

ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Направление «Медицина»

Кафедра акушерства, гинекологии и репродуктологии

Допускается к защите

Заведующий кафедрой:

д.м.н., проф. Ниаури Д.А.

« » _____

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА НА ТЕМУ:
Применение мио-инозитола в составе адьювантной терапии
в циклах ЭКО у пациенток со «слабым ответом» на
стимуляцию суперовуляции

Выполнила

студентка 603 группы

Кан Вита Анатольевна

Научный руководитель

д.м.н., доц. Гзгзян Александр Мкртичевич

Санкт-Петербург

2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений.....	3
Введение.....	4
1. Актуальность проблемы.....	4
2. Цель и задачи исследования	5
Основная часть.....	6
Глава I. Обзор литературы.....	6
1.1 Современные представления об овариальном резерве и оптимальном ответе яичников на стимуляцию суперовуляции в циклах ЭКО.....	6
1.2 «Слабый ответ» яичников на стимуляцию суперовуляции.....	10
1.3 Общая характеристика мио-инозитола.....	19
1.4 Обзор молекулярно-физиологических эффектов мио-инозитола.....	20
1.5 Применение мио-инозитола.....	21
1.6 Влияние мио-инозитола на репродуктивную систему.....	22
1.7 Влияние мио-инозитола на функцию яичников в рамках цикла ЭКО.....	23
1.8 Форма выпуска препаратов, содержащих мио-инозитол.....	25
1.9 Безопасность применения препаратов мио-инозитола	25
Глава II. Материалы и методы.....	27
2.1. Материалы исследования.....	27
2.2. Методы исследования.....	27
2.2.1. Протокол стимуляции суперовуляции и ЭКО.....	28
2.2.2. Морфологическая оценка качества эмбрионов	28
Глава III. Результаты исследования.....	31
3.1 Общая характеристика исследуемых женщин.....	31
3.2 Оценка эмбриологического этапа	34
3.3 Анализ результативности протоколов ЭКО.....	35
3.4 Оценка безопасности применения мио-инозитола.....	36
Заключение.....	37
Выводы.....	40
Список литератур.....	41

Список сокращений

а-ГнРГ – агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона

АМГ – антимюллеров гормон

ант-ГнРГ – антагонисты гонадотропин-рилизинг-гормона

ВРТ - вспомогательные репродуктивные технологии

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

ГнРГ – гонадотропин-рилизинг-гормон

ИМТ – индекс массы тела

МЧГ – мочевые гонадотропины

рЛГ – рекомбинантный лютеинизирующий гормон

рФСГ – рекомбинантный фолликуло-стимулирующий гормон

СГЯ – синдром гиперстимуляции яичников

СМЭР – селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов

СПКЯ – синдром поликистозных яичников

УЗИ – ультразвуковое исследование

чМГ – человеческие менопаузальные гонадотропины

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение.

ХГ – хорионический гонадотропин

β -ХГЧ – бета субъединица хорионического гонадотропина человека

ASRM – American Society for Reproductive Medicine

ESHRE – European Society of Human Reproduction and Embryology

SART – Society for Assisted Reproductive Technology

ВВЕДЕНИЕ

1. Актуальность проблемы

За последние десятилетия частота выявления бесплодия у женщин детородного возраста возросла. Так, мировая статистика указывает на то, что бесплодие встречается у 8-10% супружеских пар[18]. В России в 2011 году было проведено обследование репродуктивного здоровья женщин.

Полученные данные показали, что больше трети женщин репродуктивного возраста имеют ту или иную патологию репродуктивной системы, которая вынуждает их обратиться в центры ВРТ для лечения бесплодия[19].

Наблюдается увеличение числа женщин старшего репродуктивного возраста (после 35 лет), обращающихся в центры ЭКО с целью лечения бесплодия.

Доля таких пациенток на сегодняшний день достигает 37%[14].

В то же время в связи с ростом развития методов лечения бесплодия в отделениях ВРТ в медицинской литературе появился термин «слабый ответ» на стимуляцию суперовуляции, под которым понимают получение 3-х и менее ооцитов при стимуляции суперовуляции большими дозами гонадотропинов (более 300 МЕ/сутки)[55]. Распространённость «слабого ответа» в программах ЭКО составляет от 9 до 24% [24,45,78]. «Слабый ответ» приводит к снижению количества полученных ооцитов, отмене циклов ЭКО и значительному снижению вероятности наступления беременности[74].

Были исследованы различные методы повышения эффективности циклов ЭКО у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции. Одним из таких методов является применение мио-инозитола в качестве адъювантной терапии в программе ЭКО у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции. Мио-инозитол является ключевым звеном в системе сигнальной трансдукции и, согласно многочисленным исследованиям, нормализует чувствительность яичников к инсулину, ГнРГ и ФСГ[28,62].

2. Цели и задачи исследования

Цель исследования:

оценить эффективность применения мио-инозитола в качестве адьювантной терапии в циклах ЭКО у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции.

Задачи исследования

- определить частоту наступления беременности у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции;
- оценить характеристики эмбрионального этапа циклов ЭКО у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции;
- оценить результаты циклов ЭКО у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции в зависимости от приёма мио-инозитола;
- определить частоту побочных эффектов, связанных с приёмом мио-инозитола в циклах ЭКО у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современные представления об овариальном резерве и оптимальном ответе яичников на стимуляцию суперовуляции в циклах ЭКО

На сегодняшний день наиболее эффективным методом вспомогательных репродуктивных технологий признано экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО)[1]. Основным и важнейшим этапом ЭКО является стимуляция суперовуляции, в ходе которой проводится медикаментозное воздействие препаратами гонадотропинов на яичники с целью формирования фолликулярного пула и получения максимального количества ооцитов. Под действием применяемых препаратов гонадотропинов происходит одновременное созревание нескольких фолликулов. Таким образом, целью стимуляции суперовуляции является получение как можно большего числа фолликулов, что в дальнейшем позволяет повысить число эмбрионов, выделить из них эмбрионы наиболее высокого качества и увеличить шансы наступления беременности при переносе таких эмбрионов в полость матки пациентки, обратившейся в отделение ВРТ с целью лечения бесплодия.

В результате проведения терапии гонадотропинами существует риск некоторых негативных последствий: синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ) и неадекватный ответ яичников[1]. Основные вопросы, касающиеся СГЯ, достаточно широко освещены в медицинской литературе, и в то же время гораздо меньше существует научных работ, посвящённых проблеме неадекватного ответа яичников, который выступает в качестве основной причины отмены циклов ЭКО от 11 до 24% случаев, а при повторных циклах – более чем в 45% случаев[74].

Для прогнозирования результатов стимуляции суперовуляции, а именно количества полученных фолликулов, в мировой практике используется термин «овариальный резерв», который в медицинской литературе описывается с 1980-х годов[14]. Сегодня под этим термином понимают функциональный резерв яичника, который определяет способность последнего к развитию здорового фолликула с полноценной яйцеклеткой.

Овариальный резерв отражает количество находящихся в яичниках фолликулов (примордиальный пул и растущие фолликулы) и зависит от многих факторов, влияющих как на количественные параметры фолликулярного аппарата, так и на регуляцию фолликулогенеза. Таким образом, овариальный резерв является важнейшей составляющей репродуктивного потенциала женщины[14].

Для оценки овариального резерва принято определять базальную (на 2–3-й день менструального цикла) концентрацию ФСГ, число антральных фолликулов (от 2 до 10 мм в диаметре) и общий объем яичников[14]. Назаренко Т.А. и Краснопольская К.В. (2013) предлагают в качестве возможного предиктора качества ооцитов принимать возраст, а в качестве маркера собственно фолликулярного резерва принимать уровень ФСГ.

Принято выделять следующие клинически значимые границы концентрации ФСГ (на 2–3-й день цикла), определяющие характер ответа на препараты гонадотропинов[14]:

- 3–8 МЕ/л – нормальные показатели, предполагается хороший ответ на стимуляцию;
- 8–10 МЕ/л – ответ может колебаться от нормального до умеренно сниженного;
- 10–12 МЕ/л – низкий овариальный резерв, предполагается сниженный ответ на стимуляцию;
- 12–17 МЕ/л – плохой ответ на стимуляцию и низкая частота наступления беременности;
- больше 17 МЕ/л – очень плохой ответ на стимуляцию.

Другим потенциально значимым маркером фолликулярного резерва, используемым для прогнозирования ответной реакции на препараты гонадотропинов, является определяемое с помощью УЗИ на 2–3-й день цикла число антральных фолликулов до 10 мм в диаметре[14]:

- до 5 фолликулов – предполагается плохой ответ на стимуляцию, высокий риск отмены цикла ЭКО;

- от 5 до 7 фолликулов – возможен сниженный ответ, требуется более высокая стартовая и суммарная доза ФСГ;
- 8–12 фолликулов – умеренный ответ, умеренные стартовые и суммарные дозы ФСГ;
- 13–20 фолликулов – хороший ответ на небольшие стартовые и суммарные дозы ФСГ, умеренный риск СГЯ;
- более 20 фолликулов – чрезмерный ответ, высокий риск СГЯ.

В последние годы для оценки состояния овариального резерва и прогнозирования ответной реакции яичников на стимуляцию суперовуляции стали использовать определение уровня антимюллерова гормона (АМГ)[73].

АМГ является димерным гликопротеином, который относится к семейству трансформирующих факторов роста. Гормон продуцируется у мужчин клетками Сертоли и вызывает последовательный регресс органов мюллерова протока (маточных труб, матки и верхней части влагалища). У женщин АМГ вырабатывается в яичниках от пренатального периода до менопаузы. Этот гормон выделяется клетками гранулёзы растущих фолликулов от преантральной стадии вплоть до размера антральных фолликулов 6-8 мм в диаметре. После достижения фолликулов размера 8 мм и более уровень АМГ резко падает и возрастает продукция эстрадиола за счёт повышения активности ароматазы. Продукция АМГ не зависит от уровня ФСГ и не меняется в течение менструального цикла. Таким образом, АМГ является маркером, отражающим величину пула примордиальных фолликулов, т.е. репродуктивный потенциал пациентки. Нормативные значения для АМГ находятся в пределах от 1,0 до 2,5 нг/мл. Снижение АМГ свидетельствует об уменьшении овариального резерва[2].

Обобщая данные клинические, биохимические и ультразвуковые характеристики, Назаренко Т.А. и Краснопольской К.В. (2013) удалось сформулировать представление о показателях нормального, сниженного и высокого овариального резерва, которые, в свою очередь, можно

рассматривать как предикторы для адекватного, «слабого» и чрезмерного ответа на гонадотропины при стимуляции суперовуляции в циклах ЭКО.

Показателями нормального овариального резерва (предикторами адекватного ответа яичников на гонадотропины) служат [14]:

- возраст пациентки – менее 35 лет;
- длительность менструального цикла – 27-30 дней;
- уровень ФСГ на 2-3-й день менструального цикла – до 8 МЕ/л;
- число антральных фолликулов менее 10 мм в диаметре на 2-3-й день менструального цикла – не менее 5 в каждом яичнике;
- объём яичника – не менее 8 см³;
- уровень АМГ – 1,0-2,5 нг/мл.

У пациенток с указанными характеристиками отмечается адекватный ответ на введение препаратов гонадотропинов, однако полностью не исключается вероятность развития синдрома гиперстимуляции яичников.

Показателями высокого овариального резерва (предикторами чрезмерного ответа яичников на гонадотропины) являются [14]:

- возраст пациентки – менее 30 лет;
- длительность менструального цикла – 30-35 дней;
- уровень ФСГ на 2-3-й день менструального цикла – менее 8 МЕ/л;
- число базальных фолликулов менее 10 мм в диаметре на 2-3-й день менструального цикла – более 10 в каждом яичнике;
- объём яичников – более 12 см³;
- уровень АМГ – больше 2,5 нг/мл.

У пациенток с такими показателями высокого овариального резерва отмечается хороший ответ на индукторы овуляции. Таким женщинам требуются низкие дозы гонадотропинов для стимуляции роста фолликулов. В противном случае, повышение стартовой или суммарной дозы может спровоцировать развитие синдрома гиперстимуляции яичников.

1.2 «Слабый ответ» яичников на стимуляцию суперовуляции.

Далеко не всегда удаётся в результате стимуляции суперовуляции получить необходимое или хотя бы минимально достаточное количество ооцитов.

Во многом результат процедуры ЭКО зависит от состояния пациентки, а именно от достаточного количества ооцитов хорошего качества, что является основной характеристикой овариального резерва женщины.

В качестве показателей низкого овариального резерва принимаются следующие[14]:

- возраст пациентки превышает 35 лет;
- длительность менструального цикла – 24–26 дней;
- уровень ФСГ на 2–3-й день менструального цикла – более 10 МЕ/л;
- число антральных фолликулов менее 10 мм в диаметре на 2–3-й день менструального цикла менее 5-7 в обоих яичниках;
- объём яичников – менее 8 см³;
- уровень АМГ – менее 1 нг/мл.

Наличие у пациентки таких показателей требует использования более высоких стартовых и суммарных доз гонадотропинов в связи с вероятным развитием «слабого ответа» на стимуляцию суперовуляции.

Данные международной литературы о распространённости «слабого» овариального ответа на стимуляцию суперовуляции колеблются от 9 до 24%[24,45,78]. В исследованиях ASRM/SART были получены данные об отмене 14,1% циклов ЭКО, в 50% – по причине «слабого» овариального ответа[71]. Вероятно, это связано с различиями в терминологии, а именно в определении данного понятия.

В современных источниках литературы встречаются различные формулировки, определяющие сниженный показатель ответа яичника на стимуляцию: «слабый» («poor»), «низкий» («low»), «неадекватный» («inadequate»), «субоптимальный» («suboptimal»). Часто термин «слабый» овариальный ответ ассоциируется с низким овариальным резервом. В связи с отсутствием единых критериев определения «слабого»

овариального ответа до 2010 г. не существовало достаточного числа достоверных данных для всемирного внедрения практических рекомендаций по улучшению результатов лечения таких пациенток методами ВРТ[24].

Впервые попытка точно охарактеризовать пациенток со «слабым» овариальным ответом была предпринята Европейским Обществом Репродукции и Эмбриологии Человека (ESHRE) в 2011 г. на семинаре в Болонье (Италия)[55]. По критериям ESHRE под «слабым» овариальным ответом следует понимать созревание менее 3-х фолликулов при стимуляции суперовуляции большими дозами гонадотропинов (более 300 МЕ/сутки). Для диагностики «слабого» овариального ответа необходимо наличие как минимум двух из трёх перечисленных критериев:

- возраст пациентки более 40 лет или наличие других факторов риска «слабого» овариального ответа;
- указание на «слабый» овариальный ответ в анамнезе;
- данные, указывающие на снижение овариального резерва: количество антральных фолликулов менее 5-7 и/или показатель АМГ в крови менее 1 нг/мл.

В случае если пациентка в возрасте менее 40 лет не имеет признаков сниженного овариального резерва, для диагностики «слабого» овариального ответа достаточно наличия двух эпизодов «слабого» ответа в анамнезе[55].

Несмотря на принятые критерии, среди учёных до сих пор существуют разногласия в определении этого состояния. По мнению ряда авторов, помимо числа антральных фолликулов среди критериев «слабого ответа» следует учитывать уровень эстрадиола (E2) < 100пг/мл на 5-й день гормональной стимуляции или < 300-500 пг/мл в день введения триггера овуляции[45,51].

Назаренко Т.А. и Краснопольская К.В. (2013) предлагают следующее определение «слабому ответу» на стимуляцию суперовуляции – это недостаточная реакция яичников на введение даже больших доз (более 300 МЕ/сут.) гонадотропинов, когда в схемах стимуляции, применяемых в

контролируемых циклах программы ЭКО, не удаётся обеспечить роста и созревания более 3 фолликулов[14]. Однако, по мнению авторов, не является целесообразным диагностировать «слабый ответ» по наличию единственного эпизода, так как он может быть случайным и не повторится в следующем цикле, если увеличить стартовую дозу гонадотропинов или изменить протокол стимуляции[22].

Наиболее распространёнными факторами, которые негативно влияют на овариальный резерв, являются поздний репродуктивный возраст женщины и оперативные вмешательства на яичниках и маточных трубах[14].

Возраст является ведущим фактором, оказывающим прямое воздействие на фолликулярный резерв женщины и результаты ЭКО в целом. По данным Регистра ВРТ РАРЧ доля женщин 35 лет и старше, которые обратились за помощью в отделение ВРТ с целью лечения бесплодия, составляет около 40% и среди них порядка 27% пациенток в возрасте 40 лет и старше[15].

Под одним из возрастных изменений репродуктивной системы понимают процесс её старения, который проявляется не только в истощении количественного запаса фолликулов, но и в их качественных дефектах, ослабляющих способность отобранных фолликулов реагировать на стимуляцию препаратами гонадотропинов[9]. Возрастной фактор также значительно ограничивает возможность получения из выделенных ооцитов качественных эмбрионов, способных к имплантации в эндометрий и последующему успешному развитию[13,20].

Началом позднего репродуктивного периода принято считать возраст старше 35 лет. Существует мнение, что уже после 30 лет начинают проявляться инволютивные процессы, обуславливающие субфертильность, а после 35 лет снижается вероятность наступления не только спонтанной, но и индуцированной (во время циклов ЭКО) беременности с использованием собственных ооцитов[20,36]. Среди возрастных женщин доля пациенток со

сниженным овариальным резервом достигает 30% против 10% в общей популяции[73].

Предполагаемыми причинами возрастной количественной редукции фолликулярного резерва являются[20]:

- происходящее в репродуктивном периоде постоянное убывание окончательно созревающих ооцитов при их овуляции и параллельно наблюдаемая в каждом цикле атрезия рекрутированных недоминантных фолликулов;
- продолжающаяся с внутриутробного периода фоновая атрезия примордиальных фолликулов.

Сокращение общего пула примордиальных фолликулов становится основной причиной прогрессирующего уменьшения у женщин старше 35 лет числа малых антральных фолликулов, обладающих чувствительностью к ФСГ.

При развитии «слабого» ответа у пациенток старшей возрастной группы вероятность успешной имплантации переносимых эмбрионов оказывается достоверно меньше, чем у более молодых женщин с аналогичной ослабленной реакцией на препараты гонадотропинов [20]. Этот факт объясняется тем, что возрастной фактор негативно влияет не только на количественные параметры фолликулогенеза, но и на качество созревающих ооцитов. Кроме того, при увеличении возраста пациенток возрастает частота внутриматочной патологии проявляемой в виде гиперпластических (полипы) и атрофических процессов, синехий, хронического эндометрита, миомы и аденомиоза, что неизбежно препятствует успешной имплантации переносимых эмбрионов[8].

В связи с увеличением числа женщин старшего репродуктивного возраста (после 35), обращающихся в отделение ВРТ с целью лечения бесплодия, количество пациенток со сниженным овариальным резервом и предпосылками к развитию «слабого ответа» также повышается, что

обуславливает актуальность данной проблемы. На сегодняшний день доля таких пациенток достигает 37%[14].

К распространённым причинам ослабления чувствительности к гонадотропинам, не связанным с возрастным фактором, принято относить:

- резекции яичников, сопровождаемые потерей больших объемов коркового вещества (при этом сокращается фолликулярный запас) и стромы яичников (уменьшается активность образования яичниковых андрогенов, поддерживающих чувствительность к ФСГ)[6,7];
- повторные операции на органах малого таза, провоцирующие в свою очередь спаечный процесс и ухудшение кровоснабжения коркового вещества яичников[6];
- наружный генитальный эндометриоз[14];
- аутоиммунный оофорит (при аутоиммунном тиреоидите, гипотиреозе и других аутоиммунных заболеваниях)[4,21];
- влияние различных ятрогенных факторов (химио-, радиотерапия при онкологических заболеваниях)[50];
- высокий ИМТ[6];

Среди причин ослабленной реакции на гонадотропины в случаях идиопатического бесплодия выделяют:

- образование аутоантител против растущих фолликулов с сохранением иммунологической толерантности к примордиальным и первичным фолликулам (в таких случаях аутоиммунный оофорит не сопровождается типичными гормональными и ультразвуковыми признаками редукции овариального резерва)[4,21];
- врождённые изменения ФСГ–рецепторов фолликулярного аппарата[25,40].

Ослабленная реакция яичников на гонадотропины может наблюдаться также при врождённом полиморфизме молекул ЛГ (v - β -ЛГ)[44]. При структурных изменениях эндогенного ЛГ ослабляется чувствительность к ФСГ, поскольку молекулы v - β -ЛГ, в отличие от нормальных молекул ЛГ, не

активируют синтез андрогенов (увеличивающих чувствительность ФСГ–рецепторов) и тем самым не обеспечивают должным образом поддержание стимулирующего эффекта ФСГ на индуцируемый фолликулогенез[45].

Непредвиденный «слабый» овариальный ответ может встречаться у группы пациенток молодого возраста, имеющих нормальные результаты предварительного обследования, у которых отсутствуют доказанные причины «слабого» ответа на стимуляцию функции яичников. Лечение таких пациенток является одной из наиболее трудных и нерешённых проблем в репродуктивной медицине.

Padhy N. et al. (2008) ретроспективно исследовали различные факторы риска у 104 пациенток со «слабым» овариальным ответом. Изучались такие факторы риска, как возраст, ИМТ, вид бесплодия, продолжительность бесплодия, а также влияние внешних факторов: стресс на работе, курение, наличие операций на органах малого таза в анамнезе, предыдущие попытки ЭКО, базальный уровень ФСГ, средний возраст наступления менопаузы у их матерей. Возраст, указание на хирургические вмешательства на органах малого таза и наследственность были основными предикторами «слабого» овариального ответа. Так, возраст старше 35 лет наблюдался у 60% женщин со «слабым» овариальным ответом и 36,4% женщин контрольной группы, что было статистически значимо. Средний возраст наступления менопаузы у матерей был на 4 года меньше в группе женщин со «слабым» овариальным ответом. Значительная часть женщин со «слабым» овариальным ответом (31,7%) имела в анамнезе операции на органах малого таза[58].

Негативное влияние на результаты ЭКО у пациенток со «слабым ответом» яичников на стимуляторы овуляции состоит в затруднении, а порой и в невозможности обеспечения этапа переноса эмбрионов. Отмечается снижение эффективности ЭКО за счет учащения случаев прерывания цикла при невозможности получения хотя бы одного эмбриона приемлемого качества. В программах ЭКО лишь большое количество получаемых

фолликулов (8-12) и, как следствие, ооцитов (6-10) и эмбрионов (5-8) позволяет отобрать для переноса наилучшие по качеству эмбрионы в достаточном количестве (оптимально – три)[23]. При общем числе полученных эмбрионов от одного до трёх проблема отбора становится практически неразрешимой, в результате чего закономерно приходится использовать для переноса не лучшие эмбрионы, а те, что есть, или вообще прерывать цикл при наличии очевидных дефектов раннего эмбриогенеза (отсутствие дробления, морфологические дегенеративные признаки)[14]. Таким образом, при «слабом ответе» отбор ооцитов и эмбрионов основывается не столько на показателе качества, сколько на характеристике жизнеспособности, что снижает эффективность лечения[10]. Следует заметить, что максимальную способность к имплантации имеют эмбрионы класса А и В по шкале Van-Steirterghem[76]. Около 20% переносимых эмбрионов класса А–В имплантируются[14].

«Слабый ответ» яичников на стимуляцию суперовуляции в программах ЭКО является одной из сложнейших задач, с которыми сталкиваются репродуктологи. Систематизированный обзор Cochrane (2010) по лечению бесплодия у пациенток со «слабым ответом» заключил, что не существует достоверно эффективного метода терапии, которой мог бы быть рекомендован[60]. Таким образом, ведение таких пациенток требует особого внимания в рамках современных вспомогательных репродуктивных технологий.

Для улучшения овариального ответа предлагаются различные режимы стимуляции: использование коротких протоколов стимуляции, уменьшение дозы агонистов гонадотропин-рилизинг гормона (а-ГнРГ), использование антагонистов гонадотропин-рилизинг гормона (ант-ГнРГ), использование препаратов андрогенов и прочее. В литературе существует множество клинических исследований, сравнивающих эффекты от аналогов гонадотропинов на женщин со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции.

Попытки модифицировать протоколы стимуляции яичников у пациенток со «слабым ответом» многочисленны, однако ни одна из предлагаемых модификаций не имеет достоверных подтверждений своей эффективности. В целом мнения специалистов сходятся на использовании длинных протоколов с уменьшенной дозой аГн-РГ, либо протоколов с анТГн-РГ, при этом доза вводимого индуктора должна составлять 300-400 МЕ в день. В 2011 году был опубликован метаанализ, в котором при сравнении протоколов с агонистами и антагонистами гонадотропинов у пациенток со «слабым ответом» не было выявлено статистически значимой разницы в количестве полученных ооцитов, зрелых ооцитов, количестве неудачных циклов и наступивших беременностей[28]. Позже было проведено рандомизированное исследование, в котором сравнивались длинный и короткий протоколы стимуляции суперовуляции с агонистами гонадотропинов у женщин со «слабым ответом», которое также не выявило различий в показателях, однако прослеживалась тенденция в повышении шанса наступления беременности в циклах с длинным протоколом[29].

Широко обсуждаемым является выбор индуктора фолликулогенеза, который следует применять у пациенток со «слабым ответом». Назаренко Т.А. (2015) рекомендует начинать стимуляцию с введения препаратов рекомбинантного ФСГ. В то же время есть сведения об эффективности рекомбинантного корифоллитропина α , который доказал свои преимущества по сравнению с ранее используемыми гонадотропинами в поддержке роста и развития нескольких фолликулов в течение первых 7 дней стимуляции[16]. Вероятно, именно синтез более совершенных препаратов для стимуляции яичников является клинически перспективным у пациенток старшего возраста и пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции. Тактика ведения пациенток молодого возраста со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции зависит от причинных факторов, приведших к снижению функционального потенциала яичников, и сводится в первую очередь к лечению основного заболевания.

Следует заметить, что в связи с отсутствием данных о достоверной эффективности какого-либо из протоколов препаратов гонадотропинов, актуальным остаётся поиск новых вариантов лечения, обеспечивающих действительно надёжное предупреждение сниженной реакции яичников при контролируемой стимуляции.

Среди средств, способных улучшить ответ яичников, выделяют «эстрогенный прайминг» - метод, предполагающий назначение пациентке в течение 2-3 месяцев до начала цикла ЭКО препаратов эстрогенов, подавляющих секрецию ФСГ по принципу отрицательной обратной связи, тем самым повышая чувствительность яичников к последующей стимуляции. Xiaoxia Chang et al. (2013) пришли к заключению, что назначение препаратов эстрадиола в течение 2-3 месяцев в лютеиновую фазу менструального цикла способствует увеличению количества и повышению качества ооцитов. Авторы отметили выраженную тенденцию к повышению частоты наступления беременности и снижению частоты отмены циклов в этой группе пациенток в сравнении с пациентками, не получавшими подготовку эстрогенами[16]. Тем не менее, чётких данных о клинической эффективности данной методики не было получено.

В медицинской литературе последних лет можно найти упоминания о предварительном применении препаратов тестостерона или дегидроэпиандростерона (ДЭА) у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции, что способствует повышению эффективности ЭКО. Так, A.Wiser et al. (2010) показали, что применение ДЭА позволило повысить частоту наступления беременности у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции с 4% до 23,1%[79]. По сообщениям Крстич Е.В. и др. (2014), «андрогенный прайминг» эффективен у пациенток со сниженной андрогенсекретирующей функцией яичников, то есть с уровнем общего тестостерона менее 1 нмоль/л[10].

Среди существующих подходов, направленных на решение проблемы «слабого» ответа, также заслуживает внимание применение препаратов, содержащих мио-инозитол.

1.3 Общая характеристика мио-инозитола.

Мио-инозитол – один из эндогенных метаболитов человека, который оказывает влияние на функционирование клеток и тканей всего организма. Впервые был выделен из проростков пшеницы в 1848 г. немецким химиком Ю. Либихом[12], а в 1850 г. другой немецкий химик Дж. Шерер выделил его из мышцы мыши[26]. Мио-инозитол (по химической номенклатуре «гексагидроксициклогексан») является одним из вариантов инозитоловых шестиатомных спиртов. Инозитол существует в девяти возможных стереоизомерах, из которых мио-инозитол является единственным присутствующим в живой клетке. Именно мио-инозитол играет роль передатчика сигнала регуляции уровней внутриклеточного кальция[42], сигнала от рецептора инсулина[48], участвует в расщеплении жиров и снижении уровня холестерина в крови[48] и др.

Мио-инозитол и его производные содержатся в проростках, во фруктах (дыни, апельсины), а также в бобовых, зёрнах и орехах[36]. Из растительной пищи мио-инозитол поступает в виде фитиновой кислоты (гексафосфат инозитола), которая плохо усваивается организмом человека без предварительной обработки. Также многие минералы (кальций, магний, железо, цинк) переводят соли фитиновой кислоты (фитаты) в нерастворимую форму, существенно снижая их биоусвояемость и внося вклад в формирование дефицита минералов и нарушений электролитного баланса организма[50].

Мио-инозитол в чистом виде, без прикрепленных фосфатных групп, считался одним из витаминов группы В (витамин В8). Позднее, когда было установлено, что у здорового человека мио-инозитол синтезируется в небольших количествах в почках (несколько граммов в день), мио-инозитол перестали рассматривать как витамин. По нормам Российской Федерации,

потребность в мио-инозитоле для человека составляет от 500 до 1000 мг/сут[12].

1.4 Обзор молекулярно-физиологических эффектов мио-инозитола.

О важности мио-инозитола и его производных для нормального физиологического состояния организма человека свидетельствует большое число публикаций, посвящённых изучению молекулярно-физиологических механизмов действия мио-инозитола.

Наибольшее число исследований по мио-инозитолу связано с изучением внутриклеточной передачи сигнала. Мио-инозитол синтезируется из глюкоза-6-фосфата и является предшественником в синтезе фосфатидилинозитол полифосфатов, которые, в свою очередь, являются ключевыми молекулами в системе сигнальной трансдукции[47]. За счёт своей способности активировать различные рецепторы клеточной стенки, мио-инозитол способствует секреции кальция из эндоплазматического ретикулума в цитозоль. Кальций и различные фосфат-производные мио-инозитола участвуют в регуляции каскадных механизмов. Таким образом, роль мио-инозитола в поддержке метаболических (в частности, метаболизма сахаров) процессов объясняется его участием в сигнальных каскадах.

Достаточный уровень мио-инозитола в организме необходим для функционирования нейронов головного мозга. Это связано с тем, что мио-инозитол принимает участие в передаче сигнала от рецепторов ацетилхолина, глутамата, ГАМК, гистамина, обеспечивает долговременное потенцирование в гиппокампе, энергетический метаболизм (сахар, креатин) центральной нервной системы и, кроме того, участвует в защите нейронов от клеточного стресса, отвечая на неправильно свёрнутые («unfolded») белки в эндоплазматическом ретикулуме[12].

Существуют сведения о важной роли мио-инозитол не только в сигнальной трансдукции, но и в клеточном морфогенезе и цитогенезе, участвует в формировании клеточной стенки, синтезе липидов и росте клетки[75].

Более половины инозитол-зависимых белков необходимы для поддержания нормального функционирования сердечно-сосудистой, иммунной и центральной нервной систем.

В тоже время большое число производных мио-инозитола взаимодействуют со специфическими белками, участвующими в функционировании репродуктивной системы и развитии эмбриона. Мио-инозитол, воздействуя на процессы метилирования ДНК посредством инозитол-зависимых белков (аденозилгомоцистеиназа-2, Са/интегрин-связывающий белок-1, метил-СpG-связывающий белок-2), является природным синергистом фолатов, ионов железа, витамина РР и пантотеновой кислоты[12]. Все эти эффекты мио-инозитола позволяют использовать его в различных областях медицины.

1.5 Применение мио-инозитола.

Мио-инозитол и его производные активно используются во различных областях медицины, в частности в гинекологии, эндокринологии, психиатрии. Некоторые клинические исследования показали возможность терапии СПКЯ препаратами, содержащими мио-инозитол[64,65].

Комбинированная терапия СПКЯ с применением мио-инозитола снижает риск нарушения обмена веществ у пациенток с избыточной массой тела, благотворно влияя на уровень метаболизма, состояние гормональной регуляции и функции яичников[54]. В целом результаты многих исследований позволяют рекомендовать использование мио-инозитола для улучшения функции яичников, а также метаболических и гормональных показателей у пациенток с СПКЯ[75]. Также мио-инозитол оказался эффективным при дисметаболическом синдроме у пост-менопаузальных женщин[59].

Другие исследования показали возможность использования мио-инозитола при панических расстройствах, обсессивно-компульсивном расстройстве, депрессии, остром респираторном дистресс-синдроме у недоношенных детей и литий-индуцированном псориазе[29,49].

1.6 Влияние мио-инозитола на репродуктивную систему.

Концентрация мио-инозитола в сыворотке крови здорового человека составляет 20-70 ммоль/л. В то же время концентрация мио-инозитола в сыворотке крови новорожденных значительно выше[69].

Многие исследователи обратили своё внимание на роль мио-инозитола в функционировании репродуктивной системы и развитии эмбриона. Так, Paraleo et al. в своём исследовании показали, что повышение концентрации мио-инозитола в фолликулярной жидкости в преовуляторный и овуляторный периоды необходимо для процесса полноценного созревания фолликулов и является маркером хорошего качества ооцитов[62]. Некоторые исследования показали, что в процессе созревания ооцитов производные мио-инозитола играют первостепенную роль в формировании кальций-опосредованных сигналов от рецептора ГнРГ, лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов, тем самым косвенно регулируя инвазию трофобласта при закреплении бластоцисты, функции яичников, ооцитов, плаценты[27,68]. Инозитол-зависимые сигналы имеют значение на заключительных стадиях созревания яйцеклетки в рамках подготовки к успешной активации клетки в момент оплодотворения[43].

Были также проведены исследования, направленные на оценку влияния мио-инозитола и его производных на репродуктивную функцию мужчин. Так, некоторые исследования показали, что в предстательной железе, семенных пузырьках и сперме содержится большое количество мио-инозитола. Condorelli et al. провели несколько исследований на эту тему и обнаружили, что мио-инозитол оказывает воздействие на функционирование сперматозоидов, регулируя осмолярность и объём семенной плазмы, экспрессию белков, необходимых для эмбриогенетического развития, и подвижность сперматозоидов[39].

Взаимодействие производных инозитола со специфическими белками, участвующими в функционировании репродуктивной системы и развитии эмбриона, наряду с эффектами мио-инозитола как синергиста фолатов,

указывает на существенные перспективы применения мио-инозитола в акушерско-гинекологической практике.

1.7 Влияние мио-инозитола на функции яичников в рамках цикла ЭКО.

Chiu et al. опубликовали ряд статей о влиянии мио-инозитола на функции яичников. В первом исследовании 1992 г. был отмечен повышенный уровень мио-инозитола в сыворотке крови у женщин, забеременевших по итогам ЭКО, таким образом, впервые было продемонстрировано участие инозитола в нормальном развитии эмбрионов[32]. Более позднее (2002) исследование тех же авторов показало, что повышенные концентрации мио-инозитола в фолликулярной жидкости является положительным прогностическим фактором хорошего качества ооцитов[33]. Далее Chiu et al. (2003) показали на модели с мышами, что дополнительная терапия мио-инозитолом имеет положительное влияние на развитие ооцитов через повышение внутриклеточного уровня кальция[34]. Эти же авторы описали связь между концентрацией мио-инозитола в фолликулярной жидкости, качеством ооцитов и уровнем эстрогена в фолликулярной жидкости *in vitro* на мышах и у человека во время цикла ЭКО [34]. Chiu et al. разделили на 2 группы ооциты, полученные от пациенток во время циклов ЭКО: в группе А были ооциты хорошего качества, в группе В – ооциты плохого качества. Было показано, что в группе А был значительно более высокий объём фолликулярной жидкости и уровень мио-инозитола в ней; более высокий уровень мио-инозитола был в фолликулярной жидкости ооцитов, из которых развились эмбрионы с хорошей морфологией; была также обнаружена положительная корреляция между уровнем мио-инозитола и эстрадиола в фолликулярной жидкости. По результатам международного консенсуса 2015 г., посвящённого применению мио-инозитола в ВРТ, были получены сведения о том, что мио-инозитол является важным составляющим микросреды фолликула, играя определяющую роль в ядерном и цитоплазматическом развитии ооцита[66].

Эффекты мио-инозитола у женщин с СПКЯ хорошо исследованы в рамках систематического рандомизированного исследования, которое показало улучшение функции яичников и метаболических и гормональных параметров у женщин с СПКЯ на фоне приёма мио-инозитола[75].

Несколько авторов заключили, что во время цикла ЭКО мио-инозитол в качестве трёхмесячной подготовки к стимуляции суперовуляции способен повысить качество ооцитов и эмбрионов, а также снизить стартовую и суммарную дозу гонадотропинов[31,61]. Однако нет данных, позволяющих оценить влияние мио-инозитола на результаты ЭКО, такие как имплантация и клинически подтверждённая беременность.

На сегодняшний день недостаточно исследований, посвящённых проблеме ведения пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции, и не существует достаточного количества данных для оценки влияния мио-инозитола у женщин репродуктивного возраста без СПКЯ во время цикла ЭКО. Так, Brusco et al. (2013) в своём исследовании показали, что мио-инозитол повышает качество ооцитов во время ИКСИ у пациенток с СПКЯ, или с предыдущей неудачной попыткой ИКСИ, или со слабым ответом[28]. Caprio et al. (2015) получили данные о возможном повышении вероятности наступления беременности, имплантации, повышения количества эмбрионов хорошего качества на фоне приёма мио-инозитола[31]. Эти результаты предполагают, что лечение мио-инозитолом ассоциировано с увеличением количества ооцитов и эмбрионов хорошего качества и повышением чувствительности яичников к гонадотропинам у пациенток со «слабым ответом», учитывая тот факт, что у таких пациенток техника проведения ЭКО ограничена повышенными дозами гонадотропинов и сниженным количеством ооцитов.

1.8 Форма выпуска препаратов, содержащих мио-инозитол.

Мио-инозитол доступен в двух формах – порошок и мягкие желатиновые капсулы. В рамках одного исследования были выявлены различия в биодоступности препарата мио-инозитола, а именно мягкие желатиновые капсулы показали фармакокинетический эффект схожий с 3 максимальными дозами мио-инозитола в порошках[64]. Macolsei et al. (2012) выяснили, что максимальный эффект мио-инозитола проявляется при минимальном сроке терапии в три месяца[52]. Сравнительный анализ четырёх препаратов мио-инозитола с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии показал, что только один препарат (Иноферт) содержал более чем 95% мио-инозитола от заявленного на этикетке[63].

Препарат мио-инозитола Иноферт зарегистрирован в России и является комплексом мио-инозитола и фолиевой кислоты в форме порошка в количестве 1000 мг и фолиевой кислоты в количестве 100 мкг в 1 саше. Рекомендуемая доза для поддержки овуляции во время цикла ЭКО – по 4 г мио-инозитола в сутки по схеме 2 саше утром в 100–150 мл воды и 2 саше вечером курсами от 1 до 3 месяцев. Женщинам также рекомендуется включать в диету продукты – концентраты мио-инозитола: дыню, гречневую кашу, капусту, апельсины, мандарины, проростки злаков, белую фасоль и турецкий горох.

1.9 Безопасность применения препаратов мио-инозитола

Следует подчеркнуть высокую безопасность использования мио-инозитола в клинической практике. Только в гипердозах (более 12 г/сут) мио-инозитол в редких случаях способен давать лёгкие побочные эффекты со стороны желудочно-кишечного тракта, такие как метеоризм и диарея, причём не прослеживается корреляции между тяжестью этих эффектов и повышением дозы препарата до 30–50 г. Доказано, что применение мио-инозитола в дозировке 4 г в сутки не имеет побочных эффектов[35]. В связи с быстрым метаболизмом мио-инозитола в желудочно-кишечном тракте и

быстрым достижением ткани-мишени, побочные эффекты не успевают развиться[23].

Таким образом, существует множество данных и статей об эффективности применения мио-инозитола у пациенток с СПКЯ, а также у здоровых женщин во время стимуляции суперовуляции. Тем не менее, не достаточно данных об использовании мио-инозитола у женщин со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции во время циклов ЭКО. В целом по итогам анализа литературных данных можно рекомендовать использование мио-инозитола в дозе 4 г/сут курсами по 4–12 недель для улучшения функции яичников, а также метаболических и гормональных показателей у пациенток с СПКЯ и без[5].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

2.1. Материалы исследования.

На базе ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта» был проведён ретроспективный анализ 50 историй болезней женщин со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции, обратившихся на отделение ВРТ с целью проведения процедуры ЭКО, в период с 2015 по 2016 годы. В основную группу вошли 32 пациентки, которым был назначен мио-инозитол (Inofert, Италия) в дозировке 2000 мг 2 раза в сутки за 2 месяца до начала стимуляции суперовуляции в качестве адьювантной терапии в программе ЭКО. Группу сравнения составили 18 пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции, не получавшие мио-инозитол.

Критериями включения в исследование являлись следующие факторы:

- возраст пациенток старше 35 лет,
- уровень АМГ < 1 нг/мл и/или число антарльных фолликулов менее 10 мм в диаметре на 2,3-й день цикла менее 5.

Критериями исключения из исследования являлись следующие факторы:

- пациентки с нарушением углеводного обмена;
- пациентки с ИМТ > 30;
- пациентки с противопоказаниями для вынашивания беременности.

2.2. Методы исследования.

В ходе исследования материала учитывались данные следующих видов исследования:

- клинико-anamnestическое обследование;
- соматический анамнез: наличие сопутствующих соматических заболеваний;
- данные лабораторных и инструментальных исследований (анализ уровня β -ХГЧ сыворотки крови, УЗИ органов малого таза, анализ уровня половых гормонов);
- статистическая обработка полученных результатов.

2.2.1 Протокол стимуляции суперовуляции и ЭКО.

У всех женщин использовался протокол с антагонистом гонадотропин релизинг фактора (антГн-РГ). В качестве индуктора овуляции использовался препарат рекомбинантного ФСГ (Gonal-F, Швейцария) или человеческий мочевой гонадотропин (Менориг, Германия) со 2-3-го дня менструального цикла. Стартовая доза подбиралась индивидуально в зависимости от возраста и веса пациентки. О созревании яйцеклеток судили косвенно по росту фолликулов с помощью аппарата ультразвукового исследования.

Рекомбинантный ХГЧ (Ovitrelle, Италия) в дозе 250 мкг использовался в качестве триггера овуляции, когда хотя бы два фолликула достигали диаметра 17-18 мм. Пункция фолликулов проводилась трансвагинально через 34-36 часов после введения рХГЧ.

2.2.2. Морфологическая оценка качества эмбрионов.

На стадии дробления качество эмбриона оценивалось по степени фрагментации (объему эмбриона, занимаемому безъядерными фрагментами цитоплазмы).

Наиболее общепринятая классификация дробящихся эмбрионов по качеству – АВ-С-Д, где А – самый лучший, D – самый худший. Цифрами указывают количество бластомеров[76].

- Тип А – эмбрион отличного качества без ануклеарных (безъядерных) фрагментов (4А)
- Тип В – эмбрион хорошего качества с содержанием ануклеарных фрагментов до 20% (4В)
- Тип С – эмбрион удовлетворительного качества с содержанием ануклеарных фрагментов от 21% до 50% (4С)
- Тип D – эмбрион неудовлетворительного качества с содержанием ануклеарных фрагментов более 50% (4D)

На стадии морулы проходит оценка компактизации эмбриона:

(А) Grade 4: эмбрион полностью компактизован. Клеточные мембраны видны нечетко, но ядра различимы;

(B) Grade 3: компактизовано более 75 % бластомеров. Эмбрион сохраняет сферичную форму и гладкую поверхность;

(C) Grade 2: частичная компактизация (около 50 % бластомеров), аномальная морфология эмбриона;

(D) Grade 1: компактизация менее 50 % бластомеров. Различимы фрагменты и некомпактизовавшиеся бластомеры[69].

После достижения стадии бластоцисты эмбрион был перенесён в полость матки или криоконсервирован для переноса в последующих циклах.

Перенос эмбрионов в матку осуществлялся на 5-е сутки развития (среднее время культивирования составило 4 дня), при этом количество переносимых эмбрионов не превышало двух. В некоторых случаях, также, производилась криоконсервация эмбрионов для последующего возможного использования в криоциклах.

На 14-15 день после переноса эмбрионов проводился контроль уровня β -ХГЧ сыворотки крови. При превышении табличного критического значения β -ХГЧ результат ЭКО оценивался как биохимическая беременность.

Для статистической обработки результатов исследования использовался пакет компьютерных программ «Statistica -13». Для оценки межгрупповых различий изучаемых показателей применялся параметрический критерий Стьюдента. Статистический анализ качественных показателей проводился на основе данных, сгруппированных в таблицы сопряженности, с применением критерия согласия Пирсона (хи-квадрат). С целью нахождения линейной связи между двумя величинами использовался коэффициент корреляции Гау Кендалла. Критический уровень значимости (p) нулевой статистической гипотезы (об отсутствии значимых различий) принимался равным 0,05.

Конечные точки исследования: уровень β -ХГЧ более 100 международных единиц на 14-й день после предполагаемой овуляции, визуализация плодного яйца в полости матки на 21-й день после овуляции по УЗИ.

Результаты, полученные в ходе исследования, отражают тенденцию; для повышения точности и надёжности данных результатов необходимо увеличить численность выборки.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Общая характеристика исследуемых женщин

Данные, полученные в ходе исследования, позволили сформировать следующие две группы сравнения:

- основная группа – женщины со «слабым ответом», принимавшие мио-инозитол. n=32.
- группа сравнения – женщины со «слабым ответом», не получавшие мио-инозитол. n=18.

Статистически значимых различий между двумя группами по возрасту менархе, среднему возрасту, длительности бесплодия, количеству попыток ЭКО в анамнезе, проценту первичного бесплодия, уровню ФСГ, АМГ и пролактину не обнаружено ($p > 0,05$). Уровень АМГ в обеих группах составил менее 1 нг/мл, что является характерным признаком «слабого ответа» на стимуляцию суперовуляции. Более подробные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1. Клинико-анамнестическая характеристика пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции в цикле ЭКО.

	основная группа (n=32)	группа сравнения (n=18)	p
Возраст, лет	37,93 ($\pm 2,62$)	38,11 ($\pm 2,88$)	> 0.05
Возраст менархе, лет	12,48 ($\pm 0,83$)	12,79 ($\pm 0,48$)	> 0.05
Длительность бесплодия, лет	7,45 ($\pm 1,86$)	8 ($\pm 1,33$)	> 0.05
Количество попыток ЭКО в анамнезе	1,16 ($\pm 0,98$)	1 ($\pm 0,82$)	> 0.05
Процент первичного бесплодия, %	36,6%	55,5%	> 0.05
ФСГ, МЕ/л	9,17 ($\pm 2,91$)	8,69 ($\pm 2,20$)	> 0.05
АМГ, нг/мл	0,86 ($\pm 0,49$)	0,71 ($\pm 0,33$)	> 0.05
Пролактин	277,6 ($\pm 32,24$)	255 ($\pm 41,59$)	$> 0,05$
Расчет критерия Стьюдента			

При анализе гинекологического анамнеза пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции не было обнаружено статистически значимых различий между двумя группами (таблица 2). Тем не менее, следует заметить, что в обеих группах чаще всего встречается хронический двусторонний сальпингоофорит (47% и 72% соответственно, $p > 0,05$), реже встречаются

оперативные вмешательства на органах малого таза (44% и 50% соответственно, $p > 0,05$), ещё реже – миома матки (19% и 16% соответственно, $p > 0,05$). На долю спаечной болезни малого таза, аденомиоза и наружного генитального эндометриоза в обеих группах в сумме приходится 18% и 27% соответственно. Доля пациенток старше 40 лет среди пациенток со «слабым ответом» в основной группе и в группе сравнения составила 25% и 39% соответственно ($p > 0,05$).

Таблица 2. Характеристика пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции по гинекологическому анамнезу, %

	основная группа	группа сравнения	P
Хронический двусторонний сальпингоофорит	47	72	$> 0,05$
Оперативные вмешательства на органах малого таза	44	50	$> 0,05$
Миома матки	19	16	$> 0,05$
Спаечная болезнь малого таза	9	11	$> 0,05$
Аденомиоз	6	5	$> 0,05$
Наружный генитальный эндометриоз	3	11	$> 0,05$
Расчет критерия Стьюдента			

При изучении протоколов циклов ЭКО удалось получить следующие данные:

Таблица 3. Сравнительный анализ характеристик циклов ЭКО у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции между двумя группами.

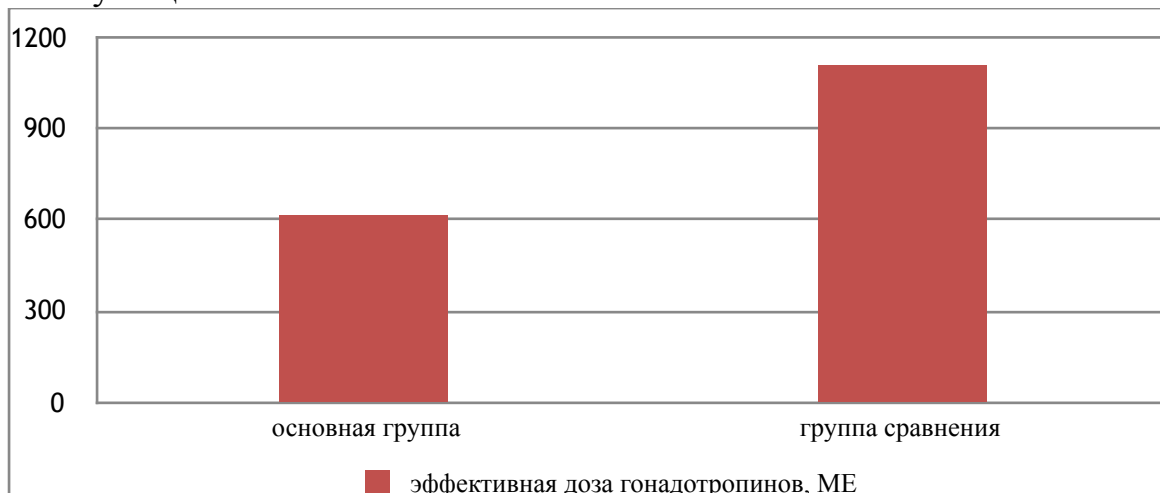
	основная группа	группа сравнения	p
Продолжительность стимуляции суперовуляции, дней	7,37 ($\pm 0,55$)	8,69 ($\pm 0,63$)	$> 0,05$
Суммарная доза гонадотропинов, МЕ	2284,66 ($\pm 276,38$)	3470,83 ($\pm 718,75$)	$< 0,05$
Количество полученных фолликулов	5,26 ($\pm 1,72$)	3,93 ($\pm 1,58$)	$> 0,05$
Количество полученных зрелых ооцитов	5,42 ($\pm 0,96$)	2,71 ($\pm 1,71$)	$> 0,05$

Исходя из данных таблицы 3, статистически значимых различий между количеством полученных в циклах ЭКО фолликулов и количеством зрелых ооцитов между двумя группами не выявлено. Однако, суммарная доза гонадотропинов в группе пациенток, получавших мио-инозитол, составляет 2284,66 ($\pm 276,38$) МЕ, в то время, как в контрольной группе – 3470,83 ($\pm 718,75$) МЕ. Это различие является статистически значимым ($p < 0,05$). Также прослеживается тенденция в уменьшении длительности протокола стимуляции суперовуляции в основной группе пациенток, что говорит о возможном повышении чувствительности яичников к гонадотропинам в этой группе.

Для оценки выраженности ответа яичников на стимуляцию препаратами гонадотропинов используется отношение суммарной дозы гонадотропинов к количеству полученных зрелых ооцитов. Это отношение является значением эффективной дозы гонадотропинов, которое условно отражает то количество гонадотропинов, которое необходимо потратить для созревания одного ооцита. Следовательно, чем выше эффективная доза, тем ниже ответ яичников на стимуляцию.

По данным графика 1, эффективная доза гонадотропинов в основной группе в 1,79 раз ниже в сравнении с группой сравнения ($618,35 \pm 265,32$ МЕ и $1108,5 \pm 486,37$ МЕ соответственно, $p < 0,05$). Таким образом, ответ на стимуляцию суперовуляции в группе пациенток, получавших мио-инозитол, оказался выше, чем в группе сравнения.

График 1. Сравнительная оценка эффективной дозы гонадотропинов в цикле ЭКО у пациенток со «слабым ответом»



3.2 Оценка эмбриологического этапа.

При оценке эмбриологического этапа не было выявлено достоверных различий в обеих группах между показателями количества и качества эмбрионов, а также количеством криоконсервированных эмбрионов (таблица 4).

Таблица 4. Сравнительная оценка качества эмбрионов

	основная группа	группа сравнения	p
Количество эмбрионов хорошего качества (класс А,В)	4,14 ($\pm 1,22$)	2,35 ($\pm 0,85$)	> 0,05
Общее количество эмбрионов	4,18 ($\pm 0,72$)	2,15 ($\pm 1,15$)	> 0,05
Количество криоконсервированных эмбрионов	2,31 ($\pm 0,67$)	1,07 ($\pm 0,93$)	> 0,05
Расчет критерия Стьюдента			

С целью нахождения связи между факторами результативности протоколов ЭКО и приёмом мио-инозитола у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции был проведён корреляционный анализ (таблица 5).

Таблица 5. Сопоставление факторов результативности протоколов ЭКО с применением мио-инозитола у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции

	t	Критическое значение t	p
Количество зрелых ооцитов	0,57	0,19	< 0,05
Количество эмбрионов хорошего качества	0,46	0,19	< 0,05
Количество криоконсервированных эмбрионов	0,12	0,19	> 0,05
Расчет коэффициента корреляции Тау Кендалла			

Полученные данные свидетельствуют о том, что прослеживается статистически значимая связь между количеством зрелых ооцитов и количеством эмбрионов хорошего качества и приёмом мио-инозитола.

3.3 Анализ результативности протоколов ЭКО.

Успешность протокола ЭКО оценивалась на основании следующих показателей:

- анализа β -ХГЧ в сыворотке крови на 14 день после переноса эмбрионов и его сопоставление с табличным критическим значением (биохимическая беременность)
- наличия плодного яйца в полости матки с помощью метода УЗИ через 7-10 дней после анализа на β -ХГЧ (клиническая беременность).

В обеих группах исследования число биохимических беременностей оказалось равным числу беременностей, подтверждённых по УЗИ.

Таблица 6. Процент наступления беременности (биохимической и клинической) в результате программы ЭКО у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции

	основная группа	группа сравнения	χ^2	p
Наступление беременности	8	3	4,338	> 0.05
Беременность не наступила	24	15		
Расчет критерия Пирсона (хи-квадрат)				

По данным таблицы 6, статистически значимых различий в частоте наступления беременности в ходе циклов ЭКО между группами сравнения нет, однако прослеживается тенденция в сторону повышения шанса наступления беременности в группе пациенток, получавших мио-инозитол. Для оценки шанса наступления беременности у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции был проведен расчёт отношения шансов (OR) и были получены следующие результаты (таблица 7):

Таблица 7. Влияние применения мио-инозитола на возможность наступления беременности в программе ЭКО у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции

		р
Шанс наступления беременности в основной группе	0.333	< 0,05
Шанс наступления беременности в группе сравнения	0.200	< 0,05
Отношение шансов (OR)	1.667	< 0,05

Анализируя данные приведенного расчета, можно сделать вывод о том, что существует вероятность наступления беременности в группе пациенток со «слабым ответом», принимавших мио-инозитол в качестве адъювантной терапии в цикле ЭКО в 1,7 раз выше, чем в группе сравнения ($p < 0,05$).

Как было показано выше, прослеживается тенденция в повышении чувствительности яичников к стимуляции суперовуляции в группе пациенток со «слабым ответом», принимавших мио-инозитол, что выражается в значительном уменьшении суммарной и эффективной дозы гонадотропинов по сравнению с группой сравнения, а также в наличии статистически значимой зависимости количества и качества эмбрионов от применения мио-инозитола.

3.4 Оценка безопасности применения мио-инозитола.

В связи с отсутствием каких-либо данных о наличии серьёзных неблагоприятных явлений, связанных с приёмом мио-инозитола, можно

сделать вывод о том, что применение мио-инозитола является безопасным для женщин, планирующих беременность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одними из основных причин «слабого ответа» яичников на стимуляцию суперовуляции в циклах ЭКО являются поздний возраст пациенток, а также наличие в анамнезе указаний на оперативные вмешательства на органах малого таза, спаечную болезнь малого таза и некоторые эндокринные заболевания, которые в значительной степени снижают овариальный резерв пациенток. «Слабый ответ» на стимуляцию гонадотропинами значительно снижает шансы пациенток на успешное проведение циклов ЭКО и наступление беременности. Несмотря на то, что данная проблема является предметом интереса многих специалистов в области ВРТ, на сегодняшний день не существует достоверно эффективного метода терапии, которой мог бы быть рекомендован пациенткам со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции. Тем не менее, опираясь на результаты многих клинических исследований, можно предположить, что мио-инозитол может повысить чувствительность яичников к стимуляции гонадотропинами в цикле ЭКО.

Были проанализированы две группы пациенток, сопоставимых по клиничко-анамнестическим данным (средний возраст, возраст менархе, длительность бесплодия, количество попыток ЭКО в анамнезе, уровень ФСГ, АМГ, пролактина). При этом в основной группе были пациентки со «слабым ответом», принимавшие мио-инозитол за 2 месяца до начала индукции суперовуляции, тогда как в группе сравнения были пациентки со «слабым ответом», не получавшие мио-инозитол.

Были определены статистически значимые различия ($p < 0.05$) в средней суммарной и эффективной дозах назначаемых гонадотропинов, при этом пациенткам из основной группы назначалась в 1,79 раз меньшая эффективная доза, чем пациенткам из группы сравнения. Таким образом, было определено, что в группе пациенток, получавших мио-инозитол,

овариальный ответ на стимуляцию препаратами гонадотропинов выше в сравнении с таковым у пациенток, не принимавших мио-инозитол.

Статистически значимых различий между двумя группами сравнения не удалось обнаружить в количестве полученных зрелых ооцитов. Однако удалось выяснить, что шанс наступления беременности в 1,7 раз выше в основной группе пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции ($p < 0.05$).

В связи с отсутствием данных из историй болезни о каких-либо побочных эффектах, связанных с приёмом мио-инозитола, можно предположить, что данный препарат является безопасным для женщин, планирующих лечение бесплодия методами ВРТ.

На сегодняшний день существует недостаточно данных о влиянии мио-инозитола на репродуктивную систему женщин репродуктивного возраста с факторами риска развития «слабого ответа» на стимуляцию суперовуляции. Некоторые исследования на моделях мышей показали, какую роль играет мио-инозитол в качестве предшественника важнейших молекул, участвующих в сигнальной трансдукции, тем самым повышая количество ооцитов[32]. Основными показателями результативности стимуляции суперовуляции являются концентрация эстрадиола и количество фолликулов. Была обнаружена связь между концентрацией мио-инозитола в фолликулярной жидкости и повышением значений этих двух показателей[33].

Не смотря на отсутствие достоверных данных о влиянии мио-инозитола на чувствительность яичников к препаратам гонадотропинов у пациенток со «слабым ответом», Unfer V. et al. (2012) приводят результаты своего исследования, в котором демонстрируют положительное влияние мио-инозитола на результативность циклов ЭКО у пациенток данной категории[75].

В проспективном контролируемом исследовании 2015 г. были получены результаты, указывающие на то, что мио-инозитол оказывает влияние на результативность циклов ЭКО у пациенток со «слабым ответом»

на стимуляцию суперовуляции[31], а именно повышает чувствительность яичников к препаратам гонадотропинов и увеличивает количество ооцитов, полученных в циклах ЭКО.

До сих пор ещё не найден достоверно эффективный метод повышения чувствительности яичников к гонадотропинам у пациенток со «слабым ответом». Однако, несмотря на сравнительно небольшую выборку данного исследования, можно предположить, что мио-инозитол оказывает положительное влияние на результативность циклов ЭКО, а именно повышает вероятность наступления беременности у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции.

Выводы:

1. Использование мио-инозитола в качестве адьювантной терапии в цикле ЭКО у пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции позволяет повысить вероятность наступления беременности (OR = 1,667; $p < 0,05$).
2. Мио-инозитол повышает чувствительность яичников пациенток со «слабым ответом» на стимуляцию суперовуляции препаратами гонадотропинов, что иллюстрируется более низкой по сравнению с группой сравнения суммарной ($2284,66 \pm 276,38$ МЕ и $3470,83 \pm 718,75$ МЕ соответственно, $p < 0,05$) и эффективной дозой гонадотропинов ($618,35 \pm 265,32$ МЕ и $1108,5 \pm 486,37$ МЕ соответственно, $p < 0,05$).
3. Применение мио-инозитола связано с изменением количества получаемых ооцитов и эмбрионов хорошего качества ($t = 0,57$ и $0,46$ соответственно, $p < 0,05$).
4. Адьювантная терапия мио-инозитолом не вызывает серьезных неблагоприятных явлений, что свидетельствует о безопасности его применения у пациенток, проходящих лечение бесплодия методами ВРТ.

Список литературы

1. Боярский К. Ю. Фолликулогенез и современная овариальная стимуляция (обзор литературы) / К. Ю. Боярский // Проблемы репродукции. – 2002.– № 1. – С. 36–43.
2. Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н. Роль антимюллера гормона (АМГ) в норме и при различных гинекологических заболеваниях // Журнал Акушерства и женских болезней. – 2009. – Т. 58. – № 3. – С. 74–83.
3. Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н. Патофизиологические механизмы старения репродуктивной функции у женщин после 40 лет // Пробл. Репрод. – 2011. №3. – С. 6-13.
4. Габелова К. А. Аутоиммунный оофорит (патогенез, клиника, диагностика, лечение): пособие для врачей. /К. А. Габелова, А. М. Гзгзян, В. В. Потин, В. В. Рулев. – СПб: Н-Л, 2010. – 32 с.
5. Громова О.А., Торшин И.Ю., Лиманова О.А. Перспективы использования миоинозитола у женщин с поликистозом яичников и инсулинорезистентностью в программах прегравидарной подготовки к экстракорпоральному оплодотворению. // Эффективная фармакотерапия. - 51/2013. – Акушерство и гинекология. № 5
6. Кабанова Д. И. Сравнение протоколов стимуляции суперовуляции рекомбинантным ФСГ с агонистами и антагонистами ГнРГ у пациенток с СПКЯ в зависимости от исходного состояния яичников. /Д. И. Кабанова, К. В. Краснопольская, А. С. Калугина, С. М. Белобородов. //Проблемы репродукции. –2004.–№ 2. –с. 34–42.
7. Корсак В. С. Влияние резекции яичников на их функциональный резерв. /В. С. Корсак, В. Н. Парусов, А. А. Кирсанов и др. //Проблемы репродукции. –1996. –№ 4. –с. 63–67.
8. Краснопольская К. В. Клинические аспекты лечения бесплодия в браке. Монография / К. В. Краснопольская, Т. А. Назаренко. – М.: ГЭОТАР–Медиа. – 2013.–376 с.
9. Краснопольская К. В. Феномен бедного ответа яичников на стимуляторы овуляции в программах ЭКО (обзор литературы). /К. В. Краснопольская, А. С. Калугина. // Проблемы репродукции. –2004. –т. 10. –№ 1. –с. 51–58.
10. Крстич Е.В., Крстич М., Юдаев В.Н Влияние качества ооцитов и состояния овариального резерва на терапевтический потенциал экстракорпорального

оплодотворения у пациенток позднего репродуктивного возраста. // Альманах клинической медицины . – 2014. - №31

11. Кустаров В. Н. Влияние возраста на частоту наступления беременности в программе ЭКО // Проблемы репродукции. – 1999. – Т. 5., № 1. – С. 46–49.
12. Лиманова О.А., Громова О.А., Торшин И.Ю., Громов А.Н., Гришина Т.Р. Систематический анализ молекулярно-физиологических эффектов мио-инозитола: данные молекулярной биологии, экспериментальной и клинической медицины. // Эффективная фармакотерапия. - 58/2013. – Акушерство и гинекология. № 3
13. Макарова Н.П., Калинина Е.А. Критерии оценки качества ооцита в циклах ИКСИ: взгляд клинического эмбриолога. // Гинекология. – 2012; 14: 3: 24—28.
14. Назаренко Т.А. «Бедный ответ». Тактика ведения пациенток со сниженной реакцией на стимуляцию гонадотропинами в программах ЭКО / Т. А. Назаренко, К. В. Краснопольская. – М.: МЕДпресс-информ, 2012. – 80 с.
15. Назаренко Т.А. Бесплодие и возраст: пути решения проблемы. Монография /Т. А. Назаренко, Н. Г. Мишиева – М.: МЕДпресс-информ, 2010. –208 с.
16. Назаренко Т.А. Стимуляция функции яичников. / Т.А.Назаренко. – 5-е изд., доп. И перераб. – М. :МЕДпресс-информ, 2015.
17. Применение эстрогенов в программах ВРТ. Научно-практические рекомендации. РАРЧ, 2015.
18. Проблемы репродукции. – 2014. – том 20, стр. 13-21.
19. Репродуктивное здоровье населения России 2011. Резюме отчета. ЮНФПА, 2012.
20. Тишкевич О. А. Клинико-эмбриологическая оценка результатов экстракорпорального оплодотворения в зависимости от возраста пациенток. / О. А. Тишкевич, А. Б. Жабинская, Е. В. Малышева. //Проблемы репродукции. –2004. –т. 10.–№ 2. –с. 33–37.
21. Altuntas G.Z. Autoimmune targeted disruption of the pituitary-ovarian axis causes premature ovarian failure. / Altuntas G. Z., Johnson J. M., Tuohy V. K. //J. Immunology. –2006. –v. 177. –pp. 1988–1996.
22. Alpha scientists in reproductive medicine and ESHRE special interest group of embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. Hum Reprod 2011; 26: 1270-1283.

23. Azem F., Yaron Y., Amit A., Yovel I., Barak Y., Peyser M.R., David M.P., Lessing J.B. How many embryos to transfer in patients undergoing IVF? *Hum Reprod* 1996;11(1):229-30.
24. Badawy A. et al. Prediction and Diagnosis of Poor Ovarian Response: The Dilemma. // *J. Reprod. Infertil.* – 2011. – Vol. 12 (4). – P. 241-248.
25. Beemsterboer S. FSH receptor polymorphism and treatment of poor responders. / Beemsterboer S., Sriram J.D., Schats R. et al. // *Hum. Reprod.* –2006. –v. 21. –Suppl.: Abstract Book. –P-334. –i.129.
26. Benjamin J, Levine J, Fux M, et al. Double-blind, placebo-controlled, crossover trial of inositol treatment for panic disorder. *Am J Psychiatry* 1995;152:1084-6.
27. Berridge M.J. Inositol trisphosphate and calcium signaling // *Nature*. 1993. Vol. 361. № 6410. P. 315–325.
28. Brusco GF, Mariani M. Inositol effects on oocyte quality in patients undergoing ICSI. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2013; 17: 3095-102.
29. Carlomagno G, De Grazia S, Unfer V, Manna F. Myo-inositol in a new pharmaceutical form: a step forward to a broader clinical use. *Expert Opin Drug Deliv*, 2012; 9(3): 267-71.
30. Carlomagno G, Unfer V. Inositol safety Clinical evidences. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2011; 15: 931-6.
31. Caprio F. et al. Myo-inositol therapy for poor-responders during IVF: a prospective controlled observational trial. // *Journal of Ovarian Research* (2015) 8:37
32. Chiu TT, Tam PP. A correlation of the outcome of clinical in vitro fertilization with the inositol content and embryotrophic properties of human serum. *J Assist Reprod Genet* 1992;9:524–30.
33. Chiu TT, Rogers MS, Law EL, Briton-Jones CM, Cheung LP, Haines CJ. Follicular fluid and serum concentrations of myo-inositol in patients undergoing IVF: relationship with oocyte quality. *Hum Reprod*. 2002;17(6):1591–6.
34. Chiu TT, Rogers MS, Briton-Jones C, Haines C. Effects of myo-inositol on the in-vitro maturation and subsequent development of mouse oocytes. *Hum Reprod*. 2003;18(2):408–16
35. Ciotta L, Stracquadanio M, Pagnao I, Carnonaro A, Palimbo M, Gulino F. Effect of myo-inositol supplementation on oocytes quality in PCOS patients: a double blind trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2011; 15: 509-14.
36. Clements R.S. Jr., Darnell B. Myo-inositol content of common foods: development of a high-myo-inositol diet // *Am. J. Clin. Nutr.* 1980. Vol. 33. № 9. P. 1954–1967.

37. Colacurci N, Caprio F, La Verde E, Trotta C, Ianniello R, Mele D, et al. Sequential protocol with urinary-FSH/recombinant-FSH versus standard protocol with recombinant-FSH in women of advanced age undergoing IVF. *Gynecol Endocrinol.* 2014;30(10):730–3.
38. Condorelli R.A., La Vignera S., Di Bari F. et al. Effects of myo-inositol on sperm mitochondrial function in-vitro // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2011. Vol. 15. № 2. P. 129–134.
39. Condorelli R.A., La Vignera S., Bellanca S. et al. Myo-inositol: does it improve sperm mitochondrial function and sperm motility? // *Urology.* 2012. Vol. 79. № 6. P. 1290–1295.
40. De Castro F. Human controlled ovarian hyperstimulation outcome is a polygenic trait. / De Castro F., Morón F.J., Montoro L. et al. // *Pharmacogenetics.* –2004. –v.
41. Ebner T et al. Developmental fate of ovoid oocytes. *Hum Reprod* 2008; 23: 62-66.
42. Gerasimenko J.V., Flowerdew S.E., Voronina S.G. et al. Bile acids induce Ca²⁺ release from both the endoplasmic reticulum and acidic intracellular calcium stores through activation of inositol trisphosphate receptors and ryanodine receptors // *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281. № 52. P. 40154–40163.
43. Goud P.T., Goud A.P., Leybaert L. et al. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor function in human oocytes: calcium responses and oocyte activation-related phenomena induced by photolytic release of InsP(3) are blocked by a specific antibody to the type I receptor // *Mol. Hum. Reprod.* 2002. Vol. 8. № 10. P. 912–918.
44. Greene ND. Genetics of human neural tube defects. *Hum Mol Genet*, 2009; 18: 113-29.
45. Hendriks D.J. et al. Expected poor ovarian response in predicting cumulative pregnancy rates : a powerful tool / // *J. Reprod. Biomed. Online.* – 2008. – Vol. 17.– P. 727-736.
46. Kamble L. et al. Poor responders to controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization (IVF) / // *Hum. Fertil. (Camb).* – 2011. – Vol. 14 (4). –P. 230-245.
47. Kutateladze TG. Translation of the phosphoinositide code by PI effectors. *Nat Chem Biol.* 2011;6(7):507–13
48. Lerner J. D-chiro-inositol – its functional role in insulin action and its deficit in insulin resistance // *Int. J. Exp. Diabetes. Res.* 2002. Vol. 3. № 1. P. 47–60.
49. Levine J, Barak Y, Gonzalves M, Szor H, Elizur A, Kofman O, Belmaker RH. Doubleblind controlled trial of inositol treatment of depression. *Amer J Psychiatr*, 1995; 152(5): 792-4.

50. Lisi et al. Pretreatment with myo-inositol in non polycystic ovary syndrome patients undergoing multiple follicular stimulation for IVF: a pilot study. // *Reproductive Biology and Endocrinology* 2012, 10:52
51. Loutradis D. et al. Poor responder protocols for in-vitro fertilization: options and results // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* –2008. – Vol. 20 (4). – P. 374-378.
52. Macolsei. Schillaci R, Mangione D, Lo Monte G, Vassiliadis A. Inositol supplementation and IVF outcome: preliminary data. *It. J. Gynæcol. Obstet.*, 2012; 24: 38-44
53. Myoinositol: a review of its use in patients with polycystic ovary syndrome. Chinthana Govindarajan, Revathi Pitchaipillai, Bhuvanewari Shanmugasundaram, Sudhananthini Thangam, Jegan Arokiasamy and Manickavasagam Subramania Pillai.// *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. Volume 4, Issue 06, 137-155. 2015
54. Nordio M., Proietti E. The combined therapy with myo-inositol and D-chiro-inositol reduces the risk of metabolic disease in PCOS overweight patients compared to myo-inositol supplementation alone // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2012. Vol. 16. № 5. P. 575–581.
55. On behalf of the ESHRE working group ESHRE consensus on the definition of ‘poor response’ to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria / A. P. Ferraretti [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 26 (7). – P. 1616-1624.
56. Ovarian Stimulation Protocol in IVF: An Up-to-Date Review of the Literature
57. Alessandro Pacchiarotti et al. // *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2016, 17, 303-315
58. Padhy N. Demographic characteristics and clinical profile of poor responders in IVF/ICSI : a comparative study / N. Padhy [et al.] // *J. Hum. Reprod. Sci.* – 2010. –Vol. 3 (2). – P. 91-94.
59. Palatnik A, Frolov K, Fux M, Benjamin J. Double-blind, controlled, crossover trial of inositol versus fluvoxamine for the treatment of panic disorder. *J Clin Psychopharmacol*, 2001; 21(3): 335-9.
60. Pandian Z, McTavish AR, Aucott L, Hamilton MP, Bhattacharya S. Interventions for ‘poor responders’ to controlled ovarian hyper stimulation (COH) in in-vitro fertilisation (IVF). *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;1, CD004379.
61. Papaleo E, Unfer V, Baillargeon JP, Fusi F, Occhi F, De Santis L. Myo-inositol may improve oocyte quality in intracytoplasmic sperm injection cycles. A prospective, controlled randomized trial. *Fertil Steril.* 2009;91(5):1750–4.
62. Papaleo E., Unfer V., Baillargeon J.P. et al. Contribution of myo-inositol to reproduction // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2009. Vol. 147. № 2. P. 120–123.

63. Papaleo E., Molgora M., Quaranta L. et al. Myo-inositol products in polycystic ovary syndrome (PCOS) treatment: quality, labeling accuracy, and cost comparison // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2011. Vol. 15. № 2. P. 165–174.
64. Pogacnik L.R. et al. Possible role of autoimmunity in patients with premature ovarian insufficiency / Int. J.Fertil. Steril. – 2014. – Vol. 7 (4). – P.
65. Prospective Randomized Study on the Influence of Myoinositol in PCOS Women Undergoing IVF in the Improvement of Oocyte Quality, Fertilization Rate, and Embryo Quality / Bernd Lesoine¹ and Pedro-Antonio Regidor // International Journal of Endocrinology. Volume 2016, Article ID 4378507
66. Results from the International Consensus Conference on myo-inositol and D-chiro-inositol in Obstetrics and Gynecology – assisted reproduction technology / Arturo Bevilacqua¹ et al. ISSN: 0951-3590 // Gynecol Endocrinol. 2015
67. Review Article How to Achieve High-Quality Oocytes? The Key Role of Myo-Inositol and Melatonin / Salvatore Giovanni Vitale et al. // International Journal of Endocrinology. Volume 2016, Article ID 4987436
68. Tesarik J., Sousa M. Mechanism of calcium oscillations in human oocytes: a two-store model // Mol. Hum. Reprod. 1996. Vol. 2. № 6. P. 383–386.
69. Tao J., R. Tamis, K. Fink, B. Williams, T. Nelson-White, R. Craig The neglected morula/compact stage embryo transfer // Hum. Reprod. – 2002. – Vol. 17. – P. 1513–1518.
70. Silva, C. A. Maintenance of fertility in patients with rheumatic diseases needing antiinflammatory and immunosuppressive drugs / C. A. Silva, E. Bonfa, M.Ostensen // Arthritis Care Res. (Hoboken). – 2010. – Vol. 62. – P. 1682-1690.
71. Society for Assisted Reproductive Technology and the American Society for Reproductive Medicine. Assisted reproductive technology in the United States : 2001 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/Society for Assisted Reproductive Technology registry // Fertil. Steril. – 2007. – Vol. 87 (6). – P. 1253-1266.
72. Subclinical impairment of ovarian reserve in juvenile systemic lupus erythematosus after cyclophosphamide therapy / N. E. Aikawa [et al.] // Clin. Exp.Rheumatol. – 2012. – Vol. 30. – P. 445-459.
73. Sun W. A new approach to ovarian reserve testing. /Sun W., Stegmann B. J., Henne W. et al. //Fertil. Steril. –2008. –v. 90. –pp. 2196–2202.

74. Ulug U. et al. Conception rates following assisted reproduction in poor responder patients: a retrospective study in 300 consecutive cycles // *Reprod. Biomed. Online.* – 2003. – Vol. 6. – P. 439-443.
75. Unfer V., Carlomagno G., Dante G. et al. Effects of myo-inositol in women with PCOS: a systematic review of randomized controlled trials // *Gynecol. Endocrinol.* 2012. Vol. 28. № 7. P. 509–551.
76. Van Steisterghem A, Nagy Z, Joris H, Liu J, Staessen C, Smits J, et al. High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1993;8:1061-6.
77. Vanky E., Carlsen S.M. Androgens and antimullerian hormone in mothers with polycystic ovary syndrome and their newborns // *Fertil Steril.* – 2012. – 97(2).
78. Veleva Z. et al. An initial low response predicts poor outcome in in vitro fertilization/ intracytoplasmic sperm injection despite improved ovarian response in consecutive cycles // *Fertil. Steril.* – 2015. – Vol. 83. – P. 1384-1390.
79. Wisner A., Gonen O., Ghetler Y. et al. Addition of dehydroepiandrosterone (DHEA) for poor-responder patients before and during IVF treatment improves the pregnancy rate: A randomized prospective study // *Hum. Reprod.* – 2010. – Vol. 25, №10.