

Квашнина Е.В.¹, Тутаков М.А.¹, Томина Е.В.¹, Берестецкая О.С.¹,
Немсцверидзе Э.Я.², Шилова Н.В.²

Сегментация цикла вспомогательных репродуктивных технологий как инструмент повышения эффективности преодоления бесплодия

1 — ЗАО ЦНРФ Партус, Екатеринбург, 2 — Сеть клиник репродуктивного здоровья «Центр ЭКО», Москва

Kvashnina E.V., Tutakov M.A., Tomina E.V., Berestetskaya O.S., Nemstsveridze E.Ya., Shilova N.V.

The segmentation cycle assisted reproductive technologies as a tool to improve the effectiveness of overcoming infertility

Резюме

Цель. Оценить эффективность протоколов ЭКО ИКСИ в зависимости от возраста пациенток, овариального резерва и их ответа на стимуляцию овуляции. Материал и методы. Проведен анализ 726 циклов ЭКО ИКСИ и 358 циклов переноса размороженного эмбриона у пациенток, проходивших лечение бесплодия в 2017-2018 годах. Анализ касался возраста пациенток, количества антральных фолликулов и ооцит-кумулюсных комплексов, оценивались зрелые ооциты, количество и качество эмбрионов на 3 сутки, 5 сутки и на момент переноса, число эмбрионов, подвергшихся заморозке и биопсии. Критериями успешности исхода программы считали количество клинических беременностей, а также количество прогрессирующих и регрессирующих беременностей. Результаты. В зависимости от ответа пациентки на стимуляцию отличались показатели эффективности программы ЭКО ИКСИ. У пациенток старше 39 лет фактором риска отмены программы ЭКО ИКСИ из-за отсутствия эмбриона к 3-5 суткам культивации являлось наличие менее 7 антральных фолликулов на день старта протокола. Неселективный перенос эмбриона при малом количестве генетического материала являлся фактором риска малой эффективности цикла ЭКО ИКСИ (до 21% частота клинической беременности). Сегментация цикла для проведения криопереноса с результатом предимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А) повышало эффективность программы с 33% до 50% на перенос эмбриона с высокой криотолерантностью. Выводы: Показано, что контроль на эмбриологическом этапе программы ЭКО ИКСИ и возможность выбора высококачественного эмбриона на перенос достоверно увеличивало долю успешных циклов ЭКО ИКСИ по частоте клинических беременностей с 21% до 34% ($p < 0,05$) у женщин в возрасте 35-36 лет с субоптимальным ответом на стимуляцию. Проведение ПГТ-А для отбора эмбрионов в циклах криопереноса формировало тенденцию к повышению эффективности цикла ЭКО ИКСИ у женщин в возрасте старше 36 лет.

Ключевые слова: ЭКО ИКСИ, криоперенос, ПГТ-А, сегментация цикла ЭКО

Summary

Purpose. Evaluate the efficiency of IVF ICSI in dependency of the patients' age, ovarian reserve and their response to the ovulation stimulation. Materials and methods. Analyzed 726 cycles IVF ICSI and 358 cycles of unfrozen embryo transfer with a patients, undergoing infertility treatment in years 2017-2018. Analysis concerned age of patients, quantity of antral follicle and oocyte-cumulus complexes, evaluated mature oocytes only, quantity and quality of embryos on the third day, fifth day and at the moment of transferring, quantity of embryos, undergone freezing and biopsy, as well as quantity of progressing and regressing pregnancies. Results. Depending on the patient's response to the stimulation, the efficiency indicators of IVF ICSI varied. For patients older 39 years, the factor risk of cancelling the IVF ICSI program, due to absence of embryo to the 3-5 days of cultivation, was the availability of less than seven antral follicles to the day of protocol start. With a small amount of genetic material, non-selective method is the risk factor, announcing the low efficiency of IVF ICSI cycle up to 21% clinical pregnancy rate. Segmentation of a cycle, for holding cryo transplantation with a result of pre implantable genetic aneuploidy testing (PGT-A), increased the efficiency of program from 33% up to 50% for the high cryo tolerance embryo transfer. Conclusion. Shown, that

the control on the embryological stage of IVF ICSI and the ability of choosing the high-quality embryo for a transfer, reliably increased the percentage of successful IVF ICSI cycles by the frequency of clinical pregnancies from 21% up to 34% ($p < 0,05$) among women aged 35-36 years, with a sub-optimal response to the stimulation. The holding of PGT-A for the selection of embryos in cycles of cryo transfer, was forming the IVF ICSI cycle efficiency uptrend among women aged over 36 years.

Key words: IVF ICSI, cryo transfer, PGT-A, IVF cycle segmentation

Введение

В 2016 году экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) было выведено из списка высокотехнологичной медицинской помощи, тем самым повысилась доступность этой передовой технологии преодоления бесплодия. В рамках нацпроекта «Демография» декларировано увеличение рождаемости в России до достижения суммарного коэффициента в 1,7 ребёнка на одну женщину до 2024 года, для чего разработана программа «Финансовая поддержка семей при рождении детей» стоимостью более 2,5 трлн рублей. В ней предусмотрено значительное повышение доступности ЭКО: за счёт средств ОМС планируется выполнить 450 тыс. циклов ЭКО во всех регионах России [1, 2].

В этой связи задача повышения эффективности работы клиник вспомогательных репродуктивных технологий становится не только задачей медицинского и социального значения, но и приобретает экономическое обоснование в свете затрат государства на программы ЭКО. Повышению эффективности циклов ЭКО способствует интродукция передового мирового клинического опыта в работу отечественных клиник, независимо от формы собственности. Особое значение имеет внедрение категоризации женщин, вступающих в программы ЭКО, по принципу, принятому группой POSEIDON, который декларирует индивидуальный пациент-ориентированный подход и детализированную стратификацию пациенток в зависимости от типа ответа яичников на стимуляцию [3]. В этой связи задачей настоящего исследования было проанализировать протоколы ЭКО ИКСИ за 2017-2018 год, в которых был осуществлен индивидуализированный подход к ведению программы.

Материалы и методы

Проведен анализ 726 циклов ЭКО ИКСИ и 358 циклов переноса размороженного эмбриона у пациенток, проходивших лечение бесплодия за 2017-2018 год работы (средний возраст пациенток составил $36,7 \pm 4,4$ года). Обследование и лечение проводилось на базе клиники АОЗТ ЦРНФ «Партус» (г. Екатеринбург, клиника Партус, ГК «Центр ЭКО»). Полученные в ходе трансвагинальной пункции зрелые ооциты оплодотворялись методом ИКСИ через 40±1 часов после введения триггера. Оценка оплодотворения производилась через 17±1 часов после введения сперматозоида в клетку. Культивация эмбрионов проводилась до 3–5 суток в одношаговой среде LifeGlobal Global Total в увлажнённой атмосфере с 6,0% содержанием CO₂. После оценки качества эмбрионов по классификации Гарднера принималось решение о переносе, биопсии и криоконсервации. Перенос производился репродуктологом с помощью катетера Kitazato #213325, а

в случае осложнённых переносов использовался катетер Фридмана с проводником С.С.Д. ТДТ. Оставшиеся эмбрионы были заморожены витрификационным методом на носителях Kitazato Cryotop с использованием растворов Kitazato Vitrification Medium VT601 по протоколу, рекомендуемому производителем. Перед витрификацией часть эмбрионов, пригодных для биопсии, была подвергнута процедуре, в ходе которой производился отбор 4–9 клеток трофэктодермы для последующего предимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А). Пригодными для проведения биопсии считались бластоцисты качества 3-6AA, 3-6AB, 3-6BA, 3-6BB, 4-6AC, 3-6CA.

В циклах с переносом размороженных эмбрионов за 2 часа до переноса производилось принудительное оттаивание эмбрионов с использованием сред Kitazato Thawing Medium VT602 в соответствии с протоколом производителя. Через 75±15 минут оценивалась интактность клеток эмбриона после цикла заморозки-разморозки. Разделение по уровню интактности проводилось на 3 группы: 1 группа – эмбрионы с интактностью клеток >50%, 2 группа – эмбрионы с интактностью <50%, 3 группа – эмбрионы с интактностью 0% – неживые эмбрионы. На основании полученной оценки принималось решение о переносе. Для трансфера использовались катетеры, применяемые для переноса в нативном цикле.

В зависимости от исхода лечения циклы со стимуляцией овуляции и этапом культивирования эмбрионов, ретроспективно разделены на 4 группы. I группу составили 138 циклов, закончившиеся без переноса эмбриона в полость матки и/или криоконсервации эмбрионов. II группу составили 141 цикл стимуляции с переносом эмбриона в полость матки, но без наличия эмбрионов для криоконсервации. III группа – это 170 циклов стимуляции с переносом эмбриона и криоконсервацией эмбрионов. В IV группу вошли 277 циклов с криоконсервацией всех эмбрионов без проведения переноса эмбриона в цикле стимуляции.

Всем пациенткам проводилось комплексное обследование в соответствии с приказом №107 от 30.08.2012 г. «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению». Распределение протоколов стимуляции овуляции по группам представлены на круговых диаграммах (Рис. 1, рис. 2).

В протоколах с антагонистами гонадотропного релизинг-гормона (ГнРГ) введение гонадотропинов 150–300 МЕ в сутки проводилось в зависимости от числа антральных фолликулов со 2-5 дня менструального цикла, старт введения антагониста ГнРГ – при наличии фолликула 14 мм в диаметре до дня триггера. Длинный

2017

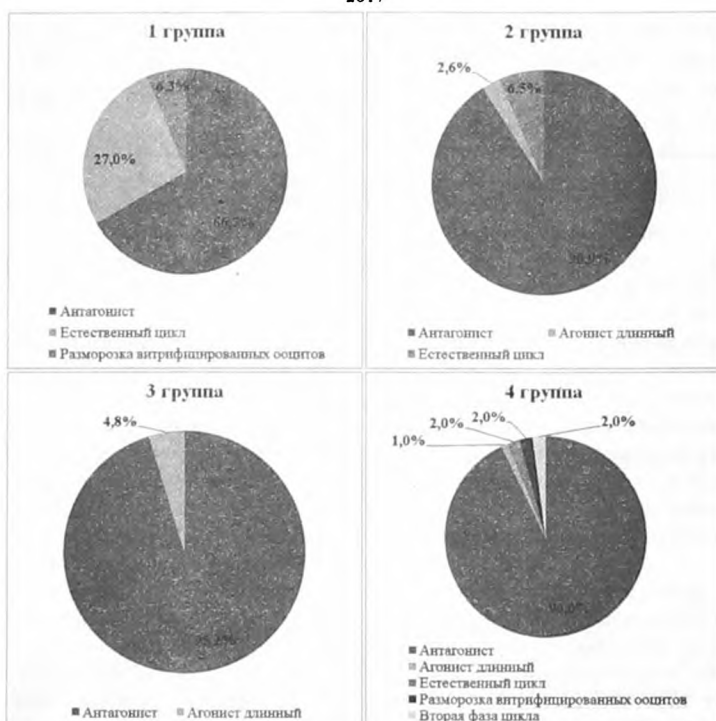


Рисунок 1. Распределение протоколов стимуляции по группам в 2017 году.

2018

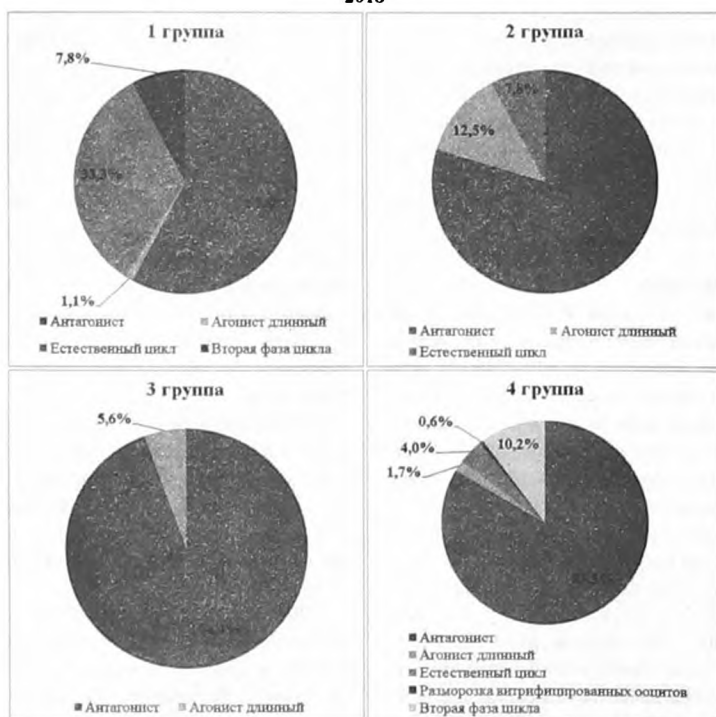


Рисунок 2. Распределение протоколов стимуляции по группам в 2018 году.

2017

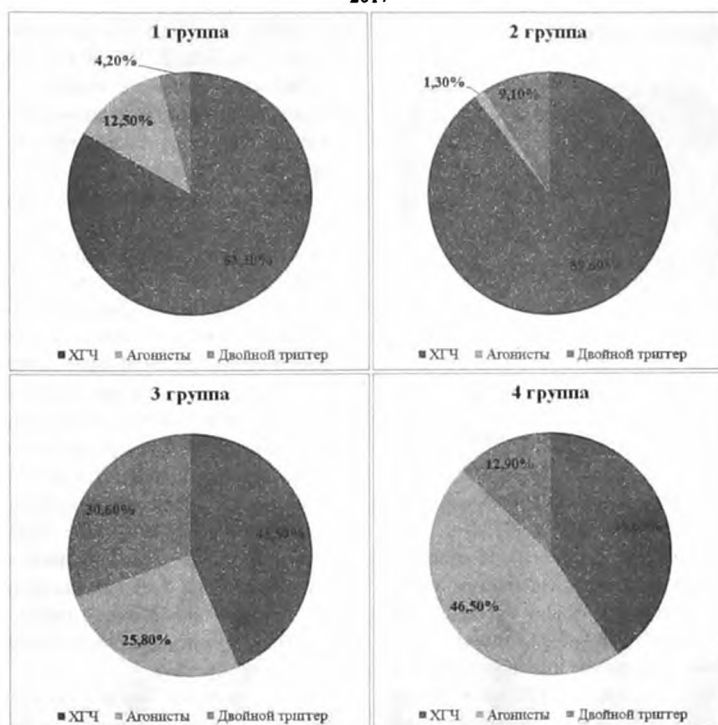


Рисунок 3. Распределение триггера по группам в 2017 году.

2018

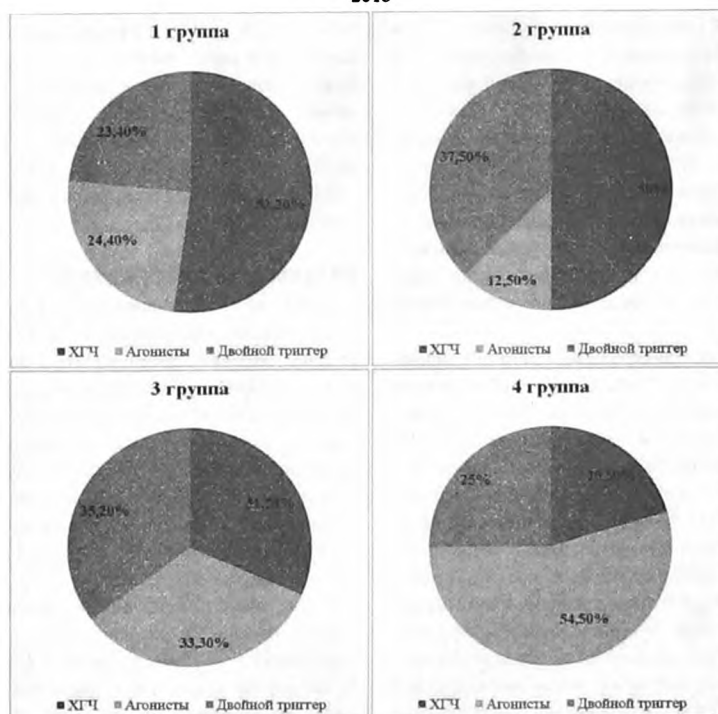
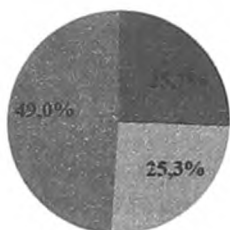


Рисунок 4. Распределение триггера по группам в 2018 году.

Распределение протоколов криопереноса



- Агонисты
- Заместительная гормональная терапия с овуляцией
- Заместительная гормональная терапия без овуляции

Рисунок 5. Доли протоколов криопереноса.

протокол с агонистами ГнРГ предполагал назначение агониста ГнРГ на 17-21 день предшествующего стимуляции цикла, и начало введения гонадотропинов в дозе 150-300 МЕ в сутки проводилось по достижению десентизации по УЗИ. В случае крайне низкого овариального резерва у женщин с овуляторным циклом проводился забор ооцита в естественном цикле после введения триггера при диаметре фолликула 16-17 мм.

Часть протоколов с разморозкой ранее накопленных витрифицированных ооцитов пациентов осуществлялась в цикле с назначением препаратов эстрогена с 5 дня менструального цикла. В 1 и 4 группе при отсутствии планов на перенос эмбриона в цикле стимуляции проводился протокол введения гонадотропинов во второй фазе овуляторного цикла с 15-16 дня в дозе 150-300 МЕ в сутки до дня введения триггера под прикрытием пика лютеинизирующего гормона (ЛГ) препаратами дидрогестерона. Введение триггера проводилось при наличии фолликулов 17-18 мм в диаметре. В качестве триггера использовали препараты хорионического гонадотропина человека (ХГЧ), агонистов ГнРГ или их сочетание. На круговой диаграмме (Рис. 3, рис. 4) представлено распределение триггера по группам.

Решение о замене триггера на агонист ГнРГ принималось при наличии более 15 фолликулов диаметром от 11 мм в день его назначения. Двойной триггер использовался при субоптимальном ответе для повышения количества зрелых ооцитов. Всем пациенткам проводилась профилактика пороков развития плода с индивидуальным подбором препаратов по уровням в сыворотке крови ферритина, фолиевой кислоты, витамина В12, гомоцистеина, витамина Д. Забор ооцитов проводился через 35-37 часов после введения триггера трансвагинально иглой Kitazato 19G 325 mm под в/в наркозом при наличии более 3 фолликулов. Поддержка лютеиновой фазы проводилась препаратами прогестерона 600 мг в сутки во влагалище или дидрогестерона 30 мг в сутки перорально со дня пункции до 10 недель по переносу эмбриона. В случае переноса

эмбрионов при использовании триггера агониста ГнРГ дополнительно назначались препараты эстрогенов со дня пункции и препарат ХГЧ 5000 в/м на 5 сутки.

Выбор протокола подготовки эндометрия к криопереносу проводился на основании данных УЗИ и анамнеза. Распределение протоколов криопереноса представлено на круговой диаграмме (Рис. 5).

Проводилось назначение препаратов эстрогена с 5 дня цикла с контролем УЗИ на 10-12 день цикла с контролем гормонов крови ЛГ, прогестерон, эстрадиол при наличии доминантного фолликула, далее осуществлялся выбор дня назначения препаратов прогестерона в дозе 600 мг в сутки во влагалище или дидрогестерона 30 мг в сутки и производился перенос эмбриона через 120-126 часов от начала введения прогестерона. При ранних овуляциях у пациентки или наличии аденомиоза 2-3 степени перед назначением препаратов эстрогена проводилось лечение агонистами ГнРГ от 14 до 70 дней.

Диагноз биохимической беременности ставился на основании уровня ХГЧ в крови через 10-14 дней после переноса эмбриона, диагноз клинической беременности подтверждался при УЗИ визуализации плодного яйца в матке через 3-4 недели после переноса и диагноз прогрессирующей беременности верифицировался через 10 недель после переноса.

Статистический анализ полученных результатов проводился при помощи пакета программ Statistica 10.0 (Statsoft, США). Для количественных признаков рассчитывалась средняя величина и среднее квадратичное отклонение, для качественных – абсолютная величина и доля в процентах от общего объема подгруппы. Использовалась проверка распределения по Колмогорову-Смирнову, в зависимости от ее результатов проводилось межгрупповое и попарное сравнение показателей с применением параметрического t-статистики (по критерию Стьюдента) либо непараметрических критериев Краскала-Уоллиса и Манна-Уитни. Если достигнутый уровень значимости различий не превышал 0,05, их считали значимыми [4].

Результаты и обсуждение

В ходе проведенного анализа было выявлено, что пациентки циклов трех групп (II-IV) сопоставимы по среднему возрасту. Этот показатель достоверно отличался при попарном сравнении возраста пациенток указанных групп с возрастом пациенток группы I. При сравнении количества антральных фолликулов (КАФ, табл. 1) выявлена неоднородность выборки пациенток по этому показателю. В целом все критические показатели цикла развития ЭКО не были однородными, а при попарном сравнении показатели циклов группы I и II были значимо меньше таковых в группах III и IV.

Как следует из таблицы, в группе I циклы не завершились переносом, следовательно, дальнейший ретроспективный анализ был проведен в трех группах циклов. Среди циклов группы II не было выполнено ни одного цикла криоконсервации эмбриона. В группах III и IV были криоконсервированы эмбрионы, и в ряде случаев

Таблица 1. Сравнительный анализ групп на этапе культивации

Показатель	Группа I, n=138	Группа II, n=141	Группа III, n=170	Группа IV, n=270	Уровень значимости различий ¹
Средний возраст пациентки на момент вступления в протокол	39,1±2,8 ⁰	36,4±3,3	35,0±2,9	36,4±3,7	0,018
Среднее количество антральных фолликулов	5,8±1,1 ²	7,0±0,6 ¹	11,6±0,8	12,7±0,9	0,037
Среднее число фолликулов	4,0±0,5 ²	4,9±0,3 ³	10,2±0,7	11,1±0,6	0,034
Среднее число ооцит-кумулясных комплексов	3,5±0,4 ⁴	4,4±0,2 ³	9,8±0,5	10,6±0,5	0,020
Среднее число ооцитов в МИ	2,2±0,5 ²	3,5±0,7 ³	7,8±0,9	7,6±0,8	0,024
Среднее число 2 рп	1,1±0,3 ⁴	2,4±0,2 ³	6,0±0,6	5,7±0,5	0,023
Среднее число эмбрионов на 3 сутки	0	2,2±0,3 ³	5,9±0,7	5,6±0,6	0,019
Среднее число эмбрионов на 5 сутки	0	0,35±0,16 ³	3,49±0,27	3,30±0,22	0,008
Среднее число эмбрионов на момент переноса	0	1,4±0,2	1,34±0,3	0	0,25
Среднее число криоконсервированных эмбрионов	0	0	2,64±0,8	3,26±1,2	0,014 ⁶

Примечание: 0 - $p < 0,05$ при попарном сравнении с показателями групп II, III, IV; 1 - критерий Краскала-Уоллиса, 2 - $p < 0,05$ при попарном сравнении КАФ в группах I и III, а также группах I и IV; 3 - $p < 0,05$ при попарном сравнении КАФ в группах II и III, а также группах II и IV; 4 - $p < 0,01$ при попарном сравнении КАФ в группах I и III, а также группах I и IV; 5 - $p < 0,01$ при попарном сравнении КАФ в группах 2 и 3, а также группах II и IV; 6 - критерий Манна-Уитни при попарном сравнении показателей групп III и IV.

Таблица 2. Сравнительный анализ исходов циклов ЭКО ИКСИ (n%)

Показатель	Группа II, n=141/100	Группа III, n=170/100	Уровень значимости различий ¹
Биохимическая беременность	34/24	72/42	0,001
Клиническая беременность	30/21	57/34	0,017
Регрессировавшая беременность	3/2	8/5	0,22
Внематочная беременность	1/0,7	0	0,27
Прогрессировавшая беременность	26/18	49/29	0,033

Примечание: 1 - критерий χ^2

была проведена их биопсия: в 29 (17,1%) и в 187 (67,5%; $p < 0,001$) случаях соответственно. При сравнении последующего прохождения жизненного цикла эмбрионами без биопсии в циклах III и IV групп не было выявлено достоверной разницы в количестве валидных и полноценных blastocyst: в группе III из 478 blastocyst 287 (60%) были хорошего качества, в группе IV таковых было 314 (59,2%). Средний возраст женщин в циклах с валидными blastocystами и эмбрионами без биопсии был сопоставим (36,4±2,5 в группе III против 35,0±2,0 в группе IV, $p > 0,05$).

Поскольку циклы группы IV все окончились криопереносом, мы провели сравнительный анализ исходов программы ЭКО ИКСИ в циклах II и III групп (табл. 2).

Отдельно были проанализированы исходы циклов с использованием размороженных эмбрионов (всего 358

циклов), которые были распределены в подгруппы в зависимости от использования технологии ПГТ-А (ПГТ-А«-» - циклы без ПГТ-А; ПГТ А «+» - циклы с ПГТ-А, табл. 3).

Как следует из проведенного анализа, использование ПГТ-А формировало благоприятную тенденцию к росту клинической и биохимической беременности. Более того, при переносе эмбрионов с благоприятным результатом ПГТ-А и криотолерантностью более 50% увеличение частоты происходит достоверное повышение клинических и биохимических беременностей (табл. 4).

Повышение результативности программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) - задача, актуальная во всем мире. ЭКО с использованием криопротоколов уже в 90-х годах было признано одной из методик, способных повысить эффективность программы: в югортом исследова-

Таблица 3. Сравнительный анализ исходов циклов ЭКО ИКСИ с использованием размороженных эмбрионов (M±SD; n/%)

Показатель	ПГТ -А («-»), n=240/100	ПГТ-А («+»), n=118/100	Уровень значимости различий ^{1,2}
Средне число эмбрионов	1,24±0,34	1,04±0,28	0,13 ¹
Средний возраст пациенток в циклах	35,6±3,4	36,2±2,9	0,48 ¹
Биохимическая беременность	91/38	53/45	0,20 ²
Клиническая беременность	75/31	47/40	0,11 ²
Регрессировавшая беременность	12/5	9/8	0,32 ²

Примечание: 1 - критерий Манна-Уитни; 2 - критерий χ^2

Таблица 4. – Сравнительный анализ исходов циклов ЭКО ИКСИ с использованием размороженных эмбрионов с известными генетическим статусом и уровнем криотолерантности (M±SD; n/%)

Показатель	ПГТ-А, криотолерантность >50%, n=86/100	ПГТ-А, криотолерантность <50%, n=32/100	Уровень значимости различий ^{1,2}
Средне число эмбрионов	1,06±0,30	1,02±0,27	0,55 ¹
Средний возраст пациенток в циклах	35,6±3,4	36,2±2,9	0,59 ¹
Биохимическая беременность	48/56	5/16	<0,001 ²
Клиническая беременность	43/50	4/13	<0,001 ²
Регрессировавшая беременность	6/7	3/9	0,66

Примечание: 1 - критерий Манна-Уитни; 2 - критерий χ^2

нии 398 пар было показано, что криоконсервация эмбрионов повышает результативность программы ЭКО в 1-3 циклах до 50% против использования эмбрионов в свежем цикле [5]. При этом в литературе не найдено критериев отбора пациенток для «свежих» циклов и криоконсерваций эмбрионов, хотя подчеркивается, что криоконсервация blastocyst является жизнеспособным вариантом для пациенток всех возрастов и дополняет культуру и перенос свежих blastocyst. В некоторых исследованиях отмечается, что blastocyst хорошего качества при замораживании на 5-е и 6-е сутки культивирования дают сопоставимые с использованием «свежих циклов» результаты программы ЭКО [6].

Для сравнения клинических результатов программы ЭКО в свежих и криоциклах было проведено ретроспективное исследование, включившее 3368 эмбрионов в 702 цикла переноса размороженных эмбрионов. Клинические исходы распределились следующим образом: беременность (n=436), неудача программы (n=180), отмена цикла ввиду СГЯ (n=86). Авторы подчеркивают, что успех криоцикла зависит от точности определения показаний к нему. В резюме кумулятивного мета-анализа 26 исследований с применением криоциклов также подчеркивается, что замораживание эмбрионов должно производиться выборочно, в идеале, с формулированием показаний для каждого конкретного случая [7]. В отношении использования ПГТ-А один из активных провайдеров метода говорит о том, что, применяя ПГТ-А, мы исключаем трансфер неважного биологического материала, это, в конечном итоге, сказывается на показателях эффективности программы ВРТ [8]. Следовательно, для клиники, стремящейся к повышению числа положительных исходов программ ЭКО

на всех уровнях оценки, проведение сегментированных циклов и использование предимплантационного генетического тестирования эмбрионов на анеуплоидии может стать действенным инструментом развития.

Выводы

1. В старшем репродуктивном возрасте фактором риска отмены программы ЭКО ИКСИ из-за отсутствия эмбриона к 3-5 суткам культивации является менее 7 антральных фолликулов на день старта протокола.
2. Число антральных фолликулов на старте протокола стимуляции определяет количество полученных ооцитов, но не качество эмбрионов в результате культивирования.
3. Проведение сегментации цикла с предимплантационным генетическим тестированием эмбрионов на анеуплоидии даже при малом количестве полученных эмбрионов повышает эффективность лечения, хотя и формирует группу пациенток с отменой переноса из-за отсутствия качественного эмбриона на перенос.
4. При получении патологического результата ПГТ-А пациентки с отменой переноса не теряют время для попытки получения нового эмбриона, что сокращает сроки наступления беременности, или выбирают другие методы ВРТ.
5. Выбор протокола криопереноса с учетом индивидуальных параметров пациентки оптимизирует подготовку эндометрия и при наличии эмбриона с учетом данных предимплантационного генетического тестирования дает максимальную частоту прогрессирующей беременности. ■

Квашнина Елена Владимировна, кандидат медицинских наук, ведущий репродуктолог Сети клиник репродуктивного здоровья «Центр ЭКО», заместитель директора по медицинской работе клиники Центр ЭКО «Партус», Екатеринбург. Тутаков Максим Андреевич, ведущий эмбриолог клиники Центр ЭКО «Партус», Екатеринбург. Томина Евгения Викторовна, заместитель директора по организационно-методической работе клиники Центр ЭКО «Партус», Екатеринбург. Берестецкая Олеся Сергеевна, акушер-гинеколог, репродуктолог клиники Центр ЭКО «Партус», Екатеринбург. Немцевидзе Элгуджа Яковлевич, д.м.н., профессор; медицинский директор Сети клиник репродуктивного здоровья «Центр ЭКО», Москва. Шилова Наталья Владимировна, к.м.н., директор по научной работе, Сеть клиник репродуктивного здоровья «Центр ЭКО», Москва, Россия, Москва, Автор, ответственный за переписку — Квашнина Елена Владимировна, Екатеринбург, Россия, Екатеринбург, Мамина-Сибиряка, д. 171А. Тел: +7 (343) 288-53-39 E-mail: doctor.kvashnina@gmail.com

Литература:

1. Парламентская газета, 05.02.2019, доступно по адресу: , дата обращения 03.05.2019.
2. Исупова О.Г. Вспомогательные репродуктивные технологии: новые возможности // Демографическое обозрение. 2017; (1) 33-63 URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vspomogatelnye-reproduktivnye-tehnologii-novye-vozmozhnosti> (дата обращения: 03.05.2019). Isupova O.G. Assisted Reproductive Technologies: New Opportunities // Demographicheskoe obozrenie. 2017; (1) : 33-63.
3. Poseidon Group (Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number), Alviggi C, Andersen CY, Buehler K, Conforti A, De Placido G, Esteves SC, Fischer R, Galliano D, Polyzos NP, Sunkara SK, Ubaldi FM, Humaidan P. A new more detailed stratification of low responders to ovarian stimulation: from a poor ovarian response to a low prognosis concept. *Fertil Steril*. 2016 Jun;105(6):1452-3. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.02.005.
4. Harris, M *Medical statistics made easy* / M. Harris, G. Taylor. – London : Taylor and Francis, 2006. – 114 p.
5. Bergh C, Josefsson B, Nilsson L, Hamberger L The success rate in a Swedish in-vitro fertilization unit: a cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1995 Jul;74(6):446-50
6. Behr B., Gebhardt J., Lyon J., Milki A.A. Factors relating to a successful cryopreserved blastocyst transfer program. *Fertil Steril*. 2002 Apr;77(4):697-9
7. Maheshwari A., Pandey S., Amalraj Raja E3 Is frozen embryo transfer better for mothers and babies? Can cumulative meta-analysis provide a definitive answer? *Hum Reprod Update*. 2017 Nov 13;1-24. doi: 10.1093/humupd/dmx031
8. Capalbo A., Romanelli V., Cimadomo D., Girardi L., Ubaldi F.M., Rienzi L. Implementing PGD/PGD-A in IVF clinics: considerations for the best laboratory approach and management. *J Assist Reprod Genet*. 2016 Oct;33(10):1279-1286.