

УДК 618.177-089.888.11
DOI 10.23648/UMBJ.2017.25.5250

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОК С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ГЕНЕЗОМ БЕСПЛОДИЯ В ПРОГНОЗЕ ИСХОДОВ ПРОГРАММ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Л.И. Трубникова¹, А.В. Самойлова², О.А. Маринова¹,
С.Г. Милаев², М.Л. Албутова¹

¹ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия;

²БУ ППЦ «Президентский перинатальный центр», г. Чебоксары, Россия

e-mail: kafaig@mail.ru

Цель. Изучить морфологию фолликулярной жидкости у женщин с воспалительным генезом бесплодия, применивших в качестве лечения методы вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Показать зависимость прогностических исходов применения методов ВРТ от уровня структурированности фолликулярной жидкости.

Материалы и методы. Исследована морфология фолликулярной жидкости у 98 пациенток с воспалительным фактором бесплодия, вошедших в программу ЭКО и ПЭ.

Результаты. Продолжены исследования морфологии фолликулярной жидкости методом клиновидной дегидратации. Выявлены характерные особенности структуропостроения фазий. Определены 4 типа фазий фолликулярной жидкости по наличию соответствующих маркеров – характерных трещин. Выявлены новые трещины, присущие только фолликулярной жидкости. Описаны маркеры воспаления, определяющие степень интоксикации яйцеклетки и готовности яичников к применению методов ВРТ. По характерному рисунку центральной зоны фазий определен гормональный фон у каждой пациентки после использования протоколов стимуляции суперовуляции. Дано понятие физиологического и патологического состояния фазий, устойчивой и неустойчивой системы гомеостаза. Все эти характерные особенности структуропостроения фазий позволяют определить прогноз применения методов ВРТ как благоприятный или неблагоприятный.

Ключевые слова: бесплодие, ЭКО, фолликулярная жидкость, структуропостроение, фазии, маркеры.

Введение. Актуальность проблемы бесплодия стимулирует постоянно растущий интерес к изучению и развитию вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) во всем мире [1–4]. Однако, несмотря на внешнюю простоту выполнения процедуры ЭКО, частота наступления беременности не превышает 35–39 % [5, 6]. Основной причиной низкой результативности является применяемый способ оценки качества яйцеклетки на основе морфологических характеристик – визуальный, т.е. по внешним признакам [7–11]. О качестве яйцеклетки судят по диаметру созревающих фолликулов, но диапазон нормальных оказывается большим. Чтобы полу-

чить полную информацию о качестве ооцита, морфологическая оценка должна быть объединена с исследованием молекулярно-биологических маркеров, поскольку полноценность ооцита зависит от микроокружения, т.е. от исходного состава фолликулярной жидкости (ФЖ) и от концентрации биологически активных соединений в ней [7, 11–12]. Состав жидкости отличается от состава плазмы крови более низким содержанием глюкозы и липидов, аминокислотным составом и присутствием связывающих стероиды белков. Она содержит хондроитинподобный материал и гепарансульфат [12]. К настоящему времени изучен гормональный состав ФЖ.

Так, выявлены и проанализированы следующие биохимические показатели: антимюллеров гормон (АМГ), ингибин В, ингибин А, активин А, эстрадиол, прогестерон, мелатонин, кортизол, лептин, лактоферрин, Д-аспартановая кислота, уровень сахаров, Т- и В-клетки, эпидермальный фактор роста (ЭФР), С-реактивный белок, гомоцистеин, оксид азота, пептид-гидролазы, IGF-II, IGFIR-3, IGFBP-4, PAPP-A, ангиогенные, пролиферативные, апоптотические факторы, гликоделин, микроэлементы медь и цинк, биологически активные вещества гистамин, серотонин и катехоламины, альфа-2-микроглобулин фертильности (АМГФ), хорионический гонадотропин (ХГЧ) [5–7, 11, 12].

Исследования в области генетических факторов установили, что выявление аллельного полиморфизма генов HLA II класса (аллелей DQB 1*06 и/или DRB1*13) ассоциируется с получением эмбрионов высокого качества. Определение уровня фрагментов внеклеточной, или свободно плавающей, ДНК (cfDNA), в частности высоких ее концентраций в фолликулярной жидкости, имеет связь с низким качеством эмбрионов [13].

Исследования цитокинов в фолликулярной жидкости позволили получить информацию о том, что при избыточной продукции IL-1 и TNFα происходит преждевременная лютеинизация фолликулов, что коррелирует с низким показателем фертилизации и повышает вероятность преждевременного прерывания беременности [9]. Также было доказано, что в успешных циклах ЭКО фолликулярная жидкость характеризуется более выраженным иммуносупрессорным потенциалом [10, 13].

Однако, несмотря на все научные достижения и поиски в этой области, до настоящего времени не найден универсальный фактор прогнозирования результатов ЭКО. В связи с этим одной из задач современной репродуктологии является поиск специфического маркера или метода, обладающего высокой прогностической значимостью при отборе качественных яйцеклеток с целью повышения результативности ЭКО.

Одним из перспективных в поиске маркеров прогностической значимости является

метод морфологического анализа биологических жидкостей. Этот метод был разработан акад. В.Н. Шабалиным и С.Н. Шатохиной в 1998 г. с целью изучения структуропостроения БЖ после клиновидной и краевой дегидратации [14–16, 18]. Установлено, что БЖ является саморегулирующейся системой и имеет внутреннюю программу фазового перехода, которая определяет закономерности процесса самоорганизации при ее дегидратации. Органические и минеральные вещества, растворенные в биожидкости, являются материальными носителями данной программы. В соответствии с заложенной в них информацией создаются волны различной частоты, длины и направленности, которые фиксируются в процессе перехода биологической жидкости в твердотельное состояние и тем самым поддаются морфологическому исследованию [15–18]. С помощью данного метода были изучены такие БЖ, как сыворотка крови при различных состояниях и заболеваниях [15–25], у беременных с сахарным диабетом [21, 22], у ВИЧ-позитивных беременных женщин, беременных с преэклампсией и плацентарной недостаточностью [23], эндометриальный секрет и менструальные выделения при гиперпластических процессах матки [24], влагалищное содержимое при патологии шейки матки [26]. Первые попытки исследования морфологической картины фолликулярной жидкости у женщин с бесплодием, проходивших лечение методом ЭКО, были предприняты в 2009 г. Н.В. Хрулевой. Н.В. Хрулева выделяет пять типов фаций, среди которых 3-й и 4-й считаются нормальными, а 1, 2, 5-й типы указывают на неблагоприятный прогностический признак [27].

В настоящее время назрела необходимость детального исследования фолликулярной жидкости методом клиновидной дегидратации с целью определения основных нормальных и патологических маркеров, отражающих состояние и степень напряженности адаптационных систем организма, состояние общего гомеостаза и степень готовности к применению лечения методом ЭКО. Состояние фолликулярной жидкости, косвенно отражающее состояние яйцеклетки до применения ВРТ, может быть прогностически важ-

ным. Первые попытки исследования готовности яичников к использованию ВРТ, состоящие в изучении структуропостроения фолликулярной жидкости, предприняты в 2009 г. авторами данной статьи. Их результаты свидетельствовали об информативности метода для оценки функциональных способностей зиготы к оплодотворению [28].

Цель исследования. Изучение морфологии фолликулярной жидкости у женщин с воспалительным генезом бесплодия для разработки прогностических критериев восстановления репродуктивной функции.

Материалы и методы. Выполнено клиническое контролируемое исследование с параллельным дизайном. Проведено клиническое обследование 98 пациенток, страдающих бесплодием воспалительного генеза: 93 женщины (в возрасте 25–40 лет) с женским бесплодием и 5 относительно здоровых женщин (в возрасте 25–31 года) с мужским фактором бесплодия. В анамнезе женщин были кольпиты, цервициты, в связи с чем они

были включены в общую группу пациенток с воспалительным фактором бесплодия. Пациентки в течение определенного времени находились под наблюдением и получали лечение в женских консультациях по месту жительства без положительного результата восстановления фертильности и продолжали лечение в специализированном учреждении. Большая часть пациенток (67,4 %) проживала в городе, остальные (32,6 %) – в сельской местности. 71,3 % женщин имели высшее и среднее специальное образование, 38,8 % – среднее образование. По социальному положению распределение женщин было следующим: 42,9 % – служащие, 27,6 % – рабочие, 18,4 % – домохозяйки и 11,2 % – индивидуальные предприниматели. 75 (76,5 %) женщин состояли в первом браке и только 23 (23,5 %) – во втором. При анализе показателей общего здоровья пациенток, страдающих бесплодием воспалительного генеза, было установлено, что каждая из них имела в среднем 1 соматическое заболевание (табл. 1).

Таблица 1

Экстрагенитальные заболевания у пациенток с воспалительным генезом бесплодия

Вид патологии	Число женщин, чел.	%
Сердечно-сосудистая патология	7	7,1
Заболевания крови	6	6,1
Заболевание печени и желчевыводящих путей	8	8,2
Заболевание почек и мочевыводящих путей	18	18,4
Заболевания ЖКТ	17	17,4
Вегетососудистая дистония	19	19,4
Аппендэктомия в анамнезе	9	9,2
Хронические инфекции верхних дыхательных путей и бронхолегочной системы	14	14,3
Всего	98 заболеваний	100
	В среднем одно заболевание на пациентку	

Выявленная сопутствующая экстрагенитальная патология у пациенток программы ЭКО и ПЭ с воспалительным генезом бесплодия показала, что у каждой четвертой пациентки в анамнезе имелось хроническое заболевание желудочно-кишечного тракта, печени и желчевыводящих путей. 18,4 % пациенток страдали заболеваниями почек и мочевыводящих путей, 14,3 % пациенток имели

хронические заболевания верхних дыхательных путей и бронхолегочной системы. Немаловажную роль в развитии спаечного процесса органов малого таза сыграла перенесенная аппендэктомия (9,2 % случаев), приведшая к деформации маточных труб. Все эти predisposing факторы могли оказать влияние на репродуктивное здоровье женщин.

В табл. 2 представлена структура перене-

сенных и сопутствующих гинекологических заболеваний у обследуемых женщин.

Таблица 2

Структура перенесенных и сопутствующих гинекологических заболеваний согласно Международной классификации болезней (МКБ-10)

Заболевание	Число женщин, чел.	%
N 70 – Сальпингит и оофорит	83	84,7
N 71 – Воспалительные заболевания матки	44	44,9
N 72 – Воспалительные заболевания шейки матки	24	24,5
N 73 – Другие воспалительные заболевания женских тазовых органов:		
1. Тазовый перитонит	10	10,2
2. Гидро-сактосальпинкс	37	37,8
3. Тазовые перитонеальные спайки	59	60,2
N 83 – Кисты яичников	40	40,8
N 84 – Полипы женских половых органов:		
16. Полип тела матки	8	8,2
17. Полип шейки матки	6	6,1
N 86 – Эрозия шейки матки	38	38,8
N 88 – Другие невоспалительные заболевания шейки матки (лейкоплакия)	9	9,2
Всего	358 (3,7 заболевания на 1 женщину)	
N 74 – Воспалительные болезни женских тазовых органов при болезнях, классифицированных в других рубриках (ИППП)	130 (1,3 заболевания на 1 женщину)	

Таким образом, низкий потенциал гинекологического и репродуктивного здоровья женщин обусловлен достаточно большим числом перенесенных инфекций (1,3 на одну женщину), передаваемых половым путем (ИППП), и гинекологических заболеваний (3,7 на женщину), приводящих к осложнениям, а также необходимости оперативных вмешательств на органах малого таза (табл. 3).

Как видно из табл. 3, наибольшее количество оперативных вмешательств произведено на маточных трубах (72,5 %). 38,8 % пациенток проведена двухсторонняя тубэктомия; 25,6 % пациенток – оперативные вмешательства на яичниках, причем в результате разлитого перитонита и наличия гнойного тубовариального образования было произведено удаление яичника (3,1 и 2,0 % случаев соответственно), в 1 случае (1,0 %) овариоэктомиа производилась в связи с наличием доброкачественной опухоли – цистаденомы.

Менархе у женщин с бесплодием воспа-

лительного генеза приходилось на 12–14 лет (82,7 %), причем у 46,9 % отмечались нарушения менструальной функции. Половую жизнь в возрасте 17–20 лет начинали 74,5 % пациенток. Только 38,8 % женщин использовали методы контрацепции, 11,2 % в качестве меры предохранения от нежелательной беременности применяли внутриматочный контрацептив. Первичное бесплодие диагностировано у 30 (30,6 %) женщин, вторичное – у 68 (69,4 %). У пациенток с вторичным бесплодием в анамнезе было 143 беременности: 21 % из них завершились родами; 79 % имели другой исход (34,0 % – медицинские аборт, 31,0 % – внематочные беременности, 9 % – самопроизвольные выкидыши, 5 % – неразвивающиеся беременности). Средняя продолжительность бесплодия у пациенток составила от 1 года до 17 лет. В течение этого времени каждая из них решала проблему бесплодия, прибегая к различным методам консервативного и хирургического лечения, которые в результате оказались неэффективными, и для дальнейше-

го лечения такие пациентки были направлены на лечение с помощью ВРТ. Из группы обследованных женщин 16 чел. прежде осуществляли попытку использовать вспомогательные репродуктивные технологии: 7 (7,1 %) женщин использовали внутриматочную инсеминацию, однако беременность не наступила; 11 (11,2 %) женщин применили метод ЭКО и ПЭ. У одной женщины в двух случаях был

положительный эффект, но первая попытка закончилась внематочной беременностью, вторая – анэмбрионией. Еще у одной пациентки наступила неразвивающаяся беременность. Таким образом, исходя из анамнестических и объективных особенностей, все эти пациентки нуждались в применении ВРТ. В табл. 4 представлены данные применения методов ВРТ и их эффективности.

Таблица 3

Операции, проведенные у пациенток, вошедших в программу ВРТ

Объем оперативного вмешательства	Число женщин, чел.	%
Одно-, двухсторонняя тубэктомия по поводу гидросальпинкса, сактосальпинкса	39	39,8
Одно-, двухсторонняя тубэктомия по поводу внематочной беременности	32	32,7
Одно-, двухсторонняя цистэктомия по поводу кист яичников	4	4,1
Одно-, двухсторонняя резекция яичника	18	18,4
Овариэктомия	3	3,1
Стоматопластика маточных труб	2	2,0
Всего	98	100
	1,5 операции на одну женщину	

Таблица 4

Результат программы ЭКО, чел. (%)

Общее количество пациенток	98 (100)
Положительные результаты	16 (16,3)
Отрицательные результаты	82 (83,7)

Таким образом, результативность применения лечения ЭКО у пациенток с воспалительным фактором бесплодия составила 16,3 %.

У всех 98 пациенток для получения информации о состоянии яйцеклетки в фолликуле после стимуляции фолликулогенеза был произведен забор фолликулярной жидкости во время пункции фолликула. Капля фолликулярной жидкости подвергалась дегидратации на предметном стекле при температуре 18–25 °С, влажности 65–70 % при минимальной подвижности воздуха. Оценка проводилась через 24 ч. Для определения структурного типа: физиологически устойчивого и неустойчивого, патологически устойчивого и не-

устойчивого – на 2-е сут проводилось повторное раскапывание и высушивание образца фолликулярной жидкости. Микроскопия структур изучалась с помощью стереомикроскопа Leica MZ 12, оснащенного видеокamerой Pixera, с использованием программы «Морфотест». Морфологические исследования проводились в проходящем свете, темном поле и поляризованном свете [8, 14].

При исследовании структуропостроения фолликулярной жидкости определяется закономерность, которая позволяет выделить по характеру рисунка 4 типа фаций: нормальный, радиальный, частично-радиальный, иррадиальный. Типы фаций по характеру сим-

метрии, количеству основных системных и подсистемных критериев (трещин, отдельностей, конкреций) могут быть физиологическими (радиальные, частично-радиальные) и патологическими (иррадиальные, циркуляторные и аморфные) [2].

Результаты и обсуждение. По степени симметрии и характеру взаиморасположения основных элементов из 98 образцов фаций ФЖ выделены 4 основных типа:

1-й тип фации – нормальный – наблюдался у 8 (8,2 %) пациенток. Несмотря на существенные отклонения индекса здоровья, адаптационные возможности организма у таких пациенток были сохранены. Для фаций характерно радиальное расположение секторов, выдержанность форм, размеров отдельных конкреций (рис. 1а).

2-й тип фаций – упорядоченный (частично-радиальный) – наблюдался у 32 (32,7 %) пациенток. Характеризуется повышением адаптационных возможностей организма и систем гомеостаза, несмотря на наличие воспалительного фактора. Для такого типа фаций характерен частично-радиальный рисунок, тенденция к однообразию основных структурных элементов (рис. 1б).

3-й тип фаций – реактивный (радиальный) – наблюдался у 31 (31,6 %) пациентки. Характеризуется более длительным воздействием патологического фактора или нескольких факторов на организм, приводящим к хронизации процесса. При этом отмечается предельный уровень напряженности адаптационных механизмов гомеостаза, и организм реагирует компенсаторными реакциями, приводящими систему в относительное благополучие, но уже в условиях измененного состояния гомеостаза. Фации отличаются высоким уровнем структурирования за счет большого количества основных элементов, при этом они могут иметь как радиально-симметричный, так и несимметричный рисунок (рис. 1в).

4-й тип фаций – иррадиальный (депрессивный) – выявлен у 27 (27,6 %) пациенток. Характеризуется деструктивными процессами в органах, приводящими к нарушению системы гомеостаза, наличием более длительного и агрессивного воздействия микробного и воспалительного факторов. Приводит к низкому

уровню структурирования, единичным, слабо выраженным трещинам, малому количеству отдельностей и незавершенных конкреций. Иные патологические фации у этих женщин не обнаружены (рис. 1г).

При сопоставлении исходной и суточной фаций ФЖ выявлено 3 типа фаций, отражающих состояние гомеостаза. Физиологически устойчивый тип гомеостаза отмечен лишь у 8 % женщин, физиологически неустойчивый – у 64 %, почти у трети пациенток (28 %) диагностирован патологически устойчивый тип фаций.

Физиологически неустойчивый тип фации указывает на напряжение функциональных систем и защитных механизмов при длительно вялотекущем процессе интоксикации и инфицированности. Патологический тип выявлен у женщин, перенесших в прошлом тубовариальные образования, гидросальпинксы, а также операции на яичниках по типу одно- или двухсторонней резекции, приводящие к нарушению функции яичников и нарушению системы гомеостаза, снижению адаптационных возможностей организма.

Как видно из табл. 5, маркеры фации с различной частотой встречаются у женщин с разной системной организацией ФЖ. Наименьшее количество патологических трещин обнаружилось у женщин с радиальным типом, т.е. с достаточными адаптационными возможностями. Обращает на себя внимание тот факт, что именно у этих пациенток среднее соотношение зон фаций соответствует норме ($1 \times 1 \times 7$ см), тогда как в фациях 4-го типа толщина белковой зоны была в 2 раза больше ($2 \times 1 \times 7$ см) за счет высокой интоксикации и повышения уровня гидрофильности белка [2, 8, 9]. Для белковой зоны фаций 1–3-го типов характерно наличие радиальных трещин (69,4 %), у половины женщин (50 %) – поперечных. Краевая зона фаций состоит из четко сформированных структурных элементов: отдельностей, ограниченных трещинами конкреций округлой формы и трещин, ограничивающих отдельности. В фациях 4-го типа отсутствует четкое структуропостроение, а также радиальные трещины. Имеются единичные поперечные трещины (2 %), что указывает на наличие патологически устойчивого состояния организ-

ма. Количество иррадиальных, патологических

трещин в фациях 4-го типа составляет 23,5 %.



а



б



в



г

Рис. 1:

а – нормальный тип фации. Фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 40 лет (инд. карта № 12680): радиальные трещины, поперечные трещины. Диагноз пациентки: бесплодие вторичное (10 лет); хронический двухсторонний сальпингоофорит, ремиссия; спайки малого таза;

б – упорядоченный тип фации. Фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 38 лет (инд. карта № 13766): радиальные трещины, единичные иррадиальные трещины, трехлучевые трещины в центральной и промежуточной зонах, дуговые трещины. Диагноз пациентки: бесплодие первичное (3 года); двухсторонний сальпингоофорит, ремиссия; хронический эндометрит, ремиссия; цервицит; эктопия шейки матки;

в – реактивный тип фации. Фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 36 лет (инд. карта № 2306): радиальные трещины, жгутовые, штриховые трещины. Диагноз пациентки: бесплодие вторичное (3 года); хронический двухсторонний сальпингоофорит, ремиссия; спайки малого таза; хронический метроэндометрит, ремиссия; кисты яичников; микоплазмоз, уреоплазмоз в анамнезе;

г – депрессивный тип фации. Фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 36 лет (инд. карта № 12920): иррадиальные, широкие, блоковидные, U-образные трещины. Диагноз пациентки: бесплодие вторичное (3 года); хронический двухсторонний сальпингоофорит, ремиссия; хронический эндометрит, ремиссия; гидросальпинксы с двух сторон; кисты яичников; эктопия шейки матки; хламидиоз, IgM к ЦМВ.

Ув. ×80, светлое поле

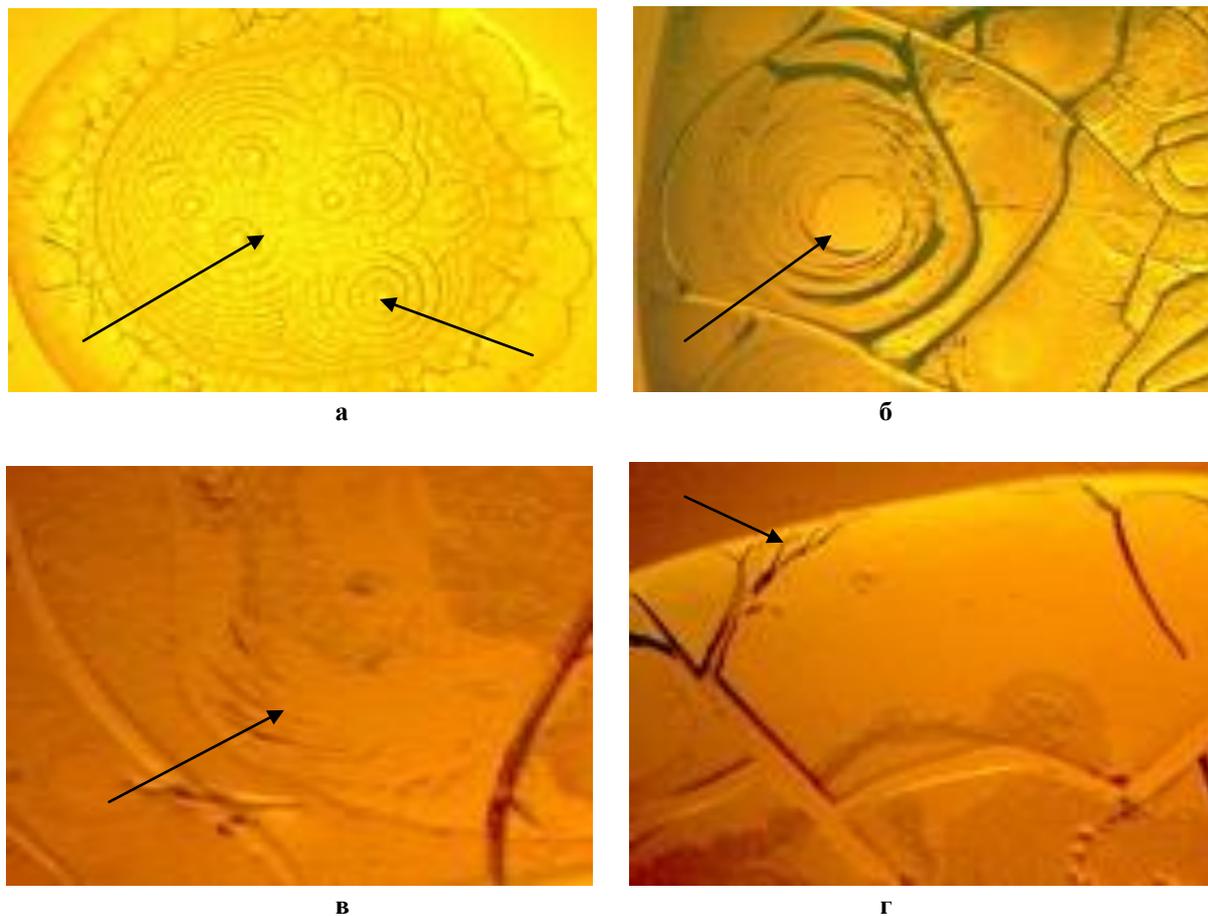
Таблица 5

**Результаты системной организации фолликулярной жидкости
обследованных женщин с воспалительным генезом бесплодия**

Элементы фаций	Радиальный (1-й тип)	Частично-радиальный (2-й тип)	Реактивный (3-й тип)	Иррадиальный (4-й тип)
Количество фаций, n (%)	8 (8,2)	32 (32,7)	31 (31,6)	27 (27,6)
Соотношение зон, см	1×1×7	1,5×1×7	1×1×8	2×1×8
Радиальные трещины, n (%)	8 (100)	29 (90,6)	31 (100)	-
Поперечные трещины, n (%)	7 (87,5)	15 (46,9)	25 (80,7)	2 (7,4)
Иррадиальные трещины, n (%)	1 (12,5)	2 (6,25)	3 (9,7)	23 (85,2)
Трещины-«закрутки», n (%)	6 (75,0)	12 (37,5)	23 (74,2)	7 (25,9)
Штриховые трещины, n (%)	3 (37,5)	22 (68,8)	21 (67,7)	14 (51,9)
Жгутовые трещины, n (%)	3 (37,5)	16 (50,0)	18 (58,1)	10 (37,0)
Блоковидные трещины, n (%)	-	11 (34,4)	3 (9,7)	12 (44,4)
Трехлучевые трещины в центральной зоне, n (%)	-	14 (43,4)	15 (48,4)	4 (14,8)
Трехлучевые трещины в промежуточной зоне, n (%)	-	8 (25,0)	6 (19,4)	17 (62,9)
Дуговые трещины, n (%)	-	19 (59,4)	9 (29,0)	18 (66,7)
Широкие трещины, n (%)	1 (12,5)	11 (34,4)	12 (38,7)	20 (74,1)
У-образные трещины, n (%)	-	2 (6,25)		7 (25,9)
Трещины-«гребешки», n (%)	-	-	-	4 (14,8)
Всего маркеров (на 1 фацию), n (%)	28 (3,5)	161 (5,0)	166 (5,4)	138 (5,1)
Количество нормальных маркеров на 1 фацию, n	15 (2 маркера на 1 фацию)	44 (1,4 маркера на 1 фацию)	56 (1,8 маркера на 1 фацию)	2 (0,1 маркера на 1 фацию)
Количество патологических маркеров на 1 фацию, n	13 (2 маркера на 1 фацию)	117 (3,7 маркера на 1 фацию)	110 (3,6 маркера на 1 фацию)	136 (5 маркеров на 1 фацию)

В фациях 1–3-го типов также возможно наличие иррадиальных трещин, но они встречаются нечасто – в 12,5, 6,25 и 9,7 % соответственно. Некоторые патологические трещины являются маркерами общего состояния организма, зачастую при видимых благополучных объективных лабораторных диагностических показателях. Эти маркеры представляют собой важные диагностические критерии напряженности адаптационных механизмов гомеостаза вследствие предболезни или латентно протекающих патологических процессов. Необходимо отметить, что у женщин, перенесших воспалительные заболевания ор-

ганов малого таза и воспалительные процессы нижнего этажа в течение 2–11 лет, в фолликулярной жидкости сохраняются признаки воспаления: языковые структуры (рис. 3б), токсические бляшки (рис. 3в), складки, морщины (рис. 3г), маркеры застойных явлений (трехлучевые трещины), нарушения микроциркуляции («гребешковые» структуры (рис. 2г)), маркер нарушения эластичности сосудов (дуговые трещины), склерозирования («листовые» структуры (рис. 3а)). Следует отметить, что минимальное количество патологических маркеров обнаруживается у женщин с радиальным типом фаций.

**Рис. 2:**

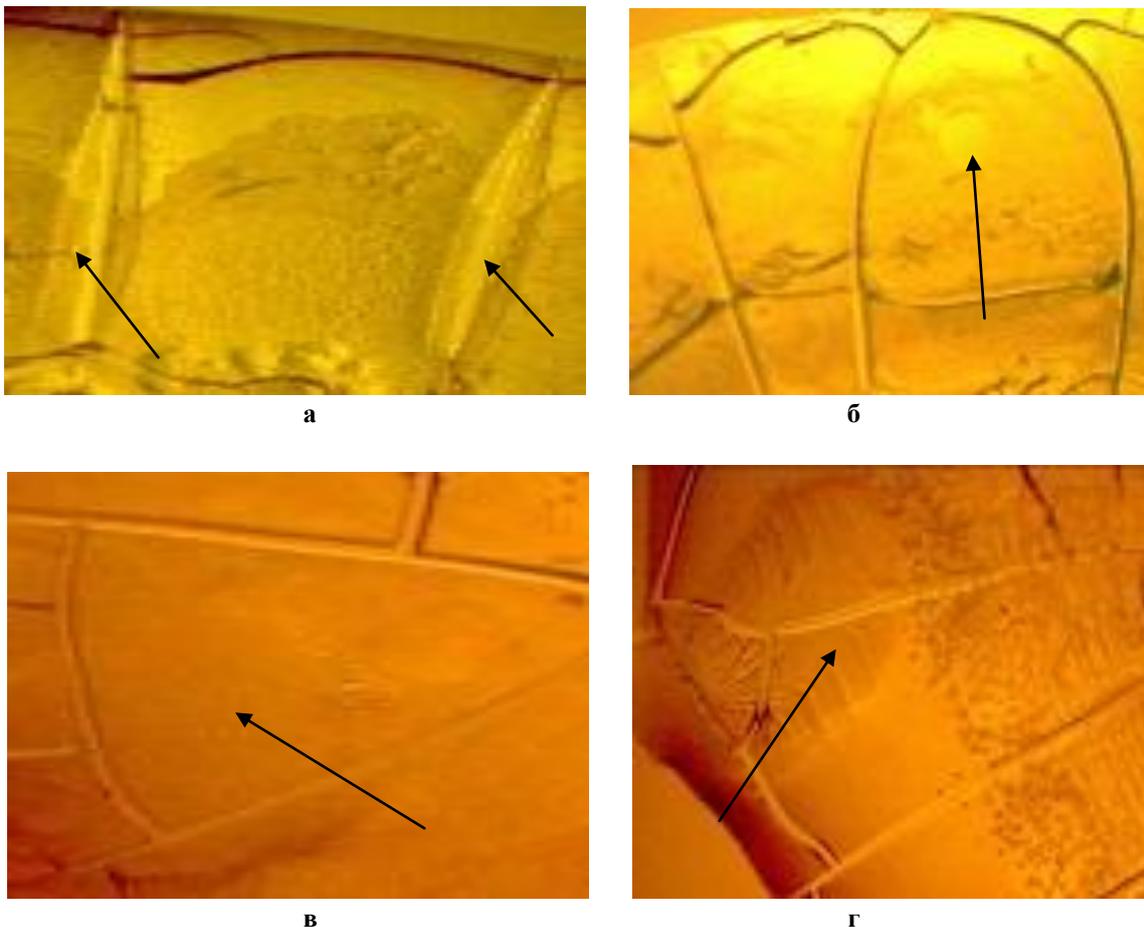
а – фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 28 лет (инд. карта № 2216): жгутовые трещины. Диагноз пациентки: бесплодие вторичное (6 лет); хронический двухсторонний сальпингоофорит, ремиссия; спайки малого таза; гидросальпинкс слева; микоплазмоз, хламидиоз в анамнезе;

б – фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 39 лет (инд карта № 1420): трещины-«закрутки». Диагноз пациентки: бесплодие первичное (10 лет); хронический двухсторонний сальпингоофорит, ремиссия; гидросальпинкс справа; сифилис в анамнезе; полип эндометрия;

в – фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 25 лет (инд. карта № 12284): штриховые трещины. Диагноз пациентки: бесплодие первичное (2 года); хронический эндометрит, ремиссия; двухсторонние гидросальпинксы; дисплазия шейки матки;

г – фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 28 лет (инд. карта № 677): трещины-«гребешки». Диагноз пациентки: бесплодие первичное (1 год); двухсторонние гидросальпинксы; хронический эндометрит, ремиссия; кисты яичников; хронический цервицит; эктопия шейки матки.

Ув. $\times 400$, светлое поле

**Рис. 3:**

а – фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 29 лет (инд. карта № 14049): листовидные структуры. Диагноз пациентки: первичное бесплодие (2 года); хронический двухсторонний сальпингоофорит, ремиссия; двухсторонние гидросальпинксы; спайки малого таза; эктопия шейки матки;

б – фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 39 лет (инд. карта № 1052): языковые структуры. Диагноз пациентки: бесплодие первичное (10 лет); хронический двухсторонний сальпингоофорит; двухсторонние гидросальпинксы; сифилис в анамнезе;

в – фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 36 лет (инд. карта. № 1096): токсическая бляшка. Диагноз пациентки: бесплодие первичное (5 лет); хронический двухсторонний сальпингоофорит; двухсторонние гидросальпинксы; хронический цервицит; в анамнезе перенесенные – хламидиоз, уреаплазмоз, кандидоз, трихомониаз;

г – фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 33 лет (инд. карта № 1116): морщины. Диагноз пациентки: бесплодие вторичное (13 лет); хронический двухсторонний сальпингоофорит; двухсторонние гидросальпинксы; кисты яичников; в анамнезе – перенесенный уреаплазмоз, хламидиоз, ВПЧ-инфекция.

Ув. ×400, светлое поле

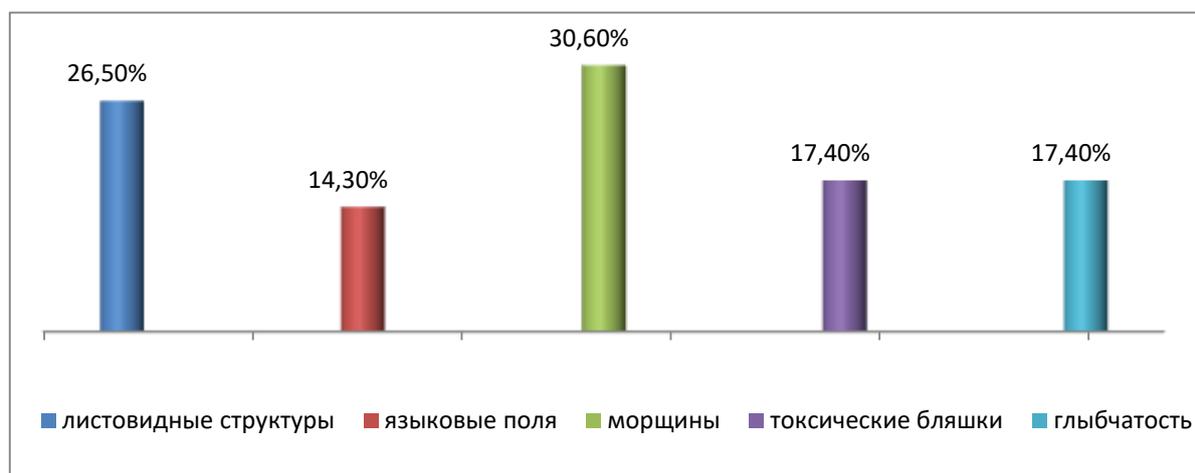


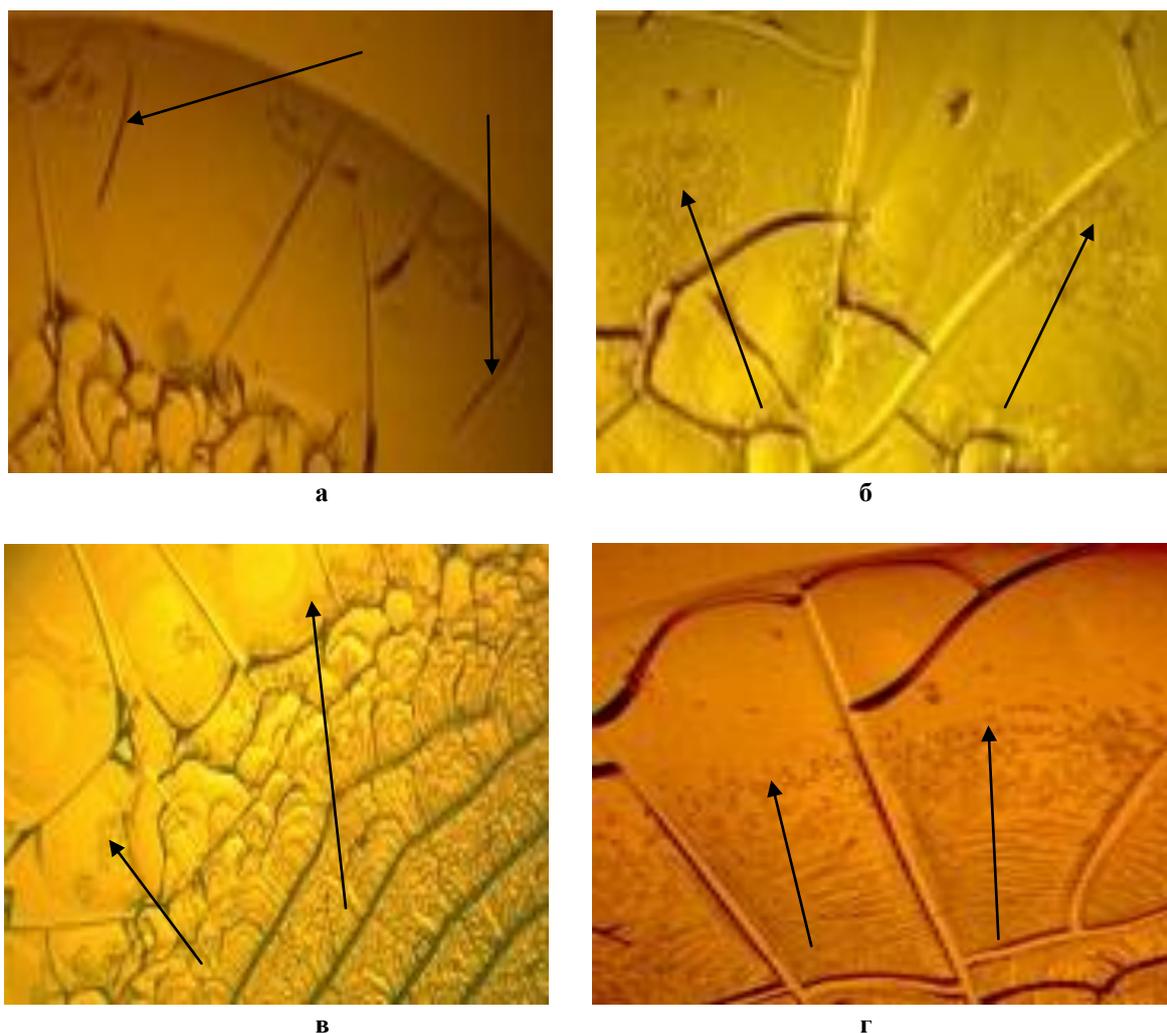
Рис. 4. Частота обнаружения патологических маркеров в фолликулярной жидкости

Степень воспалительного процесса обусловлена наличием специфического и неспецифического микробных факторов в организме и длительностью их токсического влияния. При сборе анамнеза и объективном обследовании женщин с воспалительным фактором бесплодия, которые вошли в программу ЭКО и ПЭ, были диагностированы ранее перенесенные инфекции, передаваемые половым путем. Так, у 41 (41,8 %) женщины выявлена *Ureaplasma urealitikum et parva* (рис. 5а), у 22 (22,5 %) – *Mycoplasma hominis et genitalium*, у 21 (21,4 %) – *Chlamidia trachomatis*, причем у 9 (9,2 %) женщин был обнаружен IgM к вирусу ВПГ 1-го и 2-го типов (рис. 5 б, в), в 9,2 % случаев – IgM к ЦМВ. У 7,1 % женщин обнаружен *Trichomonas vaginalis*, у 2 % – Syphilis, у 5,1 % – обнаружен HPV. Эти женщины получали лечение в соответствии с современными стандартами антибактериальной терапии. Однако в некоторых фациях фолликулярной жидкости отмечены характерные маркеры присутствия того или иного микробного фактора и его токсического влияния на яйцеклетку.

Из данных табл. 6 видно, что в фациях 1-го типа с физиологически устойчивым гомеостазом в фолликулярной жидкости не было обнаружено ни одного маркера инфекционного поражения яйцеклетки. Маркер ВПГ 1-го и 2-го типов представляет собой белесоватые скопления вокруг трещин переходной

зоны (рис. 5 б, в), маркер ЦМВ – темные пятна, расположенные в белковой и краевой зонах, маркер кандидоза – мелкие темные бобовидные включения (рис. 5г). Появление в фолликулярной жидкости маркеров, соответствующих микробиологическому или иммуноферментному показателю наличия инфицирования, указывает на неблагоприятное влияние этих факторов на фолликулярный аппарат и яйцеклетку.

Заключение. Морфоструктурный анализ фолликулярной жидкости, полученной с помощью метода клиновидной дегидратации, раскрывает важные процессы, происходящие в организме, а также отражает состояние гомеостаза и патологию отдельных органов и систем. Результаты данного исследования подтвердили предыдущие предположения о возможности маркеров фолликулярной жидкости отражать готовность яйцеклетки к оплодотворению и прогнозировать эффективность ВРТ в каждом конкретном случае [15]. Данные исследования фолликулярной жидкости были проведены у пациенток, находящихся в программе ВРТ, в период стимуляции суперовуляции, т.е. в тот в период, в котором проводить медикаментозную подготовку по улучшению качества яйцеклетки невозможно. Потому целесообразнее использовать морфологию фолликулярной жидкости для восстановления фертильности перед программой ЭКО и ПЭ.

**Рис. 5:**

а – фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 29 лет (инд. карта № 698): маркер уреоплазмы. Диагноз пациентки: первичное бесплодие (2 года); хронический двухсторонний сальпингоофорит, ремиссия; двухсторонние гидросальпинксы; цервицит; в анамнезе – уреоплазма. Лабораторно: ДНК уреоплазмы не обнаружено;

б – фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 31 года (инд. карта № 141): маркер ВПГ 1-го и 2-го типов. Диагноз пациентки: вторичное бесплодие (2 года); хронический двухсторонний сальпингоофорит, ремиссия; эктопия шейки матки; тазовый перитонит. В крови – IgM к ВПГ 1-го и 2-го типов;

в – фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 37 лет (инд. карта № 1461): маркер ВПГ 1-го и 2-го типов. Диагноз пациентки: бесплодие вторичное (3 года); хронический двухсторонний сальпингоофорит, ремиссия; двухсторонние гидросальпинксы; хронический эндометрит, ремиссия; полип цервикального канала в анамнезе. Лабораторно в крови – IgM к ВПГ 1-го и 2-го типов;

г – фрагмент фации системной организации ФЖ пациентки 25 лет (инд. карта № 1101): маркер кандидоза. Диагноз пациентки: первичное бесплодие (4 года); хронический двухсторонний сальпингоофорит, ремиссия; двухсторонние гидросальпинксы; кисты яичников; хронический метроэндометрит, ремиссия; эктопия шейки матки. Лабораторно в мазках – кандиды.

Ув. ×400, светлое поле

Таблица 6

Обнаружение маркеров инфекций в фолликулярной жидкости, п

Фации	Пациентки, переболевшие <i>Ureaplasma urealitikum et parva</i>	Пациентки с <i>Ureaplasma urealitikum et parva</i>	Пациентки с наличием в крови антител IgM, IgG к ВПГ 1-го и 2-го типов	Пациентки с наличием в крови антител IgM, IgG к ЦМВ	Пациентки с наличием маркеров <i>Candida albicans</i>
1-й тип	-	-	-	-	-
2-й тип	7	3	8	2	2
3-й тип	17	1	2	-	1
4-й тип	13	7	12	5	2

Литература

1. Назаренко Т.А. Репродуктивное здоровье населения. В кн.: Сухих Г.Т., Назаренко Т.А. и др., ред. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010: 10–26.
2. Назаренко Т.А. Проблемы репродукции в современном обществе (медико-социальные аспекты). В кн.: Назаренко Т.А., Мишиева Н.Г. Бесплодие и возраст: пути решения проблемы. М.: МЕДпресс – информ; 2010: 7–22.
3. Щедрина Р.Н. Роль эндокринных факторов в реализации вспомогательных репродуктивных технологий. М.: МЕДпресс-информ; 2012. 256.
4. Scalicietal E. Cele – fre DNA in Human Follicular Fluid as a Biomarker of Embrio quality. Hum Reprod. 2014; 29 (12): 2661–2669.
5. Самойлова А.В., Герасимова Л.И., Арзуманян Т.Г. Возможные причины неэффективности лечения бесплодного брака. Охрана репродуктивного здоровья женщин. Чебоксары; 2004: 188–191.
6. Ильина А.А., Калинина Т.Г., Трошина Т.Г. и др. Фолликулярная жидкость как среда, определяющая качество ооцита и исход программ ВРТ (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2008; 4; 27–38.
7. Левиашвили М.М., Мишиева Н.Ю., Костромина Н.Ю. и др. Оценка морфологии предимплантационных эмбрионов на различных стадиях развития in vitro (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2011; 3: 74–79.
8. Gendie E. Lash, Barbara A. Localization of angiogenic growth factors and their receptors in the human endometrium throughout the menstrual cycle and in recurrent miscarriage. Hum. Reprod. 2012; 27 (1): 183–195. Frist published online November 10, 2011. DOI: 10.1093/humper/der 376.
9. Chen H.F., Ho H.N., Chen S.U. IL-1 beta is increased in the follicular fluids of hftients with premafureluteinization. Am. Z. Reprod. Jmmunol. 1995; 34: 356–362.
10. Mendoza C., Cremades N., Ruiz-Reguena E., Martinez F. Relationship between fertilization results alter ICSI, and intrafollicular steroid, pituitary hormone and cytokine concentrations. Hum. Reprod. 1999; 14; 628–635.
11. Боярский К.Ю. Молекулярные основы фолликулогенеза. От первичных половых клеток до антральных фолликулов (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2006; 4: 26–37.
12. Эдлер К., Брайн Д. Экстракорпоральное оплодотворение: пер. с англ. М.: МЕДпресс – информ, 2008. 304.
13. Dimeld M., Lahdt N., Daniel-Spiegel E. Immunosuppressive properties of follicular fluid and media conditioned by zygotes correlate with subseguent contception in INF. Am. J. Reprod. Jmmunol. 2002; 48: 329–333.
14. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Способ диагностики состояния гомеостаза организма: патент RU № 2007716 РФ: G 01N 33/48/.
15. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей человека. М.: Хризостом; 2001. 304.
16. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Методические рекомендации МЗ РФ № 96/165 «Формирование кристаллических структур биологических жидкостей при различных видах патологии». М.; 1998.

17. Аюпова А.К., Юценко А.А., Шатохина С.Н., Урляпова Н.Г. Диагностическое значение структур твердой фазы сыворотки крови при хронических заболеваниях. Морфология биологических жидкостей в диагностике и контроле эффективности лечения: материалы 2-й Всероссийской научно-практической конференции. 20–23 октября. М.; 2001: 14–16.
18. Шабалин В.Н. и др. Кристаллические структуры крови в норме и при патологии: методические рекомендации. МЗ РСФСР; Моск. обл. науч.-исслед. институт. М.; 1992. 15.
19. Шварев Е.Г. и др. Мофоструктурные и биохимические особенности биологических жидкостей больных опухолями яичников. Астраханский мед. журнал. 2011; 1: 155–159.
20. Трубникова Л.И., Шатохина С.Н., Кузнецова Т.В. Критерии структур биологических жидкостей при плацентарной недостаточности. Материалы 3-го Российского форума «Мать и дитя». 22–26 октября 2001 г. М.; 2001: 228–229.
21. Трубникова Л.И., Албутова М.Л., Кузнецова Т.В., Таджиева В.Д. Особенности липидного обмена и кристаллографических показателей биологических жидкостей при сахарном диабете у беременных. Акушерство и гинекология, 2004; 6: 14–18.
22. Трубникова Л.И., Шатохина С.Н., Албутова М.Л. Влияние различной концентрации глюкозы на структуропостроение сыворотки крови у здоровых и больных сахарным диабетом. Ученые записки Ульяновского государственного университета. 2002; 1: 181–184.
23. Трубникова Л.И., Киселева Л.М., Иглина М.А. Оценка адаптационного резерва на фоне ВИЧ-инфекции. Материалы 4-го съезда акушеров-гинекологов России. Москва, 30 сентября – 2 октября 2008. М.; 2008: 256–257.
24. Дикарева Л.В., Шварев Е.Г., Шрамкова И.А., Аюпова А.К. Метод клиновидной дегидратации и оценка состояния эндометрия у больных гормонозависимыми опухолями матки. Симбирский онкологический журнал. Томск, 2007; 1: 129.
25. Обухова Л.М., Ведунова М.В., Конторщикова Н.И., Добротина И.А. Морфологический анализ плазмы крови при эндогенной интоксикации. Вестник НГУ. 2007; 6: 104–107.
26. Трубникова Л.И., Шатохина С.Н., Вознесенская Н.В., Кожемятова И.В. Характеристика изменений цервикальной слизи при предраковых заболеваниях шейки матки. Материалы 2-й Всероссийской научной конференции врачей «Актуальные вопросы здоровья и среды обитания современного человека». 6–7 октября 2005. Ульяновск; 2005: 123.
27. Хрулева Н.В. Исследование морфологической картины фолликулярной жидкости. Аспирантский вестник Поволжья. 2009; 7–8: 191–194.
28. Трубникова Л.И., Самойлова А.В., Трубников В.С., Албутова М.Л. Оценка готовности яичников к использованию вспомогательных репродуктивных технологий по структуропостроению фолликулярной жидкости. Материалы Всероссийской научно-практической конференции. 6–8 ноября 2009. Ульяновск; 2009: 212–215.

CLINICAL VALUE OF FOLLICULAR FLUID MORPHOLOGY IN PATIENTS WITH INFLAMMATORY INFERTILITY GENESIS IN OUTCOME PROGNOSIS OF ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY PROGRAMS

L.I. Trubnikova¹, A.V. Samoylova², O.A. Marina¹,
S.G. Milaev², M.L. Albutova¹

¹Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia;

²Presidential perinatal centre, Cheboksary, Russia

e-mail: kafaig@mail.ru

The objective of the paper is to study the follicular fluid morphology in women with inflammatory infertility genesis, who were treated by means of assisted reproductive technologies (ART) and to show the dependence of ART prognostic outcomes on the level of follicular fluid structuredness.

Materials and Methods. The authors studied follicular fluid morphology of 98 patients with inflammatory infertility genesis who were included in extracorporeal fertilization and embryo transfer.

Results. The study of follicular fluid morphology was conducted using the method of cuneate dehydration. Specific characteristics of facies patterns were identified. The authors defined 4 types of follicular flu-

id facies according certain markers, namely, definite disruptions. Moreover, new disruptions peculiar only to follicular fluid were revealed. The authors also described inflammatory markers, which determined the ovum toxicity level and ovarium readiness to be treated with ART methods. According to the definite pattern of the central facies zone it was possible to find out the endocrine profile in each patient after using multifollicular ovarian stimulation protocols. The authors defend physiological and pathological facies state as well as stable and unstable homeostasis. All these characteristics of facies patterns make it possible to determine the application of ART methods as favorable or unfavorable.

Keywords: infertility, in vitro fertilization, follicular fluid, pattern, facies, markers.

References

1. Nazarenko T.A. Reproductivnoe zdorov'e naseleniya [Reproductive public health]. V kn.: Sukhikh G.T., Nazarenko T.A. i dr., red. *Besplodnyy brak. Sovremennye podkhody k diagnostike i lecheniyu* [Sterile marriage. Modern ways of diagnosis and treatment]. Moscow: GEOTAR-Media; 2010: 10–26 (in Russian).
2. Nazarenko T.A. Problemy reproduksii v sovremennom obshchestve (mediko-sotsial'nye aspekty) [Reproductibility problems in modern society (medical and social aspects)]. V kn.: Nazaenko T.A., Mishieva N.G. *Besplodie i vozrast: puti resheniya problem* [Infertility and age: ways of solving the problem]. Moscow: MEDpress – inform; 2010: 7–22 (in Russian).
3. Shchedrina R.N. *Rol' endokrinnykh faktorov v realizatsii vspomogatel'nykh reproductivnykh tekhnologiy* [Role of endocrine factors in implementation of auxiliary reproductive techniques]. Moscow: MEDpress-inform; 2012. 256 (in Russian).
4. Scalicietal E. Cele – fre DNA in Human Follicular Fluid as a Biomarker of Embrio quality. *Hum. Reprod.* 2014; 29 (12): 2661–2669.
5. Samoylova A.V., Gerasimova L.I., Arzumanyan T.G. Vozmozhnye prichiny neeffektivnosti lecheniya besplodnogo braka [Possible reasons for noneffective sterile marriage treatment]. *Okhrana reproductivnogo zdorov'ya zhenshchin* [Reproductive women's health protection]. Cheboksary; 2004: 188–191 (in Russian).
6. Il'ina A.A., Kalinina T.G., Troshina T.G. i dr. Follikulyarnaya zhidkost' kak sreda, opredelyayushchaya kachestvo ootsita i iskhod programm VRT (obzor literatury) [Follicular fluid as the substance determining oocyte quality and of ART outcomes]. *Problemy reproduksii.* 2008; 4: 27–38 (in Russian).
7. Leviashvili M.M., Mishieva N.Yu., Kostromina N.Yu. i dr. Otsenka morfologii predimplantatsionnykh embrionov na razlichnykh stadiyakh razvitiya in vitro (obzor literatury) [Morphology of Preimplantation Embryo at different developmental stages (literature review)]. *Problemy reproduksii.* 2011; 3: 74–79 (in Russian).
8. Gendie E. Lash, Barbara A. Localization of angiogenic growth factors and their receptors in the human endometrium throughout the menstrual cycle and in recurrent miscarriage. *Hum. Reprod.* 2012; 27 (1): 183–195. Frist published online November 10, 2011. Doi: 10.1093/humper/der376.
9. Chen H.F., Ho H.N., Chen S.U. IL-1 beta is increased in the follicular fluids of hftients with premafureluteinization. *Am. Z. Reprod. Immunol.* 1995; 34: 356–362.
10. Mendoza C., Cremades N., Ruiz-Reguena E., Martinez F. Relationship between fertilization results alter ICSI, and intrafollicular steroid, pituitary hormone and cytokine concentrations. *Hum. Reprod.* 1999; 14: 628–635.
11. Boyarskiy K.Yu. Molekulyarnye osnovy follikulogeneza. Ot pervichnykh polovykh kletok do antral'nykh follikulov (obzor literatury) [From primary gametal cells to antral follicles (literature review)]. *Problemy reproduksii.* 2006; 4: 26–37 (in Russian).
12. Elder K., Brian D. *Ekstrakorporal'noe oplodotvorenje* [In vitro fertilization]: per. s angl. Moscow: MEDpress – inform; 2008. 304 (in Russian).
13. Dimeld M., Lahdt N, Daniel-Spiegel E. Jmmunosupressive properties of follicular fluid and media conditioned by zygotes correlate with subsequent contception in INF. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2002; 48: 329–333.
14. Shabalin V.N., Shatokhina S.N. Sposob diagnostiki sostoyaniya gomeostaza organizma [A method for diagnosing homeostasis]: *patent RU № 2007716 RF: G 01N 33/48* (in Russian).
15. Shabalin V.N., Shatokhina S.N. *Morfologiya biologicheskikh zhidkostey cheloveka* [Morphology of

- human biological fluids]. Moscow: Khrizostom; 2001. 304 (in Russian).
16. Shabalin V.N., Shatokhina S.N. *Metodicheskie rekomendatsii MZ RF № 96/165 «Formirovanie kristallicheskikh struktur biologicheskikh zhidkostey pri razlichnykh vidakh patologii»* [Guidelines MZ RF № 96/165 “Formation of biological fluid crystalline structures at different pathologies]. Moscow; 1998 (in Russian).
 17. Ayupova A.K., Yushchenko A.A., Shatokhina S.N., Urlyapova N.G. Diagnosticheskoe znachenie struktur tverдой fazy syvorotki krovi pri khronicheskikh zabolevaniyakh [Diagnostic value of blood serum solid structures at chronic diseases]. *Morfologiya biologicheskikh zhidkostey v diagnostike i kontrole effektivnosti lecheniya* [Morphology of biological fluids in diagnosis and monitoring of treatment effectiveness]: *Materialy 2-y Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii* [Proceedings of the 2nd All-Russian scientific and practical conference]. October, 20–23. Moscow; 2001: 14–16 (in Russian).
 18. Shabalin V.N. i dr. *Kristallicheskie struktury krovi v norme i pri patologii: metodicheskie rekomendatsii* [Blood crystalline structures in health and disease]. MZ RSFSR; Mosk. Obl. nauch-issled. Institut. Moscow; 1992. 15 (in Russian).
 19. Shvarev E.G. i dr. Mofostrukturnye i biokhimicheskie osobennosti biologicheskikh zhidkostey bol'nykh opukholyami yaichnikov [Morphological, structural and biochemical peculiarities of biological fluids at patients with oothecoma]. *Astrakhanskiy med. zhurnal*. 2011; 1: 155–159 (in Russian).
 20. Trubnikova L.I., Shatokhina S.N., Kuznetsova T.V. Kriterii struktur biologicheskikh zhidkostey pri platsentarnoy nedostatocnosti [Structure of biological fluids at placental insufficiency]. *Materialy 3-go Rossiyskogo foruma «Mat' i ditya»* [Proceedings of the 3rd Russian forum “Mother and child”]. October, 22–26, 2001. Moscow; 2001: 228–229 (in Russian).
 21. Trubnikova L.I., Albutova M.L., Kuznetsova T.V., Tadzheva V.D. Osobennosti lipidnogo obmena i kristallograficheskikh pokazateley biologicheskikh zhidkostey pri sakharnom diabete u beremnykh [Characteristics of lipid exchange and crystallographic indicators of biological fluids at pregnant women with diabetes mellitus]. *Akusherstvo i ginekologiya*, 2004; 6: 14–18 (in Russian).
 22. Trubnikova L.I., Shatokhina S.N., Albutova M.L. Vliyanie razlichnoy kontsentratsii glyukozy na strukturopostroenie syvorotki krovi u zdorovykh i bol'nykh sakharnym diabetom [Effect of different glucose concentrations on the blood serum pattern in healthy and diabetic patients]. *Uchenye zapiski Ul'yanovskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2002; 1: 181–184 (in Russian).
 23. Trubnikova L.I., Kiseleva L.M., Iglina M.A. Otsenka adaptatsionnogo rezerva na fone VICH-infektsii [Evaluation of adaptation reserve in patients with HIV infection]. *Materialy 4-go s'ezda akusherov-ginekologov Rossii* [Proceedings of the 4th Congress of obstetricians and gynecologists in Russia]. Moscow, September, 30 – October, 2, 2008. Moscow; 2008: 256–257 (in Russian).
 24. Dikareva L.V., Shvarev E.G., Shramkova I.A., Ayupova A.K. Metod klinovidnoy degidratatsii i otsenka sostoyaniya endometriya u bol'nykh gormonozavisimymi opukholyami matki [Method of cuneate dehydration and endometrium assessment in patients with hormone-dependent uterus tumors]. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal*. Tomsk, 2007; 1: 129 (in Russian).
 25. Obukhova L.M., Vedunova M.V., Kontorshchikova N.I., Dobrotina I.A. Morfologicheskii analiz plazmy krovi pri endogennoy intoksikatsii [Morphological analysis of blood plasma with endogenous intoxication]. *Vestnik NGU*. 2007; 6: 104–107 (in Russian).
 26. Trubnikova L.I., Shatokhina S.N., Voznesenskaya N.V., Kozhemyatova I.V. Kharakteristika izmeneniy tservikal'noy slizi pri predrakovykh zabolevaniyakh sheyki matki [Changes in cervical mucus at precancerous cervical diseases]. *Materialy 2-y Vserossiyskoy nauchnoy konferentsii vrachey «Aktual'nye voprosy zdorov'ya i sredy obitaniya sovremennogo cheloveka»* [Proceedings of the 2nd All-Russian scientific medical conference “Topical issues of human health and environment”] October, 6–7, 2005. Ul'yanovsk; 2005: 123 (in Russian).
 27. Khruleva N.V. Issledovanie morfologicheskoy kartiny follikulyarnoy zhidkosti [Study of follicular fluid morphological patterns]. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2009; 7–8: 191–194 (in Russian).
 28. Trubnikova L.I., Samoylova A.V., Trubnikov V.S., Albutova M.L. Otsenka gotovnosti yaichnikov k ispol'zovaniyu vspomogatel'nykh reproduktivnykh tekhnologiy po strukturopostroeniyu follikulyarnoy zhidkosti [Assessment of ovarian readiness to assisted reproductive technology according to follicular fluid patterns]. *Materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii* [Proceedings of All-

Russian scientific and practical conference]. Ul'yanovsk; 2009: 212–215 (in Russian).