздействие на ткани яичника неминуемо ведет к снижению овариального резерва, а именно к уменьшению КАФ и, как следствие, снижению уровня АМГ. Отмеченное отрицательное воздействие на овариальный резерв ассоциировано с непосредственным термическим воздействием на ткань яичника, а также опосредованным нарушением васкуляризации яичника и непреднамеренным повреждением интактных тканей. Снижается не только возможность естественного наступления беременности, но и эффективность программ ВРТ. Множество работ показали прямую взаимосвязь между перенесенными операциями на органах малого таза, снижением

овариального резерва и бедным ответом яичников на контролирующую стимуляцию овуляции в программах ЭКО [28, 31, 41, 60, 138, 157, 197].

1.2 Современный взгляд на этиопатогенез и морфологические особенности функциональных кист яичников

На сегодняшний день причины и механизм формирования ФКЯ до конца не изучены. ФКЯ относят к полиэтиологическим заболеваниям, причиной их формирования могут являться как воспалительные и аутоиммунные процессы, так и гормональные нарушения. Имеют значение не только гипоталамо-гипофизарная дисфункция, но и гиперпролактинемия, нарушение функции щитовидной железы, преждевременная недостаточность яичников и снижение овариального резерва [2, 33, 84, 133].

Длительно текущий некорректированный медикаментозно гипотиреоз может быть причиной развития ФКЯ. В патогенезе лежит схожесть структуры молекул фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ) и тиреотропного гормона (ТТГ). Они представляют собой гликопротеины с общей альфа-цепью, благодаря которой может возникать перекрестная реакция «рецептор – гормон». Благодаря механизму обратной отрицательной связи и перекрестной реакции при недостаточной выработке гормонов щитовидной железы, стимулируется выработка тиреотропин-рилизинг-гормона, в результате чего увеличивается концентрация не только ТТГ, но и гонадотропинов. Высокий уровень ФСГ в свою очередь приводит к формированию ретенционного образования [124, 133].

Персистенция ФКЯ длительное время в совокупности с нарушением гормонального статуса в 63 % случаев ассоциирована с развитием патологических состояний эндометрия, что может приводить к нарушению его функциональных свойств и снижению частоты наступления беременности [32, 69].

Формирование кист обусловлено циклическими изменениями в яичниках, что и объясняет их транзиторный характер [4, 66, 151]. Персистенция

неовулировавшего фолликула и накопление в его полости фолликулярной жидкости играют ключевые роли в патогенезе формирования фолликулярных кист [15, 124, 151, 192]. Изменения в структуре яичников приводят к ановуляторным циклам и бесплодию [30, 33]. В настоящее время ведущая роль в механизме формирования ФКЯ отводится нарушению работы системы «гипоталамус – гипофиз – яичники», что приводит к десинхронизации активности биохимических факторов, участвующих в интрафолликулярном механизме овуляции, таких как простагландины, протеолитические ферменты, окситоцин и релаксин [33, 148, 151]. В основе этого механизма лежат нарушение стероидосинтетической функции яичников и ановуляция [60]. При фолликулярных кистах яичника менструальный цикл характеризуется недостатком второй волны ЛГ и увеличением концентрации эстрадиола в плазме. Выявлена закономерность, что у пациентов со сниженным овариальным резервом фолликулярные кисты встречаются чаще в сравнении с пациентами с нормальным показателем овариального резерва – это обусловлено высоким базальным уровнем эстрадиола, приводящим к повышенной экспрессии рецепторов гонадотропин-рилизинг-гормона [65, 120]. Относительно высокая концентрация ЛГ способствует нарушению процесса овуляции, продолжению роста доминантного фолликула и его персистенции. Данные изменения являются результатом функционального нарушения механизма обратной отрицательной связи между эстрадиолом и секрецией ЛГ [149, 171]. Повышенное количество ФСГ, ЛГ, прогестерона, усиленный синтез простагландинов, снижение концентрации эстрадиола запускают механизм дегенеративных изменений в стенке преовуляторного фолликула. В фолликулярной жидкости повышается концентрация прогестерона, который под влиянием пикового уровня ЛГ секретируется гранулезными клетками. В отсутствие скоординированного действия различных элементов гормональной регуляции овуляция доминантного фолликула не происходит, и ооцит, окруженный кумулюсными клетками, подвергается дегенеративным изменениям, в результате чего образуется фолликулярная киста яичника. Регресс такого образования может занимать несколько месяцев, при этом существует риск разрыва кисты. Стенка кистозно-

измененного фолликула подвергается изменениям, сходным с процессом лютеинизации при формировании желтого тела. При этом начинает секретироваться прогестерон, однако его концентрация существенно снижена. Клинически данные изменения проявляются в виде ановуляторных циклов и олигоменореи. Повышенный уровень простагландинов в полости кистозного образования приводит к дегенеративным изменениям стенки кисты, что является завершающим этапом патологических изменений. По мере усиления давления жидкости на стенку ФКЯ происходит атрезия клеток гранулезы, замещение их волокнами соединительной ткани. Вследствие дегенеративно-дистрофических процессов и действия протеолитических ферментов нарушается целостность стенки кисты, в результате чего происходит ее опорожнение [7, 55, 134].

Формирование кисты желтого тела происходит при двухфазном менструальном цикле вследствие нарушения кровообращения и лимфооттока в тканях яичника, а также при возникновении гормонального дисбаланса. При этом блокируется процесс регресса желтого тела, в котором происходит накопление жидкости серозного или геморрагического характера [7, 130].

Большую роль в развитие ФКЯ вносят воспалительные заболевания органов малого таза. Так, при длительно текущих воспалительных процессах вследствие нарушений функциональной активности иммунной системы, процессов перекисного окисления, изменений яичниковых структур и их рецепторного аппарата происходит снижение активности ферментов стероидогенеза в корковой зоне яичника, что в свою очередь сопровождается нарушением правильной работы гипоталамо-гипофизарной системы, хронической ановуляцией и возникновением кист [4, 200]. По данным Антроповой Н. В. и соавт. (2016), фолликулярные кисты развиваются на фоне сниженной фагоцитарной активности нейтрофилов. Самостоятельный регресс ретенционных образований способствует восстановлению функциональной активности нейтрофильного звена иммунитета. Длительная персистенция, напротив, снижает фагоцитарный резерв нейтрофилов [4].

В исследованиях Wen J. et al. (2023), Xu J. et al. (2019) показана роль стрессовых факторов и ментального нездоровья в генезе ФКЯ. Коморбидность таких патологий, как кисты яичников и депрессия, лежит в активации провоспалительных цитокинов и нарушении слаженной работы гипоталамо-гипофизарной системы [128, 211].

1.3 Роль паракринных факторов в фолликулогенезе и патологических состояниях яичников

В настоящее время активно изучается роль факторов паракринной регуляции фолликулогенеза в формировании различных патологических состояний яичников, в том числе ФКЯ [3, 17, 21, 22, 57, 68, 69, 101, 142, 146, 180, 191, 212]. Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), один из основных стимуляторов ангиогенеза, играет важную роль в физиологии развития фолликула и вносит значительный вклад в рост и развитие ФКЯ, в основном за счет индукции ангиогенеза и повышения проницаемости сосудистой стенки [68, 69, 72, 96, 173]. В экспериментальных работах на животных также были подтверждены повышенная экспрессия VEGF в стенке ФКЯ и ускорение регресса ретенционного образования за счет введения его ингибитора [68, 69, 173].

Крайне важной представляется роль инсулиноподобных факторов роста 1 и 2 (IGF-1 и IGF-2) в фолликулогенезе, селекции доминантного фолликула и атрезии фолликулов. Они представляют собой одноцепочечные полипептиды и регулируют рост и дифференцировку самых различных клеток. Биологическое действие IGF-1 и IGF-2 опосредуется через взаимодействие как с мембранными, так и с инсулиновыми рецепторами. Биологическая активность инсулиноподобных факторов роста регулируется связывающими их протеинами (IGFBP), их концентрация увеличивается прогрессивно с ранней до поздней лютеиновой фазы и особенно высока в децидуальной слизи при беременности, что доказывает антимитогенное действие [58, 86, 182, 193]. При гиперпластических процессах на фоне гиперэстрогении отмечено снижение уровня данных протеинов, а значит,

повышение митогенной активности инсулиноподобных факторов роста. Содержание IGFBP регулируется инсулином, при повышении уровня которого отмечается снижение синтеза IGFBP, следовательно, снижается рост активности инсулиноподобных факторов роста [22, 141, 146]. Гиперинсулинемия независимо от гонадотропных гормонов оказывает стимулирующее действие на рост яичников и стероидогенез. Местом синтеза IGF в яичниках являются клетки гранулезы. Внутрияичниковая система IGF-1 играет центральную роль в физиологии яичников, может изменять и повышать чувствительность клеток теки и гранулезы к стимуляции гонадотропинами, что определяет судьбу фолликулов [58, 101].

Доказано, что доминантный фолликул содержит IGF-1 в большей концентрации в сравнении с таковым в растущем фолликуле. Количество IGF-1 в фолликулярной жидкости положительно коррелирует как с концентрацией эстрадиола и прогестерона, так и с объемом фолликулярной жидкости [119, 141, 172].

Sugino N. et al. в 1999 г. установили роль IGF-1 в механизме формирования кист желтого тела. IGF-1 стимулирует образование β -рецепторов эстрогенов в желтом теле, которые потенцируют восприимчивость лютеоцитов к экзогенным эстрогенам и, как следствие, приводит к гипертрофии желтых тел [177]. Лютеоциты находятся на конечной стадии градиента зрелости, это функционально зрелые клетки, в которых обнаруживают несколько тканеспецифических признаков, включая рецепторы к лютеинизирующему гормону и способность синтезировать и секретировать большие количества стероидов [58, 155].

Доказано, что высокие концентрации IGF-1 и IGF-2 способствуют воздействию ФСГ на клетки гранулезы. В атретических фолликулах наблюдается повышенная концентрация протеинов, связывающих инсулиноподобные факторы роста, и в первую очередь IGFBP-4 [180, 186]. Однако действие IGFBP-4 в яичниках может быть заблокировано специфической протеазой, которая недавно выделена из клеток гранулезы фолликулов и желтого тела человека. Специфической протеазой оказался протеин, ранее известный как ассоциированный с

беременностью сывороточный белок А (pregnancy associated plasmaprotein-A – PAPP-A) [58, 146].

Появились работы, в которых дано описание мышей с выключенными генами IGF-1 и рецепторов к нему. У таких животных с тройной направленной мутацией наблюдается уменьшение величины гонад, а также реверсия пола с мужского фенотипа на женский [58, 129, 186].

Интересна работа Wimalarathne H. D. et al. (2022), в которой авторы исследовали концентрацию IGFBP-3 в доминантном фолликуле, фолликулярной кисте и кисте желтого тела у коров. Выявлено, что доминантные фолликулы крупного рогатого скота выделяют большее количество IGFBP-3 в сравнении с ретенционными образованиями [214].

В исследовании Stubbs Sh. et al. (2013) показано, что IGF-1 экспрессируется в преантральных фолликулах на всех стадиях развития и его повышенная экспрессия отмечена в фолликулах при синдроме поликистозных яичников. При этом IGF-1 стимулирует инициацию роста фолликулов в нормальной ткани яичников, но практически не влияет на рост преантральных фолликулов в поликистозных яичниках [180].

В последние годы установлена важная роль IGF-1 и инсулина в патогенезе синдрома поликистозных яичников. При этом описаны два механизма, объясняющих взаимосвязь высокой концентрации инсулина и гиперандрогении [12, 34, 35, 57, 104]. Во-первых, инсулин способен напрямую стимулировать экспрессию овариальных энзимов P450c17 и P450scc, повышая тем самым продукцию андрогенов. Гиперинсулинемия непосредственно повышает частоту и количество выброса гонадотропин-рилизинг-гормона. Отношение ЛГ/ФСГ увеличивается, и в результате этого фолликулы не созревают, длительно персистируют на стадии первичных и вторичных, что ведет к формированию кистозной атрезии в яичниках – мелких фолликулярных кист размером от 2 до 6 мм. Таким образом, при воздействии на тека- и стромальные клетки яичников происходит стимулированная ЛГ-секреция овариальных андрогенов. Инсулин индуцирует выработку андрогенов в тека-клетках, влияя на IGF-1 или напрямую на

собственный рецептор, а также на их синтез надпочечниками [34, 191, 205]. Второй механизм – косвенный, когда при гиперинсулинемии в печени происходит снижение продукции белков, связывающих два типа IGF. В результате повышается концентрация свободных андрогенов в крови: увеличивается количество IGF и свободного биологически активного тестостерона, что приводит к нарушению менструальной функции и фолликулогенеза в яичниках [34, 212].

В нормальной ткани яичника IGF-1 путем воздействия на клетки гранулезы стимулирует их пролиферацию и стероидогенез, повышение уровня ФСГ и ЛГ. При воздействии IGF-1 на тека-клетки происходит повышение уровня андрогенов и пролиферация теки. IGF-1 поддерживает процесс лютеинизации благодаря увеличению плотности рецепторов ЛГ [59, 191, 193].

Рецептор ЛГ (LHR) представляет собой специфический мембранный рецептор на фолликулярных эпителиоцитах и клетках внутренней теки, который связывается с ЛГ, что приводит к выработке андрогенов и прогестерона. Экспрессия LHR во всех типах фолликулов указывает на то, что он может влиять на развитие фолликулов, начиная со стадии первичного фолликула [6, 58, 59, 169].

Действие же ЛГ на фолликулогенез ассоциировано со способностью гормона модулировать овариальную продукцию половых стероидов. В преантральном фолликуле происходит увеличение слоев гранулезы вокруг ооцита, где обнаружены рецепторы к ФСГ, в то же время на клетках формирующейся теки выявлены LHR [169, 171, 184]. При этом уже на данной стадии фолликулогенеза гранулезные клетки синтезируют ряд гормонов – это преимущественно эстрогены, а также андрогены и прогестерон. В антральном фолликуле LHR присутствуют только в тека-клетках, а рецепторы ФСГ – только на гранулезных клетках. При достижении фолликулом диаметра 10 мм наблюдается появление LHR в гранулезе. Стимуляция LHR вызывает активизацию ароматазы, и такой фолликул начинает продуцировать высокие концентрации эстрадиола в кровь, при этом наблюдается прямая корреляция между размером доминантного фолликула и уровнем эстрадиола в крови. Высокая концентрация эстрадиола, благодаря механизму обратной отрицательной связи, способствует снижению выработки ФСГ

гипофизом и, соответственно, уменьшению уровня этого гормона в крови. Асимметрия секреции эстрогенов яичниками сигнализирует об установлении в доминантном фолликуле самоподдерживающегося эстрогенного микроокружения, что позволяет ему развиваться, несмотря на снижение уровня ФСГ. Гранулеза лидирующего фолликула начинает вырабатывать ингибин А, который в свою очередь также блокирует синтез ФСГ. Снижение уровня ФСГ приводит к обратному развитию тех фолликулов, которые в своем росте полностью зависят от уровня ФСГ (2–10 мм в диаметре) и подвергаются атрезии, механизм которой связан с апоптозом. В то же время доминантный фолликул переходит с ФСГ-зависимого на ЛГ- и ФСГ-зависимый рост. Данный механизм носит название «двухклеточная теория стероидогенеза» [6, 7, 99, 106].

ЛГ, связываясь с рецептором на поверхности клеток, имеет ключевое значение для поддержания теки, созревания фолликулов и овуляции. Установлено, что у женщин овуляция обычно наступает спустя 36 часов после пика ЛГ. Пусковым фактором в преовуляторный период является значительное увеличение секреции 17-β-эстрадиола и, при достижении его максимального уровня в течение 12 часов, происходит выброс ЛГ, после чего концентрация эстрогенов резко снижается. Главные факторы, ответственные за выброс гонадотропинов, – это повышенное выделение рилизинг-гормона, повышенная чувствительность гипофиза к LHR и самопотенцирующий эффект LHR на его собственное выделение [6, 36, 169].

Таким образом, LHR имеют решающее значение не только для процесса овуляции и лютеинизации фолликула, но и для нормального роста и развития компетентного доминантного фолликула.

Выброс ЛГ инициирует синтез андрогенов тека-клетками, которые в свою очередь вследствие индуцированной ФСГ ароматизации преобразуются гранулезными клетками в эстрогены. Также выявлено, что продукция андрогенов под влиянием ЛГ способствует образованию рецепторов к ФСГ на поверхности клеток гранулёзы [6, 183].

Механизм влияния андрогенов на развитие и созревание фолликулов достаточно сложный. Помимо своей роли в качестве субстрата для преобразования

в эстрогены посредством ФСГ- вызванной ароматизации, низкие концентрации андрогенов способны стимулировать этот процесс. Однако при повышении уровней андрогенов преантральные гранулезные клетки предпочитают переходить не на путь ароматизации андрогенов в эстрогены, а на альтернативный механизм, заключающийся в их трансформации непосредственно в андрогены через фермент 5α -редуктазу. Образующиеся таким образом андрогены не подлежат дальнейшему превращению в эстрогены, подавляя активность фермента ароматазы. Данный процесс оказывает ингибирующее воздействие на выработку ФСГ и формирование рецепторов к ЛГ, что в конечном итоге препятствует развитию фолликула.

Таким образом, низкое количество андрогенов способствует их усиленной ароматизации и превращению в эстрогены. Напротив, высокая концентрация ограничивает процесс ароматизации, и фолликул с повышенным содержанием андрогенов подвергается атрезии. Способность фолликула трансформировать андрогены в эстрогены является ключевым фактором его роста и развития [21].

Экспрессия AR определяется в клетках гранулезы фолликулов, начиная с момента их вступления в стадию роста, в процессе созревания фолликула количество AR повышается и сохраняется на высоком уровне до антральной стадии, а затем постепенно снижается в гранулезных клетках антральных фолликулов, но остается интенсивной в клетках кумулюса, окружающих ооцит. В целом андрогены играют стимулирующую роль в развитии фолликулов, при этом их действия направлены на оптимизацию роста фолликулов и овуляцию [3, 183].

В преовуляторном фолликуле количество AR снижается, при этом они стимулируют процесс атрезии в фолликулах [78]. В связи с этим появилась теория о том, что значительная экспрессия AR в яичниках препятствует эстрогенному доминированию, вызывая раннее истощение фолликулярного аппарата [3, 153].

Участие гена AR в процессе лютеинизации было впервые продемонстрировано Horie K. et al. в 1992 г. Ученые выявили максимальную экспрессию AR в клетках гранулезы и тека-клетках в ранней лютеиновой фазе у женщин с регулярным менструальным циклом [125].

Показано, что избыток андрогенов – отличительная черта синдрома поликистозных яичников и является фактором чрезмерного образования антральных фолликулов, стромальной гиперплазии и гипертрофии сосудов [21, 34].

Таким образом, несмотря на наличие информации о влиянии вышеописанных факторов на фолликулогенез, в литературе мало данных про особенности их экспрессии при ФКЯ, а также об изменении уровня экспрессии под влиянием антаГнРГ.

Тонкое взаимодействие факторов пара- и аутокринной регуляции между ооцитом и окружающими его клетками гранулезы, их рецепторов, белков, связывающих эти факторы, является важным направлением в изучении процессов фолликулогенеза, селекции доминантного фолликула и овуляции, а также играет ключевую роль в формировании таких патологических состояний, как синдром поликистозных яичников (СПКЯ), преждевременная недостаточность яичников (ПНЯ), ФКЯ, инсулинорезистентность и овариальная стимуляция [3, 6, 17, 21, 22, 58, 61, 68, 114, 182, 212].

1.4 Влияние функциональных кист яичников на исход программы ЭКО.

Тактика ведения пациентов

Бесплодие у пациенток с доброкачественными образованиями яичников достигает 41 % [16, 18, 24, 25, 39, 130]. Данные пациенты все чаще обращаются с целью решения проблемы к ВРТ, в частности к ЭКО. Противопоказанием к программе ЭКО, согласно приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 31 июля 2020 г. № 803н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению», является наличие доброкачественных образований яичников, требующих оперативного лечения (далее – Приказ № 803н) [49]. Перед началом цикла ЭКО базовое ультразвуковое исследование органов малого таза проводится по трем основным причинам: для выявления аномалий полости матки, для

определения КАФ и для выявления патологии яичников, в том числе кист яичников [13, 49].

В программах ВРТ на фоне десенситизации гипофиза с помощью введения агонистов ГнРГ в длинных и коротких протоколах также возможно возникновение ФКЯ [25]. Механизм образования кист яичников, вероятно, обусловлен двухфазностью действия агонистов ГнРГ: первая фаза – активации, продолжительностью 10–14 дней; вторая фаза – десенситизации, наступает через 14–19 дней от момента введения агонистов ГнРГ [82, 116]. Также одной из вероятных причин возникновения кист может быть неравномерное подавление циркулирующих гонадотропинов после десенситизации и высокая концентрация прогестерона на момент проведения терапии агонистами ГнРГ [115].

Значение кист яичников, выявленных перед началом стимуляции яичников гонадотропинами, остается спорным. Некоторые авторы предполагают, что наличие кист яичников в начале ЭКО связано с увеличением суммарной дозы гонадотропинов, снижением количества полученных ооцитов и более низкой частотой наступления беременности [97, 115, 163, 188].

Qublan H. et al. в 2006 году представили данные о характеристиках циклов и исходах ЭКО у женщин, у которых были обнаружены двусторонние ФКЯ. Выявлено, что женщины с двусторонними кистами яичников имеют значительно более высокий уровень эстрадиола и более высокую долю эмбрионов низкого качества по сравнению с таковыми у женщин с единственной ФКЯ. Количество получаемых ооцитов и доля нормального оплодотворения значительно ниже по сравнению с таковыми в группе пациентов с односторонними кистами [163].

Неблагоприятное влияние кист яичников на исход циклов ЭКО, вероятно, опосредуется тремя потенциальными механизмами [97, 115, 147, 162].

1. Механическое воздействие, при котором киста яичника занимает его значительный удельный объем, препятствуя росту других фолликулов.

2. Активное паракринное влияние ФКЯ, проявляющееся посредством высвобождения эстрадиола. Высокие концентрации женских половых гормонов в кистах могут вызывать преждевременное повышение уровня ЛГ и прогестерона,

что ведет к снижению качества ооцитов и оказывает негативное влияние на эндометрий.

3. Изменение кровоснабжения в ущерб развитию фолликулов, сопровождающееся снижением количества и качества получаемых ооцитов.

В то же время работы последних лет отрицают негативное влияние ФКЯ на контролируемую стимуляцию яичников, количество и качество ооцитов и эмбрионов, частоту наступления беременности [94, 100, 127, 137, 190].

В литературе встречаются разные подходы к лечению ФКЯ в программах ВРТ. К ним относятся хирургический и консервативный методы, а также выжидательная тактика. Большая часть кист подвергается регрессу без лечения в течение первых трех месяцев [44, 84, 208]. Однако недостатками выжидательной тактики является отмена цикла ЭКО и потеря времени, что может быть критично для пациентов старшего репродуктивного возраста и женщин с низким овариальным резервом. При этом рецидивирующий характер ФКЯ может приводить к длительной отмене начала программы ВРТ. Многочисленные исследования последних лет доказывают, что именно возраст женщины является одним из ключевых факторов успеха программы ЭКО [70, 75, 92, 109, 123, 132, 168, 175, 196, 202]. В связи с вышеизложенным выжидательная тактика целесообразна лишь у небольшой когорты пациентов, планирующих ЭКО: у пациентов до 35 лет с первой попыткой ЭКО и сохранным овариальным резервом.

1.4.1 Трансвагинальная пункция кисты яичника с последующим цитологическим исследованием

Альтернативой лапароскопическому вмешательству при ФКЯ, персистирующих более трех месяцев, по мнению многих авторов, является трансвагинальная пункция кисты яичника с последующим цитологическим исследованием пунктата [23, 29, 145, 179]. Кэмпбелл С., Монг Э. (2003) считают, что наиболее целесообразно проводить пункцию ФКЯ у молодых женщин при наличии односторонней, однокамерной, эхонегативной тонкостенной кисты диаметром менее 10 см [15].

Одним из обязательных условий для осуществления пункции кистозного образования служит показатель уровня онкомаркера СА-125 в сыворотке крови менее 35 МЕ/мл [29, 204].

Серов В. Н., Кудрявцева Л. И. (2001) рекомендуют пункцию образования яичника с цитологическим исследованием аспирата при отсутствии эффекта от консервативной терапии (противовоспалительной, гормональной) в течение 3 месяцев [55]. Частота рецидива при трансвагинальной пункции ретенционного образования, по разным данным, составляет от 11 до 20 % [23, 157, 179]. Отмечена закономерность: чем больше размер патологического образования, тем выше риск рецидивирования. Лечебной пункции могут быть подвергнуты анэхогенные однокамерные кисты с тонкими гладкими стенками без перегородок (или с наличием не более 2 тонких септ) и без признаков васкуляризации [203, 204, 206].

Во всех случаях аспирации кист яичников должно проводиться цитологическое исследование полученной жидкости [23, 147, 179, 204]. Относительно надежности цитологического исследования мнения исследователей расходятся: многие авторы оценивают его очень высоко [112, 157, 179, 203, 206], тогда как другие полагают, что оно недостаточно точно [113]. В исследовании Kostrzewa M. et al. (2019) цитологический и ультразвуковой диагнозы ФКЯ у 84 пациентов совпали в 100 % случаев [157]. Gupta N. et al. (2012) показали высокий уровень специфичности (98,0 %) и чувствительности (85,7 %) тонкоигольной аспирации при диагностике новообразований яичников, при этом положительная прогностическая ценность составила 97,7 %, отрицательная – 87,7 %, точность метода – 92,0 %. В своей работе авторы сравнили результаты тонкоигольной аспирационной цитологии с результатами гистопатологических исследований [112]. Аналогичным образом Ray S. et al. (2014) выявили высокое соответствие между результатами цитологического и гистопатологических исследований: чувствительность цитологического диагноза составила 83 %, специфичность – 97 %, а точность – 93 % [206].

По мнению большинства специалистов, трансвагинальная пункция кист яичников под эхографическим контролем является безопасным и

малотравматичным вмешательством, но, как и любая инвазивная манипуляция, может быть сопряжена с различными осложнениями. Их подразделяют на два типа: ранние, возникающие сразу после вмешательства в пределах первых 24 часов, и отсроченные, проявляющиеся в течение последующих пяти суток. Согласно опубликованным данным частота осложнений колеблется от 0,5 до 12,2 %, средний показатель составляет около 5,9 %. Тем не менее большинство исследований показывают частоту осложнений менее 3 %. Особое внимание заслуживает тот факт, что среди зарегистрированных случаев осложнений не зафиксировано ситуаций, угрожающих жизни пациента. Среди ранних осложнений отмечают умеренную болезненность в нижних отделах живота, проявления вагусных симптомов (головокружение, потливость, снижение артериального давления) и кровотечение из места прокола. Эти состояния, как правило, проходят самостоятельно или значительно уменьшаются в течение десяти минут, не требуя дополнительной терапии или госпитализации. Отсроченные осложнения могут быть связаны с развитием инфекционно-воспалительных процессов, риском кровотечения и повреждения соседних органов и тканей [29, 156].

В программах ВРТ проведение трансвагинальной пункции ФКЯ под ультразвуковым контролем получило особую популярность, так как этот метод сопряжен с рядом преимуществ:

- 1) сохранение овариального резерва в сравнении с лапароскопической цистэктомией, что непосредственно влияет на эффективность контролируемой овариальной стимуляции и эффективности ЭКО;
- 2) высокая эффективность, позволяющая непосредственно после вмешательства начать стимуляцию суперовуляции;
- 3) меньший риск спаечного процесса;
- 4) отсутствие реабилитационного периода.

К недостаткам данного вида лечения относятся необходимость анестезии у пациентов с низким болевым порогом, потенциальный риск кровотечения, инфекции или повреждения соседних органов малого таза [94, 147, 157].

1.4.2 Консервативный подход к ведению пациентов с функциональными кистами яичников в программах ЭКО: сравнение трансвагинальной пункции и консервативного подхода

К консервативному лечению относят подавление гипоталамо-гипофизарной системы с использованием комбинированных оральных контрацептивов (КОК), агонистов или антагонистов ГнРГ [24, 25, 94, 147].

В первых эпидемиологических исследованиях, таких как Ory H. et al. (1974), Ramcharan S. et al. (1981), Vessey M. et al. (1987), сообщалось об обратной зависимости между приемом КОК и хирургически подтвержденными ФКЯ [161, 164, 210]. Отмечен предполагаемый положительный эффект от терапии КОК, способствующий регрессу ФКЯ. Поскольку гипофизарные гонадотропины способствуют росту фолликулов, а КОК подавляют гонадотропины, предполагалось, что оральные контрацептивы могут быть полезны как для лечения, так и для профилактики ФКЯ.

Исследования последних лет говорят об обратном. Проанализировав данные более 680 женщин с ФКЯ (Cochrane обзор, 2011), исследователи пришли к выводу, что использование КОК с целью лечения ФКЯ не имеет преимуществ в сравнении с выжидательной тактикой. Кистозные образования, которые не исчезают спонтанно в течение нескольких месяцев, вероятно, не являются ФКЯ. Назначение КОК возможно с целью предупреждения образования новых кист. Таким образом, КОК могут препятствовать формированию ФКЯ, но они не оказывают влияния на уже имеющиеся ретенционные образования [18, 160].

В работах Griesinger G. et al. (2008) показано, что использование КОК в качестве претритмента в программах ВРТ ассоциировано с более медленным ростом фолликулов, большими стартовыми и курсовыми дозами гонадотропинов и длительностью стимуляции [158]. По данным метаанализа 2017 года, использование КОК перед протоколом ВРТ снижает частоту наступления беременности и живорождения [159]. Таким образом, использование КОК как одного из методов гормонального лечения ФКЯ в программах ВРТ является не

только нецелесообразным, но и ухудшает эффективность программы ЭКО [102, 159].

Активное использование агонистов ГнРГ для терапии ФКЯ в программах ЭКО получило широкое распространение при ведении пациентов в длинном протоколе контролируемой стимуляции яичников. Herman A. et al. (1990) и Owj M. et al. (2004) считают, что введение агонистов ГнРГ при обнаружении ФКЯ в программе ЭКО полностью нивелирует негативное влияние ретенционного образования на эффективность программы [117, 166].

В связи с активным внедрением и эффективностью как консервативной терапии ФКЯ с использованием агонистов ГнРГ, так и трансвагинальной пункции ретенционного образования в литературе активно исследуется сравнительный анализ эффективности программы ЭКО в зависимости от выбранного метода лечения. Firouzabadi R. D. et al. (2010) не обнаружили различий в количестве ооцитов и частоте наступления беременности, но заметили в группе пациентов с пункцией кисты более высокое количество отмены переноса эмбриона и сегментации циклов. Авторы пришли к выводу, что проведение трансвагинальной пункции экономически невыгодно, требует анестезии, что является недостатком метода [115].

Метаанализ McDonnell R. et al. (2014) включил три рандомизированных клинических исследования, которые проводились в Иране (Qublan, 2006), Иордании (Firouzabadi, 2010) и Великобритании (Rizk, 1990). Все три исследования посвящены сравнению трансвагинальной пункции ретенционного образования и подавления гипоталамо-гипофизарной системы введением агонистов ГнРГ. При хирургическом и консервативном подходах к лечению кист яичников перед вступлением в протокол ЭКО авторы не обнаружили различий в количестве получаемых ооцитов, качестве эмбрионов, частоте клинических беременностей и живорождения [115, 147, 162, 163].

В последние годы все большее распространение у репродуктологов получил протокол стимуляции с использованием антаГнРГ. По данным Европейской ассоциации репродукции человека, использование антаГнРГ рекомендуется для

пациентов с прогнозируемым высоким и нормальным уровнем ответа яичников, поскольку при равной эффективности в сравнении с длинным протоколом овариальной стимуляции использование антаГнРГ повышает безопасность процедуры, снижая риск синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) [56, 90, 107].

Преимуществами протокола контролируемой овариальной стимуляции с антаГнРГ по сравнению с агонистами являются быстрое торможение рецепторов и начало воздействия, «чистый» антагонистический эффект без «вспышки», быстрое восстановление функции гипофиза после отмены (24–48 часов), снижение риска гиперстимуляции яичников, меньшая стоимость лекарств [26, 56, 76, 107, 121, 163].

Последние годы внимание исследователей привлекает предварительное назначение антаГнРГ в течение 3 – 7 дней в протоколах ЭКО с целью увеличения эффективности программы [71, 74, 95, 107].

В связи с изменением подходов к контролируемой овариальной стимуляции и переходом большинства репродуктологов на протоколы стимуляции с использованием антаГнРГ возникла необходимость исследовать влияние претритмента с помощью введения антаГнРГ на регресс ФКЯ. В 2016 году был выполнен первый сравнительный анализ эффективности программ ЭКО, основанный на двух различных подходах: трансвагинальной пункции ретенционного образования или применения антаГнРГ. В исследование были включены 385 пациенток с односторонними ФКЯ размером более 20 мм с тонкими стенками и анэхогенным содержимым, обнаруженными непосредственно перед стартом овариальной стимуляции. Трансвагинальная пункция ретенционного образования яичника была проведена 41 пациенту (10,2 %), а 362 пациента (89,2 %) получали однократную дозу 0,25 мг ацетата ганиреликса (Merck, Kenilworth, NJ) в течение 3–5 дней. Выявлено, что введение антаГнРГ ассоциировано с большей продолжительностью контролируемой стимуляции овуляции и требует более высоких доз гонадотропинов по сравнению с таковыми в группе с аспирацией содержимого кисты. В количестве полученных ооцитов, качестве эмбрионов, наступлении биохимической и клинической беременности значимых различий не выявлено [94].

Несмотря на большое количество работ на тему ФКЯ, на сегодняшний день недостаточно изучены этиопатогенез ФКЯ у пациенток с бесплодием, их влияние на течение протокола ЭКО, а именно на особенности контролируемой индукции овуляции, количество и качество ооцитов, а также эмбриологические аспекты этих программ. Также остается дискуссионным подход к лечению ретенционных образований. Единой точки зрения на выбор консервативного или хирургического подхода к лечению ФКЯ не существует. Для более четкого понимания тактики ведения программ ВРТ при ФКЯ необходимы дальнейшие исследования.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Экспериментальная часть

Эксперимент выполнен на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии (заведующий – д-р мед. наук, профессор С. В. Логвинов), на базе Центра доклинических исследований центральной научно-исследовательской лаборатории (руководитель – доцент В. В. Иванов) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России, г. Томск). На проведение исследования получено разрешение комиссии по контролю содержания и использования лабораторных животных (IACUC) ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России, протокол № 05-1/2023 от 28.04.2023 г.

Проведение эксперимента соответствовало законодательству Российской Федерации, положениям «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (ETS № 123)» (Страсбург, Франция, 1986), принципам Хельсинкской декларации (девятая редакция, принятая 64-й Генеральной ассамблеей Всемирной медицинской ассоциации, Форталеза, Бразилия, 2013), требованиям и рекомендациям государственных стандартов «Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных» (ГОСТ 33215-2014), «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Требования к обращению с животными» (ГОСТ Р ИСО 10993-2-2009).

Для проведения эксперимента были использованы половозрелые крысы-самки линии Wistar массой 220–250 г. При выборе данного вида животных учитывались особенности овариально - эстрального цикла, наиболее близкие к женскому организму, включая наличие спонтанной овуляции, что отличает этот вид от многих других видов животных [53, 101]. Экспериментальных животных содержали в виварии на базе Центра доклинических исследований центральной

научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России.

В комнате содержания животных поддерживали следующие параметры микроклимата: температура воздуха 20–26 °С, относительная влажность воздуха 30–70 %, воздухообмен 8–15 объемов/ч, световой режим, регулируемый 12 : 12. Контроль параметров микроклимата осуществлялся дважды в день. В виварии предусмотрена отдельная система вентиляции: приточная и вытяжная системы. Комната содержания животных имеет 12-часовой цикл освещения с автоматическим включением света в 8:00 и выключением в 20:00. Основное освещение выполняется посредством светодиодных ламп. Равномерность освещенности и яркость света в требуемых пределах обеспечивается равномерным распределением светильников на потолке комнаты содержания, а также установлением ламп той мощности, которая обеспечивает расчетную освещенность в заданных пределах. Животные имели неограниченный доступ к корму «Чара» для крыс и мышей (ГОСТ Р 51849-200) и постоянный свободный доступ к питьевой воде, находящейся в поилках. Животные содержались группами по 5 особей в каждой клетке. Каждый день проводился тщательный медицинский осмотр всех животных, оценивались их общее состояние, внешний облик, поведенческие реакции, аппетит и двигательная активность, регулярно фиксировалась масса тела. До начала участия в эксперименте животные содержались отдельно в специально оборудованных боксах для адаптации к новым условиям. Период карантина длился 14 суток.

Были сформированы 3 группы животных:

- 1) группа I (основная, n = 60) – группа животных с моделью функциональных кист яичников с использованием хорионического гонадотропина и инсулина (патент № 2282249) [43];
- 2) группа II (сравнения, n = 40) – животные с аналогичным моделированием функциональных кист яичников и последующим лечением антагонистом ГнРГ;
- 3) группа III (контроль, n = 60) – интактные животные.

Объем экспериментальной выборки ($n = 160$) определялся на этапе планирования исследования с использованием программного обеспечения G*Power 3.1.9.7 [187]. Для обеспечения статистической мощности 80 % ($1 - \beta = 0,80$) при уровне значимости $\alpha = 0,05$ и ожидаемом размере эффекта $d = 0,8$ расчетное количество животных на одну терминальную точку составило $n = 9$. С учетом вероятного использования критериев Манна – Уитни и Краскела – Уоллиса, характеризующихся меньшей мощностью по сравнению с параметрическими тестами, количество животных на каждую терминальную точку забора биоматериала было зафиксировано на уровне $n = 10$ [87]. Данный объем выборки является расчетно-необходимым для достижения асимптотической относительной эффективности (ARE) непараметрических методов не менее 95 % и позволяет корректно рассчитывать медиану и интерквартильный размах [Me; Q1–Q3] при высокой индивидуальной вариабельности биологического ответа биомоделей.

Общее количество животных (N) рассчитано по формуле

$$N = (n \cdot T) / (1 - L) \approx 160 \text{ животных,}$$

где N – общее количество животных в эксперименте;

n – количество животных на одну терминальную точку;

T – суммарное количество временных точек во всех группах;

L – коэффициент технологической убыли.

Данный объем выборки позволяет минимизировать стандартную ошибку среднего и обеспечить воспроизводимость результатов при межгрупповом сравнении.

Моделирование кист яичников осуществлялось путем введения хорионического гонадотропина в дозе 300 ЕД и инсулина средней продолжительности действия («Протафан НМ») в дозировке 2,5 ЕД в течение 7 суток 1 раз в сутки внутримышечно в фазу диэструса (таблица 1). Животным проводили кольпоцитологическое исследование для определения стадии эстрального цикла и эстрогенной насыщенности организма. Влагалищные мазки у крыс брали ежедневно путём смыва содержимого влагалища дистиллированной водой из пипетки на предметное стекло с последующей окраской водным

раствором метиленовой сини. Оценку производили по содержанию эпителиальных клеток, содержащих ядра (N), ороговевших поверхностных клеток (С) и лейкоцитов (L). Проэструс, эструс, метаэструс и диэструс у крыс соответствовали десквамации, регенерации, пролиферации и фазе секреции у женщины [43]. Точкой отсчета эксперимента являлся день последнего введения хорионического гонадотропина и инсулина.

Таблица 1 – Схема экспериментальной части

Серии опыта, методы воздействия, количество животных	-6-е сутки	-5-е сутки	-4-е сутки	-3-и сутки	-2-е сутки	-1-е сутки	0-е сутки	1-е сутки	7-е сутки	15-е сутки	30-е сутки	60-е сутки
Модель ФКЯ (n = 60)	↓ ХГЧ 300 ЕД + протафан НМ 2,5 ЕД 7 дней ↓							-	-	-	-	-
Забор материала (микроскопия + ИГХ)	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+
Модель ФКЯ + Лечение: антаГнРГ (n = 40)	-	-	-	-	-	-	-	↓ Цетрореликс 0,01 мг/сут в течение 7 дней ↓		-	-	-
Забор материала (микроскопия + ИГХ)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Группа контроля (n = 60) Забор материала (микроскопия + ИГХ)	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+

Данный способ моделирования поликистозных яичников с преобладанием фолликулярных кист предложен С.В. Логвиновым и соавт. (патент № 2282249). Преимуществом данной модели является высокая степень соответствия экспериментально индуцированных патоморфологических изменений и патогенетических особенностей формирования множественных фолликулярных кист яичников их клиническим аналогам у человека. ХГЧ, являясь структурным

аналогом ЛГ, воздействует на тека-клетки яичников. Его избыток вызывает даун-регуляцию LHR и гиперплазию тека-ткани, что ведет к гиперандрогении. Данное состояние, с одной стороны, индуцирует гиперэстрогению, проявляющуюся персистирующим эструсом у животных, а с другой — нарушает селекцию доминантного фолликула, запуская механизмы кистозной атрезии. Инсулин, блокируя десенситизацию LHR, еще больше индуцирует гиперчувствительность тека-клеток к ХГЧ, вызывая преждевременную лютеинизацию гранулезы и способствуя кистозной трансформации фолликула. Таким образом, хроническая гиперстимуляция тека-клеток субовуляторными дозами ХГЧ в сочетании с выраженной гиперинсулинемией закономерно приводит к формированию множественных фолликулярных кист яичников в эксперименте [43].

Животным группы сравнения с 1-х по 7-е сутки эксперимента подкожно вводили антаГнРГ в дозе 0,01 мг.

Доза препарата рассчитывалась с помощью правил по расчету эквивалентных доз для человека и животного (Руководство по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов, 2019). Суточная доза антаГнРГ для человека, применяемая в клинической практике, равна 0,25 мг/сутки. Эквивалентная доза для человека (ЭДЧ), выраженная в миллиграммах на килограмм, в перерасчете на среднюю массу тела пациенток 60 кг, составила 0,004 мг/кг. Эквивалентную дозу для животного (ЭДЖ) можно рассчитать, умножив ЭДЧ на коэффициент пересчета доз для животного и человека (КП) и на массу тела животного, округлив полученные показатели до сотых:

$$\text{ЭДЖ} = \text{ЭДЧ} \cdot \text{КП} \cdot m = 0,004 \cdot 7 \cdot 0,250 = 0,01 \text{ мг,}$$

где ЭДЖ – эквивалентная доза для животного;

ЭДЧ – эквивалентная доза для человека;

КП – коэффициент пересчета доз на основе площади поверхности тела [53, 63, 176].

Животных выводили из эксперимента на –4, 0, 7, 15, 30 и 60-е сутки эксперимента. Эвтаназия проводилась методом передозировки газового наркоза

(CO₂). Использованный биологический материал подвергался утилизации в специализированные контейнеры центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ.

При аутопсии оценивали состояние органов брюшной полости: наличие и характер выпота, состояние брюшины; измерялись размеры, объем яичников; отмечался характер структуры коркового слоя, наличие фолликулов, кистозных образований, кровоизлияний. Оба яичника забирали для гистологического исследования.

Приготовление гистологических препаратов и последующий анализ выполняли на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО СибГМУ (заведующий – д-р мед. наук, профессор С. В. Логвинов).

Для фиксации изъятых биоматериала яичники незамедлительно погружали в 10 % нейтральный формалин на 24 часа. Последующая промывка осуществлялась под проточной водой. Процесс обезвоживания включал инкубацию объектов в этаноле восходящей концентрации (70 %, 80 %, 96 %, 100 %) с экспозицией 24 часа для каждого раствора. Далее следовало выдерживание образцов в смеси этанол-толуол и чистом толуоле. Завершающий этап предусматривал помещение образцов в смесь толуол-парафин, а затем в жидкий парафин на 1–2 часа при температурном режиме 52–56 °С. После затвердевания парафина вырезали блоки с заключенными в них яичниками и закрепляли на деревянном кубике. Далее с помощью ротационного микротомы изготавливали срезы толщиной 4–6 мкм.

Окраску срезов производили гематоксилином и эозином, в результате которой ядра приобретали сине-фиолетовый цвет, цитоплазма – бледно-розовый.

Гистологические срезы просматривали под микроскопом AXIOSTAR PLUS (Carl Zeiss Inc., Германия) при увеличениях окуляра ×10, объектива ×5, ×10, ×20 и ×40; цифровые фотографии получали при помощи встроенного в него цифрового фотоаппарата, обработка осуществлялась в графическом редакторе Adobe Photoshop.

Морфометрический анализ в яичниках оценивали в соответствии с рекомендациями Г. Г. Автандилова (1990) [1]. Для анализа структурной

перестройки тканевых компонентов яичников проводили количественный подсчет примордиальных фолликулов (ПрФ), первичных фолликулов (ПФ), вторичных фолликулов (ВФ), третичных фолликулов (ТФ), атретических фолликулов и тел (АФиТ) и желтых тел (ЖТ) на серийных срезах через каждые 150–200 мкм ткани яичника.

Для иммуногистохимического исследования материал фиксировали в 10 % нейтральном формалине в течение 24 ч при комнатной температуре, затем заливали в парафин. На депарафинизированные срезы наносили блокирующий реагент (Peroxidase-Blocking Solution, Dako, Дания), после чего проводили высокотемпературную обработку срезов в СВЧ-печи в соответствующем буферном растворе (в зависимости от протокола окрашивания к каждому конкретному антителу). На остывшие срезы раскапывали следующие антитела: IGF-1, LHR, Androgen Receptor (AR). Инкубацию проводили в течение ночи при температуре +4 °С. Для выявления окрашивания на срезы наносили раствор диаминобензидина (Dako REAL EnVision Detection System, Дания), ядра докрасивали гематоксилином Майера. Экспрессию биомаркеров определяли путем подсчета числа ядер (клеток при цитоплазматическом окрашивании) с различной интенсивностью окраски на 500 клеток определенного типа. Интенсивность окраски оценивали следующим образом: 0 – нет окрашивания, 1 – слабое окрашивание, 2 – умеренное и 3 – сильное окрашивание. Полуколичественную оценку проводили по формуле

$$H\text{-score} = \sum P_i \cdot i,$$

где P_i – процент клеток, окрашенных с разной интенсивностью;

i – интенсивность окрашивания, выраженная в баллах от 0 до 3.

Спецификация антител представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Спецификация антител

Антитело	Сокращение	Вариант экспрессии
Insulin-like Growth Factor I	IGF-1	Цитоплазматический
Luteinizing Hormone Receptor	LHR	Цитоплазматический
Androgen Receptor	AR	Ядерный

2.2 Клиническая часть

Проведено проспективное сравнительное контролируемое исследование, в которое было включено 114 женщин репродуктивного возраста, находившихся на лечении в центре вспомогательных репродуктивных технологий ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России. Получено одобрение локального этического комитета ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России (протокол № 9455 от 27.04.2023).

Критерии включения:

- 1) информированное согласие на участие в исследовании;
- 2) возраст пациенток от 18 лет до 41 года;
- 3) одностороннее ретенционное образование диаметром 25–60 мм, персистирующее не более 3 месяцев по данным УЗИ;
- 4) концентрация СА-125, НЕ-4 в пределах референсных значений;
- 5) АМГ в крови женщины 1,2–3,5 нг/мл;
- 6) индекс массы тела 18,5–29,9.

Критерии исключения:

- 1) несоответствие критериям включения;
- 2) гиперпролактинемия;
- 3) умеренные и тяжелые формы генитального эндометриоза (ASRM \geq III, 1996);
- 4) гипотиреоз, гипертиреоз;
- 5) болезни надпочечников;
- 6) опухоли гипофиза и гипоталамуса;
- 7) гинекологическая патология, требующая оперативного лечения;
- 8) истинные опухоли яичников, в том числе в анамнезе;
- 9) выраженная патоспермия;
- 10) противопоказания к ЭКО согласно Приказу № 803н;
- 11) отказ женщины от участия в исследовании.

Основную группу (I) ($n = 66$) составили пациенты с ановуляторным бесплодием (№ 97.0 по МКБ-10) и ФКЯ, диагностированными при УЗИ ОМТ непосредственно перед вступлением в программу ЭКО. Пациенты были разделены на две подгруппы в зависимости от тактики ведения ретенционного образования. Рандомизация осуществлялась методом случайных конвертов (таблица 3).

Пациентам группы IA проводили претритмент антагонистом ГнРГ подкожно в дозе 0,25 мг в течение 3 – 7 дней с последующим УЗИ-контролем ретенционного образования. Первоначально в подгруппу IA было включено 30 пациентов. На фоне терапии антагонистом ГнРГ целевое уменьшение диаметра образования (менее 25 мм) было достигнуто у 28 женщин (93,3 %). В 2 случаях (6,7 %) целевой редукции размеров кисты не наблюдалось, в связи с чем данные пациентки были исключены из дальнейшего исследования согласно критериям включения. Таким образом, окончательный анализ эффективности контролируемой овариальной стимуляции проведен в подгруппе IA у 28 пациенток, достигших целевых ультразвуковых параметров регресса ФКЯ.

Пациентам группы IB была проведена трансвагинальная пункция содержимого кисты под ультразвуковым контролем с последующим его цитологическим исследованием ($n = 38$). Пункцию жидкостных образований яичников осуществляли с помощью трансвагинального датчика с использованием специализированного адаптера и пункционной иглы диаметром 19G. Пунктат собирали в стерильные пробирки, оценивали макроскопически, измеряли объем и отправляли для цитологического исследования. По результатам цитологического исследования не было обнаружено атипичных клеток в 100 % случаев.

Терапию в обеих подгруппах начинали со 2-го по 5-й день менструального цикла. После проведенного лечения в данном менструальном цикле пациентам основной группы назначалась контролируемая стимуляция яичников по фиксированному протоколу с антаГнРГ.

Таблица 3 – Дизайн исследования

Планируемое число пациентов согласно критериям включения / исключения (n= 103) + контроль (n= 15)			
Основная группа I		Группа сравнения II	Группа контроля III
(n = 70) Пациенты с ановуляторным бесплодием и ФКЯ		(n = 33) Пациенты с ановуляторным бесплодием, не имеющие ФКЯ	(n=15) Условно здоровые женщины
Рандомизация (метод случайных конвертов)			
Группа IA (n = 31) претритмент антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона 0,25 мг 3 – 7 дней	Группа IB (n = 39) трансвагинальная пункция ФКЯ с цитологическим исследованием		
Потери наблюдения (n = 3)	Потери наблюдения (n = 1)	Потери наблюдения (n=0)	
Общее число пациентов, включённых в исследование (n=114)			
Группа IA (n = 28) претритмент антаГнРГ 0,25 мг 3 – 7 дней	Группа IB (n = 38) трансвагинальная пункция ФКЯ с цитологическим исследованием	Группа сравнения II (n = 33) пациенты с ановуляторным бесплодием, не имеющие ФКЯ	Группа контроля (n=15) условно здоровые женщины
Программа ЭКО			–
I: сравнительная оценка овариального резерва изчаемых групп (сравнение групп I – II – III)			
II: оценка влияния ФКЯ на эффективность программы ЭКО (сравнение групп I – II)			–
III: оценка влияния различных тактик ведения пациентов с ФКЯ на эффективность программы ЭКО (сравнение групп IA – IB – II)			–

В группе сравнения (II) (n = 33) пациентам с ановуляторным бесплодием без ФКЯ проведена стандартная программа ЭКО. Стимуляция суперовуляции также осуществлялась по фиксированному протоколу с антагонистами ГнРГ.

Группу контроля (III) (n = 15) составили условно здоровые женщины, обратившиеся на консультацию по поводу планирования беременности и не имеющие операций на органах малого таза в анамнезе (Z31.6).

Расчет объема выборки проводился априорно для первичной конечной точки – количества полученных ооцитов. В качестве минимально значимой разницы (Δ) было принято значение 3,0 ооцита, что в клинической практике программ ВРТ статистически соответствует получению как минимум одного дополнительного эмбриона высокого качества и существенно повышает кумулятивную частоту

наступления беременности в одном лечебном цикле [150]. Расчет выполнялся для непараметрических критериев с учетом коэффициента асимптотической относительной эффективности по методике G. Noether (1987): $n = (21\sigma^2) / \Delta^2$.

Данная формула является упрощенной производной от метода Нотера для статистической мощности 80 % и уровне значимости 0,05. Она учитывает, что непараметрическим тестам (Манна – Уитни и Краскелла – Уоллиса) нужно на 15 % больше данных, чем t-критерию Стьюдента, чтобы достичь той же надежности [154].

Таким образом, при заданных уровнях значимости $\alpha = 0,05$, статистической мощности 80 %, минимально значимой разнице $\Delta = 3$ и стандартном отклонении $\sigma = 3,5$ достаточный минимальный объем каждой группы составил 28 человек. Фактически сформированные подгруппы: IA (n = 28), IB (n = 38) и группа сравнения II (n = 33) полностью удовлетворяют критериям мощности для верификации межгрупповых различий. Группа контроля III (n = 15), сформированная из условно здоровых женщин, служила исключительно для компаративного анализа гормонального профиля пациентов групп IA, IB и II. Ввиду отсутствия программы ЭКО у пациентов группы III ее дальнейший сравнительный анализ не проводился.

Алгоритм исследования включал анализ клинико-anamnestических характеристик пациенток, данных лабораторного и инструментального исследования, показателей индуцированного цикла, эмбриологического этапа ЭКО, а также оценку эффективности ВРТ. Всем пациентам проводилось стандартное клинико-лабораторное обследование в соответствии с Приказом № 803н. В менструальном цикле, предшествующем контролируемой овариальной стимуляции, пациентам выполняли пайпель-биопсию эндометрия с последующей гистологической верификацией диагноза для исключения органической патологии эндометрия.

Гормональное обследование включало оценку базальных концентраций ФСГ, ЛГ, эстрадиола, АМГ, прогестерона, пролактина, ТТГ, свободного тироксина (Т4).

При вступлении в программу ЭКО УЗИ выполнялось с помощью аппарата GE Voluson P8 (GE Healthcare). Состояние матки и ее придатков, определение КАФ диаметром 2–10 мм, мониторинг роста фолликулов и толщины эндометрия в ответ на контролируемую стимуляцию овуляции оценивали также с помощью УЗИ.

Анализ эякулята с оценкой его фертильности осуществлялся согласно шестому руководству ВОЗ по обработке и исследованию эякулята человека [213].

Характеристика менструального цикла проводилась согласно рекомендациям FIGO (2022) [192]. Расчет индекса массы тела (ИМТ) проводился по формуле «вес, кг / рост, м²», его значения оценивались согласно рекомендациям ВОЗ (1995).

Для оценки овариального резерва использовали подсчет КАФ на момент вступления в протокол, концентрацию АМГ, базальный уровень ФСГ [19]. Прогноз ответа яичников на контролируемую овариальную стимуляцию и выбор стартовой дозы гонадотропинов основывались на анализе возраста пациента, КАФ, данных предыдущих попыток ЭКО, уровня АМГ, ИМТ. Для выявления «бедного» ответа яичников использовались критерии POSEIDON [196].

Процедура ЭКО/ИКСИ (интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов) выполнялась по общепринятой методике [13].

Контролируемая овариальная стимуляция всем пациентам проводилась по протоколу с антаГнРГ. Для стимуляции использовали рекомбинантные гонадотропины, содержащие только фоллитропин альфа («Гонал Ф», Merck Serono) или дополнительно лутропин альфа («Перговерис», Merck Serono). Согласно фиксированному протоколу антаГнРГ цетрореликс («Цетротид», Merck Serono) в дозе 0,25 мг/сут вводился с 6-го дня стимуляции гонадотропинами [13, 26].

Введение триггера для индукции финального созревания ооцитов осуществляли при обнаружении во время УЗИ-мониторинга трех и более фолликулов диаметром 17 мм или двух и более фолликулов диаметром 16 мм и одного фолликула диаметром 18 мм. В качестве триггера овуляции использовались рекомбинантный хориогонадотропин (ХГЧ) альфа в дозе 250 мкг п/к («Овитрель»,

Merck Serono) или агонист ГнРГ (аГнРГ) трипторелин в дозе 0,2 мг п/к («Декапептил», Ferring, GMBH) [13, 49, 107].

Трансвагинальная пункция фолликулов проводилась через 35–36 часов после введения триггера [49] под внутривенной анестезией пропофолом («Диприван», Zeneca) под УЗ-контролем на аппарате GE Voluson P8 (GE Healthcare) в асептических условиях пункционными иглами диаметром 19G и 21G (Kitazato, Япония) с использованием специального адаптера на трансвагинальный датчик и аспирационной помпы Single Vac Pioneer Pro-Pump (LifeGlobal Group LLC, США).

По морфологическим признакам полученные ооциты разделялись на зрелые (метафаза II – МII), незрелые (метафаза I – МI, профаза I – GV) и дегенеративные (Atr) [40].

Признаки нормального оплодотворения – наличие пронуклеусов (2pn) и двух полярных тел (2pb) – оценивали в первые сутки культивирования эмбрионов. Аномальным оплодотворением признавали 1pn и ≥ 3 pn, отсутствующим – 0pn.

Культивирование эмбрионов проводилось с использованием сред Sage 1-Step with Human Albumin Solution, Origio Sequential Fert with Phenol Red, OIL for tissue culture, Flushing Medium, SynVibro Hyadase, PVP Clinical Grade в CO₂-инкубаторах Sanyo (Япония) и Binder (Германия) в течение 3–6 суток с учетом рекомендаций стамбульского консенсуса общества ученых-эмбриологов в репродуктивной медицине Alpha и SIGE ESHRE [194]. Для криоконсервации (витрификации) использовались среды фирмы Kitazato (Япония).

Оценка эмбрионов на 5-е сутки проводилась согласно классификации D. K. Gardner и W. B. Schoolcraft (1999), основанной на анализе клеток трофэктодермы, внутренней клеточной массы и размера полости бластоцисты (таблица 4) [40].

Эмбрионы со степенью расширения 2–6, маркировками «А» или «В» для внутриклеточной массы и трофэктодермы обозначались бластоцистами «топового» качества.

Таблица 4 – Рекомендуемая классификация для оценки эмбрионов человека на стадии бластоцисты (Gardner D. K., Schoolcraft W. B., 1999)

Оценка степени экспансии бластоцисты (формирование полости бластоцисты)	
1	Морула с ярко выраженной полостью, но в которой пока невозможно оценить другие клеточные компоненты (M4Cav)
2	Бластоциста, полость которой занимает половину или более объема эмбриона
3	Полная бластоциста, полость заполняет эмбрион полностью, но блестящая оболочка не истончена
4	Экспандированная бластоциста, объем полости больше, чем размер ранних эмбрионов, блестящая оболочка истончена
5	Вылупляющаяся бластоциста, трофэктодерма начала выходить через блестящую оболочку
6	Вылупившаяся бластоциста, полностью вышедшая из блестящей оболочки
Оценка клеток внутренней клеточной массы	
A	Плотно упакованная масса клеток, много клеток
B	Неплотно сгруппированная масса клеток, немногочисленные клетки
C	Внутренняя клеточная масса выражена слабо или отсутствует
Оценка клеток трофэктодермы	
A	Много клеток формируют сплошной эпителий, клетки одинаковой округлой формы, плотно прилегают друг к другу
B	Немногочисленные клетки образуют неплотный эпителий, размер клеток разный, единичные вытянутые клетки
C	Трофэктодерма представлена несколькими сильно вытянутыми клетками, внутри клеток дегенеративные фрагмент

Эмбриоперенос осуществлялся на 5-е сутки культивирования с использованием мягких катетеров Wallace 1816N и со стилетом Wallace Sure-Pro PPS623 (Smiths Medical, США) и катетеров Kitazato с заданным изгибом 214322 (Япония) под УЗИ-контролем. В случае возникновения риска синдрома гиперстимуляции и/или тонкого эндометрия (М-эхо менее 7 мм по данным УЗИ) осуществлялась криоконсервация эмбрионов топового качества с последующим криопереносом в следующем менструальном цикле.

Посттрансферная поддержка лютеиновой фазы проводилась прогестерон-содержащими препаратами в дозе 90 мг/сут («Крайнон», Merck Serono) или

микронизированным прогестероном 600 мг («Утрожестан», Besins Healthcare) интравагинально [13, 49].

Определение β -субъединицы ХГЧ проводилось на 14-й день после переноса эмбриона, диагностика клинической беременности (УЗИ) – на 21-й день после эмбриотрансфера. Прогрессирующей беременностью считалась визуализация эмбриона с сердечной деятельностью [13, 49].

2.3 Статистическая обработка и анализ данных исследования

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программы SPSS 23.0. Оценку соответствия признаков нормальному закону распределения проводили с помощью критериев Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса, Шапиро – Вилка, а также визуально с помощью гистограмм. Для оценки однородности дисперсий применяли тест Левена.

При отсутствии условий применимости параметрических тестов (распределение признаков, подчиняющихся закону нормального распределения, однородность дисперсий) в работе использовались непараметрические аналоги. При сравнении двух независимых групп для проверки статистических гипотез при анализе количественных показателей применяли критерий Манна – Уитни.

При сравнении более двух независимых групп использовался критерий Краскела – Уоллиса. При выявлении различий ($p < 0,05$) последующий анализ апостериорных сравнений проводился тестами Данна, Коновера – Инмана. Данный тест скорректирован для множественных сравнений. Если же после выполнения теста Краскела – Уоллиса использовать обычные парные суммы рангов (к примеру, *post hoc* Манна – Уитни), то имеют место две проблемы: 1) ранги в тесте Манна – Уитни отличны от рангов, используемых в тесте Краскела – Уоллиса; 2) *post hoc* Манна – Уитни не использует объединенную дисперсию, которую подразумевает нулевая гипотеза Краскела – Уоллиса. Поэтому дальнейший анализ множественных сравнений проводили специальными тестами (тесты Данна,

Коновера – Инмана): они не имеют этих проблем и скорректированы для множественных сравнений.

Анализ качественных признаков проводился посредством таблиц сопряженности с использованием критерия согласия хи-квадрат Пирсона. Если имелись ячейки с ожидаемой частотой меньше 5, то для четырехпольных таблиц применяли двусторонний точный критерий Фишера или поправку Йетса. Для количественного описания тесноты связи между признаками рассчитывали отношение шансов (OR, Odds Ratio).

Данные представлялись в виде медианы (Me) и квартильного размаха (Q25 – Q75 – 25-й и 75-й процентиля).

Критический уровень значимости p для всех используемых процедур статистического анализа принимали равным 0,05. В работе не была применена поправка Бонферрони, при которой необходима коррекция уровня значимости, так как тесты, использованные в анализе, уже скорректированы для множественных сравнений и не требуют дополнительных поправок.

Регрессионный анализ. Для определения вида математической функции в причинно-следственной зависимости между переменными использовалась бинарная логистическая регрессия. Прогнозирование событий рассчитывалось по формуле

$$p = 1 / (1 + e^{-z}),$$

где e – экспонента;

$z = b_1 \cdot x_1 + b_2 \cdot x_2 + \dots + b_n \cdot x_n + a$; x_1, x_2, \dots, x_n – значения переменных, b_1, b_2, \dots, b_n – коэффициенты модели регрессии, a – константа.

Порог классификация задан 0,5: при значении $p < 0,5$ предполагалось, что событие не наступит, при $p > 0,5$ – его наступление.

При представлении результатов инструментом оценки качества классификации различных дискриминантных правил являлся метод, основанный на анализе операционной характеристической кривой ROC (Receiver Operating Characteristic). ROC-анализ предусматривал сравнение чувствительности и специфичности. Интегральной характеристикой оценки качества являлась

площадь под ROC-кривой – AUC (Area Under Curve): чем больше показатель, тем лучшей прогностической силой обладала модель. Качество модели характеризовалось как отличное (AUC = 0,9–1,0), очень хорошее (AUC = 0,8–0,9), хорошее (AUC = 0,7–0,8), среднее (AUC = 0,6–0,7), неудовлетворительное (AUC = 0,5–0,6).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

3.1 Общая характеристика экспериментальных животных

В процессе эксперимента двигательная активность, возбудимость и пищевое поведение экспериментальных животных не отличались от таковых в группе контроля. При аутопсии визуально оценивали состояние органов брюшной полости: наличие и характер выпота, состояние брюшины. Измеряли размеры и объем яичников, отмечали характер структуры коркового слоя, наличие фолликулов, кистозных образований, кровоизлияний.

В группе контроля в течение эксперимента размеры яичников интактных животных составляли от 0,4–0,6 см, поверхность их была гладкая, белочная оболочка со слабой инъекцией сосудов, отмечено наличие небольшого количества зрелых фолликулов (рисунок 1, А).

При моделировании ФКЯ путем введения хорионического гонадотропина в дозе 300 ЕД и инсулина средней продолжительности действия в дозировке 2,5 ЕД в течение 7 суток двигательная активность и пищевая возбудимость крыс не были изменены, по поведению они не отличались от животных контрольной группы.

В группе I при вскрытии брюшной полости крыс на 3-й день введения ХГЧ и инсулина при аутопсии выявлено увеличение размеров яичников у экспериментальных крыс до 0,6–0,8 см со слабобугристой поверхностью, полнокровием сосудов белочной оболочки яичников. В корковом слое на разрезе определялись полости до 0,1–0,2 см. При аутопсии на 7-й день введения ХГЧ и инсулина макроскопическая картина яичников в большей степени была сходна с вышеописанной. При сравнении с предыдущей контрольной точкой размеры яичников были несколько больше – около 0,7–0,9 см, поверхность яичников с более выраженной бугристостью и аналогичным полнокровием сосудов белочной оболочки. На разрезе отмечался преимущественно крупнокистозный рисунок коркового слоя яичников с диаметром полостей до 0,1–0,2 см (рисунок 1, Б).

Яичники свободно лежали в брюшной полости. Экссудата, спаечного процесса в брюшной полости не было. Обращали на себя внимание гиперемия и утолщение маточных рогов.

При аутопсии в группе I на 7-е сутки от последнего введения ХГЧ и инсулина яичники были увеличены до 0,7–0,9 см. При внешнем осмотре обращало на себя внимание, что поверхность яичников была выражено бугристая с расширенными полнокровными сосудами. Наряду с этим полнокровие сосудов определялось и в прилежащих тканях. На разрезе в яичниках обнаруживались многочисленные желтые тела и однокамерные кистозные полости с тонкими гладкими стенками, заполненные прозрачным желтоватым содержимым. В единичных кистах содержимое имело коричневатый оттенок, что свидетельствовало о предшествующем кровоизлиянии. Диаметр кистозных полостей не превышал 0,2 см (рисунок 1, В).

На 15–30-е сутки от последнего введения ХГЧ и инсулина в группе I сохранялось увеличение размера яичников и их выраженная бугристость. На разрезе корковый слой яичников имел преимущественно крупнокистозное строение, однако по сравнению с предыдущими контрольными точками количество кистозных полостей было меньше. На 60-е сутки от последнего введения ХГЧ и инсулина при аутопсии отмечалось уменьшение размеров яичников до 0,5–0,6 см, поверхность яичников была с незначительной бугристостью, выраженного полнокровия сосудов не отмечалось. На разрезе в корковом слое определялись единичные гладкостенные полости размером до 0,1 см и мелкие фолликулы.

В группе II на 7-е сутки от начала введения антаГнРГ отмечалось уменьшение размеров яичника в сравнении с группой I на аналогичную временную точку (до 0,6–0,8 см) и практически полное исчезновение характерной бугристости и полнокровия сосудов белочной оболочки. На разрезе в корковом слое обнаруживались немногочисленные однокамерные кистозные полости диаметром до 0,1–0,2 см и мелкие фолликулы. В отличие от группы I (моделью ФКЯ)

количество кист и третичных фолликулов в данной группе было ниже (рисунок 1, Г).

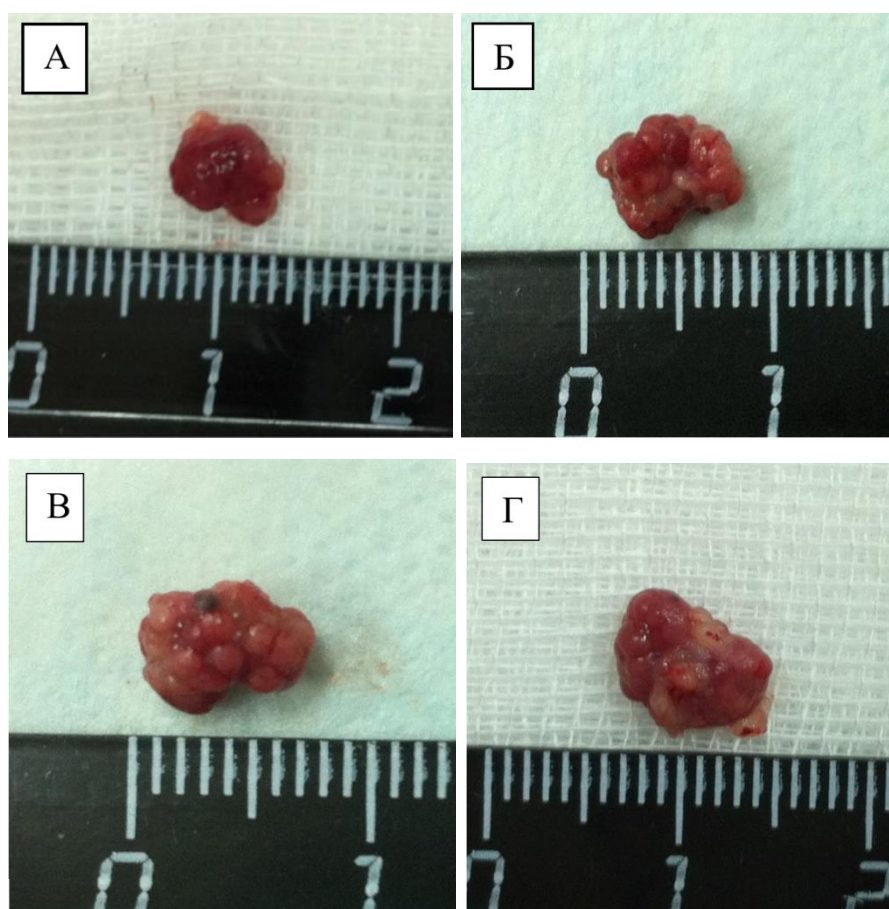


Рисунок 1 – Макропрепараты яичников экспериментальных животных:

А – интактный яичник; Б – яичник крысы группы I на 7-е сутки от введения ХГЧ и инсулина; В – яичник крысы группы I на 7-е сутки от последнего введения ХГЧ и инсулина; Г – яичник крысы группы II на 7-е сутки от начала введения антаГнРГ

На 15–30-е сутки от начала введения антаГнРГ в группе II при аутопсии отмечалось уменьшение размеров яичников до 0,6–0,7 см и их слабобугристая поверхность, на разрезе сохранялось небольшое количество желтых тел. К 60-м суткам в группе II размеры яичников уменьшились до 0,5–0,7, выраженного полнокровия сосудов не отмечалось. На разрезе определялись немногочисленные желтые тела и единичные кисты диаметром не более 0,1 см.

3.2 Морфологические изменения яичников крыс при моделировании функциональных кист

При моделировании функциональных кист на 3-й день введения ХГЧ и инсулина в группе I при микроскопическом исследовании яичников крыс в корковом слое определялись многочисленные кистозно-артезирующиеся фолликулы различного диаметра. Атрезии подвергались фолликулы на разных стадиях развития, поэтому обнаруживались атретические фолликулы и кисты разной величины до 0,1–0,2 см (рисунок 2, А). Наряду с атретическими фолликулами и фолликулярными кистами обнаруживалось растущие фолликулы, однако структура их оказывалась нарушенной: имели место очаговый отёк цитоплазмы, гиперхромия и гомогенизация ядра овоцитов (рисунок 2, Б). Выявлялись измененные примордиальные фолликулы с отеком цитоплазмы овоцита (рисунок 3). Кисты желтого тела на данном временном промежутке не определялись.

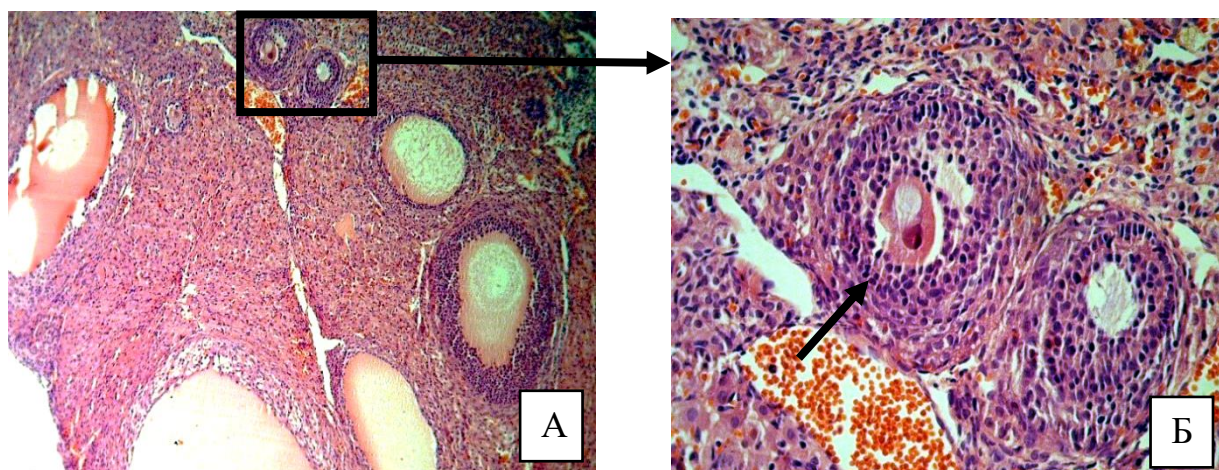


Рисунок 2 – Морфологические изменения яичников крыс группы I на 3-й день введения ХГЧ и инсулина: А – многочисленные кистозно- атрезирующие фолликулы различного диаметра; Б – фрагмент предыдущего рисунка. Отек цитоплазмы, гиперхромия и гомогенизация ядра овоцита вторичного фолликула (черная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. А ×100, ув. Б ×400

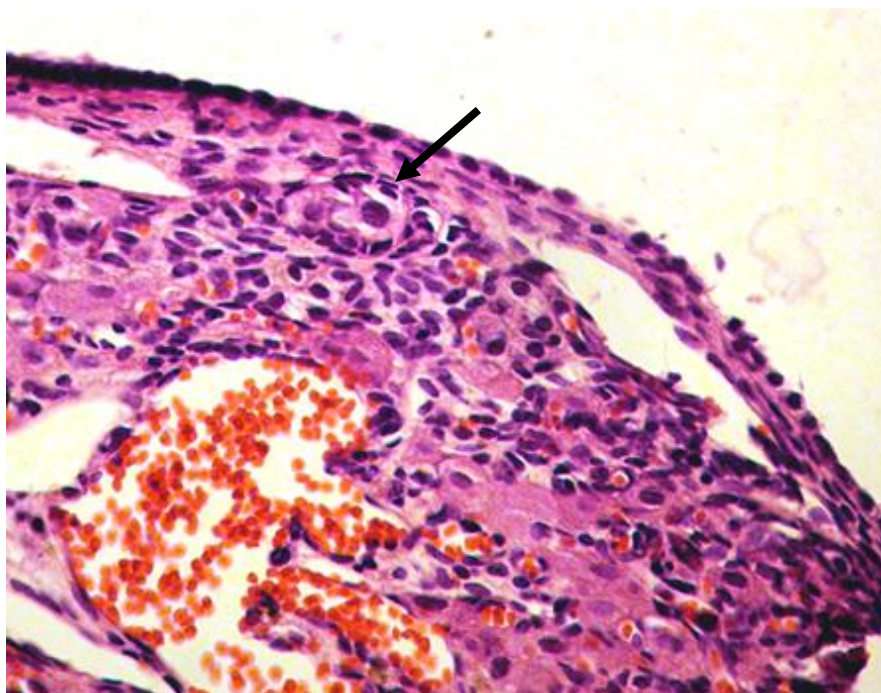


Рисунок 3 – Морфологические изменения яичников крыс группы I на 3-й день введения ХГЧ и инсулина. Примордиальный фолликул с отеком цитоплазмы овоцита (черная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

При моделировании функциональных кист на 7-й день введения ХГЧ и инсулина в группе I обнаруженные при макроскопическом исследовании полости были представлены преимущественно перерастянутыми третичными фолликулами и фолликулярными кистами. При этом в третичных фолликулах отмечались выраженные дегенеративные изменения овоцитов, проявляемые кариопикнозом и грубой вакуолизацией цитоплазмы (рисунок 4, А). В фолликулярных кистах имела место многослойная выстилка (до 10 рядов клеток) клетками гранулезы, что указывает на то, что данные кисты, наиболее вероятно, являлись гормонпродуцирующими. В части кист наблюдалась десквамация клеток гранулезы (рисунок 4, Б). Выявлялось значительное количество атретических фолликулов и тел, при этом отмечалась выраженная дисконфлексация фолликулярного эпителия и вакуолизация цитоплазмы овоцита (рисунок 5).

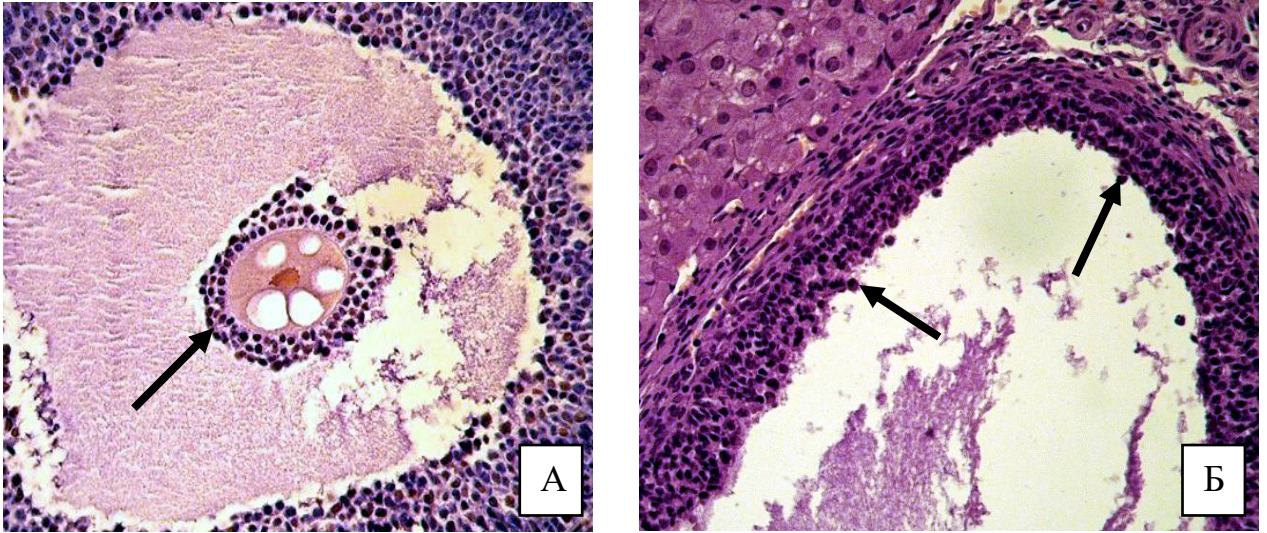


Рисунок 4 – Морфологические изменения яичников крыс группы I на 7-й день введения ХГЧ и инсулина: А – третичный фолликул с грубой вакуолизацией цитоплазмы и кариопикнозом овоцита (черная стрелка); Б – стенка фолликулярной кисты (атрезирующийся третичный фолликул), десквамация клеток гранулезы (черная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

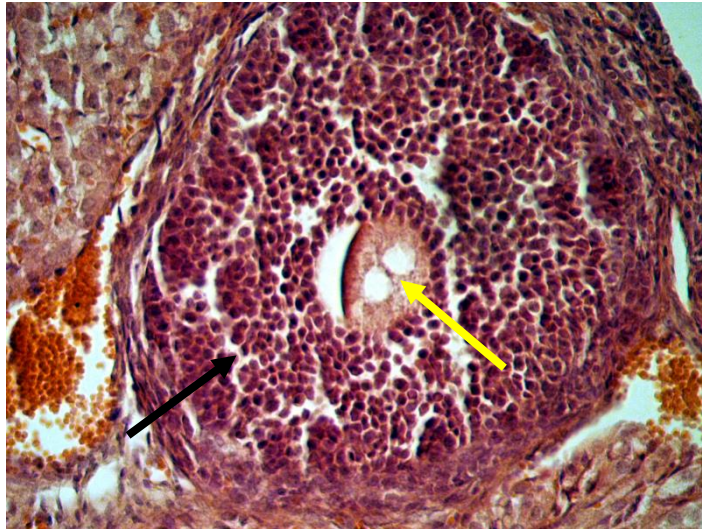


Рисунок 5 – Морфологические изменения яичников крыс группы I на 7-й день введения ХГЧ и инсулина. Атретический фолликул с дискомплексацией фолликулярного эпителия (черная стрелка) и выраженной вакуолизацией цитоплазмы овоцита (желтая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

В группе I на 7-е сутки от последнего введения ХГЧ и инсулина привлекала внимание выражено бугристая с расширенными полнокровными сосудами поверхность яичников. Наряду с этим полнокровие сосудов определялось и в

прилежащих тканях. На разрезе в яичниках обнаруживались многочисленные желтые тела и однокамерные кистозные полости с тонкими гладкими стенками, заполненные прозрачным желтоватым содержимым. В единичных кистах содержимое имело коричневатый оттенок, что свидетельствовало о предшествующем кровоизлиянии. Диаметр кистозных полостей не превышал 0,2 см. При микроскопическом исследовании определялись преимущественно фолликулярные кисты, немногочисленные кисты желтого тела. В данную временную точку эксперимента количество кист и третичных фолликулов было максимальным. В третичных фолликулах определялись слабовыраженные дегенеративные изменения как в фолликулярных клетках, так и в ооцитах. Данные изменения проявлялись дисконкомплексацией и зернистостью цитоплазмы овоцита, более выраженной гиперхромностью ядер фолликулярного эпителия. В фолликулярных кистах отмечались дегенеративные изменения выстилающей гранулезы, более выраженные в поверхностных рядах (гиперхромия, пикноз ядер клеток). В подобных кистах выстилка была неравномерной по толщине – от участков в 1–3 ряда клеток до участков в 6–10 рядов клеток (рисунок 6, А).

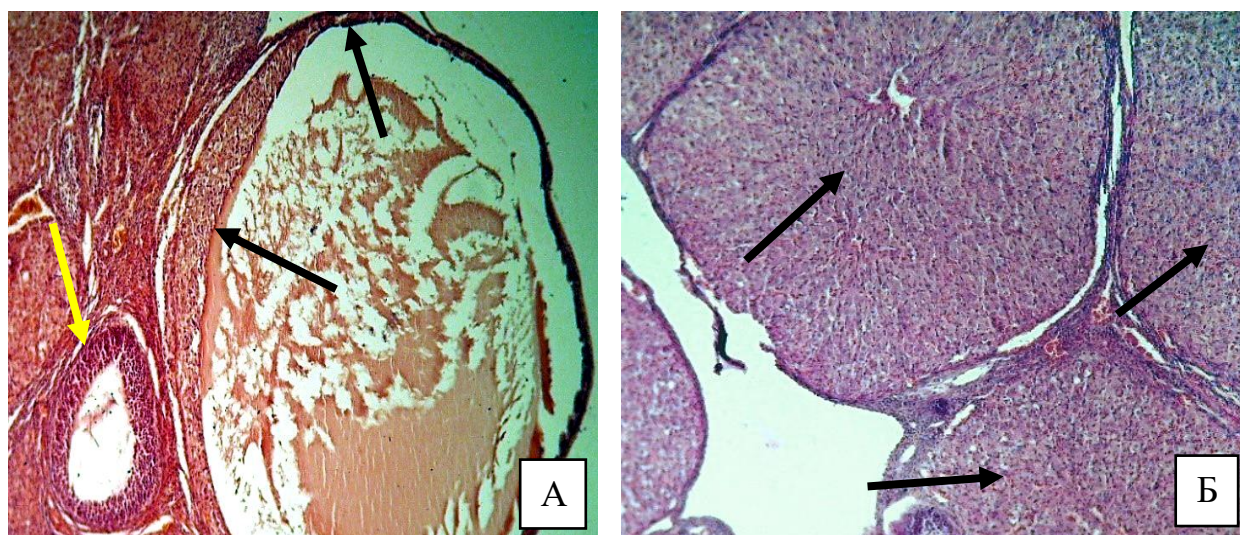


Рисунок 6 – Морфологические изменения яичников крыс группы I на 7-е сутки от последнего введения ХГЧ и инсулина:

А – стенка фолликулярной кисты с неравномерной по толщине стенкой (черная стрелка), рядом атретический фолликул с дегенеративными изменениями (гиперхромия и пикноз части ядер) (желтая стрелка);

Б – желтые тела (черная стрелка) обычного строения.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. А $\times 400$, Б $\times 100$

В части кист, наиболее крупных по размеру, выстилающие клетки были представлены 1–2 рядами уплощенных атрофичных гранулезных клеток, клетки теки также были резко растянуты и атрофичны. Данный тип кист, вероятно, утрачивал свою гормональную активность и представлял собой ретенционные полости, на что указывают атрофические процессы в клетках теки и гранулезы. Кисты желтого тела были представлены полостями с выстилкой лютеоцитами равномерной толщины. При микроскопическом исследовании отмечалось большое количество желтых тел типичного строения (рисунок 6, Б).

На 15–30-е сутки от последнего введения ХГЧ и инсулина в группе I на разрезе корковый слой яичников имел преимущественно крупнокистозное строение, однако по сравнению с предыдущими контрольными точками количество кистозных полостей было меньше. При микроскопическом исследовании преобладали гормонально неактивные кисты (рисунок 7), количество третичных фолликулов снижалось к 30-м суткам от введения ХГЧ и инсулина почти в два раза (таблица 4), как и количество желтых тел.

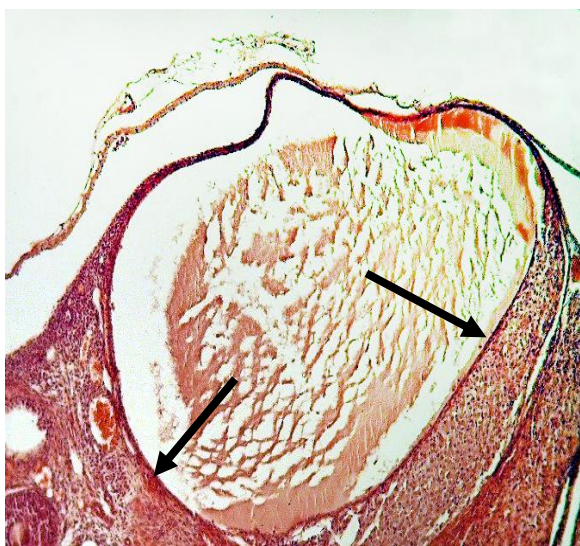


Рисунок 7 – Морфологические изменения яичников крыс группы I на 15–30-е сутки от последнего введения ХГЧ и инсулина. Стенка кисты, выстланная уплощенными клетками гранулезы (черная стрелка).

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×400

На 30-е сутки от последнего введения ХГЧ и инсулина отмечались резко выраженное полнокровие капилляров паренхимы желтых тел со стазом эритроцитов, что свидетельствовало о нарушениях гемодинамики, а также дистрофические изменения лютеоцитов, проявляющиеся просветленностью и зернистостью цитоплазмы в центральных отделах тел.

На 60-е сутки от последнего введения ХГЧ и инсулина в группе I в корковом слое яичников определялись единичные гладкостенные полости размером до 0,1 см и мелкие фолликулы. При микроскопическом исследовании в данной временной точке эксперимента отмечалось наименьшее количество желтых тел. Обращало на себя внимание наличие в центральной части желтых тел соединительнотканых рубцов различных размеров, что свидетельствовало о предшествовавших выраженных дистрофических изменениях.

3.3 Морфологические изменения яичников крыс в группе II на фоне введения антаГнРГ

В группе II на 7-е сутки от начала введения антаГнРГ в корковом слое яичников крыс обнаруживались однокамерные кистозные полости диаметром до 0,1–0,2 см и мелкие фолликулы. При микроскопическом исследовании кисты были преимущественно фолликулярными, выстланными многорядными клетками гранулезы с железистым метаморфозом (рисунки 8, А, Б). Количество атретических фолликулов и кист снижалось, выявлялись сохранившие целостность растущие и примордиальные фолликулы (рисунок 8, В). Выраженных дегенеративных изменений гранулезы третичных фолликулов и выстилки фолликулярных кист отмечено не было.

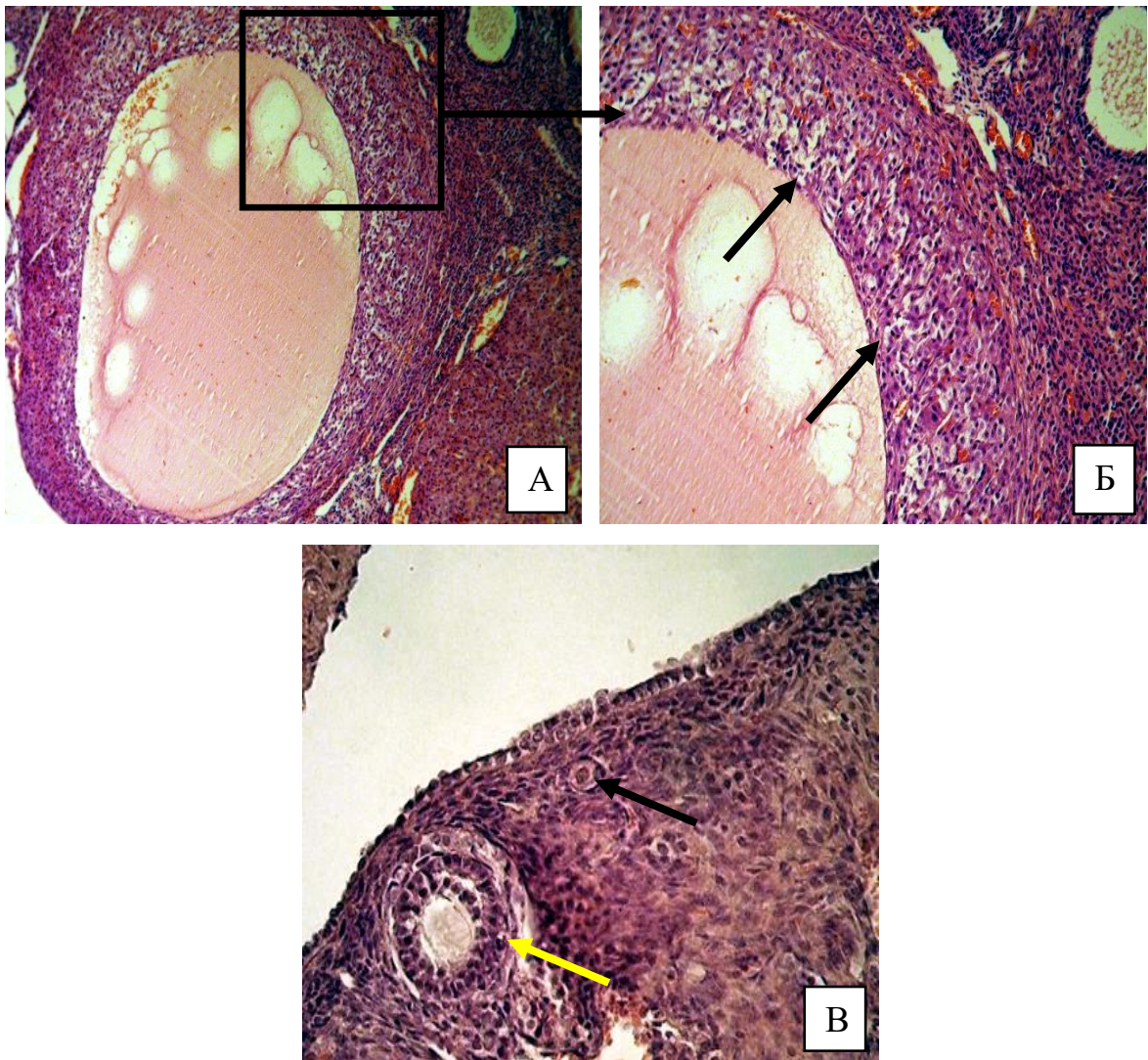


Рисунок 8 – Морфологические изменения яичников крыс группы II на 7-е сутки от начала введения антаГнРГ: А – фолликулярная киста; Б – фрагмент предыдущего рисунка. Железистый метаморфоз гранулезы; В – примордиальный фолликул, сохранивший свою целостность (черная стрелка). Первичный фолликул с дегенерацией овоцита (желтая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. А $\times 100$; Б, В $\times 400$

На 15–30-е сутки от начала введения антаГнРГ в данной группе при микроскопическом исследовании преобладали третичные фолликулы типичного строения (рисунок 9, А), в то время как кисты были малочисленными, в основном фолликулярными (рисунок 9, Б), реже – кистами желтого тела. По аналогии с группой I имелось полнокровие капилляров паренхимы желтых тел и очаговые кровоизлияния.

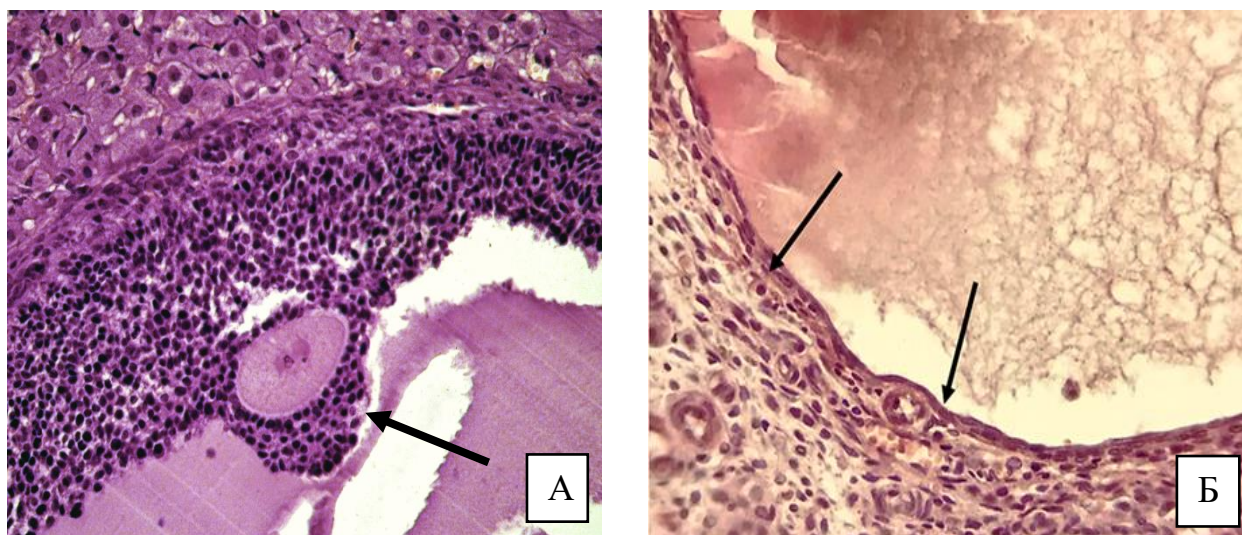


Рисунок 9 – Морфологические изменения яичников крыс группы II на 30-е сутки от начала введения антаГнРГ: А – зрелый фолликул, яйценосный бугорок (черная стелка); Б – стенка фолликулярной кисты с уплощенной выстилкой (черная стрелка).

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

К 60-м суткам от начала введения антаГнРГ в группе II выраженного полнокровия сосудов не отмечалось. На разрезе определялись немногочисленные желтые тела и единичные кисты диаметром не более 0,1 см. При микроскопическом исследовании данные кисты имели уплощенную выстилку, представленную 1–2 рядами атрофичных клеток гранулезы, клетки теки также были резко растянуты и атрофичны. Данный тип кист, вероятно, утрачивал свою гормональную активность и представлял собой ретенционные полости. Процессы образования новых атретических фолликулов шли на убыль. Чаще, чем в предыдущие сроки, обнаруживались растущие фолликулы.

В контрольной группе III в течение эксперимента обнаруживались единичные кистозные полости, представленные фолликулярными кистами.

Выраженных колебаний в количестве примордиальных, первичных фолликулов, желтых тел и АФиТ не отмечалось, тогда как количество вторичных и третичных фолликулов в ходе эксперимента незначительно снижалось (рисунок 10).

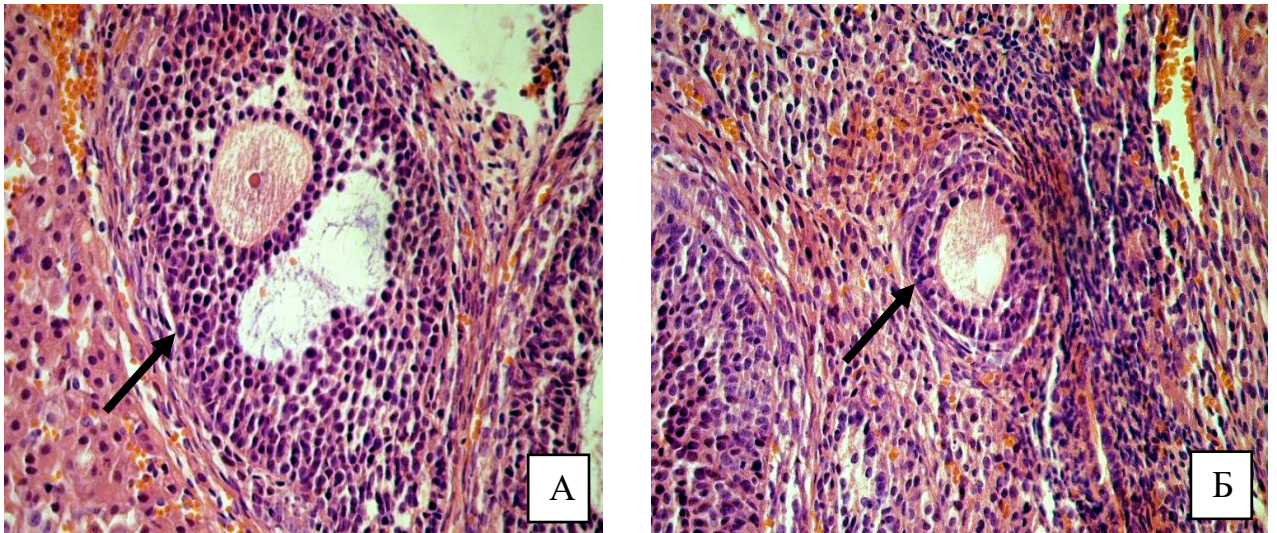


Рисунок 10 – Морфология яичников крыс группы III на 7-е сутки эксперимента:
 А – обычное строение вторичного фолликула (черная стрелка);
 Б – атретический фолликул (черная стрелка).
 Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

3.4 Морфометрическое сравнение яичников крыс при моделировании экспериментальных функциональных кист и введении антаГнРГ

Содержание генеративных элементов в срезах яичников крыс групп I, II и III представлено в таблице 5.

Статистический анализ показал, что при сравнении групп I, II, III количество примордиальных и первичных фолликулов в срезах яичников животных во все сроки эксперимента статистически значимо не различалось ($p > 0,05$). В первую половину эксперимента в группе I количество вторичных фолликулов оставалось стабильным и за вторую половину эксперимента снижалось почти вдвое, тогда как в группе II нарастало к середине эксперимента и незначительно снижалось к его окончанию.

Количество третичных фолликулов в группе I имело максимальное значение на 7-е сутки введения ХГЧ и инсулина и было значимо выше в сравнении с таковым в группе контроля ($p = 0,012$). Большее количество ТФ в группе I при сравнении с группами II и III было отмечено на 7-е сутки после последнего введения ХГЧ и

инсулина ($p = 0,032$ и $p < 0,001$ соответственно), затем постепенно снижалось и приближалось к значениям интактного контроля.

Таблица 5 – Количество структурных элементов в срезах яичников крыс в ходе эксперимента, абсолютное количество (Me; Q1 – Q3)

Сутки	Примордиальные	Первичные	Вторичные	Третичные	Желтое тело	Атретичное тело	Кисты	
Группа I (модель ФКЯ)	0	1,0 (0–1,0)	1,0 (0–1,0)	2,0 (1,0–2,0)	8,0 (5,0–10,0) $p = 0,012^{\wedge}$	14,0 (11,0–17,0)	1,0 (0,5–1,0) $p = 0,032^{\wedge}$	4,0 (2,0–5,0) $p = 0,002^{\wedge}$
	7	2,0 (1,0–4,0)	2,0 (1,0–3,0)	2,0 (1,0–4,0)	7,0 (4,0–9,0) $p = 0,032^*$ $p < 0,001^{\wedge}$	11,0 (9,0–13,0) $p = 0,021^*$	2,0 (1,0–3,0)	4,0 (3,0–5,0) $p = 0,034^*$
	15	1,0 (1,0–3,0)	1,0 (0–2,0)	1,0 (1,0–2,0)	7,0 (5,0–7,0)	14,0 (12,0–16,0)	2,0 (2,0–3,0)	2,0 (1,0–2,0)
	30	2,0 (1,0–3,5)	5,0 (4,0–6,5)	3,0 (1,0–4,0)	3,0 (2,0–4,0)	8,0 (7,0–10,0) $p = 0,014^{\wedge}$	3,0 (2,0–3,0)	1,0 (1,0–2,0) $p = 0,009^*$
	60	4,0 (3,0–5,0)	2,0 (1,0–2,0)	1,0 (0–2,0)	3,0 (2,0–5,0)	1,0 (1,0–2,0)	4,0 (3,0–5,0)	1,0 (0,5–1,0)
Группа II (ФКЯ + антаГнРГ)	7	1,0 (0,5–2,0)	2,0 (1,0–3,0)	3,0 (2,0–3,0)	3,0 (2,0–4,0) $p < 0,001^{\wedge}$	13,0 (12,0–15,0) $p = 0,032^*$	1,0 (0–2,0)	3,0 (1,0–4,0)
	15	2,0 (1,0–2,0)	1,0 (0–1,0)	3,0 (2,0–4,0)	4,0 (3,0–5,0)	13,0 (12,0–17,0)	1,0 (1,0–2,0)	2,0 (2,0–4,0)
	30	4,0 (2,0–6,0)	3,0 (2,0–4,0)	3,0 (2,0–5,0)	5,0 (4,0–8,5)	13,0 (9,0–15,0)	3,0 (2,0–4,0)	1,0 (0,0–2,0)
	60	1,0 (0–2,0)	0 (0–1,0)	3,0 (1,0–5,0)	5,0 (3,0–8,0)	6,0 (0–8,0)	4,0 (3,0–4,0)	1,0 (0–1,0)
Контроль	0	1,0 (0,0–2,5)	2,0 (1,0–2,0)	4,0 (2,0–5,0)	3,0 (1,0–4,0)	3,0 (2,0–4,0)	3,0 (2,0–4,0)	0 (0–1,0)
	7	3,0 (1,0–4,0)	2,0 (1,0–3,0)	4,0 (2,0–5,0)	3,0 (1,0–4,0)	3,0 (2,0–4,0)	3,0 (2,0–4,0)	0,5 (0–1,0)
	30	3,0 (1,0–5,0)	2,0 (1,0–3,0)	3,0 (2,0–5,0)	2,0 (1,0–3,0)	4,0 (2,0–5,0)	4,0 (3,0–6,0)	1,0 (0–1,0)
	60	3,0 (2,0–4,0)	2,0 (1,0–2,0)	3,0 (2,0–4,0)	1,0 (0,5–2,0)	4,0 (3,0–5,0)	2,0 (2,0–4,0)	0,5 (0–1,0)

Примечание. Me – медиана, Q1 и Q3 – 25-й и 75-й процентиля.

Критерий Краскела – Уоллиса с последующим анализом апостериорных сравнений критерием Коновера – Иммана (Conover W. J. and Iman R. L., 1979).

* В сравнении с группой сравнения ($p < 0,05$).

\wedge В сравнении с группой контроля ($p < 0,05$)

В группе контроля в ходе эксперимента отмечалось незначительное снижение количества фолликулов (ПФ, ВФ, ТФ).

Количество кист в группе I было выше, чем в группе II ($p = 0,030$) на 7-е сутки эксперимента. В дальнейшем в обеих группах отмечалось снижение количества кист, и к концу эксперимента (60-м суткам) они были единичными. В группе III (контроля) в течение всей длительности эксперимента кисты были единичными. В течение эксперимента количество желтых тел в экспериментальных группах снижалось к 60-м суткам, а количество атретических фолликулов и тел (АФиТ) увеличивалось. В группе III (контроля) резких колебаний числа желтых тел, атретичных тел не наблюдалось.

3.5 Результаты иммуногистохимического исследования

3.5.1 Экспрессия IGF-1

Цитоплазматическая экспрессия IGF-1 выявлялась в овоцитах, клетках гранулезы, клетках внутреннего слоя теки, лютеоцитах желтого тела, клетках АФиТ и эпителиальной выстилке кист, а также в стромальных клетках коркового вещества яичника. Уровни экспрессии IGF-1 в структурных элементах яичников в исследованных группах показаны на рисунке 11.

В группе I резких колебаний экспрессии IGF-1 в клетках гранулезы ПрФ по ходу эксперимента не выявлялось, отмечался незначительный спад от последнего введения ХГЧ и инсулина ($Me = 34$ (25–38) балла H-score) к 60-м суткам ($Me = 20$ (18–31) балла H-score). Интенсивность экспрессии IGF-1 в клетках гранулезы нарастала по мере роста фолликулов от первичных ($Me = 28$ (23–39) баллов H-score на 7-е сутки) к вторичным фолликулам ($Me = 58$ (34–73) баллов H-score на 7-е сутки). Максимальный уровень экспрессии достигался в гранулезных клетках третичных фолликулов ($Me = 130$ (83–144) баллов H-score на 7-е сутки), что вдвое выше в сравнении с группой контроля ($Me = 65$ (51–69) баллов H-score; $p = 0,026$). Далее в ходе эксперимента экспрессия IGF-1 в гранулезных клетках третичных фолликулов снижалась ($Me = 60$ (53–114) баллов H-score на 30-е сутки; $Me = 64$ (51–68) баллов H-score на 60-е сутки), приближаясь к таковой в группе контроля.

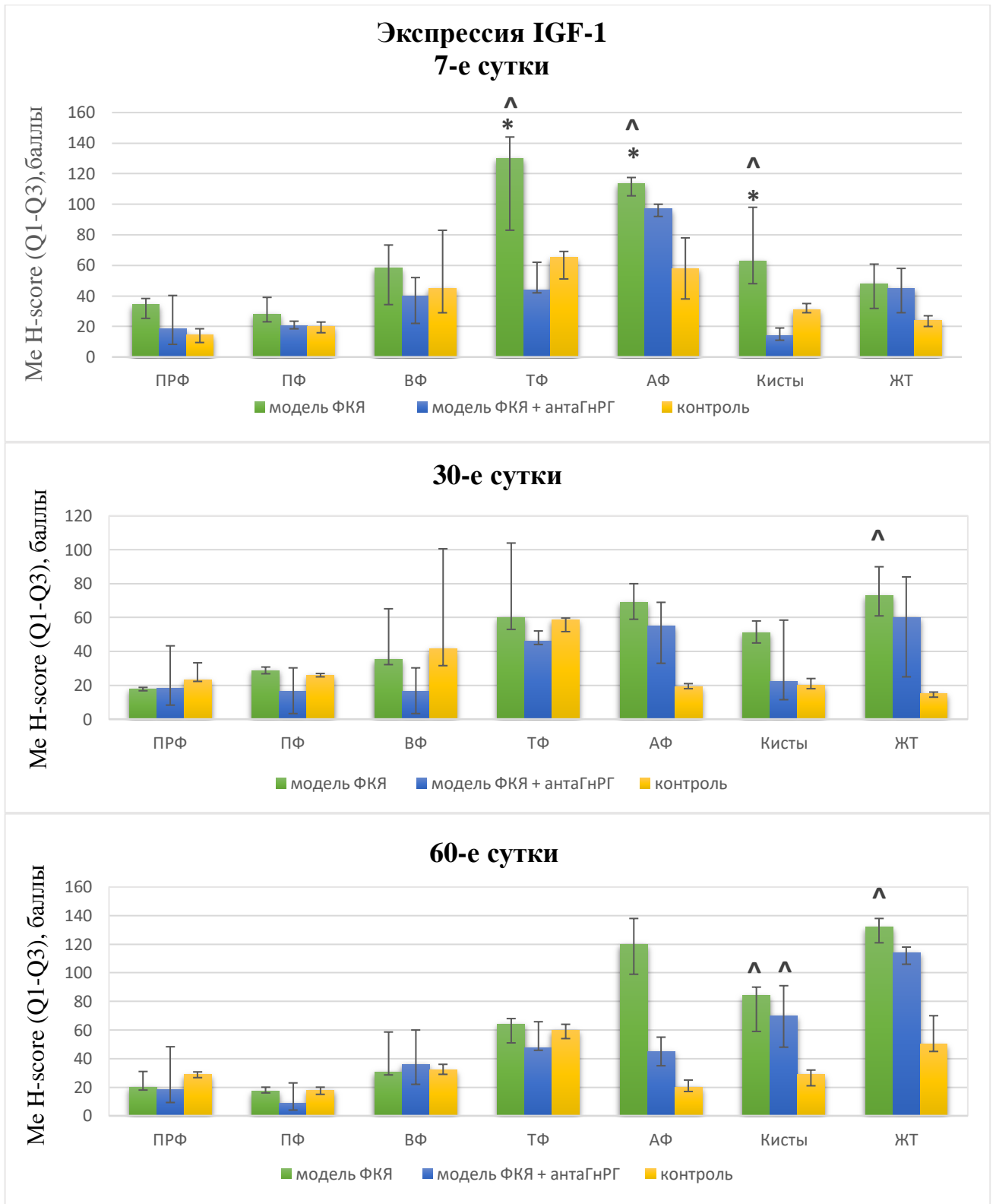


Рисунок 11 – Экспрессия IGF-1 в генеративных элементах яичников в условиях моделирования функциональных кист яичников и их лечения (Me H-score, Q1 – Q3): ПрФ – примордиальные фолликулы; ПФ – первичные фолликулы; ВФ – вторичные фолликулы; ТФ – третичные фолликулы; ЖТ – желтые тела; АФ и Т – атретические фолликулы и тела.

*В сравнении с группой II выявлены различия со значимостью $p < 0,05$.

^ В сравнении с группой III выявлены различия со значимостью $p < 0,05$

В течение всего срока эксперимента нарастал уровень экспрессии IGF-1 в лютеоцитах ЖТ (увеличение Me с 48 (46–49) баллов до 132 (121–138) баллов H-score) и, начиная с 30-х суток, был значимо выше в сравнении с контрольной группой ($p = 0,008$). В эпителиальной выстилке кист на 7-е сутки от последнего введения ХГЧ и инсулина экспрессия IGF-1 (Me = 63 (48–98) баллов H-score) была выше в сравнении с таковой в группе контроля (Me = 31 (29–35) баллов H-score; $p = 0,011$) и оставалась на высоком уровне до окончания эксперимента (Me = 84 (59–90) баллов H-score). Интенсивность экспрессии IGF-1 в АФиТ (рисунок 12) достигала высоких значений (Me = 114 (106 – 118) баллов H-score на 7 сутки; Me = 120 (99 - 138) баллов H-score на 60 сутки) и оставалась выше таковых значений в контрольной группе на протяжении всего эксперимента.

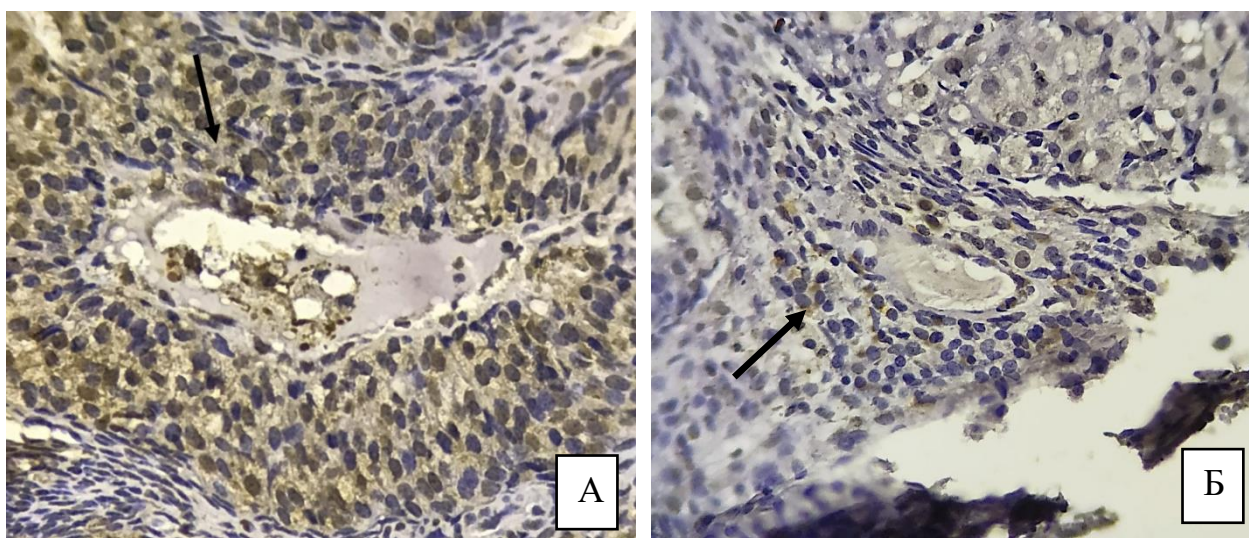


Рисунок 12 – Экспрессия IGF-1 в клетках АФиТ:

А – в группе I (черная стрелка); Б – в группе III (черная стрелка).

7-е сутки эксперимента. Визуализация DAB, докраска гематоксилином.

Ув. $\times 400$

В группе II интенсивность экспрессии IGF-1 в гранулезных клетках также нарастала от первичных (Me = 21 (19 – 23) баллов H-score на 7-е сутки) к третичным фолликулам (Me = 44 (42 – 52) баллов H-score на 7-е сутки), но при этом уровень экспрессии в растущих фолликулах был ниже в сравнении с таковым в группах I и III в течение всего срока эксперимента. На фоне введения антаГнРГ на 7-е сутки

наблюдалось выраженное (более чем в 2 раза) снижение уровня экспрессии IGF-1 в эпителиальной выстилке кист (рисунок 13) в сравнении с группой модели ФКЯ ($p = 0,008$). Так, на 7-е сутки интенсивность экспрессии составила $Me = 14$ (11 – 19) баллов H-score, а на 30-е – $Me = 22$ (0 – 99) баллов H-score. К концу эксперимента уровень экспрессии возрастал ($Me = 70$ (48 – 91) баллов H-score), достигая значений, сходных с таковыми в группе I ($Me = 84$ (59 – 90) баллов H-score). Введение антаГНРГ приводило к снижению экспрессии IGF-1 в клетках АФиТ на 7-е ($Me = 97$ (92 – 100) баллов H-score) и 30-е ($Me = 55$ (23 – 69) баллов H-score) сутки в сравнении с группой модели ФКЯ. Экспрессия IGF-1 в лютеоцитах ЖТ умеренно нарастала к 60-м суткам ($Me = 45$ (29 – 58) баллов на 7-е сутки до 114 (106 – 118) баллов H-score на 60-е сутки).

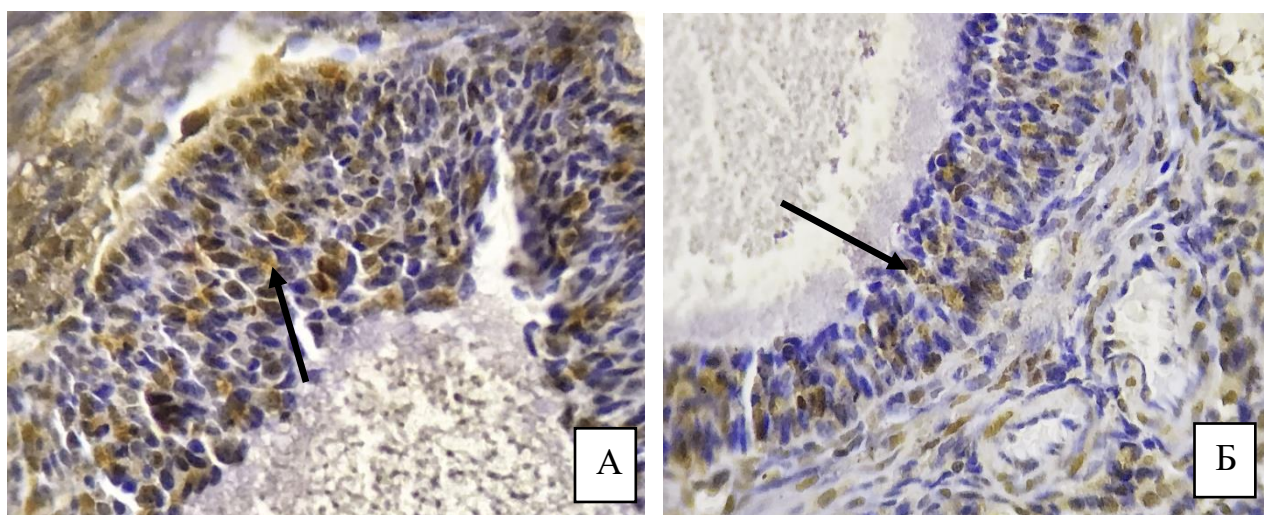


Рисунок 13 – Экспрессия IGF-1 в эпителии стенки фолликулярной кисты:
 А – для группы I; Б – для группы II. 7-е сутки эксперимента.
 Визуализация DAB, докраска гематоксилином. Ув. $\times 400$

В группе III (контроля) выраженных колебаний в интенсивности экспрессии IGF-1 в ПрФ, ПФ и ВФ, а также в ЖТ, АФиТ и эпителии кист в ходе эксперимента не отмечалось. Выявлено, что экспрессия в гранулезных клетках нарастала по мере роста фолликула от первичных ($Me = 19$ (16 – 23) баллов H-score) к третичным ($Me = 65$ (15 – 69) баллов H-score) фолликулам, достигая максимального значения в последних.

При сравнительном статистическом анализе экспрессии IGF-1 методом Краскела – Уоллиса во всех трех изучаемых группах значимые различия были выявлены в уровне экспрессии IGF-1 в гранулезных клетках ТФ на 7-е сутки ($p = 0,026$), в лютеоцитах ЖТ – на 7-е ($p = 0,036$), 30-е ($p = 0,010$) и 60-е ($p = 0,016$) сутки, в клетках АФиТ – на 7-е и 30-е сутки ($p = 0,012$ и $p = 0,014$), в эпителиальной выстилке кист – на все контрольные точки эксперимента ($p = 0,011$, $p = 0,018$ и $p = 0,006$ соответственно).

При последующем попарном сравнении критерием Коновера – Инмана группы I (модель ФКЯ) и группы III (контроль) была выявлена значимо более высокая экспрессия IGF-1 в группе I в гранулезных клетках ТФ на 7-е ($p = 0,006$) сутки; в клетках АФиТ – на 7-е сутки ($p = 0,014$); в эпителиальной выстилке кист – на 7-е и 60-е сутки ($p = 0,011$ и $p = 0,006$ соответственно); в лютеоцитах желтых тел – на 30-е и 60-е сутки эксперимента ($p = 0,006$ и $p = 0,014$ соответственно).

При сравнении групп II (введение антаГнРГ) и III (контроль) критерием Коновера – Инмана выявлена более высокая экспрессия IGF-1 в группе II в эпителиальной выстилке кист на 60-е сутки ($p = 0,017$).

При попарном сравнении критерием Коновера – Инмана групп I (модель ФКЯ) и II (лечение модели введение антаГнРГ) обнаружено, что под воздействием антаГнРГ на 7-е сутки эксперимента снижалась экспрессия IGF-1 в гранулезных клетках ТФ ($p = 0,002$), клетках АФиТ ($p = 0,011$) и в эпителиальной выстилке кист ($p = 0,008$).

Таким образом, интенсивность экспрессии IGF-1 в генеративных элементах яичников крыс группы контроля соответствовала таковой в литературе. В настоящем исследовании наблюдалось постепенное увеличение уровня экспрессии IGF-1 от ПФ к ТФ, что подтверждается литературными данными о роли IGF-1 в пролиферации и селекции доминантного фолликула [155]. При моделировании ФКЯ в организме животного искусственно изменяется концентрация ЛГ (за счет введения субовуляторных доз ХГЧ) и формируется гиперинсулинемия (за счет введения инсулина средней продолжительности действия). Известно, что данные факторы стимулируют активность IGF-1. Таким

образом, ожидаемо высокий уровень экспрессии IGF-1 в группе I в сравнении с группой III был подтвержден. При этом, как и в группе контроля, отмечалось увеличение экспрессии IGF-1 в фолликулах по мере их созревания. Кроме того, выявлены высокие значения IGF-1 в лютеоцитах ЖТ и АФиТ, что, вероятнее всего, связано с его участием в процессах атрезии и лютеинизации фолликула [155].

В группе лечения антаГнРГ (II) было получено статически значимое снижение уровня экспрессии IGF-1 под воздействием антаГнРГ в гранулезных клетках ТФ ($p = 0,002$), клетках АФиТ ($p = 0,011$) и в эпителиальной выстилке кист ($p = 0,008$), что демонстрирует регуляторное влияние антаГнРГ в условиях моделирования ФКЯ.

3.5.2 Экспрессия LHR

Цитоплазматическая экспрессия LHR выявлялась в клетках внутреннего слоя теки и гранулезы ВФ, ТФ, лютеоцитах желтых тел, клетках АФиТ и эпителиальной выстилке кист. Уровни экспрессии LHR в структурных элементах яичников исследованных групп показаны на рисунке 14.

В группе I (модель ФКЯ) экспрессия LHR на 7-е сутки ($Me = 78$ (50 – 97) баллов H-score) наблюдалась не только в клетках внутреннего слоя теки ВФ, как при физиологическом течении фолликулогенеза, но и в гранулезных клетках ВФ (рисунок 15) и была значимо выше в сравнении с таковой в группе контроля ($p = 0,009$). В группе III на 7-е сутки экспрессия LHR наблюдалась только в клетках внутренней теки ВФ ($Me = 53$ (34–53) баллов H-score). Вероятно, преждевременное появление LHR в клетках гранулезы малых антральных фолликулов тормозит дальнейшую пролиферацию гранулезы и инициирует процессы атрезии и персистенции фолликула. Таким образом, патологически формирующийся ТФ не обладает достаточным количеством клеток гранулезы и LHR для адекватного ответа на выброс ЛГ, овуляции не происходит, а фолликул продолжает накапливать жидкость, превращаясь в ФКЯ. Данное предположение подтверждается отсутствием выраженного роста экспрессии LHR в гранулезе ТФ ($Me = 80$ (66–97) баллов H-score) в сравнении с таковым уровнем в ВФ ($Me = 78$ (50–97) баллов H-score).

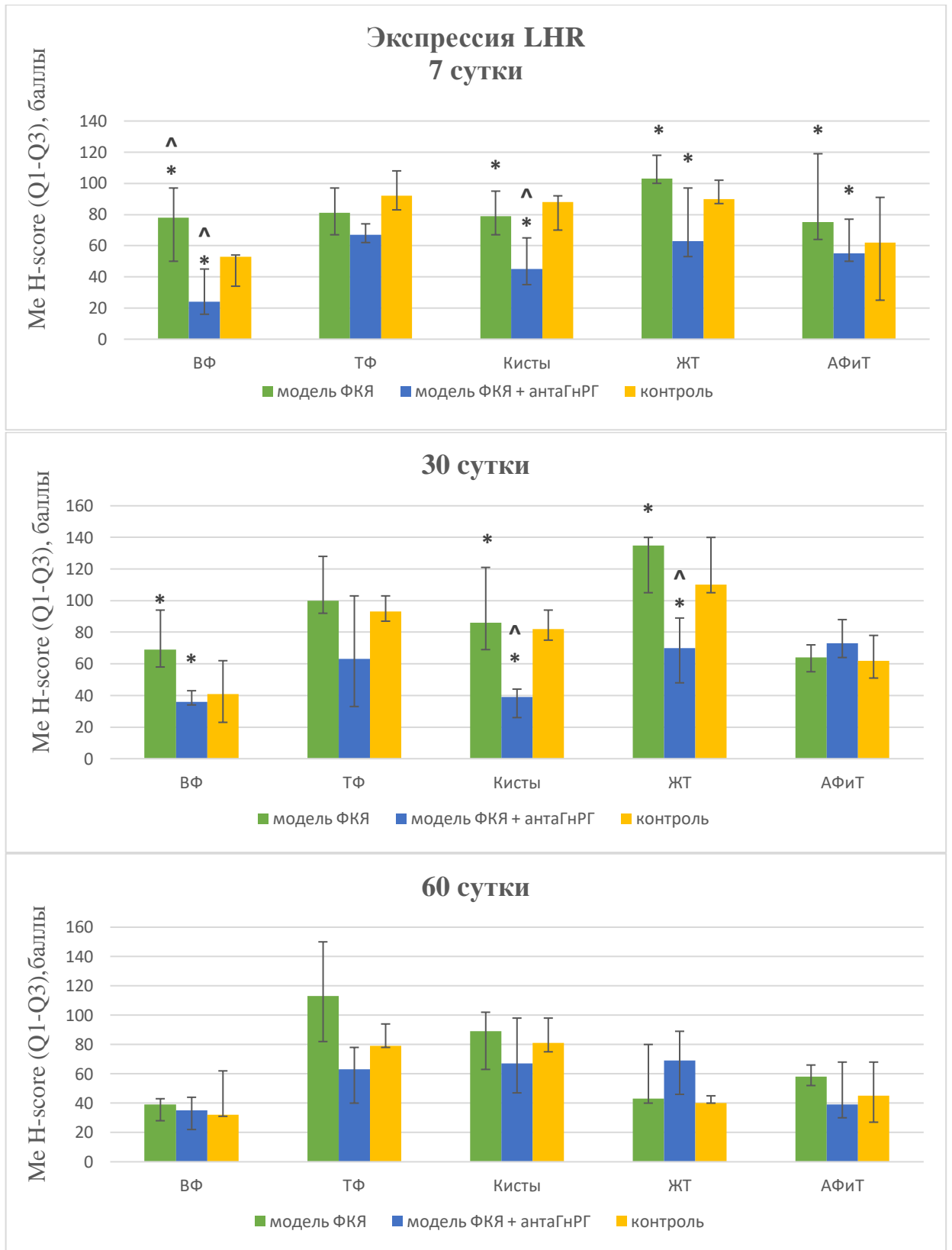


Рисунок 14 – Экспрессия LHR в генеративных элементах яичников в условиях моделирования функциональных кист яичников и их лечения (Me H-score, Q1 – Q3): ВФ – вторичные фолликулы; ТФ – третичные фолликулы; ЖТ – желтые тела; АФиТ – атретические фолликулы и тела. * В сравнении с группой II выявлены различия со значимостью $p < 0,05$. ^ В сравнении с группой III выявлены различия со значимостью $p < 0,05$

К 30-м суткам эксперимента в группе модели ФКЯ сохранялась гиперэкспрессия LHR в клетках гранулезы и внутреннего слоя теки ВФ (Me = 69 (58–94) баллов H-score) в сравнении с контрольной группой. В то же время наблюдался рост экспрессии LHR в гранулезных клетках ТФ (Me = 100 (92–127) баллов H-score), достигающий сходных значений с группой III (Me = 94 (87–103) баллов H-score). К окончанию эксперимента в группе I экспрессия LHR во ВФ наблюдалась только в клетках внутреннего слоя теки, а уровень экспрессии LHR во вторичных и третичных фолликулах был сопоставим с таковыми в группе III ($p = 0,151$; $p = 0,051$), что соответствует показателям нормального фолликулогенеза.

Экспрессия LHR в АФиТ группы I была выше в сравнении с группой контроля во все итоговые точки эксперимента, но разница не достигала статистической значимости ($p = 0,280$; $p = 0,210$; $p = 0,417$ в соответствующие итоговые точки). В эпителиальной выстилке кист группы модели ФКЯ наблюдался повышенный уровень экспрессии LHR в течение всего эксперимента (Me = 79 (67–95) баллов H-score на 7-е сутки; Me = 90 (63–102) баллов H-score на 60-е сутки).

В группе II (модель ФКЯ и лечение антаГнРГ) на 7-е сутки эксперимента наблюдалось снижение экспрессии LHR в сравнении с моделью ФКЯ в клетках внутреннего слоя и гранулезы ВФ (Me = 24 (17–45) баллов H-score), гранулезных клетках ТФ (Me = 67 (62–74) баллов H-score), эпителиальной выстилке кист (Me = 45 (35–65) баллов H-score), клетках АФиТ (Me = 33 (28–55) баллов H-score), лютеоцитах ЖТ (Me = 70 (48–89) баллов H-score).

К 30-м суткам эксперимента также наблюдалось подавление экспрессии LHR в клетках внутренней теки и практически полное исчезновение рецепторов в гранулезе ВФ (Me = 36 (34–43) баллов H-score) в сравнении с I группой. В клетках гранулезы ТФ интенсивность экспрессии LHR была ниже, чем в группах I и III, на 30-е и 60-е сутки эксперимента (Me = 63 (33–103) и Me = 63 (40–78) баллов H-score). Экспрессия LHR в эпителиальной выстилке кист на 30-е сутки была вдвое ниже в группе с введением антаГнРГ (Me = 39 (26–44) баллов H-score) в сравнении с моделью ФКЯ (рисунок 16) и группой контроля.

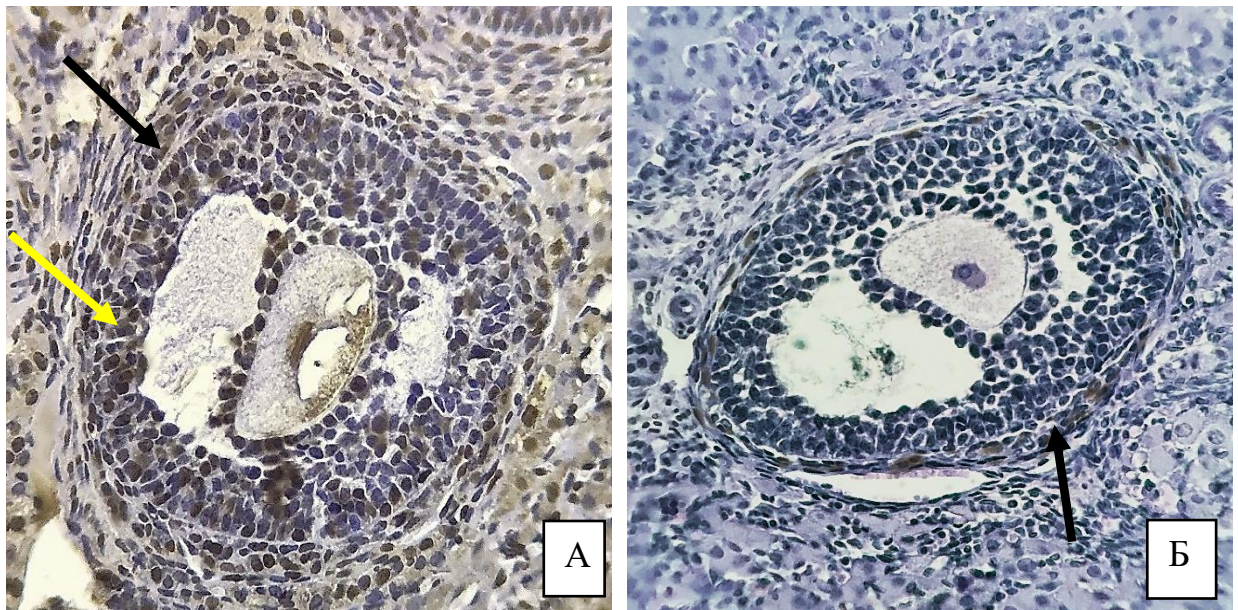


Рисунок 15 – Экспрессия LHR на 7-е сутки эксперимента:
 А – в клетках внутреннего слоя теки (черная стрелка) и гранулезных клетках (желтая стрелка) вторичного фолликула в группе I;
 Б – в клетках внутреннего слоя теки (черная стрелка) вторичного фолликула в группе III. Визуализация DAB, докраска гематоксилином. Ув. $\times 400$

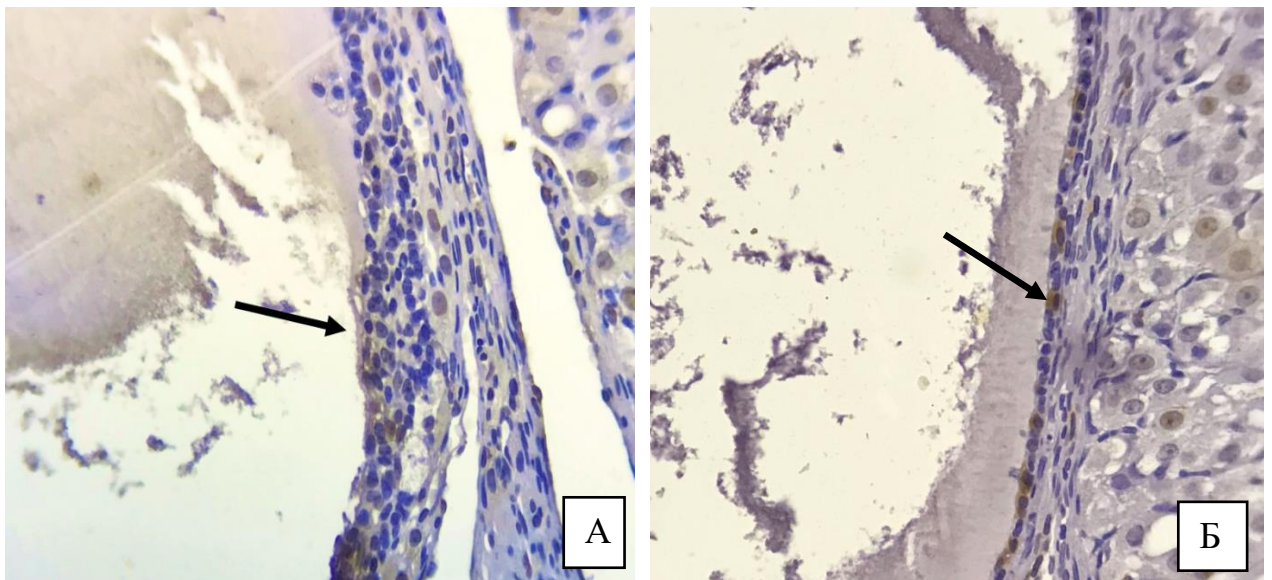


Рисунок 16 – Экспрессия LHR в стенке фолликулярной кисты: А – в группе I (черная стрелка); Б – в группе II (черная стрелка). 7-е сутки эксперимента. Визуализация DAB, докраска гематоксилином. Ув. $\times 400$

В группе контроля выраженных колебаний интенсивности экспрессии LHR в генеративных элементах яичников в ходе эксперимента не обнаружено.

Экспрессия LHR наблюдалась только в клетках внутреннего слоя теки ВФ, что соответствует данным литературы. Наиболее высокие значения экспрессии LHR зафиксированы в гранулезных клетках ТФ (Me = 92 (83–108) баллов H-score на 7-е сутки), что подтверждает ключевое значение LHR в процессах овуляции.

При сравнительном статистическом анализе экспрессии LHR во всех трех изучаемых группах методом Краскела – Уоллиса значимые различия были выявлены в клетках внутренней теки и гранулезных клетках ВФ на 7-е и 30-е сутки ($p = 0,001$ и $p = 0,002$ соответственно), клетках гранулезы ТФ на 7-е и 60-е сутки ($p = 0,004$, $p = 0,015$), лютеоцитах желтых тел на 7-е и 30-е сутки ($p = 0,002$, $p = 0,001$), АФиТ на 7-е и 30-е сутки ($p = 0,013$, $p = 0,039$), эпителиальной выстилке кист на 7-е и 30-е сутки ($p = 0,006$, $p = 0,002$ соответственно).

При последующем попарном сравнении групп I и III методом Коновера – Инмана была выявлена значимо более высокая экспрессия LHR в группе с моделью ФКЯ: в клетках внутреннего слоя теки и гранулезных клетках ВФ на 7-е сутки ($p = 0,009$) по сравнению с контрольной группой.

При попарном сравнении групп I и II критерием Коновера – Инмана выявлена более низкая экспрессия LHR в группе II: в клетках внутреннего слоя теки и гранулезных клетках ВФ на 7-е ($p = 0,001$) и 30-е ($p < 0,001$) сутки, гранулезных клетках ТФ на 60-е сутки ($p = 0,013$), клетках АФиТ на 7-е сутки ($p = 0,003$), в лютеоцитах желтых тел на 7-е и 30-е сутки ($p = 0,001$ и $0,002$ соответственно), в эпителиальной выстилке кист в первую половину эксперимента ($p = 0,004$, $p = 0,002$ соответственно).

При попарном сравнении групп II и III критерием Коновера – Инмана выявлена более низкая экспрессия LHR в группе II: в клетках гранулезы ТФ на 7-е сутки ($p = 0,004$), эпителиальной выстилке кист на 7-е и 30-е сутки ($p = 0,016$ и $p = 0,005$), лютеоцитах желтых тел на 30-е сутки ($p = 0,002$) по сравнению с контрольной группой.

В процессе моделирования ФКЯ происходит преждевременная и избыточная экспрессия LHR во ВФ. Данные изменения приводят к увеличению секреции андрогенов, ингибированию ароматазы гранулезных клеток и, как следствие,

к снижению синтеза эстрадиола [149]. Повышенная экспрессия LHR в растущих фолликулах обладает антимитогенным эффектом на клетки гранулезы и, вероятно, блокирует процесс формирования полноценного преовуляторный фолликула, способного к овуляции. Доминантный фолликул ввиду отсутствия достаточного количества клеток гранулезы, экспрессирующих LHR, теряет способность реагировать на пик ЛГ и продолжает накапливать жидкость, превращаясь в ФКЯ. Повышенная экспрессия LHR в эпителиальной выстилке кист поддерживает их гормональную активность и длительную персистенцию.

Введение антаГнРГ значимо снижало уровень экспрессии LHR в клетках внутреннего слоя теки и гранулезных клетках ВФ на 7-е ($p = 0,001$) и 30-е ($p < 0,001$) сутки, клетках АФиТ на 7-е сутки ($p = 0,003$), что, вероятно, способствовало росту и правильному формированию доминантного фолликула и восстановлению овуляторных циклов в яичнике. Снижение экспрессии LHR в эпителиальной выстилке кист под воздействием антаГнРГ на 7-е (рисунок 16) и 30-е сутки эксперимента ($p = 0,004$, $p = 0,002$) приводило к быстрому регрессу ФКЯ.

3.5.3 Экспрессия AR

Экспрессия AR выявлялась в ядрах клеток гранулезы и теки растущих фолликулов, лютеоцитов желтых тел, клетках АФиТ, стромальных элементах коркового слоя яичников и эпителиальной выстилке кист, а также в клетках сосудистых стенок. Уровни экспрессии AR в структурных элементах яичников в исследованных группах показаны на рисунке 17.

В группе I (модель ФКЯ) экспрессия AR в гранулезных клетках ПФ была минимальной и сохраняла свои значения, схожие с контрольной группой, на одном уровне в течение всего эксперимента (Me = 25 (27–40) баллов H-score на 7-е сутки; Me = 29 (22–35) баллов H-score на 60-е сутки). Рост уровня экспрессии наблюдался, начиная с ВФ (Me = 78 (66–95) баллов H-score на 7-е сутки).

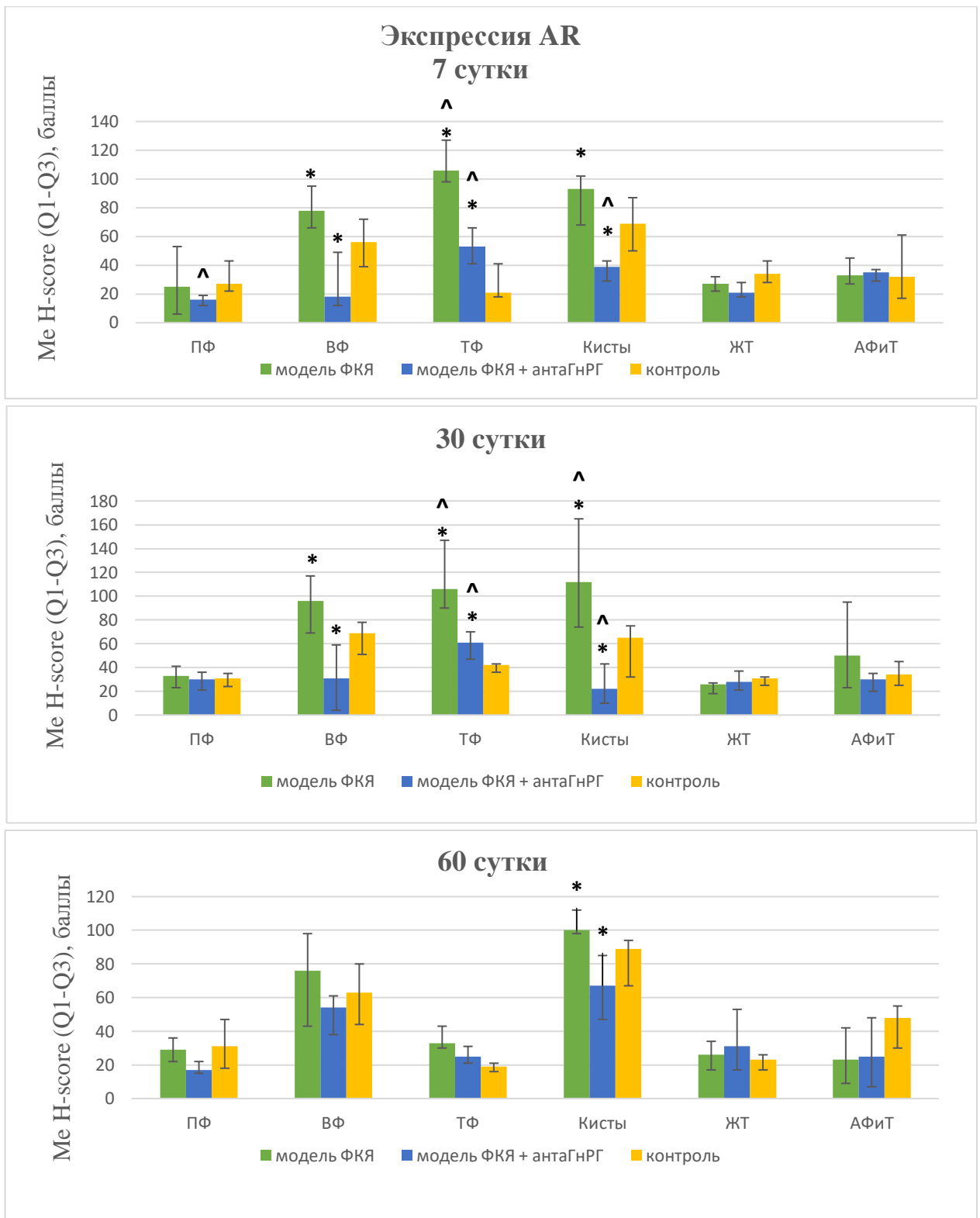


Рисунок 17 – Экспрессии AR в генеративных элементах яичников в условиях моделирования функциональных кист яичников и их лечения (Me H-score, Q1 – Q3): ПФ – первичные фолликулы; ВФ – вторичные фолликулы; ТФ – третичные фолликулы; ЖТ – желтые тела; АФиТ – атретические фолликулы и тела. * В сравнении с группой II выявлены различия со значимостью $p < 0,05$. ^ В сравнении с группой III выявлены различия со значимостью $p < 0,05$

В отличие от физиологического течения фолликулогенеза, где уровень экспрессии в гранулезных клетках ТФ снижается, при моделировании ФКЯ интенсивность окрашивания в ТФ резко возрастала на 7-е (Me = 106 (98–127) баллов H-score) и 30-е (Me = 106 (90–147) баллов H-score) сутки (рисунок 18), что значительно выше в сравнении с таковым в группе контроля ($p < 0,001$). К окончанию эксперимента интенсивность экспрессии снижалась (Me = 33 (30–43) баллов H-score) и приближалась к таковому в контрольной группе (Me = 19 (16–21) баллов H-score).

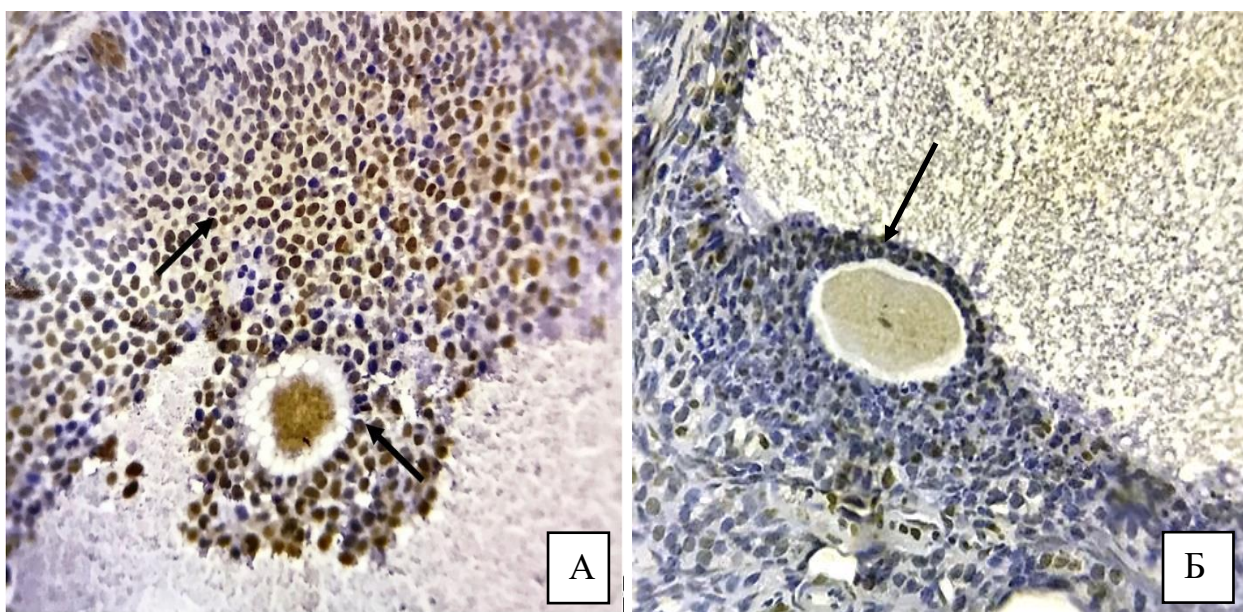


Рисунок 18 – Экспрессия AR в клетках гранулезы третичного фолликула: А – группа I (черная стрелка); Б – группа III (черная стрелка). 7-е сутки эксперимента. Визуализация DAB, докраска гематоксилином. Ув. $\times 400$

В эпителиальной выстилке кист обнаруживалась повышенная экспрессия AR (рисунок 19) в течение всего эксперимента (Me = 93 (68–102) баллов H-score на 7-е сутки; Me = 100 (98–112) баллов H-score на 60-е сутки), превышающая соответствующие значения в группе III. В лютеоцитах ЖТ, клетках АФиТ уровень экспрессии AR был слабым, не изменялся в течение эксперимента и был сопоставим с группой контроля.

Введение антаГнРГ (группа II) значительно снижало уровень экспрессии AR в клетках гранулезы ВФ на 7-е (Me = 18 (12–49) баллов H-score; $p = 0,002$) и 30-е

(Me = 31 (4–59) баллов H-score; $p = 0,002$) сутки эксперимента в сравнении с группой модели ФКЯ. К 60-м суткам уровень экспрессии AR возрастал (Me = 54 (39–61) баллов H-score) и был сопоставим с таковым значением в других изучаемых группах ($p = 0,942$). В группе II в клетках гранулезы ТФ интенсивность экспрессии AR была вдвое ниже в сравнении с моделью ФКЯ на 7-е (Me = 53 (41–66) баллов H-score) и 30-е (Me = 61 (47–70) баллов H-score) сутки. Статистический анализ показал значимую разницу в обоих случаях ($p < 0,001$). В эпителиальной выстилке кист также отмечалось резкое снижение показателей уровня экспрессии AR (рисунок 19) во все контрольные точки эксперимента ($p < 0,001$, $p < 0,001$ и $p = 0,002$ соответственно). В лютеоцитах ЖТ и в клетках АФиТ статистически значимой разницы в уровне экспрессии AR не получено.

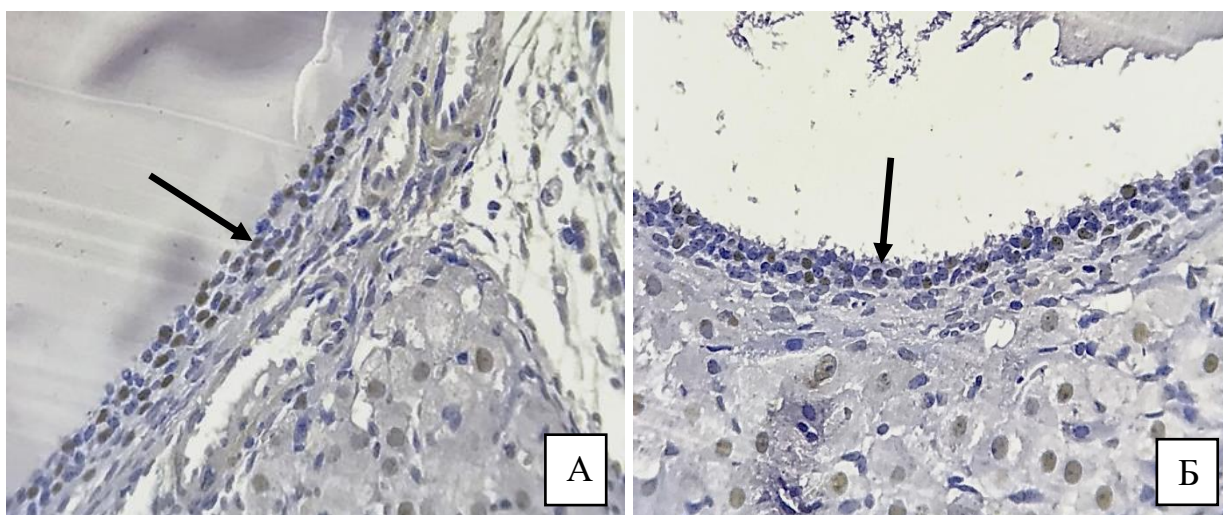


Рисунок 19 – Экспрессия AR в стенке фолликулярной кисты: А – группа I; Б – группа II. 30-е сутки эксперимента. Визуализация DAB, докраска гематоксилином. Ув. $\times 400$

В группе контроля экспрессия AR пикообразно нарастала от ПФ к ВФ и резко снижалась в ТФ, что соответствует данным литературы о стимулирующем влиянии AR на рост фолликула и необходимости снижения экспрессии AR по мере созревания фолликула для успешной овуляции [170]. В лютеоцитах ЖТ, клетках АФиТ определялась слабая экспрессия AR на протяжении всего эксперимента. В эпителиальной выстилке единичных кист определялась умеренная экспрессия

AR во все контрольные точки (Me = 69 (50–87) баллов H-score на 7-е сутки; Me = 89 (67–94) баллов H-score на 60-е сутки).

При сравнительном статистическом анализе экспрессии AR во всех трех изучаемых группах методом Краскела – Уоллиса значимые различия были выявлены в ПФ на 7-е сутки ($p = 0,025$), ВФ на 7-е ($p = 0,003$) и 30-е ($p = 0,003$) сутки, ТФ на 7-е ($p < 0,001$) и 30-е ($p < 0,001$) сутки, эпителиальной выстилке кист на все контрольные точки эксперимента ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p = 0,007$ соответственно).

При последующем попарном сравнении критерием Коновера – Инмана групп I (модель ФКЯ) и III (контроль) была выявлена значимо более высокая экспрессия AR в группе с моделью ФКЯ: в гранулезных клетках ТФ на 7-е и 30-е сутки ($p < 0,001$); эпителиальной выстилке кист на 30-е сутки эксперимента ($p = 0,010$).

При попарном сравнении групп I (модель ФКЯ) и II (лечение модели введением антаГнРГ) выявлено снижение уровня экспрессии AR в группе II в клетках внутреннего слоя теки и гранулезы ВФ на 7-е ($p = 0,002$) и 30-е ($p = 0,002$) сутки, ТФ на 7-е ($p < 0,001$) и 30-е ($p < 0,001$) сутки, в эпителиальной выстилке кист во всех итоговых точках ($p < 0,001$, $p < 0,001$ и $p = 0,002$ соответственно).

При попарном сравнении групп II (лечение модели введением антаГнРГ) и III (контроль) выявлена более высокая экспрессия AR в группе III в ПФ на 7-е сутки ($p = 0,012$), ТФ на 7-е сутки ($p = 0,009$) и 30-е сутки ($p = 0,010$), эпителиальной выстилке кист на 7-е и 30-е сутки эксперимента ($p = 0,003$ и $p = 0,010$ соответственно).

При моделировании ФКЯ отмечалась выраженная экспрессия AR в клетках внутреннего слоя теки и гранулезы растущих фолликулов. Отличительной чертой, в сравнении с нормальным фолликулогенезом, являлся рост экспрессии AR в гранулезных клетках ТФ, блокирующий овуляцию. Вероятно, избыточная экспрессия AR в преовуляторном фолликуле является одним из ключевых этапов формирования ФКЯ. С одной стороны, подавляется активность ароматазы, прекращается превращение андрогенов в эстрогены, с другой стороны, ингибируется экспрессия LHR, что делает фолликул нечувствительным к пику ЛГ.

Фолликул продолжает расти, накапливая внутрифолликулярную жидкость и превращаясь в кисту. Введение антаГнРГ значимо снижало экспрессию AR в гранулезных клетках ТФ на 7-е и 30-е сутки и в эпителиальной выстилке во все контрольные точки эксперимента в сравнении с группой моделью ФКЯ, что подтверждает его терапевтический эффект.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Проведено проспективное сравнительное контролируемое исследование 114 женщин репродуктивного возраста на базе центра вспомогательных репродуктивных технологий ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России.

4.1 Клинико-анамнестические характеристики пациентов изучаемых групп

Анализ проведен как для всех групп, так и при сравнении методов лечения.

Медиана возраста всех обследуемых ($n = 99$) составила 34,0 (30,0–39,0) года (таблица 6). Для сравнения однородности I и II групп по возрастному фактору ввиду отклонения распределения от нормального использовался критерий Манна – Уитни, который показал однородность I и II групп ($p = 0,746$). Н-тест Краскела – Уоллиса не выявил значимых различий при сравнении групп IA – IB – II ($p = 0,565$).

Анализ менструальной функции показал, что в подавляющем большинстве случаев менархе у женщин всех групп наступило в возрасте от 12 до 15 лет. Раннее менархе (до 12 лет) отмечено у 12 (12 %) пациенток, позднее (после 15 лет) отмечали 18 (18 %) женщин. Медиана менархе всех исследуемых ($n = 99$) составила 13,0 (12,0–14,0) лет. При сравнении групп IA – IB – II Н-тест Краскела – Уоллиса показал их однородность ($p = 0,142$).

Медиана продолжительности менструального цикла всех исследуемых ($n = 99$) составила 30,0 (28,0–37,0) дней. Н-тест Краскела – Уоллиса выявил значимые различия при сравнении групп IA – IB – II ($p = 0,002$). Апостериорные сравнения критерием Коновера – Инмана установили однородность групп IB – II ($p = 0,882$) и значимо большую длительность менструального цикла в группе IA ($P_{IA-II} = 0,005$; $P_{IA-IB} = 0,009$). Медиана продолжительности менструации всех исследуемых ($n = 99$) составила 5,0 (4,0–5,0). При сравнении групп I и II тестом Манна – Уитни выявлена однородность групп ($p = 0,149$). Н-тест Краскела –

Уоллиса в изучаемых группах IA – IB – II не выявил значимых различий ($p = 0,132$).

Таблица 6 – Основные клинико-анамнестические показатели пациентов изучаемых групп (Me; Q1 – Q3)

Показатель	Группа I (n = 66)		Группа II (n = 33)	p* (I–II)	p** (IA – IB – II)	p (IA – II)	p (IB – II)	p (IA – IB)
	IA (n = 28)	IB (n = 38)						
Возраст, годы	34,0 29,0–39,0		34,0; 31,0–36,0	0,746	0,565	ns	ns	ns
	34,0; 27,5–38,8	35,0; 30,0–39,0						
Возраст менархе, годы	13 12,0–13,0		13,0; 12,0–16,0	0,051	0,142	ns	ns	ns
	13,0; 12,0–13,75	13,0; 11,0–13,0						
Длительность менструального цикла, дни	30,0 28,0–30,0		29,0 28,0–32,0	0,149	0,132	ns	ns	ns
	30,0; 30,0–31,0	28,0; 28,0–30,0						
Бесплодие: абс. n (%) первичное; вторичное	38 (57,6 %) 28 (42,4 %)		21 (72,7 %) 12 (27,3 %)	0,388	–	0,478^	0,877^	0,344^
	18 (64,3 %)	20 (52,6 %)						
	10 (35,7 %)	18 (47,4 %)						
Длительность бесплодия, годы	5,0 3,0–6,0		5,0; 3,0–8,0	0,929	0,843	ns	ns	ns
	4,0; 3,0–11,25	5,0; 3,0–6,0						
ИМТ	22,67 (20,21–27,0)		23,9; 22,3–28,5	0,056	0,067	ns	ns	ns
	22,0 19,8–23,8	23,8; 20,6–27,1						

Примечания. ns – not significant (не значимо).

* Критерий Манна – Уитни. ** Критерий Краскела – Уоллиса с последующим анализом апостериорных сравнений критерием Коновера – Инмана (Conover W. J. and Iman R. L., 1979).

^ Хи-квадрат Пирсона.

Нарушения менструального цикла в анамнезе установлены у 72 (72,7 %) пациенток: олигоменорея имела место у 17 (17,2 %) пациенток, АМК при отсутствии органической патологии эндометрия – у 24 (24,2 %) женщин и дисменорея в 31 (31,3 %) случае. Структура частоты и видов нарушения менструального цикла отражена в таблице 7.

Таблица 7 – Частота и виды нарушений менструального цикла, абс. n (%)

Показатель	Группа I (n = 66)		Группа II (n = 33)
	Группа IA (n = 28)	Группа IB (n = 38)	
Олигоменорея	11 (16,7 %)		6 (18,2 %)
	5 (17,9 %)	6 (15,8 %)	
АМК	12 (18,2 %)		12 (36,3 %)
	6 (21,4 %)	6 (15,8 %)	
Дисменорея	22 (33,3 %)		9 (27,3 %)
	10 (35,7 %)	12 (31,6 %)	
Нет нарушений	21 (31,8 %)		6 (18,2 %)
	7 (25 %)	14 (36,8 %)	

При сравнении групп I и II критерий хи-квадрат Пирсона показал их однородность по всем изучаемым параметрам нарушения менструального цикла: олигоменорея ($p = 0,851$), дисменорея ($p = 0,540$), аномальные маточные кровотечения (АМК) при отсутствии органической патологии эндометрия ($p = 0,057$). При сравнении групп IA – II анализ таблиц сопряженности, критерий хи-квадрат Пирсона также показали однородность групп: АМК ($p = 0,202$), олигоменорея ($p = 0,974$), дисменорея ($p = 0,478$). Критерий хи-квадрат Пирсона групп IB – II также показал их однородность по всем изучаемым параметрам нарушения менструального цикла: олигоменорея ($p = 0,788$), дисменорея ($p = 0,692$), АМК ($p = 0,153$). При анализе таблиц сопряженности групп IA – IB также выявлена однородность по всем изучаемым признакам: точный критерий Фишера по признаку АМК ($p = 0,302$) и олигоменорея ($p = 1,000$), критерий хи-квадрат – дисменорея ($p = 0,725$).

Анализ репродуктивной функции пациенток (таблица 8) показал, что беременность в анамнезе имели 75 женщин (44,1 %), из них в результате ЭКО беременность наступила у 25 пациенток (14,7 %). При сравнении I и II групп выявлена их однородность (критерий хи-квадрат Пирсона, $p = 0,388$ и $p = 0,602$ соответственно). При сравнении групп IA – IB критерий хи-квадрат Пирсона не выявил различий ($p = 0,716$ и $p = 0,160$ соответственно). При анализе групп IA – II и IB – II также не выявлено значимых различий (хи-квадрат Пирсона IA – II, $p = 0,605$; точный критерий Фишера IA – II, $p = 0,741$; хи-квадрат Пирсона групп I – IB, $p = 0,349$ и $p = 0,289$ соответственно).

Таблица 8 – Показатели репродуктивной функции изучаемых групп, абс. n (%)

Показатель	Группа I (n = 66)		Группа II (n = 33)
	Группа IA (n = 28)	Группа IB (n = 38)	
Роды (включая оперативные)	18 (27,3 %)		3 (9,1 %)
	6 (21,4 %)	12 (31,6 %)	
Внематочная беременность	10 (15,2 %)		3 (9,1 %)
	4 (14,3 %)	6 (15,8 %)	
Количество пациентов с прерыванием беременности в анамнезе (ЗБ/СВ/А или сочетание факторов)	14 (21,2 %)		9 (27,3 %)
	4 (14,3 %)	10 (26,3 %)	
Примечание. ЗБ – замершая беременность; СВ – самопроизвольный выкидыш; А – искусственный аборт			

Детородная функция была реализована у 21 пациентки (21,2 %). Согласно критерию хи-квадрат Пирсона выявлены различия в реализации детородной функции в изучаемых группах I и II ($p = 0,037$); различий в реализации детородной функции в изучаемых группах IA – IB и IA – II не выявлено ($p = 0,360$ и $p = 0,176$). Количество родов в группе IB было значимо выше в сравнении с таковым в группе II ($p = 0,021$).

Общее количество пациентов с прерыванием беременности в анамнезе (замершая беременность / самопроизвольный выкидыш / искусственный аборт / сочетание этих факторов в анамнезе) наблюдалось в 23 случаях (23,2 %). При сравнении групп I и II тест Манна – Уитни выявил их однородность ($p = 0,501$). При сравнении групп IA – II, IB – II, IA – IB критерий хи-квадрат Пирсона также показал их однородность ($p = 0,217$, $p = 0,928$, $p = 0,237$ соответственно).

Эктопические беременности наблюдались у 9 (13,1 %) пациенток. При сравнении IA – II, IB – II, IA – IB по количеству эктопических беременностей группы однородны (точный критерий Фишера, $p = 1,000$, $p = 0,489$ и $p = 1,000$ соответственно). При сравнении групп I и II тест Манна – Уитни выявил их однородность ($p = 0,535$).

Анализ характера и структуры бесплодия продемонстрировал, что 62 (62,6 %) женщины имели первичное бесплодие, 37 (37,4 %) – вторичное. Критерий хи-квадрат показал однородность всех изучаемых групп: IA – II ($p = 0,478$), IB – II ($p = 0,877$), IA – IB ($p = 0,344$) (таблица 6).

Комбинированное бесплодие имело место у 33,4 % (35 семейных пар). Сочетанное женское бесплодие встречалось в 48,4 % случаев (48 пациенток). Трубный фактор имел место у 34,3 % (34), эндометриоз – у 12,1 % (12), маточный фактор – у 2 % (2) пациенток. При статистическом анализе выявлена однородность групп IA – IB – II по изучаемым признакам.

Медиана продолжительности бесплодия составила 5 (от 3 до 8) лет. Статистический анализ критерием Манна – Уитни показал однородность групп I и II ($p = 0,929$). При сравнении Н-тестом Краскела – Уоллиса групп IA – IB – II также не выявлено различий в продолжительности бесплодия ($p = 0,843$).

На момент вступления в программу ВРТ состояние всех пациентов было оценено как удовлетворительное. Показатели общеклинических анализов крови и мочи, свертывающей системы были в пределах нормы. Все пациенты, согласно приказу № 803н, были осмотрены терапевтом и не имели противопоказаний к наступлению беременности. Структура соматической патологии исследуемых пациенток представлена в таблице 9.

Экстрагенитальная патология имела место более чем у половины женщин (50,5 %) и в 100 % случаев находилась в компенсированном состоянии и фазе ремиссии. Выявлена наиболее высокая частота заболеваний щитовидной железы без нарушения ее функции у 28 пациенток (28,2 %), желудочно-кишечного тракта – у 22 (22,2 %) пациенток всех групп. При статистическом анализе критерии хи-квадрат Пирсона и точный критерий Фишера выявили однородность изучаемых групп I – IA – IB – II по всем представленным параметрам (таблица 9).

Таблица 9 – Экстрагенитальная патология, абс. n (%)

Заболевания	Группа I (n = 66)		Группа II (n = 33)	I – II (p)	IA – II (p)	IB – II (p)	IA – IB (p)
	Группа IA (n = 28)	Группа IB (n = 38)					
Щитовидная железа	16 (24,2 %)		12 (36,4 %)	0,623*	0,379**	0,902*	0,657*
	6 (21,4 %)	10 (26,3 %)					
Желудочно-кишечный тракт	16 (24,2 %)		6 (18,2 %)	0,494*	0,161**	0,061*	0,647*
	6 (21,4 %)	10 (26,3 %)					
Мочевыделительная система	4 (6 %)		0 (0 %)	0,298**	–	0,118**	0,131**
	0 (0 %)	4 (10,5 %)					
Сердечно-сосудистая система	2 (3 %)		0 (0 %)	0,551*	–	0,495**	0,504**
	0 (0 %)	2 (5,3 %)					
Дыхательная система	4 (6 %)		3(9,1 %)	0,270*	0,152**	0,348*	0,208*
	0 (0 %)	4 (10,6 %)					
Молочная железа	10 (15,2 %)		6 (18,2 %)	0,699*	0,478**	0,788**	1,000**
	4 (14,3 %)	6 (15,8 %)					
Экстрагенитальная патология	32 (48,5 %)		18 (54,5 %)	0,570*	0,363*	0,872*	0,432*
	12 (42,9 %)	20 (52,6 %)					
Примечание. * – хи-квадрат Пирсона. ** – точный критерий Фишера							

Медиана индекса массы тела всех исследуемых (n = 99) составила 23,1 (21,0 – 27,0). При сравнении групп I и II критерий Манна – Уитни не выявил различий

($p = 0,056$). При сравнении Н-тестом Краскела – Уоллиса также не выявлено значимых различий IA — IB — II ($p = 0,067$).

Структура гинекологических заболеваний представлена в таблице 10.

Таблица 10 – Гинекологическая патология, абс. n (%)

Заболевания	Группа I (n = 66)		Группа II (n = 33)	I – II	IA – II	IB – II	IA – IB
	Группа IA (n = 28)	Группа IB (n = 38)					
ФКЯ яичников в анамнезе	19 (28,8 %)		6 (18,2 %)	0,252*	0,067*	0,762*	0,106*
	11 (39,3 %)	8 (21,1 %)					
Миома матки	18 (27,3 %)		5 (15 %)	0,178*	0,525*	0,106*	0,360*
	6 (21,4 %)	12 (31,6 %)					
Патология шейки матки	2 (3 %)		0 (0 %)	0,551**	0,207**	–	0,176**
	2 (7,1 %)	0 (0%)					
Патология эндометрия в анамнезе	8 (12 %)		3 (9,1 %)	0,747**	1,000**	0,489**	0,451**
	2 (7,1 %)	6 (15,8 %)					
ВЗОМТ	21 (32 %)		3 (9,1 %)	0,013*	0,011*	0,036*	0,650*
	10 (36 %)	11 (28,9 %)					
Инфекции, передающи- еся половым путем, в анамнезе	6 (9 %)		3 (9,1 %)	0,622*	0,328*	0,767*	0,365*
	4 (14,2 %)	2 (5,3 %)					
Примечание. * – хи-квадрат Пирсона. ** – точный критерий Фишера							

Все заболевания мочеполовой системы в исследуемых группах были излечены к моменту вступления в программу ЭКО или находились в стадии ремиссии и не требовали хирургического/консервативного лечения. При статистическом анализе выявлены значимые различия в количестве воспалительных заболеваний органов малого таза (ВЗОМТ) в группах IA – II ($p = 0,011$) и IB – II ($p = 0,036$), что

согласуется с данными литературы о роли инфекционно-воспалительных заболеваний в этиологии ФКЯ.

Лечебно-диагностическая лапароскопия была проведена 72 (72,7 %) пациентам. Следует отметить отсутствие лапаротомных операций на ОМТ у пациенток всех групп. Оперативное вмешательство на яичниках в анамнезе имели 49 пациенток (49, %); из них 3 пациентки – дреллинг яичников (3 %), цистэктомия – 17 пациенток (17,2 %), резекция яичника – 8 пациенток (8 %), удаление яичника – 9 пациенток (9,1 %). Операции на маточных трубах были проведены 33 пациенткам (33,3 %), в объеме сальпингокелифэктомии – 9 пациенткам (9,1 %), сальпингэктомии – 12 женщинам (12,1 %); пластика маточных труб – у 12 пациенток (12,1 %). Операции на матке в объеме миомэктомии без вскрытия полости выполнены 11 пациенткам (11,1 %), коагуляция очагов эндометриоза – 2 пациенткам (2,0 %).

При сравнении групп I и II по типу перенесенных оперативных вмешательств было выявлено статистически значимое большее количество операций на яичниках в анамнезе у пациентов с ФКЯ в сравнении с таковым в группе без ретенционных образований (хи-квадрат Пирсона, $p = 0,037$), что является закономерным ввиду частого хирургического лечения данной патологии. В группе сравнения II выявлено большее количество проведенных операций дреллинга яичника (точный критерий Фишера, $p = 0,035$) в сравнении с таковым в группе I. Данная закономерность связана с часто применяемым ранее хирургическим методом восстановления овуляторных циклов у пациентов с СПКЯ. При сравнении групп I и II по другим видам оперативного вмешательства по поводу гинекологической патологии статистически значимых различий не выявлено (таблица 11).

Подгруппы IA – IV являлись сопоставимыми по количеству операций на яичниках (хи-квадрат Пирсона, $p = 0,572$), а именно резекции яичников (точный критерий Фишера, $p = 1,000$), количестве цистэктомий и овариоэктомий в анамнезе (хи-квадрат Пирсона, $p = 0,209$, и точный критерий Фишера, $p = 0,714$). Остальные виды оперативного вмешательства также значимо не различались при сравнении групп IA – IV: операции на маточных трубах (хи-квадрат Пирсона, $p = 0,925$),

коагуляция очагов эндометриоза (точный критерий Фишера, $p = 0,176$), миомэктомия (точный критерий Фишера, $p = 0,714$).

Таблица 11 – Оперативные вмешательства по поводу гинекологических заболеваний, абс. n (%)

Вид оперативного вмешательства	Группа I (n = 66)		Группа II (n = 33)	p (I – II)
	Группа IA (n = 28)	Группа IB (n = 38)		
Операции на яичниках	28 (42,4 %)		7 (21,2 %)	0,037*
	13 (46,4 %)	15 (39,5 %)		
Цистэктомия	14 (21,2 %)		3 (9,1 %)	0,132*
	8 (28,6 %)	6 (15,8 %)		
Резекция яичника	7 (10,6 %)		1 (3 %)	0,263**
	3 (10,7 %)	4 (10,5 %)		
Удаление яичника	8 (12,1 %)		1 (3,0 %)	0,265**
	4 (14,3 %)	4 (10,5 %)		
Дриллинг яичников	0 (0 %)		3 (9,1 %)	0,035**
	0 (0 %)	0 (0 %)		
Операции на маточных трубах	24 (36,4 %)		9 (27,3 %)	0,366*
	10 (35,7 %)	14 (36,8 %)		
Миомэктомия	8 (12,1 %)		3 (9,1 %)	0,747**
	4 (14,3 %)	4 (10,5 %)		
Коагуляция очагов эндометриоза	2 (3,0 %)		0 (0 %)	0,551**
	2 (7,1 %)	0 (0 %)		
Примечание. * – хи-квадрат Пирсона. ** – точный критерий Фишера				

Таким образом, анализ клинико-anamнестических характеристик изучаемых групп, с одной стороны, позволил выявить особенности преморбидного фона нарушений репродуктивной функции, с другой – установить гомогенность сравниваемых групп, что дало возможность должным образом интерпретировать последующие результаты.

4.2 Оценка овариального резерва пациентов изучаемых групп

Обязательным этапом для выбора оптимального и безопасного метода контролируемой овариальной стимуляции и стартовой дозы гонадотропинов являлась оценка овариального резерва: определение концентрации АМГ, ФСГ, ЛГ, эстрадиола и количества антральных фолликулов при УЗИ ОМТ. Данные представлены в таблицах 12 и 13.

Таблица 12 – Показатели овариального резерва у пациенток с ретенционными образованиями яичников и ановуляторным бесплодием (Me; Q1 – Q3)

Показатель	Группа I (n = 66)	Группа II (n = 33)	Группа III (n = 15)	p* I – II – III
АМГ, нг/мл	1,8 (1,37–3,20)	2,37 (1,77–3,07)	3,2 (3,0–3,8)	0,000
ФСГ, мЕд/мл	6,28 (3,94–8,21)	5,29 (3,84–8,5)	3,6 (3,1–5,3)	0,004
ЛГ, мЕд/мл	4,16 (3,40–6,28)	4,35 (3,02–7,0)	3,8 (2,8–4,8)	0,509
Эстрадиол, пг/мл	40,5 (31,25–62,0)	42,00 (30,32–69,00)	41,6 (30,5–65,0)	0,158
Количество антральных фолликулов	10,0 (7,0–14,0)	11,0 (8,5–13,0)	13,0 (11,0–14,0)	0,018
Примечание. * Критерий Краскела – Уоллиса				

Медиана уровня АМГ всех исследуемых (114) составила 2,6 нг/мл (1,6–3,3). Критерием включения в исследования являлся уровень АМГ 1,2–3,5 нг/мл, что позволило получить однородность сравниваемых групп по показателям овариального резерва и предполагаемому ответу (norm response) на стимуляцию овуляции. При сравнении изучаемых групп I и II с контрольной III (условно здоровые женщины) Н-тест Краскела – Уоллиса выявил значимые различия ($p < 0,001$), последующие попарные сравнения выявили значимое увеличение

уровня АМГ в контрольной группе ($p \text{ I – III} < 0,001$, $p \text{ II – III} < 0,001$), что является логичным, так как данная группа пациентов не имела проблем с фертильностью.

При сравнении изучаемых групп IA – IB – II Н-тест Краскела – Уоллиса не выявил значимых различий в уровне АМГ ($p = 0,476$).

Медиана уровня ФСГ всех исследуемых (114) составила 5,5 (4,5–8,0) мЕд/мл. При сравнении изучаемых групп I и II с контрольной III (условно здоровые женщины) Н-тест Краскела – Уоллиса продемонстрировал значимые различия ($p < 0,001$), последующие попарные сравнения выявили меньшее значение ФСГ в контрольной группе ($p \text{ I – III} = 0,001$ и $p \text{ II – III} = 0,005$), что является логичным, так как данная группа пациентов не имеет проблем с фертильностью.

Таблица 13 – Показатели овариального резерва у пациенток с ретенционными образованиями яичников и ановуляторным бесплодием (Me; Q1 — Q3)

Показатель	Группа IA (n = 28)	Группа IB (n = 38)	Группа II (n = 33)	p* IA – IB – II
АМГ, нг/мл	1,8 (1,37–3,20)	2,51 (1,41–3,39)	2,37 (1,77–3,07)	p = 0,476
ФСГ, мЕд/мл	6,28 (3,94–8,21)	5,60 (5,07–8,37)	5,29 (3,84–8,5)	p = 0,870
ЛГ, мЕд/мл	4,16 (3,40–6,28)	4,13 (3,35–6,04)	4,35 (3,02–7,0)	p = 0,743
Эстрадиол, пг/мл	40,5 (31,25–62,0)	42,9 (30,00– 64,00)	42,00 (30,32– 69,00)	p = 0,993
Количество антральных фолликулов	10,0 (7,0–14,0)	10,0 (5,0–13,0)	11,0 (8,5–13,0)	p = 0,178
Примечание. * Критерий Краскела – Уоллиса				

Таким образом, пациенты всех сравниваемых групп демонстрируют сопоставимые показатели овариального резерва перед началом контролируемой овариальной стимуляции и имеют предполагаемую вероятность нормального

ответа яичников, что позволяет получить истинные данные о влиянии конкретного метода лечения ФКЯ на эффективность овариальной стимуляции.

4.3 Результаты исследования программ экстракорпорального оплодотворения у пациенток с ретенционными образованиями яичников

Следующим этапом работы являлось проведение сравнительного анализа программ ЭКО при ановуляторном бесплодии у пациенток с ретенционными образованиями яичников, выявленными непосредственно перед овариальной стимуляцией, и пациенток без ФКЯ. Данный этап позволил оценить влияние ретенционных образований на особенности контролируемой овариальной стимуляции, показатели оогенеза и раннего эмбриогенеза, а также эффективность программ ЭКО. Для этого проведено сравнительное исследование пациенток групп I и II.

4.3.1 Характеристика стимулированного цикла у пациенток с ановуляторным бесплодием и наличием/отсутствием ФКЯ

Медиана стартовой дозы гонадотропинов всех исследуемых пациенток ($n = 99$) составила 225 МЕ (150–225), суммарной дозы – 2175 МЕ (1500–2500). Медиана длительности стимуляции составила 11,0 (9,0–12,0) дня. Критерий Манна – Уитни при сравнении показателей индуцированного цикла в группах I – II не выявил статистически значимых различий в стартовой и суммарной дозах гонадотропинов ($p = 0,381$ и $p = 0,631$ соответственно), в длительности стимуляции ($p = 0,910$) (таблица 14).

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии негативного влияния ретенционного образования, выявленного в начале программы ЭКО, как на стартовую и суммарную дозы гонадотропинов для овариальной стимуляции, так и на ее продолжительность.

Одними из основных критериев эффективности стимуляции овуляции являются количество пунктированных фолликулов, количество и качество

получаемых ооцитов, выход эмбрионов топового качества на 5–6-е сутки развития. Характеристика показателей оогенеза и раннего эмбриогенеза у пациентов изучаемых групп отражена в таблице 15.

Таблица 14 – Показатели индуцированного цикла у пациентов изучаемых групп (Me; Q1 – Q3)

Показатель	Группа I	Группа II	p
Стартовая доза ФСГ, МЕ	225; 150–225	225; 150–300	0,381*
Курсовая доза ФСГ, МЕ	2175; 1750–2250	1950; 1462,5–2850	0,631*
Продолжительность стимуляции, дни	11,0; 9,0–11,0	10,0; 8,75–12,0	0,910*
Триггер; абс. n (%) – трипторелин – α-ХГЧ	30 (90,9 %) 3 (9,1 %)	60 (90,9 %) 6 (9,1 %)	1,000**
Примечание. * Критерий Манна – Уитни. ** Хи-квадрат Пирсона			

Таблица 15 – Характеристика показателей оогенеза и раннего эмбриогенеза изучаемых групп (Me; Q1 — Q3)

Показатель	Группа I (n = 66)	Группа II (n = 33)	p (критерий Манна – Уитни)
Количество пунктированных фолликулов	8,0; 5,0–11,0	11,0; 7,0–13,0	0,006
Количество полученных ооцитов	6,0; 5,0–11,0	9,0; 6,0–13,0	0,002
Доля; абс. кол-во (%) – зрелых (MII)	362/477 (75,89 %)	198/283 (69,95 %)	0,011
Количество оплодотворенных ооцитов	4,0; 3,0–6,0	6,0; 3,5–8,5	0,075
Количество топовых эмбрионов на 5-е сутки	2,0; 1,0–3,0	2,0; 1,5–3,5	0,097

Медиана количества пунктированных фолликулов всех исследуемых ($n = 99$) составила 9,0 (6,0–12,0) фолликула. В группе пациентов с наличием ретенционного образования при ановуляторным бесплодии медиана количества пунктированных фолликулов составила 8,0 (5,0–11,0), а в группе без ФКЯ – 11,0 (7,0–13,0) фолликула. Критерий Манна – Уитни выявил, что различие является статистически значимым ($p = 0,006$).

Медиана количества полученных ооцитов у всех исследуемых составила 7,0 (5,0–11,0), из них медиана количества зрелых ооцитов (МП) – 5,0 (3,0–9,0). В группе пациентов с ФКЯ (I) медиана полученных ооцитов составила 6,0 (5,0–11,0), а в группе без ФКЯ (II) – 9,0 (6,0–13,0) фолликула. При сравнении групп I – II выявлено статистически значимое различие (Критерий Манна – Уитни, $p = 0,002$).

Доля зрелых ооцитов (ооцитов, находящихся на стадии метафазы 2-го деления мейоза, пригодных для дальнейшего оплодотворения) в группе пациентов с ретенционным образованием была выше, чем в группе сравнения, и составила 75,9 %. В группе сравнения (II) данный показатель составил 69,9 %. При сравнении двух групп разница была статистически значимой ($p = 0,011$). В связи с этим количество оплодотворенных ооцитов оказалось одинаковым в обеих группах ($p = 0,075$) и составило 4,0 (3,0–6,0) и 6,0 (3,5–8,5) в группе с ретенционным образованием и без таковых соответственно.

Медиана количества топовых эмбрионов (бластоцист категории AA, AB, BA и BB, согласно классификации, предложенной Дэвидом Гарднером с соавторами в 1999 г.) всех исследуемых составила 2,0 (1,0–3,0). В группе пациентов с ретенционным образованием яичника медиана количества бластоцист составила 2,0 (1,0–3,0). В группе пациентов без ФКЯ – 2,0 (1,5–3,5). Критерий Манна – Уитни показал отсутствие статистически значимой разницы при сравнении исследуемых групп ($p = 0,097$).

Таким образом, количество пунктируемых фолликулов и, как следствие, количество полученных ооцитов было ниже в группе с ретенционными образованиями яичников, что говорит о возможном негативном влиянии ФКЯ на исход стимуляции. Однако количество зрелых ооцитов (МП) было выше в группе

с ретенционными образованиями, что в конечном счете привело к равному количеству топовых эмбрионов.

4.3.2 Оценка эффективности вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с ановуляторным бесплодием и наличием/отсутствием ФКЯ

Следующий этап работы – оценка влияния ФКЯ собственно на эффективность программы ЭКО.

Результативность программы ЭКО оценивали по следующим показателям (таблица 16).

1. *Частота наступления беременности.* Наступление беременности оценивали по количественному анализу β -ХГЧ в сыворотке крови. Частота наступления беременности на начатый цикл и на эмбриоперенос в обеих группах составила 32/99 (32,0 %), 44/99 (44,4 %) соответственно. Анализ таблиц сопряженности, хи-квадрат Пирсона, показал, что ЧНБ на начатый цикл и на перенос эмбриона сопоставима в изучаемых группах ($p = 0,886$ и $p = 0,886$ соответственно).

2. *Количество прерываний беременности.* В данную группу отнесены самопроизвольный выкидыш, замершая и биохимическая беременности. В обеих группах зафиксировано 7 случаев (7 %) прерываний беременности. Анализ таблиц сопряженности, точный критерий Фишера, выявил отсутствие значимых различий в изучаемых группах ($p = 0,579$).

3. *Количество внематочных беременностей.* В обеих группах зафиксирован только 1 случай внематочной беременности. При сравнении групп I – II значимых различий не получено ($p = 1,000$).

4. *Показатель Take baby home,* то есть рождение ребенка, оказался равным 36/99 (36,0 %). При статистическом анализе таблиц сопряженности хи-квадрат Пирсона не выявил значимых различий при сравнении групп с ФКЯ и ановуляторным бесплодием и без ретенционного образования ($p = 1,000$).

Исходя из вышеизложенного, эффективность программ, оцениваемая в количестве беременностей на начатый цикл и в количестве беременностей на перенос, была одинаковой в обеих сравниваемых группах. Таким образом, при наличии ретенционного образования эффективность программы сравнима со стандартной программой ЭКО, что позволяет говорить об отсутствии выраженного негативного влияния ФКЯ на исход программ ВРТ. С другой стороны, наличие объемного образования яичника, в том числе ретенционного, является противопоказанием к назначению гонадотропинов и требует лечения с целью его регресса. Следующим этапом работы был сравнительный анализ различных тактик ведения ФКЯ в программе ЭКО.

Таблица 16 – Клиническая эффективность программ ЭКО, абс. n (%)

Показатель	Группа I (n = 66)	Группа II (n = 33)	p*
Частота наступления беременности на начатый цикл	22 (31,8 %)	10 (30,3 %)	0,886*
Частота наступления беременности на перенос эмбрионов	29 (43,9 %)	15 (45,5 %)	0,886*
Прерывание беременности	4 (6,1 %)	3 (9,1 %)	0,579 **
Внематочная беременность	1 (1,5 %)	0 (0 %)	1,000*
Take baby home	24 (34,6 %)	12 (36,4 %)	1,000*
Примечание. * Хи-квадрат Пирсона. ** Точный критерий Фишера			

4.4 Выбор программы экстракорпорального оплодотворения у пациентов с ретенционными образованиями яичников

На втором этапе работы проведен сравнительный анализ различных подходов к лечению ФКЯ в программе ЭКО: консервативного (введение антаГнРГ в дозе 0,25 мг п/к в течение 3–7 дней) и хирургического (проведение трансвагинальной пункции ретенционного образования с последующим цитологическим исследованием пунктата).

4.4.1 Клинико-anamнестические особенности пациентов основной группы

Подробные сведения о данных анамнеза, экстрагенитальной и гинекологической патологии всех исследуемых групп, в том числе подгрупп IA и IB, приведены в подразд. 4.1 главы 4. В данной части работы основное внимание уделено параметрам подгрупп, имеющих ключевое значение в выборе тактики программы ЭКО.

В подгруппе IA, пациентам которой проводили претритмент антагонистами ГнРГ, медиана возраста пациента составила 34,0 (27,5–38,8) года, медиана диаметра ретенционного образования – 38,5 (30,5–44,8) мм. ФКЯ в анамнезе были выявлены у 39,3 % пациентов, оперативное лечение по поводу ретенционного образования проведено 28,6 % пациентов. Данная попытка ЭКО являлась первой у 7 пациентов (25,0 %); 12 пациентов (42,9 %) имели в анамнезе 1–2 попытки ЭКО, более 3 попыток ЭКО – у 6 пациентов (21,4 %), более 5 циклов ЭКО – у 3 пациентов (10,7 %).

В подгруппе IB, где пациентам была проведена трансвагинальная пункция кисты яичника, медиана возраста составила 35,0 (30,0–39,0) года, медиана диаметра ретенционного образования – 38,5 (31,8–45,3) мм. Наличие ретенционного образования в анамнезе выявлено у 21,1 % пациентов, хирургическое лечение ФКЯ проводилось 15,8 % пациентов. Данная попытка ЭКО являлась первой у 14 пациентов (36,8 %); 16 пациентов (42,1 %) имели в анамнезе 1–2 попытки ЭКО, более 3 попыток ЭКО – у 5 пациентов (13,2 %), более 5 циклов ЭКО – у 3 пациентов (7,9 %).

При статистическом анализе подгрупп IA – IB критерий Манна – Уитни показал их однородность по всем изучаемым признакам (таблица 17). Данные овариального резерва обеих сравниваемых групп также были сопоставимы, что позволило получить истинные данные о влиянии конкретного метода лечения ФКЯ на эффективность программы ЭКО (таблица 13).

Таблица 17 – Основные характеристики пациентов подгруппы IA и IB (Me; Q1 – Q3)

Показатель	Группа IA (n = 28)	Группа IB (n = 38)	p
Возраст, годы	34,0; 27,5–38,8	35,0; 30,0–39,0	0,362*
Диаметр ФКЯ, мм	38,5; 30,5–44,8	38,5; 31,8–45,3	0,659*
ФКЯ в анамнезе	39,3 %	21,1 %	0,106**
Цистэктомия в анамнезе по поводу ФКЯ	28,6 %	15,8 %	0,206**
Примечание. * Критерий Манна – Уитни. ** Хи-квадрат Пирсона			

4.4.2 Анализ показателей стимулированного цикла у пациенток с ановуляторным бесплодием с наличием ФКЯ и их отсутствием

Анализ основных показателей индуцированного цикла у пациентов обеих подгрупп и группы сравнения отражен в таблице 18.

Таблица 18 – Показатели индуцированного цикла у пациенток с ретенционными образованиями яичников и ановуляторным бесплодием (Me; Q1 – Q3)

Показатель	Группа IA (n = 28)	Группа IB (n = 38)	Группа II	p* IA –IB–II	p IA–IB	p IA–II	p IB–II
Стартовая доза ФСГ, МЕ	225 (150–300)	150 (150–225)	225 (150–225)	0,029	0,024	0,068	0,932
Курсовая доза ФСГ, МЕ	2250 (1500–2875)	1950 (1350–2850)	2175 (1750–2250)	0,875	ns	ns	ns
Продолжительность стимуляции, дни	10,0 (8,0–11,0)	11,0 (9,0–14,0)	11,0 (9,0–11,0)	0,193	ns	ns	ns
Примечание. * Критерий Краскела – Уоллиса с последующим анализом апостериорных сравнений критерием Коновера – Инмана (Conover W. J. and Iman R. L., 1979)							

При сравнении стартовой дозы гонадотропинов в группах IA – IB – II Н-тест Краскела – Уоллиса показал значимые различия ($p = 0,029$), последующие попарные сравнения критерием Коновера – Инмана выявили статистически значимые различия в стартовой дозе в подгруппах IA и IB ($p = 0,024$). Вероятно, более высокая стартовая доза гонадотропинов в подгруппе IA связана с данными анамнеза: большим количеством пациентов, имеющих более 5 попыток ЭКО в подгруппе IA (10,7 % в группе IA; 7,9 % в группе IB ($p = 0,644$)). При сравнении изучаемых групп IA – IB – II Н-тест Краскела – Уоллиса не выявил значимых различий ни в курсовой дозе, ни в длительности стимуляции ($p = 0,875$ и $p = 0,193$ соответственно).

Выявлено статистически значимое меньшее количество пунктированных фолликулов в группе пациентов с трансвагинальной пункцией ретенционного образования ($p = 0,013$) и меньшее количество полученных ооцитов в основной группе ($p = 0,009$) в сравнении с таковыми у пациентов группы сравнения. Однако доля зрелых ооцитов оказалась выше в группе с трансвагинальной пункцией кисты, чем в группе сравнения ($p = 0,007$), что в конечном итоге привело к равному количеству эмбрионов топового качества во всех трех группах ($p = 0,195$) (таблица 19). Полученные данные согласуются с результатами, описанными в подразд. 4.3 настоящей главы о влиянии ФКЯ на параметры овариальной стимуляции.

Следующим этапом работы был сравнительный анализ количества полученных ооцитов в зависимости от числа попыток ЭКО в анамнезе. Пациенты подгрупп IA и IB были разделены на вступивших в первую программу ЭКО, имеющих в анамнезе 1–3 программы и более 3 протоколов ЭКО.

Критерий Манна – Уитни не выявил статистических различий по количеству полученных ооцитов при сравнении групп IA – IB у пациентов с первой попыткой ЭКО ($p = 0,858$), имеющих в анамнезе до трех попыток ЭКО включительно ($p = 0,341$) и более трех попыток ($p = 0,239$) (таблица 20).

Таблица 19 – Анализ основных показателей эмбриологического этапа у пациенток с ретенционными образованиями яичников и ановуляторным бесплодием (Me; Q1 – Q3)

Показатель	Группа IA (n = 28)	Группа IB (n = 38)	Группа II (n = 33)	p* II–IA– IB	p** IA–IB	p** IA–II	p** IB–II
Количество пунктированных фолликулов	9,0 5,0–12,0	8,0 5,0–11,0	11,0 7,0–13,0	0,016	0,665	0,168	0,013
Количество полученных ооцитов	5,0 5,5– 10,75	7,0 5,0–11,0	9,0 6,0–13,0	0,009	1,000	0,035	0,022
Доля; абс. кол-во (%) – зрелых (MII)	168/202 (83,2 %)	253/288 (87,8 %)	243/312 (77,9 %)	0,036	0,820	0,640	0,007
Количество оплодотворенных ооцитов	4,0 3,0–6,8	4,0 3,0–6,0	6,0 3,5–8,5	0,047	0,985	0,049	0,075
Количество топовых эмбрионов	2,0 1,0–2,75	2,0 1,0–3,25	2,0; 1,5–3,5	0,195	–	–	–
Примечание. * Критерий Краскела – Уоллиса с последующим анализом апостериорных сравнений. ** Критерий Краскела – Уоллиса с последующим анализом апостериорных сравнений критерием Коновера – Инмана (Conover W. J. and Iman R. L., 1979)							

Таблица 20 – Медиана количества полученных ооцитов у женщин с ретенционными образованиями и различным количеством попыток ЭКО (Me; Q1 – Q3)

Количество попыток ЭКО в анамнезе	Количество ооцитов		p* IA – IB
	IA	IB	
Ранее не было ЭКО	6,0 (5,0–11,0) (n = 7)	7,0 (5,0–11,0) (n = 15)	0,858
До трех попыток ЭКО включительно	6,0 (5,0–10,5) (n = 13)	6,0 (3,0–8,0) (n = 15)	0,341
Более трех попыток ЭКО	5,0 (4,3–10,3) (n = 8)	8,5 (5,3–11,8) (n = 8)	0,239
Примечание. * Критерий Манна – Уитни			

В дальнейшем пациенты обеих групп были разделены в зависимости от диаметра ретенционного образования до и более 40 мм и проведен анализ количества полученных ооцитов у женщин с ФКЯ различного диаметра в зависимости от выбранного метода лечения (таблица 21).

Статистический анализ показал, что при диаметре кисты до 40 мм более эффективным методом лечения оказалось введение антаГнРГ ($p = 0,044$). Однако при увеличении размеров кисты более 41 мм введение антаГнРГ было ассоциировано с меньшим количеством полученных ооцитов ($p = 0,001$).

Таблица 21 – Количество ооцитов, полученных в программах ЭКО у женщин с ретенционными образованиями различного диаметра (Me; Q1 – Q3)

Диаметр кисты, мм	Количество ооцитов		p* IA – IB
	IA	IB	
25–40	10,0 (5,0–12,0) (n = 16)	7,0 (5,0–9,8) (n = 20)	0,044
41–60	5,0 (4,25–5,0) (n = 12)	8,5 (6,0–11,0) (n = 18)	0,001
Примечание. * Критерий Манна – Уитни			

Следующим этапом исследования проведен анализ влияния возраста на показатели эмбриологического этапа ЭКО при различных тактиках ведения ФКЯ. Все пациенты в зависимости от возраста были поделены на четыре подгруппы: IA1 – группа пациентов до 35 лет, получавшая антагонисты ГнРГ, IB1 – группа пациентов до 35 лет, которым была проведена трансвагинальная пункция, IA2 – группа пациентов старше 35 лет, получавшая антагонисты ГнРГ, IB2 – группа пациентов старше 35 лет (таблица 22).

При сравнении пациентов старшего репродуктивного возраста (более 35 лет) статистический анализ критерием Манна – Уитни показал однородность изучаемых групп IA и IB в количестве полученных ооцитов ($p = 0,428$), их нормальном оплодотворении ($p = 0,322$), количестве эмбрионов топового качества ($p = 0,626$). Статистических различий не выявлено также и в группе пациентов до 35 лет. Количество полученных ооцитов, нормальное оплодотворение и количество

топовых эмбрионов не различалось в обеих группах ($p = 0,758$, $p = 0,371$, $p = 0,237$ соответственно).

Таким образом, возраст пациентов не является критерием выбора метода лечения ФКЯ в программах ЭКО.

Таблица 22 – Эффективность программы ЭКО у пациенток с ФКЯ в различные периоды репродуктивного возраста при введении антагонистов ГнРГ и трансвагинальной пункции

Параметр	До 35 лет			После 35 лет		
	IA1 (n = 19)	IB1 (n = 18)	P	IA2 (n = 9)	IB2 (n = 20)	p
Количество ооцитов, (Me; Q1 – Q3)	10,0 (5,0–12,0)	9,5 (5,0–11,0)	0,758*	5,0 (5,0–6,0)	6,0 (3,0–7,8)	0,428*
Количество 2 рп, (Me; Q1 – Q3)	3,0 (3,0–9,0)	5,0 (3,8–8,3)	0,371*	4,0 (3,5–4,0)	3,5 (2,5–5,0)	0,322*
Топовые эмбрионы, (Me; Q1 – Q3)	2,0 (1,0–3,0)	2,5 (1,0–4,0)	0,237*	1,0 (1,0–2,5)	2,0 (1,0–3,0)	0,626*
Беременность на перенос эмбриона, абс. n (%)	11 (57,9%)	10 (55,6%)	1,000**	2 (22,2%)	6 (30%)	1,000**
Примечание. * Критерий Манна – Уитни. ** Точный критерий Фишера.						

Сравнение основных показателей результативности ЭКО в зависимости от выбранного метода лечения ФКЯ приведено в таблице 23.

Анализ таблиц сопряженности, хи-квадрат Пирсона показали, что частота наступления беременности и живорождения одинаковы вне зависимости от метода лечения ФКЯ.

Таблица 23 – Основные показатели эффективности ВРТ у женщин с ретенционными образованиями, абс. n (%)

Показатель	Группа IA	Группа IB	P
Беременность на перенос эмбрионов	13 (46,4 %)	16 (42,1 %)	0,727*
Прерывание беременности	2 (7,1 %)	2 (5,3 %)	0,752**
Внематочная беременность	0 (0 %)	1 (1,5 %)	0,752**
Take baby home	12 (42,9 %)	12 (31,6 %)	0,347*
Примечание. * Хи-квадрат Пирсона. ** Точный критерий Фишера			

Анализ таблиц сопряженности, хи-квадрат Пирсона показали, что частота наступления беременности и живорождения одинаковы вне зависимости от метода лечения ФКЯ.

Заключительным этапом работы явилось проведение математического моделирования.

1. Построение бинарной логистической регрессии.

Зависимой переменной выбрана переменная «Ответ яичников на стимуляцию», где «0» – «бедный» ответ, то есть получение менее 4 ооцитов; «1» – пациенты с нормальным ответом на стимуляцию. Предикторами были взяты возраст, АМГ, КАФ, диаметр ретенционного образования, попытка ЭКО и метод лечения ретенционного образования. Получено следующее уравнение:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}),$$

где P – вероятность того, что произойдет интересующее событие; e – основание натуральных логарифмов ($\approx 2,71$); z – стандартное уравнение регрессии.

$Z = -0,049 \cdot \text{возраст} + 2,858 \cdot \text{АМГ} + 1,284 \cdot \text{КАФ} + 0,071 \cdot \text{диаметр_кисты} - 0,173 \cdot \text{попытка_ЭКО} - 0,874 \cdot \text{метод_лечения} - 10,566.$

При этом r^2 (Нэйджелкерка) = 0,727, что говорит о том, что данная модель учитывает 72,7 % изменчивости и это является высоким прогностическим критерием.

Пример 1. Пациентка 30 лет, АМГ – 1,4 нг/мл, КАФ – 7 фолликулов, диаметр кисты – 42 мм, 3-я попытка ЭКО, метод лечения ФКЯ – введение антаГнРГ:

$$Z = -0,049 \cdot 30 + 2,858 \cdot 1,4 + 1,284 \cdot 7 + 0,071 \cdot 42 - 0,173 \cdot 3 - 0,874 \cdot 1 - 10,566 = -1,47 + 4,0012 + 8,988 + 2,982 - 0,519 - 0,874 - 10,566 = 2,5422.$$

Вероятность наступления события: $P = 1 / (1 + e^{-z}) \approx 1,0$. То есть в данном примере вероятность получения нормального ответа $\approx 100\%$.

В реальной клинической практике у данной пациентки при проведении трансвагинальной пункции фолликулов было получено 6 ооцитов – нормальный ответ яичников на овариальную стимуляцию.

Пример 2. Пациентка 41 год, АМГ – 1,2 нг/мл, КАФ – 5 фолликулов, диаметр кисты – 58 мм, 2-я попытка ЭКО, метод лечения ФКЯ – трансвагинальная пункция:

$$Z = -0,049 \cdot 41 + 2,858 \cdot 1,2 + 1,284 \cdot 5 + 0,071 \cdot 58 - 0,173 \cdot 2 - 0,874 \cdot 2 - 10,566 = -2,009 + 3,4296 + 5,136 + 4,118 - 0,346 - 1,748 - 10,566 = -1,9854.$$

Вероятность наступления события: $P = 1 / (1 + e^{-z}) \approx 0,18$. То есть в данном примере вероятность получения нормального ответа $\approx 18\%$.

У данной пациентки при проведении трансвагинальной пункции фолликулов было получено 3 ооцита, что соответствует бедному ответу на овариальную стимуляцию в программах ЭКО.

Таким образом, апробация разработанного уравнения на независимой выборке пациентов подтвердила его высокую прогностическую ценность и продемонстрировала возможность успешного внедрения в реальную клиническую практику.

2. Построение ROC-кривых и ROC-анализ.

Для проведения прогностической значимости был проведен ROC-анализ данной модели. На рисунке 20 мы видим высокую прогностическую значимость модели, $AUC = 0,973$.

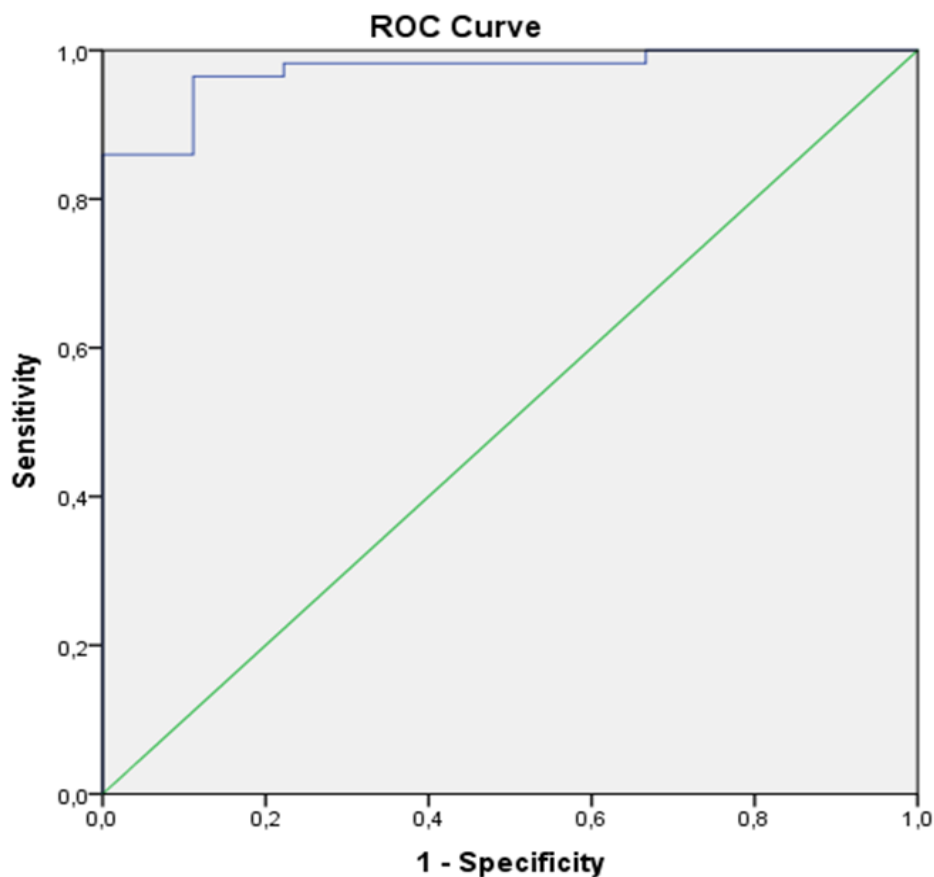


Рисунок 20 – Прогностическая значимость построенной модели

При проведении анализа ROC-кривых каждого из предикторов в отдельности (рисунок 21) в основной группе выявлено, что в качестве значимых предикторов прогноза ответа на стимуляцию у пациентов с ФКЯ могут рассматриваться: КАФ (AUC = 0,942), АМГ (AUC = 0,847), диаметр ретенционного образования (AUC = 0,624). Остальные предикторы (возраст, метод лечения, количество попыток ЭКО) являются малозначимыми для оценки предполагаемого ответа на контролируруемую овариальную стимуляцию, так как площадь AUC < 0,6.

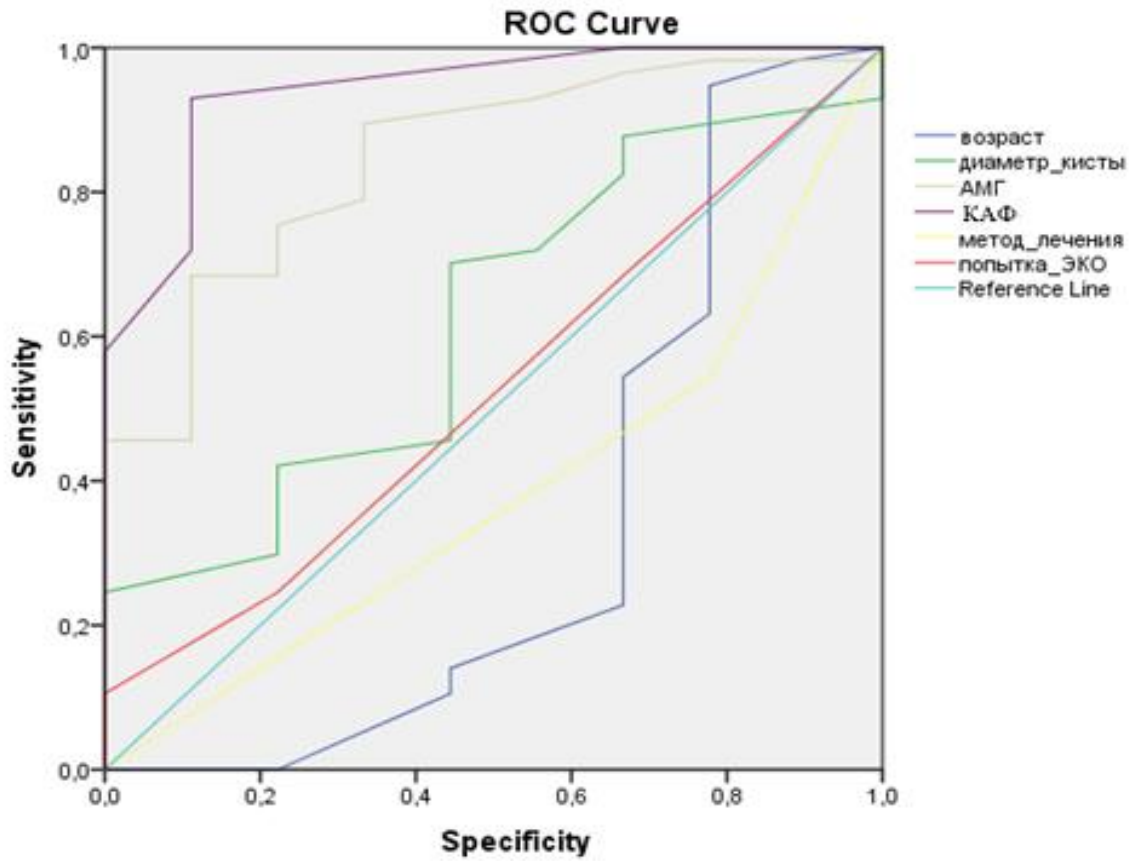


Рисунок 21 – ROC-кривая каждого из предикторов в отдельности

Таким образом, в практике акушеров-гинекологов появилась новая прогностическая модель, учитывающая особенности пациентов с ФКЯ в программе ЭКО и позволяющая оценить предполагаемый ответ яичников на контролируемую стимуляцию овуляции.

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

ФКЯ – одна из наиболее часто встречаемых патологий в структуре гинекологических заболеваний женщин репродуктивного возраста [7, 24, 32, 108]. Частота инфертильности у пациентов с ретенционными образованиями яичников превышает 40 % [39, 25, 65, 104, 130]. Вызывает опасения не только высокая распространенность данной нозологии, но и неоправданная хирургическая агрессия по ее поводу [28, 33, 41, 60]. Исследования последних лет едины во мнении, что хирургическое лечение ФКЯ ассоциировано со снижением овариального резерва, овариальной недостаточностью, бесплодием и снижением эффективности программ ВРТ [5, 28, 60, 70, 130, 143, 181]. Учитывая высокую распространенность ФКЯ у женщин с нарушением репродуктивной функции, отсутствие достаточных знаний о механизме их формирования, склонность к частому рецидивирующему характеру течения, наличие риска хирургического вмешательства на яичниках в случае осложненного клинического течения и, как следствие, еще большего снижения фертильности, остро встает вопрос о более глубоком изучении этиопатогенеза и поиске обоснованного метода лечения ФКЯ. Для решения вышеописанных задач была проведена экспериментальная часть работы.

На экспериментальной модели ФКЯ животных показано, что основные морфологические изменения в яичниках животных сводились к увеличению их размеров за счет наличия кист в корковом слое. Преимущественно определялись фолликулярные кисты и кисты желтого тела. На 7-е сутки эксперимента в обеих экспериментальных группах большая часть кист представляла собой увеличенную полость на этапе третичного фолликула с дегенерацией и цитолизом овоцита, при этом клетки гранулезы и тека-ткань оставались без выраженных изменений. В дальнейшем происходило постепенное уменьшение количества слоев и дистрофические изменения клеток гранулезы, уплотнение и атрофия прилежащего слоя тека-ткани. Конечным этапом являлось формирование гормонально неактивной кисты с уплощенной эпителиальной выстилкой и тонкой фиброзной

стенкой по типу ретенционной кисты. Данный тип кист наиболее часто встречается на 30-е сутки от последнего введения ХГЧ и инсулина в обеих экспериментальных группах. В ходе эксперимента описанные морфологические изменения яичников связаны с моделированием ФКЯ с помощью введения ХГЧ и инсулина [43] и согласуются с данными литературы. Так, ХГЧ, являясь структурным аналогом ЛГ, воздействует на тека-клетки, вызывая их гиперплазию, приводит к гиперандрогении. Инсулин же через факторы роста приводит к повышению чувствительности LHR, что также усиливает продукцию андрогенов тека-клетками. Повышенный синтез андрогенов препятствует нормальному развитию фолликулов, нарушается процесс селекции доминантного фолликула и формируются кистозно-атрезизирующиеся фолликулы [101, 125, 149, 183].

В группе контроля кистозные полости в течение всей длительности эксперимента были единичными, редкими и представленными, в основном, кистами желтого тела.

При морфометрическом анализе выявлено, что максимальное количество кист наблюдалось на 7-е сутки от последнего введения ХГЧ и инсулина в обеих экспериментальных группах I (моделирование ФКЯ) и II (лечение введением антаГнРГ) по сравнению с группой контроля. При статистическом анализе количество кист после введения антаГнРГ в группе II было значимо ниже на 7-е сутки от начала введения цетрореликса ($p = 0,030$) и 30-е сутки от начала введения цетрореликса ($p = 0,009$), чем в группе I в аналогичные временные промежутки, что доказывает способность антаГнРГ снижать секрецию гонадотропинов, замедляя интенсивность роста клеток теки и гранулезы. Далее в ходе эксперимента отмечалось снижение количества кист, которое в группе II с введением антаГнРГ было выражено сильнее, чем в группе I. К концу эксперимента в обеих группах кисты были единичными по типу ретенционных кист.

Полученные результаты согласуются с литературными данными о способности антаГнРГ ингибировать митотическую активность гранулезы преовуляторных фолликулов, которые были показаны в эксперименте в работах Reismann T. et al. (1996, 2000), Yano T. et al. (1997), Farmer D. et al. (2026) [83, 99,

170, 195]. В исследованиях Tata V. et al. (2018) было выявлено, что терапия антаГнРГ на экспериментальных моделях СПКЯ приводила к восстановлению репродуктивной функции у мышей [103], а в работах Patnaik S. et al. (2023) показан положительный эффект комбинированной терапии антаГнРГ (цетрореликс) в сочетании с рекомбинантным фактором дифференцировки роста – 9 (rGDF-9) на снижение инсулинорезистентности, восстановление овуляторных циклов у крыс с моделью СПКЯ [89].

В процессе моделирования ФКЯ имело место повышение интенсивности экспрессии исследованных факторов. Так, в группе I уровень экспрессии IGF-1 в гранулезных клетках растущих фолликулов была выше в сравнении с контрольной группой. Полученные данные подтверждают гипотезу о том, что ключевым триггером кистозной трансформации фолликулов является локальный дисбаланс факторов роста, в том числе гиперэкспрессия IGF-1. При этом, как и в группе контроля, наблюдалось постепенное увеличение уровня экспрессии IGF-1 от ПФ к ТФ, что подтверждается литературными данными о роли IGF-1 в пролиферации и селекции доминантного фолликула [155]. В исследовании Stubbs Sh. et al. (2013) показано, что IGF-1 стимулирует инициацию роста фолликулов в ткани яичников и экспрессируется в преантральных фолликулах на всех стадиях развития [180]. Ключевым фактором, запускающим механизм формирования ФКЯ, вероятно, является высокая локальная экспрессия IGF-1. IGF-1 выступает в роли модулятора, усиливающего внутриклеточный каскад ФСГ – зависимого аденилатциклазного пути, что приводит к преждевременной активации гена, отвечающего за синтез LHR. Как следствие, клетки гранулезы начинают экспрессировать LHR на гораздо более ранних стадиях развития фолликула (в антральных фолликулах малого и среднего диаметра) [91, 114, 122, 149].

В настоящем исследовании преждевременная экспрессия LHR была обнаружена в гранулезных клетках ВФ группы модели ФКЯ. В норме количество LHR в клетках гранулезы строго лимитировано финальной стадией селекции доминантного фолликула [114, 201]. Выявленная при моделировании ФКЯ повышенная преждевременная экспрессия LHR в ВФ обладает антимитогенным

эффектом на клетки гранулезы и, вероятно, блокирует процесс формирования полноценного преовуляторного фолликула, способного к овуляции. При этом доминантный фолликул ввиду отсутствия достаточного количества клеток гранулезы, экспрессирующих LHR, теряет способность реагировать на пик ЛГ и продолжает накапливать жидкость, превращаясь в ФКЯ.

В исследовании также наблюдалась повышенная экспрессия AR во ВФ и ТФ в группе модели ФКЯ. При этом интенсивность экспрессии AR в гранулезных клетках ТФ продолжала возрастать, в отличие от контрольной группы, где уровень экспрессии AR в преовуляторном фолликуле резко снижался. По данным литературы, гиперэкспрессия IGF-1 в растущих фолликулах напрямую стимулирует экспрессию AR, воздействуя на клетки гранулезы и внутреннего слоя теки [77, 141, 193]. Обнаруженная в эксперименте гиперэкспрессия AR, вероятно, оказывала двойное воздействие на формирование ФКЯ. С одной стороны, подавляя активность ароматазы, препятствовала адекватной конверсии андрогенов в эстрогены. С другой стороны, потенцировала выявленную преждевременную экспрессию LHR в растущих фолликулах.

Таким образом, можно предположить, что в патогенезе ФКЯ формируется порочный круг: гиперэкспрессия IGF-1 и AR в клетках гранулезы ВФ и ТФ реализуется по принципу положительной обратной связи, формируя самоподдерживающийся каскад, ведущий к преждевременной экспрессии LHR в гранулезе ВФ. Данные изменения приводят к блокаде овуляции и кистозной трансформации фолликула.

Имуногистохимический анализ эпителиальной выстилки кист при моделировании ФКЯ демонстрировал сочетанную повышенную экспрессию IGF-1, LHR и AR, которая в норме не встречается одновременно в зрелом фолликуле. Совместная гиперэкспрессия данных факторов, вероятно, блокирует процессы атрезии и способствует длительной персистенции ФКЯ.

Введение антаГнРГ приводило к выраженному снижению уровня экспрессии IGF-1, LHR и AR в гранулезных клетках растущих фолликулов и эпителиальной выстилке кист в сравнении с группой модели. Данные изменения согласуются со

способностью антаГнРГ снижать секрецию гонадотропинов, уменьшая пролиферацию клеток теки и гранулезы [170, 126, 136, 195].

Вероятно, терапевтический эффект препарата обусловлен прерыванием порочного круг внутрияичниковой регуляции за счет десенситизации оси «гипофиз – яичники». Снижение системных концентраций ФСГ и ЛГ инициирует каскад событий – от блокирования синтеза новых LHR до ускоренной деградации их существующего пула. Вторичное снижение синтеза андрогенов, обусловленное регрессом гиперплазированной тека-ткани, закономерно ведет к даун-регуляции AR по механизму отрицательной обратной связи. Особого внимания заслуживает снижение уровня IGF-1: утрата его антиапоптотического влияния выступает критическим фактором, лишаящим ФКЯ механизмов автономной персистенции и направляющим их развитие по пути физиологической атрезии.

Таким образом, в ходе эксперимента было показано, что антаГнРГ оказывает выраженное влияние на морфофункциональное состояние яичников крыс в условиях формирования ФКЯ. При этом наиболее заметное влияние оказывается на количество кист в яичниках экспериментальных животных – на фоне введения антаГнРГ количество кист было значимо ниже на 7-е сутки ($p = 0,030$) и 30-е сутки ($p = 0,009$) от начала введения цетрореликса по сравнению с группой I (модель ФКЯ). Кроме того, в фолликулах и стенках кист в группе II (модель ФКЯ и лечения антаГнРГ) дистрофические изменения клеток гранулезы были выражены в меньшей степени, чем в группе I (модель ФКЯ). Этот эффект согласуется с литературными данными о протективном воздействии антаГнРГ на клетки гранулезы фолликулов [136, 152].

Полученные в эксперименте данные свидетельствуют об успешном лечении ФКЯ с помощью антаГнРГ.

Высокая распространенность ФКЯ среди женщин репродуктивного возраста (до 55%) в сочетании с ассоциированным снижением фертильности определяет высокую востребованность программ ВРТ у данной категории пациенток [7, 25, 39, 118, 130]. Обнаружение доброкачественных новообразований яичника, в том числе ФКЯ, является ограничением к началу овариальной стимуляции согласно Приказу

№ 803н [49]. Для обеспечения регресса кисты перед началом протокола ЭКО допустимы как хирургическая тактика (трансвагинальная пункция), так и консервативная, основанная на применении антаГнРГ. Результаты экспериментальной части работы показали, что использование антаГнРГ не только способствует регрессу ФКЯ, но и деактивирует патологическую систему внутрияичниковой регуляции. Потенциальное улучшение эмбриологических показателей (количество полученных ооцитов и эмбрионов) у пациентов с ФКЯ после введения антаГнРГ предопределило дизайн и задачи клинического этапа работы.

Результаты проведенного исследования показали влияние ФКЯ на эффективность овариальной стимуляции в протоколах ЭКО в виде снижения количества пунктируемых фолликулов ($p = 0,006$) и, как следствие, более низкого количества получаемых ооцитов ($p = 0,002$). Полученные данные согласуются с данными литературы [94, 97, 115, 147, 162]. Указанный эффект, вероятно, опосредован как механическим воздействием ФКЯ, препятствующим росту фолликулов, так и изменением кровоснабжения в ущерб развитию фолликулов. Предположительно ретенционное образование может оказывать активное паракринное или эндокринное влияние, являющееся следствием высвобождения эстрадиола. Кисты, связанные с повышением уровня эстрадиола, могут вызывать преждевременное повышение уровня ЛГ и прогестерона, что приводит к снижению качества ооцитов и оказывает негативное влияние на эндометрий. Но, несмотря на меньшее количество полученных ооцитов в программах ЭКО, доля зрелых ооцитов (МП) в работе оказывалась выше в группе пациентов с ФКЯ в сравнении с таковым в группе ановуляторного бесплодия без ретенционных образований, что в конечном счете привело к равному количеству топовых эмбрионов в обеих группах ($p = 0,097$). В исследованиях последних лет были опубликованы схожие результаты об отсутствии негативного влияния на качество и количество эмбрионов [100, 127, 137, 190].

Эффективность программ ЭКО оценивали в количестве клинических беременностей на начатый цикл и на перенос. В обеих сравниваемых группах не

было выявлено различий как в количестве беременностей ($p = 0,89$ и $p = 0,89$ соответственно), так и в таких важных показателях, как take baby home и в количестве прерываний беременности ($p = 1,000$ и $0,579$ соответственно), что подтверждает предположение об отсутствии возможного отрицательного воздействия ФКЯ на эффективность программы ЭКО. Таким образом, ФКЯ, выявленные перед вступлением в протокол ЭКО, не оказывают выраженного негативного влияния на исход программ ВРТ.

Алгоритм ведения пациентов с ретенционными образованиями яичников в программах ВРТ в настоящее время не урегулирован и является дискуссионным. Одни авторы поддерживают позицию хирургического подхода к лечению в объеме трансвагинальной пункции образования с последующим цитологическим исследованием, другие являются сторонниками направленного подавления гипоталамо-гипофизарной оси с помощью введения агонистов или антагонистов ГнРГ, третьи исследователи вообще склонны отложить программу ЭКО на несколько менструальных циклов с целью физиологического регресса ФКЯ [32, 94, 127, 137, 147, 157].

Учитывая, что высокий процент ФКЯ благодаря их функциональному характеру возникновения подвергается регрессу без какого-либо лечения в течение 1–3 менструальных циклов, выжидательная тактика является патогенетически обоснованной [7, 25, 32, 65, 127]. Однако недостатками данной тактики являются отмена цикла ЭКО и потеря времени на реализацию репродуктивной функции, что может быть критично для пациентов старше 35 лет и при низком овариальном резерве. Также достаточно часто ФКЯ носят рецидивирующий характер, что может приводить к продолжительной отмене начала программы ВРТ.

Вклад уровня овариального резерва в успех программы ЭКО невозможно переоценить. В клинических рекомендациях указано, что уровень АМГ менее 1,2 нг/мл ассоциирован со снижением шансов на наступление беременности методами ВРТ [13] и является ограничением к базовой программе ЭКО по ОМС [49]. Крупное исследование, включившее анализ более 34,5 тысяч циклов ЭКО у пациентов со сниженным овариальным резервом, показало, что уровень АМГ

менее 1 нг/мл коррелирует с низким количеством ооцитов в ответ на овариальную стимуляцию и, как следствие, с малым количеством эмбрионов, низким уровнем живорождения [75]. Все исследования последних лет доказывают, что количество ооцитов напрямую коррелирует с количеством эмбрионов и эффективностью программ ЭКО, а теория о так называемом плато в количестве ооцитов, после которого количество топовых эмбрионов не увеличивается, осталась в прошлом [42, 75, 93, 143, 175, 178]. Снижение овариального резерва приводит к «бедному ответу» в программах стимуляции суперовуляции, что напрямую оказывает влияние на частоту наступления беременности и живорождения в программах ВРТ [32, 80, 93, 105, 132, 175, 196]. К факторам, приводящим к формированию овариальной недостаточности, относятся: возраст, операции на гонадах и органах малого таза, а также генетические и метаболические расстройства, инфекционные и аутоиммунные заболевания, воздействия окружающей среды [8, 47, 67, 73, 80, 140, 174, 175, 189, 196, 197].

Влияние возраста на овариальный резерв наглядно демонстрирует математическая модель W. H. Wallace и T. W. Kelsey (2010). Авторами доказано, что примордиальные фолликулы формируются внутриутробно, их количество максимально к 22 неделям гестации и достигает 300000 фолликулов, а к старшему репродуктивному периоду (35 лет) их запас остается всего 16000 и далее снижается в геометрической прогрессии [209]. Возраст оказывает непосредственное негативное влияние не только на количество, но и на качество ооцитов. Так, в возрасте старше 35 лет резко увеличивается количество анеуплоидных эмбрионов, то есть эмбрионов с неправильным набором хромосом, которые априори не могут дать шанс на рождение здорового ребенка и чаще всего приводят либо к ненаступлению беременности, либо к ее прерыванию на раннем сроке [123, 168, 174, 198, 202]. При этом снижается как естественная фертильность женщины, так и эффективность программ ЭКО. По данным Tal R. et al. (2021), при уровне АМГ 0,9–1,0 нг/мл и возрасте пациента до 35 лет эффективность программы ЭКО около 41 %, а при аналогичном уровне одного из основных маркеров овариального

резерва и возрасте пациента 43 года и более эффективность программы около 4 % [75].

Согласно данным литературы, доля мужского фактора в общей структуре бесплодия достигает 50 % [27, 37, 62, 79]. Мужское бесплодие развивается вследствие многообразных причин, таких как нарушение эякуляции, наличие врожденных и приобретенных заболеваний (включая аномалии развития), гормональные нарушения, патологии спермы, воздействие факторов внешней среды [27, 38, 73]. Известно, что причиной снижения мужской фертильности в 15 % случаев могут быть врожденные заболевания половой системы у мужчин, а также генетические аберрации [73, 135]. Супружеским парам, страдающим бесплодием по мужскому фактору и/или комбинированному (сочетание как мужского, так и женского факторов), показано проведение ВРТ с применением ИКСИ [49].

Несмотря на многочисленные достижения в области репродуктивной медицины, такие как усовершенствование методов культивирования эмбрионов, внедрение ПГТ-А в рутинную практику большинства клиник ВРТ, исследование рецептивности эндометрия и «персонализации» переноса эмбриона, частота наступления клинической беременности в циклах ЭКО не превышает 40–50 % [45, 46, 51, 80, 92, 93, 167, 174]. По последним данным, вероятность наступления клинической беременности после переноса эмбрионов высокого качества без ПГТ-А по крайней мере в трех последовательных циклах ЭКО при отсутствии каких-либо органических факторов, снижающих ее шансы, достигает 70 % [69]. В случае трех и более неудачных попыток селективного переноса «свежих» и/или размороженных эмбрионов возникает клиническая ситуация, получившая название «повторные неудачи имплантации» (ПНИ). Частота встречаемости ПНИ в программах ЭКО достигает 20 % и достаточно часто сопряжена с диагнозом «неуточненное бесплодие» [10, 14, 45, 46, 123, 207]. Именно по причине риска возникновения ПНИ и/или получения эмбрионов низкого качества отмена цикла ЭКО при выявлении ФКЯ и выжидательная тактика в течение 1–3 месяцев возможна, на наш взгляд, только при первой попытке ЭКО.

В связи с вышеизложенным выжидательная тактика целесообразна лишь у небольшой когорты пациентов, планирующих ЭКО, а именно у молодых пациентов (до 35 лет), при отсутствии неудач имплантации в программах ЭКО, сохранным овариальным резервом и удовлетворительным качеством спермы партнера. Также немаловажное значение при выборе тактики ведения пациентов с ФКЯ в программах ЭКО приобретают так называемые социальные факторы. Перенос процедуры ЭКО на несколько менструальных циклов является стрессовым фактором для многих супружеских пар, проходящих программу ЭКО в другом регионе или работающих вахтовым методом, а также может быть сопряжен с экономическими затратами пациентов на актуализацию необходимого перечня анализов согласно Приказу № 803 н.

Частота хирургического вмешательства на яичниках по поводу доброкачественных новообразований у женщин репродуктивного возраста составляет 7–25 % [24, 28, 60, 197]. Однако доказано, что любое оперативное вмешательство на яичниках неминуемо ведет к снижению овариального резерва, а именно к снижению КАФ и падению уровня АМГ [9, 28, 30, 41, 65, 70, 143, 197]. Тем самым снижается не только возможность естественного наступления беременности, но и эффективность программ ВРТ [28, 70, 80, 85, 143, 175].

В последние годы внимание исследователей направлено на оценку влияния различных методов хирургического лечения доброкачественных опухолей яичников и методов интраоперационного гемостазирования на овариальный резерв. Получены данные о негативном влиянии биполярной коагуляции в сравнении с шовным гемостазированием. Кроме того, выявлена взаимосвязь между количеством коагуляций и выраженностью снижения уровня АМГ. Однако единого мнения относительно использования того или иного метода лечения нет [9, 20, 48, 50, 60, 138, 140, 189].

Остается дискуссионным вопрос о роли и месте хирургических методов лечения доброкачественных новообразований яичника: с одной стороны, очевидно травмирующее воздействие на яичник и место «хирургической агрессии» в развитии овариальной недостаточности, с другой стороны, не установлен баланс

между пользой для репродуктивной системы и риском малигнизации образования [5, 20, 50, 61, 98].

Результаты проведенного исследования показали, что как проведение трансвагинальной пункции ФКЯ под контролем УЗИ, так и введение антагониста ГнРГ в дозе 0,25 мг в течение 3–7 дней являются эффективными методами лечения, не имеющими негативного влияния на контролируемую стимуляцию суперовуляции, количество топовых эмбрионов и частоту наступления беременности при сравнении с группой без ретенционных образований. Полученные данные согласуются с опубликованными результатами Firouzabadi R. D. et al. (2010), Kumbak B. et al. (2009), Рудакова Е. Б. и соавт. (2014), McDonnell R. et al. (2014), Pereira N. (2016).

В данном исследовании впервые был проведен сравнительный анализ эмбриологических характеристик программы ВРТ у пациенток с ретенционными образованиями яичников при проведении трансвагинальной пункции ФКЯ или введении антагонистов ГнРГ в зависимости от количества попыток ЭКО в анамнезе, возраста и диаметра ФКЯ. Данные анализа выявили статистически значимую взаимосвязь между количеством полученных ооцитов, диаметром кисты и методом лечения. При диаметре кисты более 4 см предпочтительным является проведение трансвагинальной пункции кисты, при меньшем диаметре ретенционного образования – введение антагонистов ГнРГ. Вероятно, данный механизм опосредован повышенным давлением жидкости на стенку кисты более 4 см, что приводит к истончению, вплоть до полной эксфолиации, гранулезного слоя и, как следствие, потери чувствительности к воздействию антагониста ГнРГ.

Таким образом, основным клиническим критерием выбора оптимальной тактики ведения пациентов с ретенционными образованиями яичников в программах ВРТ является диаметр ФКЯ.

На основании полученных данных нами предложен структурированный и обоснованный алгоритм ведения пациентов с ретенционными образованиям (рисунок 22).

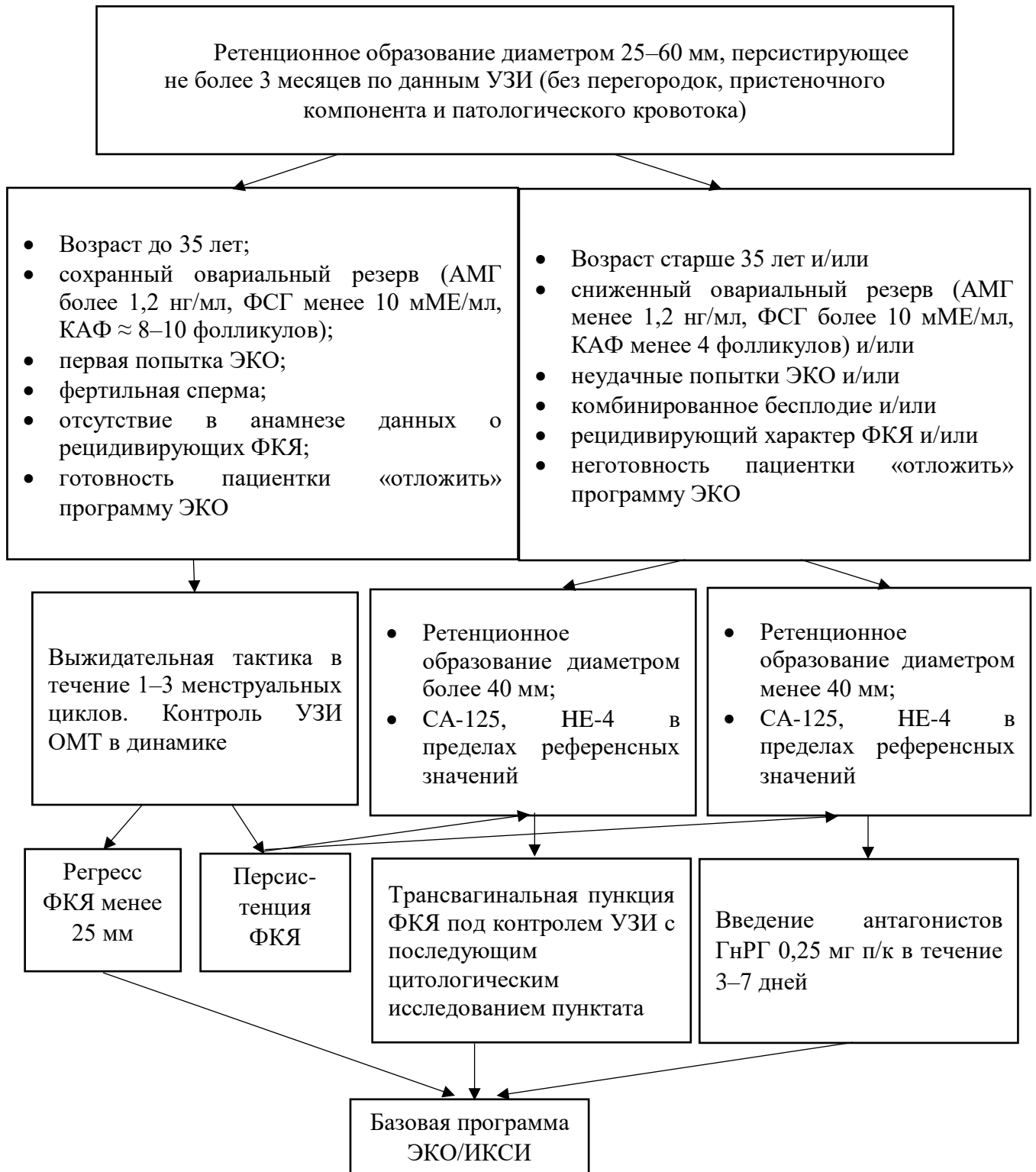


Рисунок 22 – Алгоритм ведения пациентов с ретенционными образованиями, выявленными перед программой ЭКО

Также в проведенном исследовании путем математического моделирования получено уравнение, которое может быть использовано в клинической практике репродуктолога для оценки предполагаемого ответа на овариальную стимуляцию

у пациентов с ФКЯ; предикторами в данном уравнении служат: возраст, АМГ, КАФ, диаметр ретенционного образования, попытка ЭКО и метод лечения ретенционного образования:

$$Z = -0,049 \cdot \text{возраст} + 2,858 \cdot \text{АМГ} + 1,284 \cdot \text{КАФ} + 0,071 \cdot \text{диаметр_кисты} - \\ - 0,173 \cdot \text{попытка_ЭКО} - 0,874 \cdot \text{метод_лечения} - 10,566.$$

Для расчета вероятности получения бедного или нормального ответа на овариальную стимуляцию, вычисленную по формуле (Z), необходимо ее значение подставить в уравнение $P = 1 / (1 + e^{-z})$, где P – вероятность того, что произойдет интересующее событие; e – основание натуральных логарифмов, равное $\approx 2,71$; z – стандартное уравнение регрессии.

Данная модель учитывает 72,7 % (r^2 (Нэйджелкерка) = 0,727) изменчивости, что является высоким прогностическим критерием и говорит о возможности применения данного уравнения в клинической практике врача.

В литературе предложены похожие модели, основанные на чувствительности основных предикторов в прогнозировании ответа на стимуляцию уровня АМГ и КАФ. Также в качестве дополнительных предикторов обозначены определение ФСГ, возраста, данных о предыдущих попытках ЭКО [107]. Нами впервые предложено включение в модель прогнозирования ответа на овариальную стимуляцию диаметра ФКЯ, метода лечения ретенционного образования и количества попыток ЭКО.

ВЫВОДЫ

1. Моделирование функциональных кист яичников путем введения крысам-самкам хорионического гонадотропина и инсулина средней продолжительности действия приводит к формированию фолликулярных кист и кист жёлтого тела. Введение антагониста гонадотропин-рилизинг-гормона вызывает постепенное снижение количества функциональных кист яичников к 30-м суткам эксперимента ($p = 0,009$), уменьшает выраженность дистрофических изменений клеток гранулезы фолликулов и стенки функциональных кист.

2. Формирование функциональных кист яичников ассоциировано с сочетанной гиперэкспрессией инсулиноподобного фактора роста –1, рецепторов андрогенов и преждевременной индукцией рецепторов лютеинизирующего гормона в клетках гранулезы ($p < 0,05$), что блокирует процессы овуляции и атрезии фолликулов. Применение антагониста гонадотропин-рилизинг-гормона предотвращает патологическое повышение экспрессии указанных факторов в клетках гранулезы ($p < 0,05$), снижает их содержание в эпителиальной выстилке сформированных кист ($p < 0,05$) и ускоряет их регресс.

3. Ретенционные образования яичников, выявленные непосредственно перед началом овариальной стимуляции, при правильно подобранной терапии не имеют негативного влияния на количество топковых эмбрионов ($p = 0,097$), частоту наступления беременности ($p = 0,886$) и живорождения ($p = 1,000$) в сравнении с программой экстракорпорального оплодотворения при отсутствии функциональных кист яичников.

4. Проведение трансвагинальной пункции функциональных кист яичников и введение антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона с целью коррекции ретенционных образований в программах экстракорпорального оплодотворения сопоставимы по клинической эффективности протокола стимуляции ($p = 0,727$).

5. На основании проведенного исследования предложены персонафицированный алгоритм ведения пациентов с функциональными кистами яичников в программах экстракорпорального оплодотворения в зависимости от

диаметра ретенционного образования и клинико-anamнестических показателей и прогностическая модель предполагаемого ответа на стимуляцию овуляции, учитывающая дополнительные факторы относительно характеристик ретенционного образования: диаметр, метод лечения и количество попыток экстракорпорального оплодотворения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью увеличения эффективности программы экстракорпорального оплодотворения трансвагинальную пункцию функциональной кисты яичника, выявленной непосредственно перед стартом контролируемой овариальной стимуляции, целесообразно проводить при размере ретенционного образования более 4 см, при меньшем диаметре более оптимальным является введение антагонистов гонадотропин-рилизинг гормона в дозе 0,25 мг в сутки в течение 3–7 дней.

2. Выжидательная тактика с целью установления регресса ретенционного образования перед ЭКО обоснована только у молодых пациентов (до 35 лет), при отсутствии неудач имплантации в программах ЭКО ранее, с сохранным овариальным резервом и нормозооспермией.

3. При ановуляторном бесплодии и функциональных кистах яичников, выявленных перед вступлением в протокол ЭКО, необходима комплексная оценка факторов: возраста, АМГ, количества антральных фолликулов, диаметра функциональной кисты яичника, метода лечения ретенционного образования и количества попыток ЭКО – с целью увеличения эффективности программы.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- аГнРГ – агонист гонадотропин-рилизинг-гормона
АМГ – антимюллеров гормон
АМК – аномальные маточные кровотечения
антаГнРГ – антагонист гонадотропин-рилизинг-гормона
АФиТ – атретические фолликулы и тела
ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии
ВФ – вторичные фолликулы (растущие)
ГнРГ – гонадотропин-рилизинг-гормон
Е2 – эстрадиол
ЖТ – жёлтые тела
ИКСИ – интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов
ИМТ – индекс массы тела
КАФ – количество антральных фолликулов
КОК – комбинированные оральные контрацептивы
КП – коэффициент пересчета доз на основе площади поверхности тела
ЛГ – лютеинизирующий гормон
ПГТ-А – преимплантационное генетическое тестирование эмбриона
ПНИ – повторные неудачи имплантации
ПНЯ – преждевременная недостаточность яичников
ПрФ – примордиальные фолликулы
ПФ – первичные фолликулы (растущие)
СГЯ – синдром гиперстимуляции яичников
СибГМУ – Сибирский государственный медицинский университет
СПКЯ – синдром поликистозных яичников
Т4 – свободный тироксин
ТТГ – тиреотропный гормон
ТФ – третичные фолликулы (растущие)
УЗИ ОМТ – ультразвуковое исследование органов малого таза
ФКЯ – функциональные кисты яичников
ФСГ – фолликулостимулирующий гормон
ХГЧ – хорионический гонадотропин человека
ЭДЖ – эквивалентная доза для животного
ЭДЧ – эквивалентная доза для человека
ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

AR – рецепторы андрогенов

AUC – Area Under Curve – площадь под ROC-кривой

IGF – инсулиноподобный фактор роста

IGFBP – протеин, связывающий инсулиноподобные факторы роста

LHR – рецепторы лютеинизирующего гормона

ROC – Receiver Operating Characteristic – операционная характеристическая кривая

VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия: руководство / Г. Г. Автандилов. – Москва: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Алгоритм дифференциальной диагностики новообразований яичников у пациенток репродуктивного периода: проспективное исследование / Н. М. Подзолкова, В. Б. Осадчев, К. В. Бабков, Н. Е. Сафонова // Гинекология. – 2022. – Т. 24, № 2. – С. 80–87. – DOI 10.26442/20795696.2022.2.201387.
3. Алимов, А. В. Изменения андрогенных показателей у пациенток с преждевременной недостаточностью функции яичников / А. В. Алимов, С. С. Фахрутдинова // Эндокринология: Новости. Мнения. Обучение. – 2025. – № 4(53). – С. 24–29. – DOI 10.33029/2304-9529-2025-14-4-24-29.
4. Антропова, Н. В. Фагоцитарная активность нейтрофилов и содержание регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови женщин с бесплодием и фолликулярными кистами яичников / Н. В. Антропова, Н. Ю. Сотникова // Международный научно-исследовательский журнал. – 2016. – № 2–3 (44). – С. 42–46. – DOI 10.18454/IRJ.2016.44.052.
5. Бесплодие, ассоциированное с эндометриозом яичников: современный взгляд на проблему / М. Р. Оразов, М. Б. Хамошина, М. З. Абитова [и др.] // Гинекология. – 2020. – Т. 22, № 5. – С. 44–49. – DOI 10.26442/20795696.2020.5.200405.
6. Болдонова, Н. А. Фолликуло- и оогенез: химические свойства и биологическое действие лютеинизирующего гормона / Н. А. Болдонова, Е. Б. Дружинина // Байкальский медицинский журнал. – 2014. – Т. 129. – № 6. – С. 28–31.
7. Боровкова, Е. И. Функциональные кисты яичников: дифференциальная диагностика и тактика ведения / Е. И. Боровкова // Клинический разбор в акушерстве, гинекологии и репродуктологии. – 2021. – Т. 1, № 2. – С. 37–41.
8. Вартамян, В. А. Эндометриоидные кисты и бесплодие: дилемма при выборе тактики (обзор литературы) / В. А. Вартамян, В. Ю. Смольникова, Л. В. Адамян //

Проблемы репродукции. – 2024. – № 4. – С. 29–37. – DOI 10.17116/repro20243004129.

9. Влияние хирургического лечения доброкачественных опухолей яичников на репродуктивное здоровье женщин с учетом Международной классификации функционирования / И. С. Захаров, И. С. Епифанов, Д. В. Ковлен [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2024. – Т. 20, № 3. – С. 86–94.

10. Возможности преодоления неудач имплантации при бесплодии маточного генеза, обусловленных хроническим эндометритом / К. В. Краснопольская, Л. М. Михалева, М. Р. Оразов, Е. Д. Долгов // Гинекология. – 2022. – Т. 24, N 5. – С. 400-407. – DOI 10.26442/20795696.2022.5.201892.

11. Возможности фертильности при диагнозе «рак яичников» / Ю. Э. Доброхотова, Т. А. Матевосян, И. Ю. Ильина, М. Р. Нариманова // Архив акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирёва. – 2024. – Т. 11, № 4. – С. 385–394. – DOI 10.17816/aog629469.

12. Востриков, В. В. Репродуктивная функция больных с эндокринным бесплодием / В. В. Востриков, Т. А. Назаренко // Акушерство и гинекология. – 2023. – N 9. – С. 98-106. – DOI 10.18565/aig.2023.14.

13. Вспомогательные репродуктивные технологии и искусственная инсеминация. Клинические рекомендации (протокол лечения). – Текст: электронный // Судебные и нормативные акты РФ : сайт. – 2018. – URL: <https://sudact.ru/law/pismo-minzdrava-rossii-ot-15022019-n-15-4i2-1217/prilozhenie/?ysclid=mn4dwz6e7b373764589> (дата обращения: 10.06.2025).

14. Вспомогательные репродуктивные технологии, некоторые клиничко-эмбриологические и генетические аспекты женского бесплодия неясного генеза / В. М. Здановский, К. В. Краснопольская, А. В. Ляхов, Е. Ю. Воскобоева // Проблемы репродукции. – 2022. – Т. 28, N 2. – С. 59-67. – DOI 10.17116/repro20222802159.

15. Гинекология от десяти учителей: учебник / под ред. С. Кэмпбелл, Э. Монг. – Москва: Медицинское информационное агентство, 2003. – 328 с.

16. Гормональная терапия при функциональных кистах яичников / С. О. Дубровина, Ю. Д. Берлим, В. С. Гимбут, М. А. Вовкочина // *Акушерство и гинекология*. — 2020. — Т. 4. — С. 210–213. — DOI: 10.18565/aig.2020.4.210-213.

17. Дисбаланс в системе «цитокиновая сеть – регуляторно-транспортные белки» при различных видах бесплодия в программах экстракорпорального оплодотворения / В. Н. Зорина, Р. М. Зорина, В. В. Лихачева [и др.] // *Медицинская иммунология*. – 2018. – № 20(2). – С. 203–214.

18. Доброкачественные новообразования яичников. Клинические рекомендации. — Текст: электронный // Медицинская платформа для врачей «МедЭлемент» : сайт. — 2025. — URL: <https://diseases.medelement.com/disease/доброкачественные-новообразования-яичников-кр-рф-2025/19078> (дата обращения: 24.01.2026).

19. Женское бесплодие: клинические рекомендации. – Текст: электронный // Министерство здравоохранения Московской области : сайт. – 2024. – URL: <https://mz.mosreg.ru/dokumenty/informaciya/klinicheskie-rekomendacii/02-08-2021-11-12-30-zhenskoe-besplodie> (дата обращения: 16.03.2025).

20. Ибрагимова, У. Д. Овариальный резерв и методы хирургического гемостаза при доброкачественных опухолях яичников / У. Д. Ибрагимова, И. Ф. Козаченко, Л. В. Адамян // *Акушерство и гинекология*. – 2025. – Т. 8. – С. 150–158. – DOI 10.18565/aig.2025.175.

21. Изменение факторов роста при синдроме поликистозных яичников / Е. А. Васюкова, Е. К. Зайкова, О. В. Калинина [и др.] // *Трансляционная медицина*. – 2023. – Т. 10, № 2. – С. 77–87. – DOI 10.18705/2311-44952023-10-2-77-87.

22. Инсулиноподобные факторы роста в патогенезе и прогнозе рака яичников / Н. В. Бочкарева, И. В. Кондакова, Л. А. Коломиец, А. Б. Мунтян // *Сибирский онкологический журнал*. – 2011. – № 3. – С. 74–81.

23. Кадрев, А. В. Пункция кистозных образований яичников и малого таза под ультразвуковым контролем / А. В. Кадрев, И. А. Озерская, В. В. Митьков // *Ультразвуковая и функциональная диагностика*. – 2006. – № 6. – С. 28.

24. Касян, В. Н. Ведение пациенток с функциональными кистами яичников / В. Н. Касян, П. А. Солтыс, В. С. Москвичёва // StatusPraesens. Гинекология, акушерство, бесплодный брак. – 2021. – № 4 (79). – С. 73–76.

25. Кисты яичников в программах ЭКО и ПЭ в протоколах с АГ-РГ / Е. Б. Рудакова, Т. В. Стрижова, О. Б. Трубникова, Л. Ю. Замаховская // Репродуктивная медицина. – 2014. – № 3–4. – С. 11–13.

26. Клинические рекомендации ESHRE: овариальная стимуляция в программах ЭКО и ИКСИ (перевод на русский под ред. проф. В. С. Корсака) / Э. Бош, С. Броер, Г. Гризингер [и др.] // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2021. – Т. 9, № 2 (32). – С. 34–51.

27. Клинические рекомендации по мужскому бесплодию: дискуссионные вопросы и необходимость достижения междисциплинарного консенсуса / И. А. Корнеев, О. И. Аполихин, А. Ю. Бабенко [и др.] // Урология. – 2024. – №. 1. – С. 143–152. – DOI 10.18565/urology.2024.1.143-152.

28. Корбут, И. А. Кисты яичника в раннем репродуктивном возрасте — лечить нельзя оперировать? / И. А. Корбут, Е. А. Малашенко, Е. Л. Мохорева // Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием «Актуальные проблемы медицины», Гомель, 11 нояб. 2021 г.: сб. науч. ст. – Гомель: ГомГМУ, 2021. – В 3 т. – Т. 3. – С. 165–167.

29. Коротких, И. Н. Роль трансвагинальной пункции под контролем эхографии в лечении ретенционных образований яичников у женщин репродуктивного возраста / И. Н. Коротких, М. В. Эктова // Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. – 2011. – № 45. – С. 27–37. – DOI 10.18499/1990-472X-2011-0-45-27-37.

30. Лаврухина, М. А. Определение тактики лечения бесплодия у пациенток с эндометриоидными кистами яичников / М. А. Лаврухина // Акушерство и гинекология. – 2022. – № 5. – С. 23–29. – DOI 10.18565/aig.2022.5.23-29.

31. Макаренко, Т. А. Стратегии консервативного лечения эндометриоидных кист яичников / Т. А. Макаренко, Д. Е. Галкина, Е. А. Борисова // Гинекология. – 2023. – Т. 25, № 1. – С. 4–10.

32. Матевосян, А. А. Современные аспекты реализации программы ЭКО и ПЭ у женщин с доброкачественными опухолями яичников / А. А. Матевосян // Вестник хирургии Армении им. Г. С. Тамазяна. – 2010. – Т. 2. – С. 38–42.

33. Матейкович, Е. А. Доброкачественные опухоли и опухолеподобные поражения яичников: структура, методы диагностики, тактика оказания медицинской помощи / Е. А. Матейкович, Т. П. Шевлюкова, А. Л. Чернова // Медицинская наука и образование Урала. – 2021. – Т. 22, № 1. – С. 100–104.

34. Можейко, Л. Ф. Синдром поликистозных яичников: современный взгляд на проблему (обзор литературы) / Л. Ф. Можейко, А. А. Потоцкая // Вестник Кыргызской государственной медицинской академии им. И. К. Ахунбаева. – 2022. – Т. 6. – С. 47–52.

35. Можейко, Л. Ф. Этиопатогенез, диагностика и лечение синдрома поликистозных яичников в подростковом возрасте / Л. Ф. Можейко // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2023. – Т. 13, № 4. – С. 321–330.

36. Молекулярно-биологические основы внутрияичникового фолликулогенеза, созревания и рекрутинга фолликулов / Ю. В. Соколова, Я. О. Мартиросян, Т. А. Назаренко [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2022. – № 1. – DOI 10.18565/aig.2022.01.22-30.

37. Мужской фактор бесплодия в аспекте невынашивания беременности / М. Н. Коршунов, Е. С. Коршунова, Ю. В. Кастрикин, С. П. Даренков // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2021. – № 3. – С. 78–82.

38. Мухитдинова, Х. С. Клиническое факторы строение сперматозоидов при мужского бесплодия / Х. С. Мухитдинова, Д. О. Темирова // Modern education and development. – 2025. – Т. 19, № 2. – С. 416–426.

39. Овариальный резерв при различных морфотипах доброкачественных опухолей яичников у пациенток с бесплодием / А. С. Гаспаров, С. Л. Вартамян, М. Ф. Дорфман [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2022. – № 21(6). – С. 59–64. – DOI 10.20953/1726-1678-2022-6-59-64.

40. Оценка ооцитов и эмбрионов в лаборатории ВРТ: методические рекомендации. – Текст: электронный // Российская ассоциация репродукции

человека : сайт. – 2021. – URL:
https://www.rahr.ru/pech_mat_metod.php?ysclid=mb4hiaa9ve485056419 (дата
обращения: 13.11.2025).

41. Оценка факторов риска и прогнозирование преждевременной недостаточности яичников / Л. В. Ткаченко, И. А. Гриценко, К. Ю. Тихаева [и др.] // *Акушерство, гинекология и репродукция*. – 2022. – Т. 16, № 1. – С. 73–80.

42. Оценка эмбриологических исходов программ экстракорпорального оплодотворения у пациенток различных возрастных групп в зависимости от уровня антимюллера гормона / Т. А. Назаренко, Н. А. Хачатрян, Е. И. Крылова, А. М. Бирюкова // *Акушерство и гинекология*. – 2025. – N 6. – С. 124-130

43. Патент №2282249. Российская Федерация, МПК G09B 23/28 (2006.01). Способ моделирования поликистозных яичников с преобладанием фолликулярных кист: № 2005110808: заявл. 13.04.2005 : опубл. 20.08.2006 / Логвинов С. В. [и др.].

44. Первичная и вторичная профилактика функциональных кист яичников среди женского населения техногенного региона / С. Н. Тутов, А. В. Чурилов, Д. В. Подоляка, О. В. Носкова // *Вестник гигиены и эпидемиологии*. – 2024. – Т. 28, № 1. – С. 30–34.

45. Повторные неудачи имплантации. Патогенез иммунологических нарушений в эндометрии / Л. М. Михалёва, М. Р. Оразов, Е. С. Силантьева [и др.] // *Доктор.Ру*. – 2022. – Т. 21, № 1. – С. 21–26.

46. Предикторы неудач ЭКО при имплантационной несостоятельности эндометрия / В. Е. Радзинский, М. Р. Оразов, Л. М. Михалева [и др.] // *Трудный пациент*. – 2021. – Т. 19, N 1. – С. 23-26. – DOI 10.24412/2074-1995-2021-1-23-26.

47. Преждевременная недостаточность яичников: клинико-иммунологическая характеристика. Новые биомаркеры в диагностике / Л. В. Адамян, И. В. Менжинская, А. А. Антонова [и др.] // *Проблемы репродукции*. – 2025. – Т. 31, N 6. – С. 23-34. – DOI 10.17116/repro20253106123.

48. Преимущества редуцированной терапии эндометриоидных кист яичников по сравнению с лапароскопической эксцизией при подготовке к программам вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) / С. В. Зотов, П. Ю.

Мотырева, В. М. Кулешов [и др.] // Медицина в Кузбассе. – 2021. – Т. 20, № 1. – С. 26–31.

49. Приказ Минздрава России от 31.07.2020 № 803н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению». – Текст: электронный // Судебные и нормативные акты РФ : сайт. – URL: <https://sudact.ru/law/prikaz-minzdrava-rossii-ot-31072020-n-803n/?ysclid=mb4hqeb5xm982787396> (дата обращения: 10.11.2023).

50. Прогнозирование изменений овариального резерва после цистэктомии при эндометриомах с помощью балльной диагностической шкалы / Е. Д. Дубинская, А. С. Гаспаров, А. А. Дутов [и др.] // Вестник РАМН. – 2022. – № 77(1). – С. 5–12. – DOI 10.15690/vramn1533.

51. Пути повышения результативности программ экстракорпорального оплодотворения у пациенток с фенотипами а и d синдрома поликистозных яичников (ino-1) / К. В. Краснопольская, Н. В. Зароченцева, М. Р. Оразов [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2025. – N 2. – С. 100-109. – DOI 10.18565/aig.2025.34.

52. Регистр ВРТ: отчет за 2023 год. – Текст: электронный // Российская ассоциация репродукции человека : сайт. – 2024. – URL: https://rahr.ru/registr_otchet.php (дата обращения: 17.02.2025).

53. Руководство по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов [утверждено Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26 ноября 2019 г. № 202]. – Текст: электронный // Судебные и нормативные акты РФ : сайт. – URL: sudact.ru/law/reshenie-kollegii-evraziiskoi-ekonomicheskoi-komissii-ot-26112019_4/rukovodstvo-po-doklinicheskim-issledovaniyam-bezopasnosti (дата обращения: 25.01.2023).

54. Русанова, Н. Е. Актуальные тенденции применения программ вспомогательной репродукции в демографической политике России / Н. Е. Русанова // Демографические факторы адаптации населения к глобальным социально-экономическим вызовам: сборник научных статей. – Екатеринбург: Рос.

акад. наук, Урал. отд-ние, Ин-т экономики, 2023. – С. 616–622. – DOI 10.17059/udf-2023-6-3.

55. Серов, В. Н. Доброкачественные опухоли и опухолевидные образования яичников / В. Н. Серов, Л. И. Кудрявцева. – Москва: Триада-Х, 1999. – 152 с. – С. 73.

56. Синдром гиперстимуляции яичников. Клинические рекомендации. – Текст: электронный // Медицинская платформа для врачей «МедЭлемент» : сайт. – 2025. – URL: <https://diseases.medelement.com/disease/синдром-гиперстимуляции-яичников-кп-рф-2025/18969> (дата обращения: 24.01.2026).

57. Современные представления о патогенезе синдрома поликистозных яичников (обзор литературы) / О. В. Панарина, М. А. Рашидова, Л. В. Беленькая [и др.] // Acta biomedica scientifica. – 2017. – Т. 2, № 4 (116). – С. 9–14.

58. Современные представления об интраорганной регуляции фолликулогенеза в яичнике / В. Г. Зенкина, О. А. Солодкова, О. Н. Погукай, В. С. Каредина // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 2. – С. 41–41.

59. Современный взгляд на фолликулогенез и методы его активации / Л. В. Адамян, Е. В. Сибирская, Л. Г. Пивазян [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2025. – Т. 21, N 20. – С. 84-92. – DOI 10.33978/2307-3586-2025-21-20-84-92.

60. Сравнительная характеристика влияния хирургических методов лечения при цистэктомии на фолликулярный резерв яичников / Н. И. Никитин, В. Ф. Аллаярова, И. В. Сахаутдинова, Н. А. Ишмуратов // Мать и дитя в Кузбассе. – 2022. – № 4 (91). – С. 61–64.

61. Степанова, Ю. В. Клинико-морфологические особенности различных видов доброкачественных новообразований яичников / Ю. В. Степанова, Е. П. Шатунов // Материалы XXXVII международного конгресса с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний». – Москва: ООО «МЕДИ Ивент», 2024. – С. 118–119.

62. Технологии регенеративной медицины как метод лечения мужского бесплодия: обзор литературы / М. В. Епифанова, А. А. Епифанов, А. А. Костин, К.

А. Кириллова // Андрология и генитальная хирургия. – 2024. – Т. 25, № 2. – С. 17–30.

63. Уланова, И. П. К вопросу об учете поверхности тела экспериментальных животных при токсикологическом исследовании / И. П. Уланова, К. К. Сидоров, А. И. Халепо // Токсикология новых промышленных химических веществ / под ред. А. А. Летавета и И. В. Саноцкого). – Ленинград: Медицина, 1968. – Вып. 10. – С. 18–25.

64. Хакимова, Г. А. Прогнозирования кист яичника в аспекте морфологии / Г. А. Хакимова, Л. А. Каратаева // Science and innovation. – 2024. – Т. 3, № 44. – С. 204–208.

65. Шаповал, О. С. Особенности реализации репродуктивной функции у женщин с доброкачественными опухолеподобными образованиями яичников / О. С. Шаповал, Г. И. Резниченко // Здоровье женщины. – 2015. – № 2. – С. 104–107.

66. Шукуров, Ф. И. Роль адъювантной гормональной терапии в восстановлении репродуктивной функции у женщин после эндохирургического лечения фолликулярных кист яичников / Ф. И. Шукуров, Ф. М. Аюпова // Гинекология. – 2021. – Т. 23, № 1. – С. 68–72.

67. Экспериментальное моделирование психоэмоционального стресса и преждевременной недостаточности яичников (обзор литературы и собственные данные) / Л. В. Адамян, А. В. Алясова, Л. Г. Пивазян [и др.] // Проблемы репродукции. – 2026. – Т. 32, N 1. – С. 23-43. – DOI 10.17116/repro20263201123.

68. Экспрессия сосудисто-эндотелиального фактора роста при коррекции экспериментальных функциональных кист яичников / Д. А. Волченков, О. А. Тихоновская, С. В. Логвинов, Л. Р. Мустафина // Морфология. – 2019. – Т. 156, № 6. – С. 88–89. – DOI 10.17816/morph.101929.

69. Экспрессия факторов паракринной регуляции в яичниках крыс при коррекции экспериментальных функциональных кист яичников / Д. А. Волченков, О. А. Тихоновская, С. В. Логвинов, Л. Р. Мустафина // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2019. – № 1. – С. 67–77. – DOI 10.31549/2542-1174-2019-1-67-77.

70. A new more detailed stratification of low responders to ovarian stimulation: from a poor ovarian response to a low prognosis concept / C. Alviggi, C. Y. Andersen, K. Buehler [et al.] // *Fertility and sterility*. – 2016. – Vol. 105, N 6. – P. 1452–1453. – DOI 10.1016/j.fertnstert.2016.02.005.

71. A novel “delayed start” protocol with gonadotropin-releasing hormone antagonist improves outcomes in poor responders / H. Cakmak, N. Tran, M. Cedars [et al.] // *Fertility and sterility*. – 2014. – Vol. 101, N 5. – P. 1308–1314. – DOI 10.1016/j.fertnstert.2014.01.050.

72. A review on inflammation and angiogenesis as key mechanisms involved in the pathogenesis of bovine cystic ovarian disease / A. F. Stassi, P. U. Díaz, F. B. Gasser [et al.] // *Theriogenology*. – 2022. – Vol. 186. – P. 70–85. – DOI 10.1016/j.theriogenology.2022.04.002.

73. A systematic review of the validated monogenic causes of human male infertility: 2020 update and a discussion of emerging gene-disease relationships / B. J. Houston, A. Riera-Escamilla, M. J. Wyrwoll [et al.] // *Human reproduction update*. – 2022. – Vol. 28, N 1. – P. 15–29. – DOI 10.1093/humupd/dmab030.

74. Administration of a gonadotropin-releasing hormone antagonist during the 3 days before the initiation of the in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatment cycle: impact on ovarian stimulation. A pilot study / C. Blockeel, A. Riva, M. De Vos [et al.] // *Fertility and sterility*. – 2011. – Vol. 95, N 5. – P. 1714–1719. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2011.01.028.

75. AMH highly correlates with cumulative live birth rate in women with diminished ovarian reserve independent of age / R. Tal, D. Seifer, R. Tal [et al.] // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. – 2021. – Vol. 106, N 9. – P. 2754–2766. – DOI 10.1210/clinem/dgab168.

76. An individualized recommendation for controlled ovary stimulation protocol in women who received the GnRH agonist long-acting protocol or the GnRH antagonist protocol: a retrospective cohort study / M.-X. Chen, X.-Q. Meng, Z.-H. Zhong [et al.] // *Frontiers in endocrinology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 899000. – DOI 10.3389/fendo.2022.899000.

77. Androgen signalling in the ovaries and endometrium / A. C. Lissaman, J. E. Girling, L. M. Cree [et al.] // *Molecular human reproduction*. – 2023. – Vol. 29(6). – P. gaad017. – DOI 10.1093/molehr/gaad017.

78. Androgens and ovarian function: translation from basic discovery research to clinical impact / K. A. Walters, V. Rodriguez Paris, A. Aflatounian, D. J. Handelsman // *Journal of Endocrinology*. – 2019. – Vol. 242, N 2. – P. R23–R50. – DOI 10.1530/JOE-19-0096.

79. Assidi, M. Infertility in men: advances towards a comprehensive and integrative strategy for precision theranostics / M. Assidi // *Cells*. – 2022. – Vol. 11, N 10. – P. 1711. – DOI 10.3390/cells11101711.

80. Association of serum anti-Müllerian hormone and other factors with cumulative live birth rate following IVF / K. L. Hu, F. T. Liu, H. Xu [et al.] // *Reproductive biomedicine online*. – 2020. – Vol. 40, N 5. – P. 675–683. – DOI 10.1016/j.rbmo.2020.01.024.

81. Baseline ovarian cysts do not affect clinical response to controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization / A. S. Penzias, E. E. Jones, D. B. Seifer [et al.] // *Fertility and sterility*. – 1992. – Vol. 57, N 5. – P. 1017–1021. – DOI 10.1016/s0015-0282(16)55019-5.

82. Biljan, M. M. Effects of functional ovarian cysts detected on the 7th day of gonadotropin-releasing hormone analog administration on the outcome of IVF treatment / M. M. Biljan, L. Lapensée, N. G. Mahutte // *Fertility and sterility*. – 2000. – Vol. 74, N 5. – P. 941–945. – DOI 10.1016/s0015-0282(00)01555-7.

83. Cetrorelix suppresses the dominant follicle and synchronizes follicular waves and ovulation in cattle / D. Farmer, C. Leonardi, G. Adams [et al.] // *Biology of reproduction*. – 2026. – Vol. 114, N 3. – P. 966–980. – DOI 10.1093/biolre/ioaf276

84. Chafitz, O. B. Management of Simple Ovarian Cysts / O. B. Chafitz, A. Chemerinski, P. McGovern // *Topics in Obstetrics & Gynecology*. – 2023. – Vol. 43, № 9. – P. 1–5.

85. Changes in anti-müllerian hormone after ultrasound guided aspiration and ethanol sclerotic therapy of ovarian cyst / L. Huang, M. Y. Chang, C. S. Shiau, T. T.

Hsieh // *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2021. – Vol. 60, N 3. – P. 509–512. – DOI 10.1016/j.tjog.2021.03.021.

86. Characterization of a novel IGFBP-2 transcript in the ovarian granulosa cells of chicken follicles: mRNA expression, function and effect of reproductive hormones and IGF1 / L. Hu, D. Li, Q. Wei [et al.] // *Poultry Science*. – 2024. – Vol. 103, N 12. – P. 104501. – DOI 10.1016/j.psj.2024.104501.

87. Charan, J. How to calculate sample size in animal studies? / J. Charan, N. D. Kantharia // *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. – 2013. – Vol. 4(4). – P. 303–306. – DOI 10.4103/0976-500X.119726.

88. Cheng, Y. Ovarian cysts / Y. Cheng // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2021. – Vol. 225, N 5. – P. B23–B25. – DOI 10.1016/j.ajog.2021.06.042.

89. Combination treatment of recombinant growth differentiation factor-9 and Cetrorelix improves gestational origin of the polycystic ovarian syndrome in female rats / S. S. Patnaik, R. Kotipalli, M. K. Jerald, K. Muralidharan // *Life Sciences*. – 2023. – Vol. 321. – P. 121638. – DOI 10.1016/j.lfs.2023.121638.

90. Comparison of pregnancy outcomes and safety between cetrorelix and ganirelix in IVF/ICSI antagonist protocols: a retrospective cohort study / X. Peng, X. Lv, P. Li [et al.] // *Frontiers in Reproductive Health*. – 2025. – Vol. 7. – P. 1492441. – DOI 10.3389/frph.2025.1492441.

91. Convissar, S. Insulin-like growth factor 1 enhances follicle-stimulating hormone-induced phosphorylation of GATA4 in rat granulosa cells / S. Convissar, J. Bennett-Toomey, C. Stocco // *Molecular and cellular endocrinology*. – 2023. – Vol. 559. – P. 111807. – DOI 10.1016/j.mce.2022.111807.

92. Cox, C. M. Infertility prevalence and the methods of estimation from 1990 to 2021: a systematic review and meta-analysis / C. M. Cox, M. E. Thoma, N. Tchangalova // *Human Reproduction Open*. – 2022. – Vol. 2022, N 4. – P. hoac051. – DOI 10.1093/hropen/hoac051.

93. Cumulative live birth rates after one or more complete cycles of IVF: a population-based study of linked cycle data from 178 898 women / D. J. McLernon, A.

Maheshwari, A. J. Lee, S. Bhattacharya // *Human reproduction*. – 2016. – Vol. 31, N 3. – P. 572–581. – DOI 10.1093/humrep/dev336.

94. Cyst aspiration or GnRH antagonist administration for ovarian cysts detected at the start of fresh in vitro fertilization cycles / N. Pereira, S. Amrane, E. Hobeika [et al.] // *Gynecological Endocrinology*. – 2016. – Vol. 32, N 7. – P. 562–565. – DOI 10.3109/09513590.2016.1139565.

95. Delayed start versus conventional GnRH antagonist protocol in poor responders pretreated with estradiol in luteal phase: a randomized controlled trial / A. M. Maged, A. M. Nada, F. Abohamila [et al.] // *Reproductive Sciences*. – 2015. – Vol. 22, N 12. – P. 1627–1631. – DOI 10.1177/1933719115590666.

96. Delta-9-tetrahydrocannabinol increases vascular endothelial growth factor (VEGF) secretion through a cyclooxygenase-dependent mechanism in rat granulosa cells / A. A. Martínez-Peña, J. J. Petrik, D. B. Hardy, A. C. Holloway // *Reproductive Toxicology*. – 2022. – Vol. 111. – P. 59–67. – DOI 10.1016/j.reprotox.2022.05.004.

97. Effect of a baseline ovarian cyst on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer / S. Segal, J. L. Shifren, K. B. Isaacson [et al.] // *Fertility and sterility*. – 1999. – Vol. 71, N 2. – P. 274–277. – DOI 10.1016/s0015-0282(98)00449-x.

98. Effect of laparoscopic cystectomy on ovarian reserve in patients with ovarian cyst / G. Mansouri, M. Safinataj, A. Shahesmaeili [et al.] // *Frontiers in Endocrinology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 964229. – DOI 10.3389/fendo.2022.964229.

99. Effect of luteinizing hormone-releasing hormone analogs on the rat ovarian follicle development / T. Yano, N. Yano, H. Matsumi [et al.] // *Hormone Research*. – 1997. – Vol. 48. – P. 35–41. – DOI 10.1159/000191298.

100. Effect of ovarian cysts detected on the beginning day of ovulation induction to the success rates in ART cycles / R. Levi, H. T. Ozçakir, S. Adakan [et al.] // *Journal of obstetrics and gynaecology research*. – 2003. – Vol. 29, N 4. – P. 257–261. – DOI 10.1046/j.1341-8076.2003.00110.x.

101. Effects of IGF-1 on the three-dimensional culture of ovarian preantral follicles and superovulation rates in mice / S. Dai, H. Zhang, F. Yang [et al.] // *Biology*. – 2022. – Vol. 11, N 6. – P. 833. – DOI 10.3390/biology11060833.

102. Effects of oral contraceptive for different responder women before GnRH antagonists: a systematic review and meta-analysis / J. Li, Y. Sun, S. Mo [et al.] // *Gynecological Endocrinology*. – 2021. – Vol. 37, N 11. – P. 977–986. – DOI 10.1080/09513590.2021.1918664.

103. Elevated prenatal anti-Müllerian hormone reprograms the fetus and induces polycystic ovary syndrome in adulthood / B. Tata, N. E. H. Mimouni, A. L. Barbotin [et al.] // *Nature medicine*. – 2018. – Vol. 24, N 6. – P. 834–846. – DOI 10.1038/s41591-018-0035-5.

104. Endocrine disrupting chemicals in polycystic ovary syndrome: the relevant role of the theca and granulosa cells in the pathogenesis of the ovarian dysfunction / M. Jozkowiak, H. Piotrowska-Kempisty, D. Kobylarek [et al.] // *Cells*. – 2022. – Vol. 12, N 1. – P. 174. – DOI 10.3390/cells12010174.

105. Endometriosis-associated infertility: surgery or IVF? / L. Muzii, C. DI Tucci, G. Galati [et al.] // *Minerva Obstetrics and Gynecology*. – 2021. – Vol. 73, N 2. – P. 226–232. – DOI 10.23736/S2724-606X.20.04765-6.

106. ER β regulation of gonadotropin responses during folliculogenesis / E. B. Lee, V. P. Chakravarthi, M. W. Wolfe, M. A. K. Rumi // *International journal of molecular sciences*. – 2021. – Vol. 22, N 19. – P. 10348. – DOI 10.3390/ijms221910348.

107. ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation. ESHRE guideline: ovarian stimulation for IVF/ICSI / Ovarian Stimulation TEGGO, E. Bosch, S. Broer [et al.] // *Human reproduction open*. – 2020. – Vol. 2020, N 2. – P. hoaa009. – DOI 10.1093/hropen/hoaa067.

108. Farkas, A. H. Structural gynecological disease: fibroids, endometriosis, ovarian cysts / A. H. Farkas, H. Abumusa, B. Rossiter // *Medical Clinics*. – 2023. – Vol. 107, N 2. – P. 317–328. – DOI 10.1016/j.mcna.2022.10.010.

109. Fauser, B. C. Human fertility at a crossroad / B. C. Fauser, L. Gianaroli, E. Mocanu // *Reproductive biomedicine online*. – 2025. – Vol. 50, N 4. – P. 104787. – DOI 10.1016/j.rbmo.2024.104787.

110. Financial costs of assisted reproductive technology for patients in low-and middle-income countries: a systematic review / P. Njagi, W. Groot, J. Arsenijevic [et al.]

// Human reproduction open. – 2023. – Vol. 2023, N 2. – P. hoad007. – DOI 10.1093/hropen/hoad007.

111. Findeklee, S. Cetrorelix in reproductive medicine / S. Findeklee, K. Diedrich // F&S Reports. – 2023. – Vol. 4, N 2. – P. 62–64. – DOI 10.1016/j.xfre.2022.11.012.

112. Fine needle aspiration cytology in ovarian lesions: an institutional experience of 584 cases / N. Gupta, A. Rajwanshi, L. K. Dhaliwal [et al.] // Cytopathology. – 2012. – Vol. 23, N 5. – P. 300–307. – DOI 10.1111/j.1365-2303.2011.00896.x.

113. Fine Needle Aspiration Cytology of Ovarian Tumors With Histopathological Correlation: A Revisit to Borderline Category / Z. Hasan, M. Singh, J. Singh [et al.] // Journal of Cytology. – 2024. – Vol. 41, N 4. – P. 229–235. – DOI 10.4103/joc.joc_196_23.

114. Fiorentino, G. Biomechanical forces and signals operating in the ovary during folliculogenesis and their dysregulation: implications for fertility / G. Fiorentino, D. Cimadomo, F. Innocenti // Human reproduction update. – 2023. – Vol. 29, N 1. – P. 1–23. – DOI 10.1093/humupd/dmac031.

115. Firouzabadi, R. D. The effect of ovarian cyst aspiration on IVF treatment with GnRH / R. D. Firouzabadi, L. Sekhavat, M. Javedani // Archives of gynecology and obstetrics. – 2010. – Vol. 281. – P. 545–549. – DOI 10.1007/s00404-009-1195-9.

116. Fiszbajn, G. E. Conservative management versus aspiration of functional ovarian cysts before ovarian stimulation for assisted reproduction / G. E. Fiszbajn, R. G. Lipowicz, L. Elberger // Journal of assisted reproduction and genetics. – 2000. – Vol. 17. – P. 260–263. – DOI 10.1023/a:1009406315729.

117. Follicle cysts after menstrual versus midluteal administration of gonadotropin-releasing hormone analog in in vitro fertilization / A. Herman, R. Ron-El, A. Golan [et al.] // Fertility and sterility. – 1990. – Vol. 53, N 5. – P. 854–858. – DOI 10.1016/s0015-0282(16)53521-3.

118. Follicle-stimulating hormone-secreting pituitary adenoma manifesting as recurrent ovarian cysts in a young woman-latent risk of unidentified ovarian hyperstimulation: a case report / T. Kawaguchi, Y. Ogawa, K. Ito [et al.] // BMC Research Notes. – 2013. – Vol. 6. – P. 1–5. – DOI 10.1186/1756-0500-6-408.

119. Follicular GH and IGF1 Levels Are Associated With Oocyte Cohort Quality: A Pilot Study / F. Scheffler, A. Vandecandelaere, M. Soyez [et al.] // *Frontiers in endocrinology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 793621. – DOI 10.3389/fendo.2021.793621.

120. Functional ovarian cysts in artificial frozen-thawed embryo transfer cycles with depot gonadotropin-releasing hormone agonist / H. Ji, Y. Su, M. Zhang [et al.] // *Frontiers in Endocrinology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 828993. – DOI 10.3389/fendo.2022.828993.

121. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology / H. G. Al-Inany, M. A. Youssef, R. O. Ayeleke [et al.] // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2016. – N 4. – DOI 10.1002/14651858.CD001750.pub4.

122. Hayes, E. Molecular crosstalk between insulin-like growth factors and follicle-stimulating hormone in the regulation of granulosa cell function / E. Hayes, N. Winston, C. Stocco // *Reproductive medicine and biology*. – 2024. – Vol. 23. – P. e12575. – DOI 10.1002/rmb2.12575.

123. How common is real repeated implantation failure? An indirect estimate of the prevalence / A. Busnelli, M. Reschini, L. Cardellicchio [et al.] // *Reproductive Biomedicine Online*. – 2020. – Vol. 40, N 1. – P. 91–97. – DOI 10.1016/j.rbmo.2019.10.014.

124. Hypothyroidism presenting as ovarian cysts-A case series / A. Tresa, P. Rema, S. Suchetha [et al.] // *Indian journal of surgical oncology*. – 2021. – P. 1–5. – DOI 10.1007/s13193-020-01263-8.

125. Immunohistochemical localization of androgen receptor in the human ovary throughout the menstrual cycle in relation to oestrogen and progesterone receptor expression / K. Horie, K. Takakura, H. Fujiwara [et al.] // *Human reproduction*. – 1992. – Vol. 7, N 2. – P. 184–190. – DOI 10.1093/oxfordjournals.humrep.a137614.

126. Impact of growth hormone-releasing hormone antagonist on decidual stromal cell growth and apoptosis in vitro / H. M. Wu, L. H. Chen, A. V. Schally [et al.] // *Biology of reproduction*. – 2022. – Vol. 106, N 1. – P. 145–154. – DOI 10.1093/biolre/ioab214.

127. Impact of ovarian cysts observed on the initial day of ovulation induction on the success rates in IVF cycles / B. Ertan, E. Ozgozen, E. Dogan, C. Posacı // *Reproductive BioMedicine Online*. – 2023. — Vol. 47, Suppl.

128. Improvement and effect of stress responses and ovarian reserve function in patients with ovarian cysts after laparoscopic surgery / J. Xu, H. Shao, Y. Yang [et al.] // *Journal of International Medical Research*. – 2019. – Vol. 47, N 7. – P. 3212–3222. – DOI 10.1177/0300060519851333.

129. Improvement of the developmental capacity of oocytes from prepubertal cattle by intraovarian insulin-like growth factor-I application / A. Oropeza, C. Wrenzycki, D. Herrmann [et al.] // *Biology of reproduction*. – 2004. – Vol. 70, N 6. – P. 1634–1643. – DOI 10.1095/biolreprod.103.025494.

130. Influence of ovarian cysts on ovarian reserve and fertility: A case-control study / H. Bareghamyan, A. Chopikyan, M. Petrosyan [et al.] // *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. – 2024. – Vol. 165, N 2. – P. 424–430. – DOI 10.1002/ijgo.15284.

131. Insulin-like growth factor-1 regulates follicle selection of hens by promoting proliferation and inhibiting apoptosis of granulosa cells in prehierarchical follicles in vitro / M. Zhu, D. Wang, K. Zou [et al.] // *Animal Reproduction Science*. – 2022. – Vol. 247. – P. 107091. – DOI 10.1016/j.anireprosci.2022.107091.

132. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: assisted reproductive technology, 2014 / G. M. Chambers, S. Dyer, F. Zegers-Hochschild [et al.] // *Human Reproduction*. – 2021. – Vol. 36, N 11. – P. 2921–2934. – DOI 10.1093/humrep/deab198.

133. Jain, D. Huge bilateral ovarian cysts with concurrent hypothyroidism: a case report / D. Jain, S. Jain // *Cureus*. – 2024. – Vol. 16, N 4. – DOI 10.7759/cureus.58837.

134. Jaroslava, D. Cytology of Ovarian cysts / D. Jaroslava // *Ceskoslovenska Patologie*. – 2019. – Vol. 55, N 2. – P. 107–111.

135. Joseph, S. Male Infertility Knowledgebase: Decoding the genetic and disease landscape / S. Joseph, S. D. Mahale // *Database*. – 2021. – Vol. 2021. – P. baab049. – DOI 10.1093/database/baab049.

136. Kanda, A. Effect of Cetorelix administration on ovarian stimulation in aged mice / A. Kanda, A. Nobukiyo, Y. Sotomaru // *Experimental Animals*. – 2021. – Vol. 70, N 1. – P. 31–36. – DOI 10.1538/expanim.20-0058.

137. Kumbak, B. Management of prestimulation ovarian cysts during assisted reproductive treatments: impact of aspiration on the outcome / B. Kumbak, S. Kahraman // Archives of gynecology and obstetrics. – 2009. – Vol. 279. – P. 875–880. – DOI 10.1007/s00404-008-0837-7.

138. Laparoscopic guided minilaparotomy: a modified technique for management of benign large ovarian cysts / M. F. Shaltout, A. M. Maged, R. Abdella [et al.] // BMC Women's Health. – 2022. – Vol. 22, N 1. – P. 269. – DOI 10.1186/s12905-022-01853-4.

139. Laparoscopic surgeries for uterine fibroids and ovarian cysts reduce ovarian reserve via age-and surgical type-manner / X. Shi, S. Chen, Y. Yang [et al.] // Gynecological Endocrinology. – 2022. – Vol. 38, N 12. – P. 1068–1072. – DOI 10.1080/09513590.2022.2128104.

140. Lee, J. Effect of surgical findings on prediction of postoperative ovarian reserve in patients with ovarian endometrioma / J. Lee, J. Kang, H. J. Lee // International Journal of Women's Health. – 2022. – N 14. – P. 1127–1136. – DOI 10.2147/IJWH.S373135.

141. LeRoith, D. Insulin-like Growth Factors: Ligands, Binding Proteins, and Receptors / D. LeRoith, J. M. P. Holly, B. E. Forbes // Mol. Metab. – 2021. – Vol. 52. – P. 101245. – DOI 10.1016/j.molmet.2021.101245.

142. Leukaemia inhibitory factor modulates the differentiation of granulosa cells during sheep in vitro preantral to antral follicle development and improves oocyte meiotic competence / V. Cadoret, P. Jarrier-Gaillard, P. Papillier [et al.] // Molecular Human Reproduction. – 2021. – Vol. 27, N 9. – P. gaab051. – DOI 10.1093/molehr/gaab051.

143. Li, H. W. R. Role of baseline antral follicle count and anti-Mullerian hormone in prediction of cumulative live birth in the first in vitro fertilisation cycle: a retrospective cohort analysis / H. W. R. Li, V. C. Lee, E. Y. Lau // PloS one. – 2013. – Vol. 8, N 4. – P. e61095. – DOI 10.1371/journal.pone.0061095.

144. Lim, W. H. Trends and outcomes of ruptured ovarian cysts / W. H. Lim, N. Woods, V. P. Lamaro // Postgraduate medical journal. – 2022. – Vol. 98, N 1161. – P. e9. – DOI 10.1136/postgradmedj-2020-138833.

145. Lu, Y. Clinical efficacy of ultrasound-guided interventional therapy in patients with benign ovarian cysts: a meta-analysis / Y. Lu, Z. He, Y. He // Journal of Obstetrics

and Gynaecology. – 2023. – Vol. 43, N 1. – P. 2186779. – DOI 10.1080/01443615.2023.2186779.

146. Mazerbourg, S. Insulin-like growth factor binding proteins and IGFBP proteases: a dynamic system regulating the ovarian folliculogenesis / S. Mazerbourg, P. Monget // *Frontiers in endocrinology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 134. – DOI 10.3389/fendo.2018.00134.

147. McDonnell, R. Ovarian cyst aspiration prior to in vitro fertilization treatment for subfertility / R. McDonnell, J. Marjoribanks, R. J. Hart // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2014. – N 12. – DOI 10.1002/14651858.CD005999.pub2.

148. McNamara, M. C. How long should we follow simple ovarian cysts with pelvic ultrasonography? / M. C. McNamara, R. Brook // *Cleveland Clinic journal of medicine*. – 2018. – Vol. 85(10). – P. 745–747. – DOI 10.3949/ccjm.85a.17116.

149. Molecular crosstalk between insulin-like growth factors and follicle-stimulating hormone i/ Y. Han, Y. Chen, F. Yang [et al.] // *Theriogenology*. – 2021. – Vol. 169. – P. 56–64. – DOI 10.1016/j.theriogenology.2021.04.011.

150. Minimum number of mature oocytes needed to obtain at least one euploid blastocyst according to female age in in vitro fertilization treatment cycles / C. Rodríguez-Varela, J. M. Mascarós, E. Labarta [et al.] // *Fertility and sterility*. – 2024. – Vol. 122(4). – P. 658–666. – DOI 10.1016/j.fertnstert.2024.06.002.

151. Mobeen, S. Ovarian cyst / S. Mobeen, R. Apostol. – Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2021.

152. Mohammadnejad, D. Chemotherapy-Related Structural Changes in Cancer: Effect of GnRH Antagonist in the Ovarian Follicles / D. Mohammadnejad, F. Daghigh, A. Hamzehzadeh // *International Journal of Women's Health & Reproduction Sciences*. – 2022. – Vol. 10, N 4. – DOI 10.15296/ijwhr.2022.36.

153. Neves, A. R. Androgens and diminished ovarian reserve: the long road from basic science to clinical implementation. A comprehensive and systematic review with meta-analysis / A. R. Neves, P. Montoya-Botero, N. P. Polyzos // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2022. – Vol. 227, N 3. – P. 401–413.e18. – DOI 10.1016/j.ajog.2022.03.051.

154. Noether, G. E. Sample size determination for some common nonparametric tests / G. E. Noether // *Journal of the American Statistical Association*. – 1987. – Vol. 82(398). – P. 645–647. – DOI 10.1080/01621459.1987.10478478.

155. Nwachukwu, C. U. Effect of insulin-like growth factor system on luteinising angiogenesis / C. U. Nwachukwu, R. S. Robinson, K. J. Woad // *Reproduction and Fertility*. – 2023. – Vol. 4, N 2. – DOI 10.1530/RAF-22-0057.

156. O'Neill, M. J. Transvaginal interventional procedures: aspiration, biopsy, and catheter drainage / M. J. O'Neill, E. A. Rafferty, S. I. Lee // *Radiographics*. – 2001. – Vol. 21, N 3. – P. 657–672. – DOI 10.1148/radiographics.21.3.g01ma20657.

157. One-year follow-up of ovarian reserve by three methods in women after laparoscopic cystectomy for endometrioma and benign ovarian cysts / M. Kostrzewa, J. R. Wilczyński, E. Głowacka [et al.] // *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. – 2019. – Vol. 146, N 3. – P. 350–356. – DOI 10.1002/ijgo.12884.

158. Oral contraceptive pill pretreatment in ovarian stimulation with GnRH antagonists for IVF: a systematic review and meta-analysis / G. Griesinger, C. A. Venetis, T. Marx [et al.] // *Fertility and sterility*. – 2008. – Vol. 90, N 4. – P. 1055–1063. – DOI 10.1016/j.fertnstert.2007.07.1354.

159. Oral contraceptive pill, progestogen or oestrogen pretreatment for ovarian stimulation protocols for women undergoing assisted reproductive techniques / C. Farquhar, L. Rombauts, J. A. Kremer [et al.] // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2017. – N 5. – DOI 10.1002/14651858.CD006109.pub3.

160. Oral contraceptives for functional ovarian cysts / D. A. Grimes, L. B. Jones, L. M. Lopez, K. F. Schulz // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2011. – № 9. – P. CD006134. – DOI 10.1002/14651858.CD006134.pub5.

161. Ory, H. W. Functional ovarian cysts and oral contraceptives: negative association confirmed surgically / H. W. Ory // *Jama*. – 1974. – Vol. 228, N 1. – P. 68–69.

162. Ovarian cyst aspiration and the outcome of in vitro fertilization / B. Rizk, S. L. Tan, C. Kingsland [et al.] // *Fertility and Sterility*. – 1990. – Vol. 54, N 4. – P. 661–664.

163. Ovarian cyst formation following GnRH agonist administration in IVF cycles: incidence and impact / H. S. Qublan, Z. Amarin, Y. A. Tahat [et al.] // *Human reproduction*. – 2006. – Vol. 21, N 3. – P. 640–644. – DOI 10.1093/humrep/dei371.

164. Ovarian neoplasms, functional ovarian cysts, and oral contraceptives / M. Vessey, A. Metcalfe, C. Wells [et al.] // *British Medical Journal (Clinical research ed.)*. – 1987. – Vol. 294, N 6586. – P. 1518–1520. – DOI 10.1136/bmj.294.6586.1518.

165. Ovarian reserve and IVF/ICSI outcomes after various laparoscopic approaches in infertility patients with endometriomas and suspected compromised ovarian reserve: A retrospective study / H. Yu, J. Chen, J. Wang [et al.] // *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. – 2025. – Vol. Early View. – DOI 10.1002/ijgo.70168.

166. Owj, M. Ovarian cyst formation and in vitro fertilization outcome / M. Owj, M. Ashrafi, A. R. Baghestani // *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. – 2004. – Vol. 87, N 3. – P. 258–259. – DOI 10.1016/j.ijgo.2004.08.004.

167. Personalized embryo transfer guided by endometrial receptivity analysis: a systematic review with meta-analysis / D. Glujovsky, K. Lattes, M. Miguens [et al.] // *Human Reproduction*. – 2023. – Vol. 38, N 7. – P. 1305–1317. – DOI 10.1093/humrep/dead098.

168. PGT-A: who and when? A systematic review and network meta-analysis of RCTs / M. Simopoulou, K. Sfakianoudis, E. Maziotis [et al.] // *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. – 2021. – Vol. 38, N 8. – P. 1939–1957. – DOI 10.1007/s10815-021-02227-9.

169. Pharmacogenomic of LH and its receptor: are we ready for clinical practice? / A. Conforti, R. Di Girolamo, M. Guida [et al.] // *Reproductive biology and endocrinology*. – 2025. – Vol. 23, Suppl. 1. – P. 29. – DOI 10.1186/s12958-025-01359-2.

170. Pharmacological studies with cetorelix (SB-75), a potent antagonist of luteinising hormone-releasing hormone / T. Reissmann, T. Klenner, W. Deger [et al.] // *European Journal of Cancer*. – 1996. – Vol. 32, N 9. – P. 1574–1579. – DOI 10.1016/0959-8049(96)00138-4.

171. Phoophitphong, D. Immunohistochemical localization of luteinizing hormone receptor in the cyclic gilt ovary / D. Phoophitphong, S. Srisuwatanasagul, P. Tummaruk // *Anatomia, Histologia, Embryologia*. – 2017. – Vol. 46, N 1. – P. 94–100. – DOI 10.1111/ahe.12255.

172. Piau, T. B. Insulin-like growth factor (IGF) performance in ovarian function and applications in reproductive biotechnologies / T. B. Piau // *Growth hormone & IGF research*. – 2023. – Vol. 72–73. – P. 101561. – DOI 10.1016/j.ghir.2023.101561.

173. Polymorphisms rs2010963 and rs833061 of the VEGF gene in polycystic ovary syndrome / A. L. S. A. Vicente, A. B. T. Marqui, M. K. O. Gomes [et al.] // *Revista da Associação Médica Brasileira*. – 2022. – Vol. 68, N 6. – P. 785–791. – DOI 10.1590/1806-9282.20211345.

174. Preimplantation genetic testing for aneuploidy versus morphology as selection criteria for single frozen-thawed embryo transfer in good-prognosis patients: a multicenter randomized clinical trial / S. Munné, B. Kaplan, J. L. Frattarelli [et al.] // *Fertility and sterility*. – 2019. – Vol. 112, N 6. – P. 1071–1079.e7. – DOI 10.1016/j.fertnstert.2019.07.1346.

175. Prognostic indicators of assisted reproduction technology outcomes of cycles with ultralow serum antimüllerian hormone: a multivariate analysis of over 5,000 autologous cycles from the Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcome Reporting System database for 2012–2013 / D. B. Seifer, O. Tal, E. Wantman [et al.] // *Fertility and sterility*. – 2016. – Vol. 105, N 2. – P. 385–393.e3. – DOI 10.1016/j.fertnstert.2015.10.004.

176. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man / E. J. Freireich, E. A. Gehan, D. P. Rall [et al.] // *Cancer Chemother. Rep.* – 1966. – Vol. 50. – P. 219–244.

177. Regulation and role of the insulin-like growth factor I system in rat luteal cells / N. Sugino, C. M. Telleria, C. Tessier, G. Gibori // *Reproduction*. – 1999. – Vol. 115, N 2. – P. 349–355. – DOI 10.1530/jrf.0.1150349.

178. Reproductive ovarian testing and the alphabet soup of diagnoses: DOR, POI, POF, POR, and FOR / L. M. Pastore, M. S. Christianson, J. Stelling [et al.] // *Journal of*

assisted reproduction and genetics. – 2018. – Vol. 35. – P. 17–23. – DOI 10.1007/s10815-017-1058-4.

179. Retrospective analysis of transvaginal ultrasound-guided aspiration of simple ovarian cysts / M. Kostrzewa, A. Zając, J. R. Wilczyński, G. Stachowiak // *Advances in clinical and experimental medicine: official organ Wroclaw Medical University*. – 2019. – Vol. 28(11). – P. 1531–1535. – DOI 10.17219/acem/104549.

180. Role of Insulin-like growth factors in initiation of follicle growth in normal and polycystic human ovaries / S. A. Stubbs, L. J. Webber, J. Stark [et al.] // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. – 2013. – Vol. 98, N 8. – P. 3298–3305. – DOI 10.1210/jc.2013-1378.

181. Role of minimally invasive surgery in managing ovarian cysts: A study of postoperative recovery / N. A. Borna, M. M. Khatun, K. S. N. Lina, W. Khatun // *IAR Journal of Medicine and Surgery Research*. – 2024. – Vol. 5, N 5. – P. 32–40.

182. Roles of insulin-like growth factor II in regulating female reproductive physiology / T. Muhammad, M. Li, J. Wang [et al.] // *Science China Life Sciences*. – 2020. – Vol. 63. – P. 849–865. – DOI 10.1007/s11427-019-1646-y.

183. Salinas, I. Androgen-induced epigenetic modulations in the ovary / I. Salinas, N. Sinha, A. Sen // *Journal of Endocrinology*. – 2021. – Vol. 249, N 3. – P. R53–R64. – DOI 10.1530/JOE-20-0578.

184. Schütz, L. F. Granulosa Cells: Central Regulators of Female Fertility / L. F. Schütz, I. M. Batalha // *Endocrines*. – 2024. – Vol. 5, N 4. – P. 547–565.

185. Scoring systems for the evaluation of adnexal masses nature: current knowledge and clinical applications / M. Terzic, G. Aimagambetova, M. Norton [et al.] // *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2021. – Vol. 41, N 3. – P. 340–347. – DOI 10.1080/01443615.2020.1732892.

186. Spicer, L. J. Granulosa cell function in domestic animals: A review on the in vitro effects of FSH, insulin and insulin-like growth factor 1 / L. J. Spicer, E. R. S. Maylem, L. F. Schütz // *Domestic Animal Endocrinology*. – 2025. – P. 106919. – DOI 10.1016/j.domaniend.2025.106919.

187. Statistical power analyses using GPower 3.1: Tests for correlation and regression analyses / F. Faul, E. Erdfelder, A. Buchner, A. G. Lang // *Behavior Research Methods*. – 2009. – Vol. 41(4). – P. 1149–1160. – DOI 10.3758/BRM.41.4.1149.

188. The detrimental influence of functional ovarian cysts during in-vitro fertilization cycles / J. M. Jenkins, D. W. Davies, F. Anthony [et al.] // *Human Reproduction*. – 1992. – Vol. 7, N 6. – P. 776–780. – DOI 10.1093/oxfordjournals.humrep.a137736.

189. The effect of laparoscopic endometrioma surgery on anti-müllerian hormone: a systematic review of the literature and meta-analysis / J. Moreno-Sepulveda, C. Romeral, G. Niño, A. Pérez-Benavente // *JBRA assisted reproduction*. – 2022. – Vol. 26, N 1. – P. 88. – DOI 10.5935/1518-0557.20210060.

190. The effects of baseline ovarian cysts on the clinical response to controlled ovarian hyperstimulation in an in vitro fertilization program / M. D. Hornstein, R. L. Barbieri, V. A. Ravnikar, P. M. McShane // *Fertility and sterility*. – 1989. – Vol. 52, N 3. – P. 437–440. – DOI 10.1016/s0015-0282(16)60914-7.

191. The expression of platelet-derived growth factor, epidermal growth factor, and insulin-like growth factor-II in patients with polycystic ovary syndrome and its correlation with pregnancy outcomes / J. Gao, Y. Song, X. Huang [et al.] // *Annals of Palliative Medicine*. – 2021. – Vol. 10, N 5. – P. 5671678–5675678. – DOI 10.21037/apm-21-1003.

192. The FIGO ovulatory disorders classification system / M. G. Munro, A. H. Balen, S. Cho [et al.] // *Human Reproduction*. – 2022. – Vol. 37, N 10. – P. 2446–2464. – DOI 10.1002/ijgo.14331.

193. The insulin-like growth factor and its players: their functions, significance, and consequences in all aspects of ovarian physiology / P. Afradiasbagharani, E. Hosseini, A. Allahveisi [et al.] // *Middle East Fertility Society Journal*. – 2022. – Vol. 27, N 1. – P. 27. – DOI 10.1186/s43043-022-00119-1.

194. The Istanbul Consensus update: a revised ESHRE/ALPHA consensus on oocyte and embryo static and dynamic morphological assessment / Working Group on the update of the ESHRE/ALPHA Istanbul Consensus, G. Coticchio, A. Ahlström [et al.]

// Reproductive BioMedicine Online. – 2025. – Vol. 50, Iss. 6. – P. 104955. – DOI 10.1016/j.rbmo.2025.104955.

195. The LHRH antagonist cetrorelix: a review / T. Reissmann, A. V. Schally, P. Bouchard [et al.] // Human reproduction update. – 2000. – Vol. 6, N 4. – P. 322–331. – DOI 10.1093/humupd/6.4.322.

196. The novel POSEIDON stratification of ‘Low prognosis patients in Assisted Reproductive Technology and its proposed marker of successful outcome / P. Humaidan, C. Alviggi, R. Fischer, S. C. Esteves // F1000Research. – 2016. – Vol. 5. – P. 2911. – DOI 10.12688/f1000research.10382.1.

197. The optimal time of ovarian reserve recovery after laparoscopic unilateral ovarian non-endometriotic cystectomy / H. Li, B. Yan, Y. Wang [et al.] // Frontiers in Endocrinology. – 2021. – Vol. 12. – P. 671225. – DOI 10.3389/fendo.2021.671225.

198. The reproducibility of trophoctoderm biopsies in euploid, aneuploid, and mosaic embryos using independently verified next-generation sequencing (NGS): a pilot study / N. M. Sachdev, D. H. McCulloh, Y. Kramer [et al.] // Journal of Assisted Reproduction and Genetics. – 2020. – Vol. 37. – P. 559–571. – DOI 10.1007/s10815-020-01720-x.

199. The risk of infertility after surgery for benign ovarian cysts / L. M. Shandley, J. B. Spencer, L. M. Kipling [et al.] // Journal of Women's Health. – 2023. – Vol. 32, N 5. – P. 574–582. – DOI 10.1089/jwh.2022.0385.

200. The role of immune cell signatures in the pathogenesis of ovarian-related diseases: a causal inference based on Mendelian randomization / Y. Lu, Y. Yao, S. Zhai [et al.] // International journal of surgery. – 2024. – Vol. 110(10). – P. 6541–6550. – DOI 10.1097/JS9.0000000000001814.

201. The role of LH in follicle development: from physiology to new clinical implications / M. Longo, F. Liuzzi, S. De Carlini, A. La Marca // Reproductive biology and endocrinology. – 2025. – Vol. 23, Suppl. 1. – P. 22. – DOI 10.1186/s12958-025-01353-8.

202. The use of preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A): a committee opinion / A. Penzias, K. Bendikson, S. Butts [et al.] // *Fertility and sterility*. – 2018. – Vol. 109. – P. 429–436. – DOI 10.1016/j.fertnstert.2018.01.002.

203. Transvaginal sclerosing therapy of cystic ovarian lesions with alcohol / V. Kukura, T. Canić, Z. Duić [et al.] // *Ultraschall in der Medizin*. – 2004. – Vol. 25, N 5. – P. 363–366. – DOI 10.1055/s-2004-812956.

204. Transvaginal sonography-guided aspiration of benign ovarian cysts: a retrospective evaluation of safety, feasibility, and economic and environmental implications / H. Endres, M. Cioabla, F. Ebner [et al.] // *Archives of gynecology and obstetrics*. – 2026. – Vol. 313(1), N 123. – DOI 10.1007/s00404-026-08372-9.

205. Unluhizarci, K. Role of insulin and insulin resistance in androgen excess disorders / K. Unluhizarci, Z. Karaca, F. Kelestimur // *World journal of diabetes*. – 2021. – Vol. 12, N 5. – P. 616. – DOI 10.4239/wjd.v12.i5.616.

206. USG guided FNAC of ovarian mass lesions: A cyto-histopathological correlation, with emphasis on its role in pre-operative management guidelines / S. Ray, M. Gangopadhyay, A. Bandyopadhyay [et al.] // *Journal of the Turkish German Gynecological Association*. – 2014. – Vol. 15, N 1. – P. 6. – DOI 10.5152/jtgga.2014.10179.

207. Uterine disorders affecting female fertility: what are the molecular functions altered in endometrium? / A. Devesa-Peiro, P. Sebastian-Leon, F. Garcia-Garcia [et al.] // *Fertility and Sterility*. – 2020. – Vol. 113, N 6. – P. 1261–1274. – DOI 10.1016/j.fertnstert.2020.01.025.

208. Variables associated with resolution and persistence of ovarian cysts / A. Lasher, L. E. Harris, A. L. Solomon [et al.] // *Obstetrics & Gynecology*. – 2022. – P. 10.1097. – DOI 10.1097/AOG.0000000000005411.

209. Wallace, W. H. B. Human ovarian reserve from conception to the menopause / W. H. B. Wallace, T. W. Kelsey // *PloS one*. – 2010. – Vol. 5, N 1. – P. e8772. – DOI 10.1371/journal.pone.0008772.

210. Walnut Creek Contraceptive Drug Study: A prospective study of the side effects of oral contraceptives, vol. 3 / S. Ramcharan (ed.). – National Institute of Child Health and Human Development, Center for Population Research, 1974.

211. Wen, J. Relationship Between the Ovarian Cyst and Depression: A Two-Sample Mendelian Randomization Study / J. Wen, W. Zhou, Y. Lin // International Journal of Women's Health. – 2023. – P. 1727–1732. – DOI 10.2147/IJWH.S415640.

212. When IGF-1 Meets Metabolic Inflammation and Polycystic Ovary Syndrome / X. Li, S. Lin, X. Yang [et al.] // International Immunopharmacology. – 2024. – Vol. 138. – P. 112529. – DOI 10.1016/j.intimp.2024.112529.

213. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 6th ed. / World Health Organization. – 2021. – URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030787> (accessed: 27 May 2025).

214. Wimalarathne, H. D. A. Quantitative analyses of insulin-like peptide 3 and sex steroid hormones in dominant follicles and corpora lutea during the estrus cycle and in follicular cysts in beef heifers / H. D. A. Wimalarathne, H. Wako, N. Kawate // Journal of Reproduction and Development. – 2022. – Vol. 68, N 5. – P. 324–329. – DOI 10.1262/jrd.2022-018.