



Прогнозирование успешной имплантации эмбриона при экстракорпоральном оплодотворении, основанное на морфологической и иммуноцитохимической оценке гранулезных клеток фолликулярной жидкости

П. М. Мотолянец¹, О. А. Юдина¹, А. З. Смоленский¹, О. В. Хилько²

¹Республиканский клинический медицинский центр

Управления делами Президента Республики Беларусь, г. Минск, Беларусь

²Белорусский государственный экономический университет, г. Минск, Беларусь

Резюме

Цель исследования. Определить прогностическую значимость цитоморфологических характеристик гранулезных клеток (ГК) фолликулярной жидкости (ФЖ) для оценки наступления имплантации эмбриона (ИЭ) при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО).

Материалы и методы. Исследованы образцы ФЖ, полученной при аспирации ооцит-кумулюсных комплексов для проведения ЭКО в связи с бесплодием. Исследуемые группы (ИГ): ИГ1 — ИЭ не наступила (n = 61), ИГ2 — успешная ИЭ (n = 54). Произведены подсчет количества ГК в препаратах и измерение среднего диаметра ядер. Выполнена оценка экспрессии белков FSHR, ERβ и PR в ГК иммуноцитохимическим (ИЦХ) методом.

Результаты. Установлены статистически значимые различия между ИГ1 и ИГ2 по интенсивности экспрессии белков FSHR (p = 0,001), ERβ (p = 0,031), PR (p = 0,024), количеству ГК в препаратах (p = 0,005) и средним размерам ядер ГК ФЖ (p = 0,0001). При ROC-анализе установлено, что при успешной имплантации средний размер ядер ГК, интенсивность экспрессии FSHR и ERβ характеризуются лучшими диагностическими чувствительностью (86,4, 78,6 и 77,19 % соответственно), специфичностью (77,4, 80,95 и 83,33 % соответственно) и эффективностью (81,9, 79,78 и 80,26 % соответственно). Построена прогностическая модель методом бинарной логистической регрессии. С учетом выбора оптимального порогового значения результирующей переменной Y (0,610) достигнуты значения диагностической чувствительности (94,4 %), диагностической специфичности (93,4 %), прогностической значимости (93,9 %).

Заключение. Потенциальные предикторы успешной ИЭ при ЭКО выявлены при изучении морфологических характеристик и гормонорецепторного статуса ГК ФЖ. Разработанная прогностическая модель может быть использована для оценки вероятности наступления ИЭ.

Ключевые слова: гранулезные клетки, иммуноцитохимия, рецепторы гормонов, прогнозирование

Вклад авторов. Мотолянец П.М.: разработка концепции и дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, проведение лабораторных исследований, статистическая обработка и анализ полученных данных; Юдина О.А.: разработка концепции и дизайна исследования, редактирование текста; Смоленский А.З.: проведение сканирования цитологических препаратов, консультативная помощь в анализе полученных данных; Хилько О.В.: статистическая обработка данных.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования. Исследование выполнено в рамках проекта «Разработать и внедрить метод медицинской профилактики осложнений, связанных с имплантацией эмбрионов у женщин после экстракорпорального оплодотворения, основанный на оценке фолликулярной жидкости» государственной программы научных исследований «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», подпрограмма «Здоровье матери и ребенка» (№ госрегистрации 20221386 от 15.08.2022).

Для цитирования: Мотолянец ПМ, Юдина ОА, Смоленский АЗ, Хилько ОВ. Прогнозирование успешной имплантации эмбриона при экстракорпоральном оплодотворении, основанное на морфологической и иммуноцитохимической оценке гранулезных клеток фолликулярной жидкости. Проблемы здоровья и экологии. 2025;22(2):18–25. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2025-22-2-02>

Prediction of successful embryo implantation during in vitro fertilization based on morphological and immunocytochemical assessment of granulosa cells from follicular fluid

Pavel M. Motolyanets¹, Olga A. Yudina¹, Andrei Z. Smolensky¹, Olga V. Khilko²

¹ Republican clinical medical center of the Administration of the President of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

² Belarusian State Economic University, Minsk, Belarus

Abstract

Objective. To determine the prognostic value of cytomorphological characteristics of granulosa cells (GCs) in follicular fluid (FF) for assessing embryo implantation (EI) in in vitro fertilization (IVF).

Materials and methods. FF samples obtained during aspiration of oocyte-cumulus complexes for IVF due to infertility were studied. Studied groups (SG): SG1 – EI did not occur (n=61), SG2 – successful EI (n=54). The number of GCs in the preparations was counted, and the average nuclear diameter was measured. The expression of FSHR, ER β , and PR proteins in GCs was assessed by immunocytochemical (ICC) method.

Results. Statistically significant differences were found between SG1 and SG2 in the expression intensity of FSHR (p=0,001), ER β (p=0,031), and PR (p=0,024) proteins, the number of GCs in the preparations (p=0,005), and the average nuclear size of FF GCs (p=0,0001). ROC analysis showed that successful implantation was associated with the average nuclear size of GCs and the expression intensity of FSHR and ER β , which had the best diagnostic sensitivity (86,4%, 78,6%, and 77,19%, respectively), specificity (77,4%, 80,95%, and 83,33%, respectively), and efficiency (81,9%, 79,78%, and 80,26%, respectively). A prognostic model was constructed using binary logistic regression. Considering the selection of the optimal threshold value of the resultant variable Y (0,610), diagnostic sensitivity (94,4%), diagnostic specificity (93,4%), and predictive value (93,9%) were achieved.

Conclusion. Potential predictors of successful EI in IVF were identified by studying the morphological characteristics and hormone receptor status of FF GCs. The developed prognostic model can be used to assess the probability of EI.

Keywords: granulosa cells, immunocytochemistry, hormone receptors, prediction

Author contributions. Motolyanets P.M.: conceptualization and study design, literature review, laboratory research, statistical analysis of the data; Yudina O.A.: conceptualization and study design, text editing; Smolensky A.Z.: scanning of cytological slides, consultation on data analysis; Khilko O.V.: statistical data processing.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study was carried out as part of the project “To develop and implement a method for the medical prevention of complications associated with embryo implantation in women after in vitro fertilization, based on the assessment of follicular fluid” within the state scientific research program “Scientific and technical support for the quality and accessibility of medical services”, subprogram “Maternal and Child Health” (State registration No. 20221386 dated 15.08.2022).

For citation: Motolyanets PM, Yudina OA, Smolensky AZ, Khilko OV. Prediction of successful embryo implantation during in vitro fertilization based on morphological and immunocytochemical assessment of granulosa cells from follicular fluid. *Health and Ecology Issues*. 2025;22(2):18–25. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2025-22-2-02>

Введение

Экстракорпоральное оплодотворение применяется на протяжении нескольких десятилетий, но только 30–40 % случаев использования вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) привели к беременности и 25–30 % закончились рождением детей, что определяет актуальность разработки методов прогнозирования успешной ИЭ [1, 2]. ФЖ и ГК создают сигнальное и метаболическое окружение ооцита [3]. Состояние рецепторов ГК обеспечивает ответ на овариальную стимуляцию и ассоциировано с успешной ИЭ при ЭКО [4]. Предполагается, что характеристики морфологии и гормонорецепторного статуса ГК могут использоваться в качестве предикторов ИЭ, однако опыт изучения ГК человека недостаточно представлен в доступной литературе.

Поскольку прогнозируемая ИЭ может иметь только два состояния (наступление или отсутствие), необходима диагностическая модель на основе бинарного классификатора, оптимальным способом оценки которого является ROC-анализ [5, 6]. Диагностические и прогностические модели, основанные на оценке экспрессии белков, используются в онкологии [7–11]. Описан опыт применения ROC-анализа для прогнозирования исходов ЭКО с учетом качественных и количественных характеристик биологических маркеров [12, 13].

Цель исследования

Определить прогностическую значимость цитоморфологических характеристик ГК ФЖ для оценки наступления ИЭ при ЭКО.

Материалы и методы

Образцы ФЖ получены при аспирации ооцит-кумулюсных комплексов для проведения ЭКО в связи с бесплодием на базе отделения вспомогательных репродуктивных технологий ГУ «Республиканский научно-практический центр “Мать и дитя”» после информированного согласия, обследования пациентов в общепринятом объеме и контролируемой овариальной стимуляции в соответствии с клиническими протоколами, утвержденными Министерством здравоохранения Республики Беларусь. Сформированы ИГ: ИГ1 — ИЭ не наступила вследствие ЭКО (n = 61); ИГ2 — успешная ИЭ вследствие ЭКО (n = 54). ГК визуализированы с помощью методов жидкостной цитологии и клеточных блоков (КБ). Выполнено ИЦХ-исследование с первичными антителами анти-PR и анти-FSHR (FineTest, Китай), анти-ERβ (ScyTek Laboratories, США) в соответствии с рекомендациями производителя. Световая микроскопия препаратов проведена с помощью микроскопа Leica DM2500, сканирование препаратов — с использованием цифрового слайд-сканера Motic EasyScan. Произведены подсчет количества ГК и измерение среднего диаметра ядер ГК. Количественная оценка экспрессии белков рецепторов с ядерной локализацией (ERβ, PR) проведена путем подсчета количества окрашенных и неокрашенных ядер на 100 ГК в репрезентативном поле зрения. Экспрессия белков оценивалась как интенсивная, умеренная, слабая и отрицательная. Рассчитан коэффициент ядерной экспрессии (КЯЭ) по формуле:

$$\text{КЯЭ} = \text{С} \times 1 + \text{У} \times 2 + \text{И} \times 3,$$

где С — доля ядер со слабым окрашиванием;
У — доля ядер с умеренным окрашиванием;
И — доля ядер с интенсивным окрашиванием.

Качественная оценка результатов ИЦХ-реакции проведена в среде компьютерной программы Aperio ImageScope, v. 12.4.3.5008, где произведен подсчет позитивных пикселей по алгоритму «PositivePixelCount, v. 9». Интенсивность экспрессии оценена по шкале от 0 до 255. Рассчитана средняя интенсивность пикселей (lavg).

Обработка данных проведена методами статистического анализа с использованием статистических пакетов Excel (Microsoft inc., США), Statistica, 13.0 (StatSoft inc., США), SPSS Statistics 26. Для математической оценки прогностической значимости применен ROC-анализ. Прогностическая модель построена методом бинарной логистической регрессии, поскольку в качестве группирующей переменной принят показатель (наступление ИЭ), принимающий два возможных значения («да» или «нет»). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

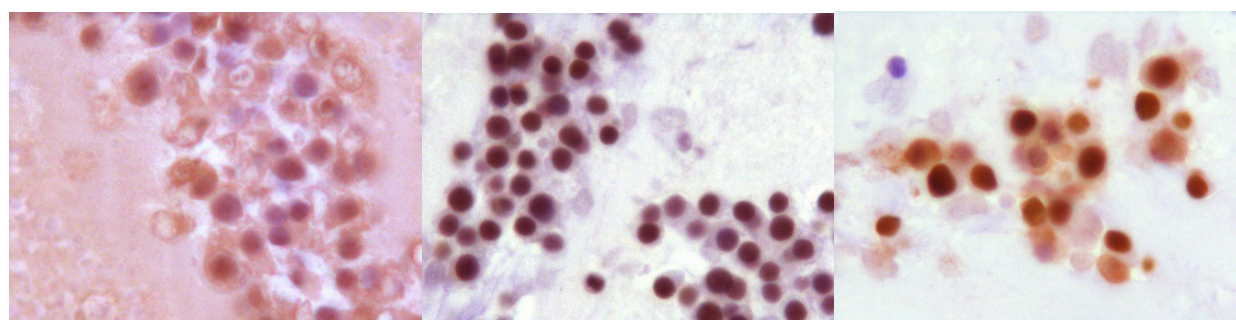
Доля ИГ1 составила 53,04 %, а ИГ2 — 46,96 %. ИГ не отличаются по возрасту ($U = 1608,0$; $p = 0,826$), длительности бесплодия ($U = 1484,5$; $p = 0,360$), индексу массы тела ($U = 1540,5$; $p = 0,551$), объему образцов ФЖ ($U = 1640,0$; $p = 0,968$) и количеству пунктированных фолликулов ($U = 1640,0$; $p = 0,057$), значимые различия выявлены по количеству полученных ооцитов ($U = 1348,5$; $p = 0,043$). В ИГ2 получено больше ооцитов, что с учетом одинакового количества пунктированных фолликулов может указывать на наличие атретичных фолликулов в ИГ1.

Статистически значимые различия между ИГ1 и ИГ2 установлены по количеству ГК в препаратах ($U = 1141,0$; $p = 0,005$) и средним размерам ядер ГК ФЖ ($U = 87,5$; $p = 0,0001$) (таблица 1). Большее количество ГК в ИГ2 обусловлено состоятельным ответом на действие ФСГ [14]. Известно, что рост фолликула сопровождается увеличением количества ГК и их слоев, достигающего максимума в антральную стадию [15–17]. Установлено, что ИЭ при ЭКО ассоциирована с количеством и клеточностью фолликулов [18]. Большой размер ядер в ИГ2 отражает функциональную активность ГК [19–21]. Размер ядра определяется организацией хроматина, на которую влияют как ядерные (мембрана, нуклеоплазматическая жидкость), так и цитоплазматические (главным образом цитоскелет) факторы [22–24].

Таблица 1. Средний размер ядра и количество гранулезных клеток в препаратах
Table 1. Average nuclear size and number of granulosa cells in histological sections

Параметр	Группа	Медиана [Q1; Q3]	Min–max	p
Количество гранулезных клеток в препарате, шт.	ИГ1 (n = 61)	518 [351; 671]	138–1220	0,005
	ИГ2 (n = 54)	657 [498; 845]	271–1326	
Средний размер ядра, мкм	ИГ1 (n = 61)	8,12 [7,84; 8,25]	6,84–8,59	0,0001
	ИГ2 (n = 54)	8,60 [8,50; 8,77]	8,14–9,77	

Результат визуализации белков рецепторов в ГК при ИЦХ-реакции представлен на рисунке 1.



А

Б

В

Рисунок 1. Экспрессия белков рецепторов при иммуноцитохимическом исследовании: А — FSHR; Б — ERβ; В — PR (хромоген — диаминобензидин, контрокрасивание гематоксилином Майера, x200)

Figure 1. Receptor protein expression in immunocytochemical analysis: A — FSHR; B — ERβ; C — PR (chromogen – diaminobenzidine, counterstain – Mayer's hematoxylin, x200)

При количественной оценке экспрессии белков ядерных рецепторов не выявлены значимые различия между исследуемыми группами по позитивности ERβ ($U = 1319,5$; $p = 0,064$), КЯЭ ERβ ($U = 1449,5$; $p = 0,268$), позитивности PR ($U = 1636,0$; $p = 0,950$), КЯЭ PR ($U = 1443,5$; $p = 0,254$). В свою очередь качественная оценка экспрессии при морфометрическом анализе позволила установить статистически значимые различия между ИГ1 и ИГ2 по интенсивности экспрессии белков FSHR ($U = 1065,5$; $p = 0,001$), ERβ

($U = 1263,0$; $p = 0,031$) и PR ($U = 1273,5$; $p = 0,024$), что представлено в таблице 2. В ИГ2 интенсивнее экспрессия белков FSHR, ERβ и PR при ИЦХ-реакции, что отражает большее количество рецепторов в ГК и согласуется с данными литературы. Известно, что по мере роста фолликула в ГК нарастает количество FSHR [25, 26]. Доказана роль ERβ в развитии фолликула, созревании ооцитов и ответе на овариальную стимуляцию препаратами ФСГ [27, 28]. PR обеспечивают фертильность и нормальную функцию яичников [29].

Таблица 2. Средняя интенсивность экспрессии белков FSHR, ERβ и PR в гранулезных клетках
Table 2. Average expression intensity of FSHR, ERβ, and PR proteins in granulosa cells

Белок	Группа	Среднее значение интенсивности (lavg)	Стандартное отклонение	p
FSHR	ИГ1 (n = 61)	156,25	15,28	0,001
	ИГ2 (n = 54)	145,96	16,73	
ERβ	ИГ1 (n = 61)	151,24	28,57	0,031
	ИГ2 (n = 54)	140,21	27,40	
PR	ИГ1 (n = 61)	153,88	24,35	0,024
	ИГ2 (n = 54)	145,22	24,55	

Для исключения из дальнейшего рассмотрения признаков, которые имеют высокий коэффициент парной корреляции, первым этапом проведен корреляционный анализ данных, результаты которого показали, что выбранные предикторы умеренно коррелируют между собой и могут быть использованы в дальнейшем.

Обозначенные показатели анализировали методом бинарной регрессии, предварительно построив и проанализировав ROC-кривые. На рисунке 2 и в таблице 3 представлены результаты ROC-анализа для оценки прогностической значимости количества ГК в препаратах, среднего размера ядер ГК и показателей интенсивности экспрессии белков рецепторов.

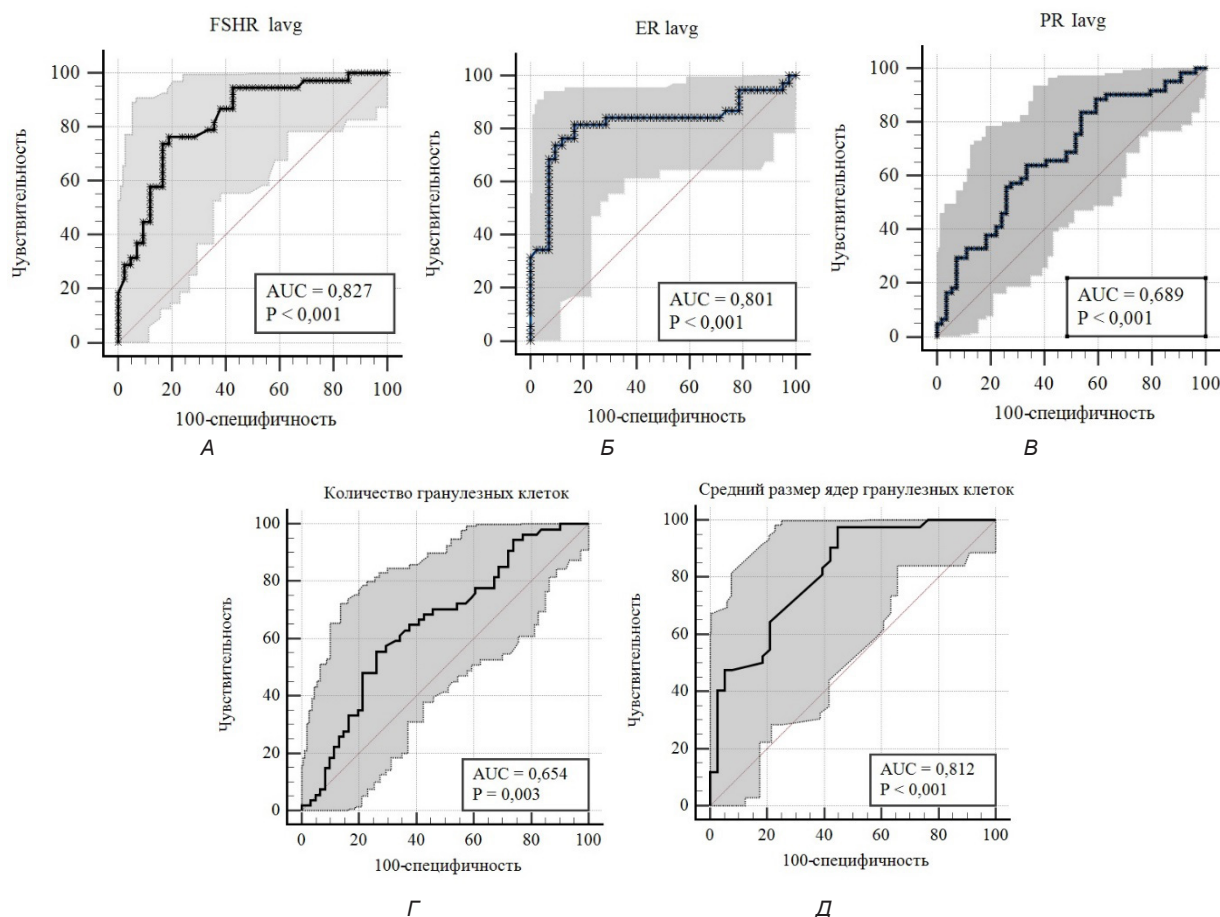


Рисунок 2. ROC-кривые для характеристик гранулезных клеток при оценке вероятности наступления имплантации эмбриона: А — интенсивность экспрессии (lavg) FSHR; Б — интенсивность экспрессии (lavg) ERβ; В — интенсивность экспрессии (lavg) PR; Г — количество гранулезных клеток в препаратах; Д — средний размер ядер гранулезных клеток
 Figure 2. ROC curves for granulosa cell characteristics in terms of assessing the probability of embryo implantation: А — FSHR expression intensity (lavg); Б — expression intensity (lavg); В — PR expression intensity (lavg); Г — number of granulosa cells in preparations; Д — average size of granulosa cell nuclei

Таблица 3. Диагностическая значимость характеристик гранулезных клеток при оценке вероятности наступления имплантации эмбриона

Table 3. Diagnostic significance of granulosa cell characteristics in assessing the probability of embryo implantation

Показатель	ПЗ	ДЧ, %	ДС, %	ДЭ, %	AUC	p (против AUC = 0,5)	Индекс Юдена
FSHR lavg	< 152,37	78,6	80,95	79,78	0,827 (от 0,727 до 0,903)	0,001	0,678
ER-β lavg	< 118,33	77,19	83,33	80,26	0,801 (от 0,717 до 0,896)	0,001	0,641
PR lavg	< 124,11	52,38	75,89	64,14	0,689 (от 0,583 до 0,770)	0,001	0,345
Количество гранулезных клеток в препарате, шт.	> 637	55,6	73,8	64,4	0,654 (от 0,559 до 0,740)	0,001	0,2933
Средний размер ядра, мкм	> 8,37	86,4	77,4	81,9	0,812 (от 0,715 до 0,895)	0,001	0,5288

Примечание. ПЗ — пороговое значение; ДЧ — диагностическая чувствительность; ДС — диагностическая специфичность; ДЭ — диагностическая эффективность; AUC — площадь под ROC-кривой; p (против AUC = 0,5) — уровень значимости, при котором оцениваемая AUC статистически значимо отличается от неинформативного значения 0,5.

Note: ПЗ — cut-off value; ДЧ — diagnostic sensitivity; ДС — diagnostic specificity; ДЭ — diagnostic accuracy/effectiveness; AUC — area under the ROC-curve; p (vs AUC=0.5) — significance level at which the estimated AUC is statistically significantly different from the non-informative value of 0.5.

Нами установлено, что при успешной ИЭ средний размер ядер ГК, интенсивность экспрессии FSHR и ERβ по результатам ROC-анализа характеризуется лучшими ДЧ, ДС и ДЭ, что согласуется с данными о влиянии состоятельности FSHR на результаты стимуляции яичников в программах BPT [30].

Пошаговое включение предикторов в статистическую модель привело к составлению уравнения:

$$Y = \frac{\exp(-139,227 - 0,052X_1 - 0,002X_2 + 17,602X_3)}{1 + \exp(-139,227 - 0,052X_1 - 0,002X_2 + 17,602X_3)},$$

где Y — регрессионная функция, отражающая вероятность ИЭ; exp — основание натурального логарифма ($\approx 2,718$); X₁, X₂, X₃ — предикторы: X₁ — FSHR lavg; X₂ — ERβ lavg; X₃ — средний размер ядра.

Параметры уравнения логистической регрессии представлены в таблице 4.

Таблица 4. Параметры уравнения логистической регрессии

Table 4. Logistic regression equation parameters

Факторный признак	Коэффициент регрессии	Среднеквадратичная ошибка	p
X1	-0,052	0,029	0,038
X2	-0,002	0,018	0,002
X3	17,602	4,151	0,001

Начальное значение отрицательного удвоенного логарифма функции правдоподобия ($-2\log$ Likelihood, $-2LL$) в регрессионной модели составило 158,998. При включении в уравнение предикторных переменных (средний размер ядра, FSHR lavg, ERβ lavg) $-2LL$ достигло значения 42,129, что демонстрирует снижение («качество приближения») на 116,869; $p < 0,0001$. Коэффициент детерминации (R^2), отражающий насколько изменение резульативной переменной Y объясняется изменением совокупности независимых переменных уравнения, рассчитан методами Кокса и Снелла ($R^2 = 0,638$) и Найджелкерка ($R^2 = 0,852$). В таблице 5 представлены результаты проверки согласованности модели с исходными данными (критерий согласия Хосмера – Лемешова). Для сконструированной модели уровень значимости для этого критерия составил $p > 0,05$, т. е. принимается нулевая гипотеза о согласии модели и реальных данных, что указывает на хорошее соответствие модели логистической регрессии.

Таблица 5. Оценка модели Y по критерию Хосмера – Лемешова

Table 5. Assessment of model Y by the Hosmer-Lemeshow test

Классификация	Тест на соответствие
Хи-квадрат	5,545
Число степеней свободы	8
p	0,698

В соответствии с таблицей классификации, которая предварительно позволяет спрогнозировать исход в соответствии с уравнением и выбранными показателями, были получены: чувствительность модели — 92,6 %, специфичность модели — 81,9 %, общая эффективность — 87,2 % (таблица 6).

Таблица 6. Предварительная оценка модели

Table 6. Preliminary model evaluation

Наблюдаемые	Предсказанные		Процент правильных
	1	2	
1	50	11	81,9
2	4	50	92,6
Общая процентная доля			87,2

Примечание. 1 — отсутствие имплантации эмбриона; 2 — наступление имплантации эмбриона, значение отсечения 0,500.

Note: 1 – no embryo implantation; 2 – embryo implantation occurred, cutoff value 0.500.

Эффективность созданной модели прогнозирования наступления ИЭ оценена с помощью ROC-анализа (таблица 7). Площадь под ROC-кривой для модели Y составила 0,879, что указывает на «очень хорошее» качество созданной модели согласно экспертной шкале.

Таблица 7. Характеристики ROC-кривой для логистической регрессионной модели Y

Table 7. Characteristics of the ROC curve for the logistic regression model Y

Характеристика	Значение
Площадь под ROC-кривой	0,879
Стандартная ошибка	0,0245
95 % доверительный интервал	0,813–0,953
p (vs AUC = 0,5)	< 0,001

Примечание. p (vs AUC = 0,5) — уровень значимости, при котором оцениваемая площадь под ROC-кривой статистически значимо отличается от неинформативного значения 0,5.

Note: p (vs AUC=0.5) is the significance level at which the estimated area under the ROC curve is statistically significantly different from the non-informative value of 0.5.

В таблице 8 представлена классификация с учетом оптимального порогового значения (0,610) вероятности для чувствительности и специфичности данной модели. Это значит, что если $Y > 0,610$, то существует высокая вероятность наступления ИЭ, а если $Y \leq 0,610$, то имеется высокая вероятность отсутствия ИЭ. Корректировка и проверка порога классификации функции исходя из результатов ROC-анализа позволила увеличить чувствительность с 92,6 до 94,4 %. При этом общая прогностическая значимость уравнения увеличилась с 87,2 до 93,9 %.

Таблица 8. Оценка модели с учетом корректировки порогового значения

Table 8. Model evaluation with threshold adjustment

Наблюдаемые	Предсказанные		Процент правильных
	1	2	
1	57	4	93,4
2	3	51	94,4
Общая процентная доля			93,9

Примечание. 1 — отсутствие имплантации эмбриона; 2 — наступление имплантации эмбриона, значение отсечения 0,610.

Note: 1 — no embryo implantation; 2 — embryo implantation occurred, cutoff value 0.610.

Заключение

Оценка морфологических характеристик и гормонорецепторного статуса ГК ФЖ позволила выявить ряд потенциальных предикторов успешной ИЭ при ЭКО. На основании результатов ROC-анализа обосновано использование в прогнозировании следующих показателей: FSHR lavg, ER β lavg, средний размер ядра ГК. Построена прогностическая модель методом бинарной логистической регрессии с составлением уравнения, в котором в качестве переменных использованы три обозначенных предиктора. С учетом выбора оптимального порогового значения результативной переменной Y (0,610) удалось достичь значений диагностической чувствительности, диагностической специфичности и прогностической значимости 94,4, 93,4 и 93,9 % соответственно.

Список литературы / References

1. Российская Ассоциация Репродукции Человека. Регистр БРТ. Отчёт за 2022 г. [Электронный ресурс]. Веб-сайт Российской Ассоциации Репродукции Человека. [дата обращения 2025 март 31]. Режим доступа: https://www.rahr.ru/registr_otchet.php
2. Calhaz-Jorge C, De Geyter CH, Kupka MS, Wyns C, Mocanu E, Motrenko T, et al. Survey on ART and IUI: legislation, regulation, funding and registries in European countries: The European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Hum Reprod Open*. 2020; 2020(1):hoz044. DOI: <https://doi.org/10.1093/hropen/hoz044>
3. Taylor HS, Pal L, Seli E. Speroff's clinical gynecologic endocrinology and infertility. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2020. 1478 p.
4. Turathum B, Gao EM, Chian RC. The Function of Cumulus Cells in Oocyte Growth and Maturation and in Subsequent Ovulation and Fertilization. *Cells*. 2021;10(9):2292. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10092292>
5. Корнеев А.А., Рязанцев С.В., Вяземская Е.Э. Вычисление и интерпретация показателей информативности диагностических медицинских технологий. *Медицинский совет*. 2019;(20):45-51. DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-20-45-51>
6. Ковалев А.А., Кузнецов Б.К., Ядченко А.А., Игнатенко В.А. Оценка качества бинарного классификатора в научных исследованиях. *Проблемы здоровья и экологии*. 2020;(4):105-113.

- DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2020-17-4-15>
Kovalev AA, Kuznetsov BK, Yadchenko AA, Ignatenko VA. Evaluating the quality of a binary classifier in scientific research. *Health and Ecology Issues*. 2020;(4):105-113. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2020-17-4-15>
7. Gao J, Li X, Li D, Liu Y, Cao W, Chen X, et al. Quantitative immunohistochemistry (IHC) analysis of biomarker combinations for human esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Transl Med*. 2021;9(13):1086. DOI: <https://doi.org/10.21037/atm-21-2950>
8. Wilson BL, Israel AK, Ettel MG, LottLimbach AA. ROC analysis of p16 expression in cell blocks of metastatic head and neck squamous cell carcinoma. *J Am Soc Cytopathol*. 2021;10(4):423-428. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jasc.2021.03.004>
9. Vajdovich P, Koltai Z, Dékay V, Kungl K, Harnos A. Evaluation of Pgp (MDR1) immunohistochemistry in canine lymphoma - prognostic and clinical aspects. *Acta Vet Hung*. 2018;66(2):309-328. DOI: <https://doi.org/10.1556/004.2018.028>
10. Sinn HP, Schneeweiss A, Keller M, Schlombs K, Laible M, Seitz J, et al. Comparison of immunohistochemistry with PCR for assessment of ER, PR, and Ki-67 and prediction of pathological complete response in breast cancer. *BMC Cancer*. 2017;17(1):124. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3111-1>
11. Li Z, Zou X, Xie L, Dong H, Chen Y, Liu Q, et al. Prognostic importance and therapeutic implications of PAK1, a drugable protein kinase, in gastroesophageal junction adenocarcinoma. *PLoS One*. 2013;8(11):e80665. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080665>
12. Ozer G. Initial β -hCG levels and 2-day-later increase rates effectively predict pregnancy outcomes in single blastocyst transfer in frozen-thawed or fresh cycles: A retrospective cohort study. *Medicine (Baltimore)*. 2023;102(42):e35605. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000035605>

13. Song Q, Liu J, Li C, Liu R, Zhang N, Shi H. Prognostic value of miR-223 for pregnancy outcomes in patients with in vitro fertilisation and intracytoplasmic sperm injection. *J Obstet Gynaecol.* 2024;44(1):2368773.
DOI: <https://doi.org/10.1080/01443615.2024.2368773>
14. Chakravarthi VP, Ratri A, Masumi S, Borosha S, Ghosh S, Christenson LK, et al. Granulosa cell genes that regulate ovarian follicle development beyond the antral stage: The role of estrogen receptor β . *Mol Cell Endocrinol.* 2021;528:111212.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2021.111212>
15. Hirshfield AN. Development of follicles in the mammalian ovary. *Int Rev Cytol.* 1991;124:43-101.
DOI: [https://doi.org/10.1016/s0074-7696\(08\)61524-7](https://doi.org/10.1016/s0074-7696(08)61524-7)
16. Baena V, Terasaki M. Three-dimensional organization of transzonal projections and other cytoplasmic extensions in the mouse ovarian follicle. *Sci Rep.* 2019;9(1):1262.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37766-2>
17. Jiang Y, He Y, Pan X, Wang P, Yuan X, Ma B. Advances in Oocyte Maturation In Vivo and In Vitro in Mammals. *Int J Mol Sci.* 2023;24(10):9059.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24109059>
18. de Koning R, Blikkendaal MD, de Sousa Lopes SMC, van der Meeren LE, Cheng H, Jansen FW, et al. Histological analysis of (antral) follicle density in ovarian cortex tissue attached to stripped endometriomas. *J Assist Reprod Genet.* 2024;41(4):1067-1076.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s10815-024-03058-0>
19. Srivastava LK, Ehrlicher AJ. Sensing the squeeze: nuclear mechanotransduction in health and disease. *Nucleus.* 2024;15(1):2374854.
DOI: <https://doi.org/10.1080/19491034.2024.2374854>
20. Webster M, Witkin KL, Cohen-Fix O. Sizing up the nucleus: nuclear shape, size and nuclear-envelope assembly. *J Cell Sci.* 2009;122(Pt 10):1477-1486.
DOI: <https://doi.org/10.1242/jcs.037333>
21. Efremov AK, Hovan L, Yan J. Nucleus size and its effect on nucleosome stability in living cells. *Biophys J.* 2022;121(21):4189-4204.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2022.09.019>
22. Zidovska A. The rich inner life of the cell nucleus: dynamic organization, active flows, and emergent rheology. *Biophys Rev.* 2020;12(5):1093-1106.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s12551-020-00761-x>
23. Hertzog M, Erdel F. The Material Properties of the Cell Nucleus: A Matter of Scale. *Cells.* 2023;12(15):1958.
DOI: <https://doi.org/10.3390/cells12151958>
24. Kalukula Y, Stephens AD, Lammerding J, Gabriele S. Mechanics and functional consequences of nuclear deformations. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2022;23(9):583-602.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00480-z>
25. Kishi H, Kitahara Y, Imai F, Nakao K, Suwa H. Expression of the gonadotropin receptors during follicular development. *Reprod Med Biol.* 2017;17(1):11-19.
DOI: <https://doi.org/10.1002/rmb2.12075>
26. Oduwole OO, Huhtaniemi IT, Misrahi M. The Roles of Luteinizing Hormone, Follicle-Stimulating Hormone and Testosterone in Spermatogenesis and Folliculogenesis Revisited. *Int J Mol Sci.* 2021;22(23):12735.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms222312735>
27. Tang ZR, Zhang R, Lian ZX, Deng SL, Yu K. Estrogen-Receptor Expression and Function in Female Reproductive Disease. *Cells.* 2019;8(10):1123.
DOI: <https://doi.org/10.3390/cells8101123>
28. Rumi MAK, Singh P, Roby KF, Zhao X, Iqbal K, Ratri A, et al. Defining the Role of Estrogen Receptor β in the Regulation of Female Fertility. *Endocrinology.* 2017;158(7):2330-2343.
DOI: <https://doi.org/10.1210/en.2016-1916>
29. Park CJ, Lin PC, Zhou S, Barakat R, Bashir ST, Choi JM, et al. Progesterone Receptor Serves the Ovary as a Trigger of Ovulation and a Terminator of Inflammation. *Cell Rep.* 2020;31(2):107496.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.03.060>
30. Conforti A, Tüttelmann F, Alviggi C, Behre HM, Fischer R, Hu L, et al. Effect of Genetic Variants of Gonadotropins and Their Receptors on Ovarian Stimulation Outcomes: A Delphi Consensus. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;12:797365.
DOI: <https://doi.org/doi:10.3389/fendo.2021.797365>

Информация об авторах / Information about the authors

Мотолянец Павел Михайлович, врач-патологоанатом (заведующий) патологоанатомического отделения, ГУ «Республиканский клинический медицинский центр» Управления делами Президента Республики Беларусь, Минск, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-7271-993X>
e-mail: motolyan@mail.ru

Юдина Ольга Анатольевна, к.м.н., доцент, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения, ГУ «Республиканский клинический медицинский центр» Управления делами Президента Республики Беларусь, Минск, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7623-0601>
e-mail: o.yudina@inbox.ru

Смоленский Андрей Зенонович, к.м.н., врач-патологоанатом патологоанатомического отделения, ГУ «Республиканский клинический медицинский центр» Управления делами Президента Республики Беларусь, Минск, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3898-5071>
e-mail: zenonich@gmail.com

Хилько Ольга Владимировна, преподаватель кафедры статистики, УО «Белорусский государственный экономический университет», Минск, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9014-4184>
e-mail: kurilo_leya@tut.by

Pavel M. Motolyanets, Pathologist (Head) of the Pathology Department, Republican Clinical Medical Center of the Administration of the President of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-7271-993X>
e-mail: motolyan@mail.ru

Olga A. Yudina, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Pathologist at the Pathology Department, Republican Clinical Medical Center of the Administration of the President of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7623-0601>
e-mail: o.yudina@inbox.ru

Andrei Z. Smolensky, Candidate of Medical Sciences, Pathologist at the Pathology Department, Republican Clinical Medical Center of the Administration of the President of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3898-5071>
e-mail: zenonich@gmail.com

Olga V. Khilko, Lecturer at the Department of Statistics, Educational Institution, Belarusian State Economic University, Minsk, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9014-4184>
e-mail: kurilo_leya@tut.by

Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

Мотолянец Павел Михайлович
e-mail: motolyan@mail.ru

Pavel M. Motolyanets
e-mail: motolyan@mail.ru

Поступила в редакцию / Received 01.04.2025

Поступила после рецензирования / Accepted 23.04.2024

Принята к публикации / Revised 12.05.2025