

**Министерство здравоохранения
Российской Федерации
федеральное государственное бюджетное учреждение
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА
В.И. КУЛАКОВА»**

На правах рукописи

ДЖИНЧАРАДЗЕ

Лана Гиглаевна

**ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ФАКТОРОВ
РОСТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БЕСПЛОДИЯ У ПАЦИЕНТОК С «ТОНКИМ»
ЭНДОМЕТРИЕМ**

3.1.4 – акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени

Кандидата медицинских наук

Научные руководители:

кандидат медицинских наук

Абубакиров А.Н.

доктор медицинских наук, профессор

Федорова Т.А.

Москва 2021

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1 Проблема «тонкого» эндометрия в программах ВРТ.....	14
1.2 Причины возникновения «тонкого» эндометрия: этиология и патогенез.....	17
1.2.1 Хирургические вмешательства.....	17
1.2.1.1 Расширение цервикального канала и выскабливание полости матки.....	18
1.2.1.2 Внутриматочные вмешательства.....	19
1.2.2 Лучевая терапия	19
1.2.3 Эндометрит.....	20
1.2.4 Полиморфизм генов RsaI и AluI бета-эстрогеновых рецепторов....	21
1.2.5 Полиморфизм гена эстрогеновых рецепторов альфа.....	23
1.2.6 Недостаточная экспрессия эстрогеновых рецепторов.....	24
1.2.7 Недостаточный ангиогенез.....	25
1.2.8 Молекулярно-генетические механизмы возникновения «тонкого» эндометрия.....	26
1.3 Патофизиология возникновения «тонкого» эндометрия.....	29
1.4 Неинвазивные методы оценки рецептивности эндометрия.....	30
1.5 Гены маркеры рецептивности эндометрия.....	34
1.6 Методы лечения «тонкого» эндометрия в программах ВРТ.....	39
1.6.1 Высокие дозы эстрадиола.....	39
1.6.2 Инъекция ХГЧ в фазе пролиферации.....	40
1.6.3 Ацетилсалициловая кислота	41
1.6.4 Витамин Е и пентоксифиллин.....	42
1.6.5 Силденафил-цитрат.....	43
1.6.6 L-аргинин.....	44

1.6.7 Мобилизация эндометриальных стволовых клеток из костного мозга.....	45
1.6.8 Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ).....	46
1.6.9 Аутологичная плазма, обогащенная тромбоцитами.....	53
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	59
2.1 Материал исследования.....	59
2.2. Критерии включения и невключения в исследование.....	62
2.3 Методы исследования.....	64
2.3.1 Общеклинические методы исследования.....	65
2.3.2 Ультразвуковое исследование органов малого таза.....	66
2.3.3 Исследование уровня гормонов в плазме крови.....	67
2.3.4 Получение аспирата из полости матки.....	68
2.3.5 Исследование аспирата из полости матки методом полимеразной цепной реакции.....	68
2.3.6 Подготовка эндометрия в программе переноса размороженного эмбриона.....	70
2.3.7 Перенос эмбриона в полость матки и ведение посттрансферного периода.....	70
2.4 Технология получения аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами.....	71
2.5 Статистическая обработка полученных данных.....	72
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	73
3.1 Клинико-лабораторная характеристика пациенток с «тонким» эндометрием.....	73
3.2 Изменение толщины эндометрия в зависимости от различных схем подготовки «тонкого» эндометрия в программах ВРТ.....	85
3.3 Исходы программ ВРТ в зависимости от схемы подготовки «тонкого» эндометрия к переносу эмбриона.....	88
3.4 Клинико-лабораторная характеристика пациенток в зависимости от наступления беременности.....	90

3.5 Влияние толщины эндометрия на наступление беременности.....	100
3.6 Пороговая толщина эндометрия, определяющая наступление беременности среди пациенток с «тонким» эндометрием в программах ВРТ.....	101
3.7 Молекулярно-генетическое исследование аспирата из полости матки в период «окна имплантации».....	102
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	110
ВЫВОДЫ.....	123
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	125
Список сокращений.....	127
Список литературы.....	129
Приложение	155

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Проблема бесплодия по-прежнему актуальна и является частью глобальной демографической проблемы Российской Федерации. По данным отечественных и зарубежных авторов распространенность бесплодия достигает 10–15%, в некоторых регионах России – до 20%, а частота самопроизвольного выкидыша в первом триместре беременности сохраняется на уровне 16%. На долю женского бесплодия приходится около 60% [5, 10]. В настоящее время наиболее востребованными и эффективными методами лечения всех форм бесплодия супружеской пары являются методы вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). После рождения первого ребенка путем экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) в Великобритании в 1977 году, вспомогательные методы достижения беременности интенсивно развиваются и совершенствуются [12]. Несмотря на современный прогресс в технологиях ВРТ за последнее время, эффективность программ ВРТ не превышает 40% и данный показатель не имеет тенденции к увеличению за последние годы [3].

Среди всех форм бесплодия частота маточной формы составляет около 50%, однако даже при отсутствии патологии матки во время визуальной оценки, беременность не наступает при переносе генетически здорового эмбриона в программах ВРТ [6]. В данном случае можно предположить, что имеет место нарушение рецептивности эндометрия. Эндометрий восприимчив для эмбриона только в течение ограниченного периода времени. Это так называемое «окно имплантации» (ОИ), период которого составляет несколько дней – примерно с 19-го по 24-й день нормального менструального цикла, на 6–10-й день после пика лютеинизирующего

гормона (ЛГ) [9]. Нарушение рецептивности эндометрия выявляют в 2/3 случаев неудачных имплантаций у женщин, планирующих беременность самостоятельно или с помощью ВРТ; в 1/3 случаев ключевую роль играет эмбрион [11]. Для оценки рецептивности эндометрия применяют гистологические, иммуногистохимические или молекулярно-генетические методы исследования ткани эндометрия в «окно имплантации». Однако, данные исследования инвазивные, финансово затратны и подразумевают отмену переноса эмбриона в цикле, когда был взят образец ткани. Поэтому, в клинической практике для оценки рецептивности эндометрия используют следующие косвенные методы: измерение толщины эндометрия, оценка его структуры и объема, доплерометрия сосудов матки, которые определяются при проведении ультразвукового исследования (УЗИ). Толщина эндометрия равная или менее 7мм («тонкий» эндометрий) считается недостаточной и ассоциирована с низкой частотой наступления беременности [56, 67, 76, 119, 139, 202, 205]. На данное время нет точного определения пороговой толщины «тонкого» эндометрия, а некоторые авторы и вовсе не связывают частоту наступления беременности с данным показателем. Имеются данные многочисленных исследований, где выявлена связь увеличения частоты наступления беременности с увеличением толщины эндометрия [24, 92, 119, 162, 205].

В настоящее время клиницисты располагают следующими методами увеличения толщины эндометрия: это назначение циклической гормональной терапии (ЦГТ), физиотерапевтические методы лечения, назначение аспирина, витамина Е, L-аргинина, силденафил-цитрата, введение стволовых и прогениторных клеток в полость матки [31, 34, 40, 58, 79, 99, 164, 169, 179, 189]. Однако в клинической практике проблемой является так называемый «рефрактерный» «тонкий» эндометрий, когда при назначении вышеуказанных методов лечения, толщина эндометрия не увеличивается. Поэтому, исследователями были предложены новые

препараты для подготовки пациенток с «тонким» эндометрием к переносу эмбриона в программах ВРТ. В 2011г Gleicher N. и соавторы впервые применили рекомбинантный препарат гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) для увеличения толщины эндометрия. Авторы сообщили об увеличении толщины эндометрия и наступлении беременности у всех 4х пациенток, вошедших в исследование [129] . Последующие исследования с применением данного препарата не всегда выявляли его положительный эффект на частоту наступления беременности и живорождения [26, 47, 55, 113, 127, 186, 198]. Другой препарат для терапии бесплодия пациенток с «тонким» эндометрием – это аутологичная плазма, обогащенная тромбоцитами (ПОТр), которую впервые применили для увеличения толщины эндометрия Chang Y. и соавторы [191]. Авторы также заявили об увеличении толщины эндометрия и наступлении беременности у всех 5 пациенток в программах ВРТ. Однако последующие исследования также не всегда были положительными относительно частоты наступления беременности и живорождения с использованием ПОТр [15, 113, 175, 192], что свидетельствует о том, что на данном этапе не до конца изучено влияние вышеуказанных препаратов на исходы программ ВРТ.

Степень разработанности темы исследования

Толщина эндометрия играет важную роль в прогнозировании наступления беременности и живорождении. Не оценена роль препаратов Г-КСФ и ПОТр для увеличения толщины эндометрия и частоты наступления беременности у пациенток с «тонким» эндометрием в программах ВРТ, нет работ сравнивающих эффективность данных препаратов, а также работ по экспрессии генов маркеров рецептивности «тонкого» эндометрия в зависимости от исходов программ ВРТ.

Цель исследования

Повышение эффективности программ ВРТ при подготовке пациенток с «тонким» эндометрием к переносу размороженных эмбрионов с использованием гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (ГКСФ) и аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами (ПОТр).

Задачи исследования

1. Выявить особенности клинико - анамнестических данных пациенток с нарушением репродуктивной функции и «тонким» эндометрием.
2. Изучить влияние внутриматочного применения гранулоцитарного колониестимулирующего фактора на толщину эндометрия, частоту наступления беременности и живорождения у пациенток с «тонким» эндометрием в программах вспомогательных репродуктивных технологий.
3. Изучить влияние внутриматочного применения аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами на толщину эндометрия, частоту наступления беременности и живорождения у пациенток с «тонким» эндометрием в программах вспомогательных репродуктивных технологий.
4. Сравнить частоту наступления беременности в зависимости от используемой терапии у пациенток с «тонким» эндометрием в программах вспомогательных репродуктивных технологий.
5. Изучить специфику экспрессии генов маркеров рецептивности эндометрия (GPX3, PAEP, DPP4, TAGLN, HABP2, IMPA2, AQP3, HLA-DOB, POSTN, MSX1, GNLY, EDN3, SFRP4) в «окно

имплантации» у пациенток с «тонким» эндометрием в зависимости от исходов программ вспомогательных репродуктивных технологий.

6. Разработать алгоритм подготовки пациенток с «тонким» эндометрием в программах вспомогательных репродуктивных технологий с применением гранулоцитарного колониестимулирующего фактора и аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами.

Научная новизна

В настоящей работе выявлены особенности клинико-анамнестических данных у пациенток с «тонким» эндометрием и нарушением репродуктивной функции. Разработана методика применения аутологичной ПОТр и Г-КСФ и изучена эффективность и безопасность ее применения у пациенток с «тонким» рефрактерным эндометрием в программах криопереноса размороженного эмбриона. Выявлено, что внутриматочное введение Г-КСФ и аутологичной ПОТр приводят к увеличению толщины эндометрия и частоты наступления беременности и живорождения в программах ВРТ у пациенток с «тонким» эндометрием. Исследована экспрессия мРНК генов GPX3, PAEP, DPP4, TAGLN, HABP2, IMPA2, AQP3, HLA-DOB, POSTN, MSX1, GNLY, EDN3, SFRP4 - маркеров рецептивности эндометрия у пациенток с «тонким» эндометрием в периоде предполагаемого «окна имплантации». Выявлено, что увеличение экспрессии мРНК генов TAGLN и SFRP4 является благоприятным прогностическим фактором наступления беременности у пациенток с «тонким» эндометрием.

Практическая значимость

На основании данного исследования определена целесообразность назначения Г-КСФ и аутологичной ПОТр у пациенток с «тонким» эндометрием в программах криопереноса размороженных эмбрионов для улучшения исходов программ ВРТ. Определены схемы назначения данных

препаратов. Определена пороговая толщина эндометрия у пациенток с «тонким» эндометрием, при толщине эндометрия выше которой увеличивается эффективность программ ВРТ. Применен новый атравматичный метод взятия аспирата из полости матки для исследования генов маркеров рецептивности эндометрия. Определены гены маркеры рецептивности эндометрия, прогнозирующие благоприятный исход программ ВРТ у пациенток с «тонким» эндометрием.

Методология и методы исследования

Проведено проспективное обследование пациенток, обратившихся для лечения бесплодия методом ВРТ и наличием «тонкого» эндометрия и неэффективных программ ВРТ в анамнезе. Все пациентки были обследованы в соответствии с приказом Министерства здравоохранения России №107н от 30.08.2012 года "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению". Всем пациенткам назначалась циклическая гормональная терапия (ЦГТ) с 4-5го дня менструального цикла (м.ц.) для подготовки эндометрия к переносу размороженных эмбрионов. Пациентки были разделены на три группы методом простой рандомизации с неравномерным распределением по группам (метод конвертов) в зависимости от проводимой терапии: 1 группа – пациентки с назначением только ЦГТ, 2 группа – в дополнение к ЦГТ пациенткам внутриматочно вводился препарат гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, 3 группа – в дополнение к ЦГТ пациенткам внутриматочно вводилась аутологичная плазма, обогащенная тромбоцитами. У 20 пациенток перед вступлением в исследуемые группы был взят аспират из полости матки в «окно имплантации» (на 19-21 день м.ц. на фоне приема ЦГТ, на 6й день приема препаратов прогестерона) для определения генов маркеров рецептивности

эндометрия (GPX3, PAEP, DPP4, TAGLN, HABP2, IMPA2, AQP3, HLA-DOB, POSTN, MSX1, GNLY, EDN3, SFRP4) методом ПЦР в реальном времени.

Положения, выносимые на защиту

1. Факторами риска формирования «тонкого» эндометрия являются наличие в анамнезе частых внутриматочных вмешательств в связи с ранними потерями беременности и наличие хронического эндометрита. Более 40% пациенток с «тонким» эндометрием имеют в анамнезе множественные неэффективные программы ВРТ.
2. Внутриматочное введение препаратов Г-КСФ и аутологичной ПОТр в сочетании с ЦГТ благоприятно влияют на увеличение толщины эндометрия и исходы программ ВРТ у пациенток с «тонким» эндометрием, увеличивая частоту наступления беременности и живорождения по сравнению с применением только ЦГТ.
3. Факторами, ассоциированными с наступлением беременности у пациенток с «тонким» эндометрием являются толщина эндометрия более 7,9мм и увеличение экспрессии мРНК генов TAGLN и SFRP4 в эндометрии в день предполагаемого «окна имплантации».

Личный вклад автора

Автор непосредственно участвовал в выборе темы научной работы, разработке цели и задач исследования, в проведении и интерпретации результатов лабораторных исследований, в обобщении и статистической обработке полученных данных. Автором лично осуществлялось обследование и ведение пар на всех этапах лечения бесплодия методами ВРТ.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4 – «акушерство и гинекология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 4 и 5 паспорта акушерства и гинекологии.

Апробация результатов

Работа обсуждена на межклинической конференции сотрудников 1 – го гинекологического отделения (28 июля 2020г) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (18 декабря 2020г, протокол №35).

Внедрение результатов исследования в практику

Подготовка женщин с нарушением репродуктивной функции и «тонким» эндометрием внедрена в практическую деятельность 1–го гинекологического отделения ФГБУ «НМИЦ АГиП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России. Результаты работы используются в лекциях, на обучающих семинарах для ординаторов, врачей, стажеров симуляционного центра и научно-образовательного центра ВРТ им. Фредерика Паулсена.

По теме диссертации опубликовано 4 печатные работы в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена в традиционной форме. Состоит из оглавления, списка принятых сокращений, введения, обзора литературы, главы

собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа представлена на 155 страницах машинописного текста, иллюстрирована 9 рисунками, 21 таблицами. Библиографический указатель включает 12 работ на русском языке и 197 работ на английском языке.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Проблема «тонкого» эндометрия в программах ВРТ

В настоящее время для лечения бесплодных пар все чаще используются программы вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Однако процент успешных программ ВРТ не превышает 30-40%. Успех программ вспомогательных репродуктивных технологий в первую очередь зависит от возможности генетически здорового эмбриона имплантироваться в рецептивный эндометрий. Эндометрий является одним из основных факторов, которым обусловлена успешность имплантации и пролонгирование беременности.

Эндометрий растет «пассивно» во время стимуляции функции яичников и активные действия со стороны врачей принимаются только при наличии неудовлетворительной толщины или структуры эндометрия во время ультразвукового исследования (УЗИ) [88].

У женщин эндометрий становится рецептивным в среднюю лютеиновую фазу менструального цикла (19-24 день), этот временной промежуток известен как «окно имплантации» (ОИ). «Окно имплантации» является самым ключевым периодом в репродукции человека. Во время этого периода происходит контакт между человеческим эмбрионом на стадии бластоцисты и эндометрием фазы секреции, для наступления и поддержания беременности должна произойти инвазия эмбриона в эндометрий [103]. Имплантация является сложным процессом, который контролируется множественными молекулами, такими как гормоны, факторы роста и цитокины. Первыми шагами в процессе имплантации являются соединение и внедрение бластоцисты в эпителиальный слой эндометрия, с последующей инвазией трофобласта между эпителиальными клетками. По данным литературы, от половины до двух третей всех неудач имплантации связаны с

неполноценной рецептивностью эндометрия [137, 167-169]. ВРТ помогает преодолеть большую часть проблем бесплодия, но процесс имплантации до сих пор остается фактором, ограничивающим успех программ ВРТ [51, 136].

Эндометрий женщины состоит из двух слоев: поверхностный эпителиальный и стромальный слой. Эндометрий является динамической тканью, претерпевающей множество изменений во время менструального цикла, в том числе морфологические, биохимические и молекулярные, которые необходимы для успешного процесса имплантации эмбриона. Рецептивность эндометрия стимулируется яичниковыми половыми гормонами – эстрогенами и прогестероном. Эстрогены приводят к пролиферации и увеличению толщины эндометрия, в то время как при добавлении прогестерона происходит его секреторная трансформация, децидуализация и увеличение его толщины. Эти два гормона способствуют полноценному росту эндометрия и дифференциации эндометриальных стромальных клеток в децидуальные, что обеспечивает образование рецептивной ткани для бластоцисты.

В клинической практике для оценки рецептивности эндометрия используют следующие косвенные методы исследования: измерение толщины эндометрия, оценка его структуры и объема, доплерометрия сосудов матки, которые определяются при проведении УЗИ. Толщина эндометрия равная и менее 7мм считается недостаточной и ассоциирована с более низкой частотой наступления беременности. Нарушение рецептивности эндометрия также может играть роль в привычном невынашивании беременности [139]. Нормальная толщина эндометрия является необходимым условием для наступления и успешного пролонгирования беременности в программах ВРТ [56, 67, 76, 119, 202, 205].

Толщиной эндометрия принято считать минимальное расстояние между экзогенными поверхностями миометрия и эндометрия, измеряемое в центральной продольной плоскости тела матки. Толщина эндометрия при

УЗИ варьирует от 1 до 4мм в менструальной фазе, от 4 до 8мм в середине фазы пролиферации, от 8 до 14мм в поздней фазе пролиферации и от 7 до 14мм в секреторной фазе [22, 69].

До сих пор нет точного определения пороговой толщины «тонкого» эндометрия. В результате исследования Shapiro H. и соавт. было выявлено, что для успешной имплантации необходимой минимальной толщиной эндометрия является толщина равная 6мм [159]. По данным других авторов пороговой толщиной «тонкого» эндометрия является 8мм [24, 119]. Но в клинической практике минимальной толщиной эндометрия к концу фолликулярной фазы, связанной с процессом зачатия, принято считать толщину 7мм [92]. Толщина эндометрия больше данного порогового уровня ассоциирована с лучшими показателями наступления беременности в программах ВРТ [205]. Было проведено два исследования с применением ROC анализа, где пороговым значением толщины эндометрия, связанной с успешной имплантацией, была выявлена толщина равная 8мм в день назначения ХГЧ в программах ВРТ [24, 119]. Вероятно, для циклов с овариальной стимуляцией и для циклов с подготовкой эндометрия в программах донации ооцитов, суррогатном материнстве и криопротоколах эта толщина может быть различной [2]. В стимулированных циклах стандартных программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), предусматривающих использование свежеполученных собственных ооцитов пациентки, толщина эндометрия в день введения триггера овуляции - хорионического гонадотропина человека (ХГЧ), при наличии в яичниках хотя бы одного нормально развивающегося фолликула по данным ультразвукового исследования составляет в среднем 8-12 мм [7].

Richter K.S. и соавт. в ретроспективном анализе 1294 циклов с переносом 2х бластоцист выявили достоверную связь между толщиной эндометрия в день назначения ХГЧ и частотой наступления беременности после ЭКО и переноса эмбриона (ПЭ) [147]. Частота наступления

беременности увеличивалась с увеличением толщины эндометрия. Это связь не зависела от возраста пациенток и количества и качества перенесенных эмбрионов. Еще в одном исследовании показано, что «тонкий» эндометрий играет негативную роль в программах ВРТ, снижая вероятность наступления беременности в 9,1 раз [1].

Частота встречаемости «тонкого» эндометрия в программах ВРТ невысокая, по данным Kasius A. и соавт. она составляет 2,4 %, но в настоящее время данная проблема до сих пор остается нерешенной и зачастую пациентки данной группы вынуждены прибегнуть к методу суррогатного материнства для рождения долгожданного ребенка [90].

1.2 Причины возникновения «тонкого» эндометрия: этиология и патогенез

1.2.1 Хирургические вмешательства

Самой частой причиной рефрактерного, не отвечающего на терапию, эндометрия является хирургическое вмешательство на матке, приводящее к внутриматочным синехиям. Более чем в 90% случаев это является следствием расширения цервикального канала и выскабливания полости матки в связи с абортом или неразвивающейся беременностью, что приводит к изменению характера менструации (гипо- или аменорея), бесплодию и неудачам имплантации в программах вспомогательных репродуктивных технологий [157]. Эта патология также приводит и к акушерским осложнениям в случае наступления беременности у данных пациенток: привычному невынашиванию беременности, преждевременным родам, вращанию плаценты и разрыву матки [16, 166]. Самой тяжелой степенью данной патологии является синдром Ашермана [180].

Патофизиология

Любая травма эндометрия, в частности и во время беременности, может привести к фиброзным сращениям или адгезии между противоположными поверхностями миометрия, что приводит к изменению полости матки [157]. Сращения в полости матки негативно влияют на процесс миграции сперматозоидов и имплантацию [145]. При наступлении беременности может возникнуть врастание плаценты, т.к. дефекты в базальном слое децидуального эндометрия приводят к прямому прикреплению ворсин хориона к миометрию [180].

1.2.1.1 Расширение цервикального канала и выскабливание полости матки

По статистическим данным 15% беременностей заканчиваются выкидышем и у 40% пациенток с внутриматочными синехиями в анамнезе имелось выскабливание полости матки по акушерским показаниям, что доказывает, что расширение шейки матки и выскабливание полости матки является фактором риска для развития внутриматочных синехий. Самой частой локализацией возникновения внутриматочных сращений являются области перешейка (51%) и устьев маточных труб (31%) [77].

Синдром Ашермана является тяжелой степенью внутриматочных сращений. На основании исследования Conforti A. И соавт. самыми важными факторами риска возникновения синдрома Ашермана при беременности являются: выскабливание полости матки при выкидыше или неразвивающейся беременности (66,7%) и в послеродовом периоде (21,5%), а также имеется прямую связь с количеством выскабливаний. Наличие рубца после операции кесарева сечения имеет меньшее влияние на возникновение данной патологии – всего 2% случаев [43].

1.2.1.2 Внутриматочные вмешательства

По данным Taskin O. и соавт. большая часть сращений, возникающих в небеременной матке, является результатом хирургического вмешательства [180]. Авторы выявили внутриматочные сращения в 45,5% случаев после удаления множественной миомы матки методом гистерорезектоскопии и в 31,3% случаев при удалении единичного узла миомы. При удалении субмукозной миомы матки во время гистероскопии основным триггером образования сращений является использование резектоскопа на поверхности эндометрия. Mazzon I. и соавт. пришли к заключению, что холодная гистероскопическая резекция приводит к уменьшению возникновения внутриматочных сращений до 4,2% [117]. В исследовании Touboul C. и соавт. частота внутриматочных сращений после миомэктомии при использовании биполярного резектоскопа была равна 7,5% [184].

Yang J.H. и соавт. показали, что чаще всего к послеоперационным сращениям приводят операции по рассечению внутриматочной перегородки – в 86% случаев, после адгезиолизиса по случаю предыдущих внутриматочных сращений – в 76% случаев, миомэктомии – в 40% случаев [193]. Авторы не выявили связи образования внутриматочных синехий с операцией по удалению полипа.

1.2.2 Лучевая терапия

Лучевая терапия на область ниже диафрагмы назначается в связи со злокачественными заболеваниями, такими как лимфома Ходжкина, неходжкинская лимфома, рак шейки матки, саркома матки, рак толстой кишки или рак тела матки. Побочными эффектами данной терапии на репродуктивные органы являются: гипоплазия матки, атрофичный эндометрий, отсутствие структурных изменений эндометрия в ответ на

гормональную терапию, некроз эндометриальных желез и стромы, поверхностные язвы, внутриматочные сращения [102].

Облучение внутренних половых органов может повлиять на имплантацию и рост матки во время беременности. Было показано уменьшение толщины эндометрия и укорочение длины матки (3,2 см средний показатель), с сопутствующим снижением маточного кровотока у женщин, которые получали лучевую терапию на брюшную полость и область малого таза в детстве [44].

Скорее всего, данные результаты являются следствием нарушения васкуляризации матки и уменьшения ее массы и длины. Critchley Н.О. и соавт. провели исследование, где выявили, что у женщин, имевших облучение брюшной полости в анамнезе, средняя длина матки составляла 4,1 см, по сравнению с 7,3см в группе контроля. Толщина эндометрия была меньше у женщин с облучением брюшной полости в анамнезе и она не увеличивалась после терапии экзогенными половыми гормонами. Вероятнее всего, высокие дозы облучения, которые используются при облучении брюшной полости, приводят к необратимым повреждениям матки [44].

1.2.3 Эндометрит

Эндометрит – это воспаление эндометрия. Влияние эндометрита на способность к зачатию еще полностью не изучено. В процессе имплантации участвуют медиаторы воспаления, такие как лейкоциты, хемокины и другие эндометриальные факторы. Эти клетки и медиаторы воспаления являются важным звеном в регуляции иммунного ответа и росте трофобласта. Хронический эндометрит может влиять на рецептивность эндометрия и может привести к бесплодию. В исследовании было показано, что при наличии хронического эндометрита эндометрий представлен патологически большим количеством лимфоцитов и как следствие этого - патологической микробиотой эндометрия [116]. Действительно, наличие в анамнезе

эндометрита без проведенной терапии, приводит к снижению частоты как самостоятельного зачатия, так и успешных программ ВРТ и может привести к неблагоприятным акушерским исходам [140].

Хронический эндометрит является сложной патологией, которую трудно диагностировать и лечить. Он чаще всего бессимптомен, или может проявляться незначительными симптомами, такими как тазовая боль, или дисфункциональные маточные кровотечения. При проведении гистероскопии она проявляется в виде микрополипов, локальной или диффузной гиперемией и отеком стромы; точность диагностики составляет 93,4% [148]. Эндометрий с воспалительными изменениями разделен множественными плазматическими клетками от его стромы и может быть следствием множества процессов, например таких как инфекции (хламидиоз, туберкулез, другие микроорганизмы вызывающие цервицит и воспалительные заболевания тазовых органов), инородных тел или образований в полости матки (внутриматочная контрацепция, субмукозная лейомиома и полипы) и лучевой терапии [148]. Лечение латентной инфекции и удаление поврежденной ткани из матки приводит к улучшению исходов программ ВРТ [85].

1.2.4 Полиморфизм генов RsaI и AluI бета-эстрогеновых рецепторов

Эстрогеновые рецепторы (ЭР) играют важную роль в регуляции изменений в эндометрии, способствуя его циклическим сосудистым изменениям [124]. Механизм действия ЭР хорошо известен. ЭР взаимосвязаны с белком теплового шока 90 в цитоплазме, где они переходят из неактивной в активную форму и высвобождаются из белка теплового шока 90 для взаимосвязи с эстрогенами, что приводит к 3хслойным структурным изменениям эндометрия. Nilsson M. и соавт. предполагают, что единичные нуклеотидные полиморфизмы ЭР могут приводить к нарушениям в гене ЭР на уровне транскрипции [128].

Считается, что толщина эндометрия отражает его функцию и состояние, она управляется эстрогенами, которые приводят к пролиферации и сосудистой реконструкции эндометрия. Однако остается неясным, почему эндометрий некоторых пациенток становится «тонким» после самопроизвольного выкидыша, тогда как у других пациенток такого не происходит. Определяют ли индивидуальные генетические различия (полиморфизм генов) восприимчивость к определенным заболеваниям?

Ген бета-ЭР состоит из 8 экзонов и 7 интронов. 2 самых распространенных полиморфизма были выявлены в 5 экзоне, который кодирует соединение с лигандом и в 8 экзоне, который отвечает за 3' некодируемые участки *RsaI* (-1082 G/A, rs1256049) и *AluI* (-1730 A/G, rs4986938).

A.W. Le и соавт. провели исследование, где сравнили 2 группы пациенток без значительного различия в сывороточных уровнях половых гормонов, возрасте и наличия выкидышей в анамнезе [21]. Статистически значимым было лишь различие в толщине эндометрия. Гистероскопия выявила наличие гладкого и тонкого эндометрия в группе с идиопатическим «тонким» эндометрием, что было подтверждено и при УЗИ. Было выявлено, что генотип *RsaI* гена бета-ЭР статистически значимо различался в двух группах. Риск развития идиопатического «тонкого» эндометрия был ниже с аллелем R по сравнению с аллелем r с 0.630 (0.438-0.907), что указывает на то, что R аллель может быть фактором защиты. Полиморфизм *RsaI* был выявлен в кодоне 328 и соответствовал мутации без изменений на уровне белков. Полиморфизм может индуцировать перестройку во вторичной структуре мРНК бета-ЭР и приводить к изменениям на уровне мРНК, влияя на синтез, сплайсинг, созревание, транслокацию, трансляцию и деградацию.

Остается неясным механизм полиморфизма *AluI*. Не было выявлено значительных различий между генотипом *AluI* между 2 группами. Аллель A не играет роли в развитии идиопатического «тонкого» эндометрия.

Анализ относительного риска (95% доверительный интервал) частоты аллелей показал, что R аллель меньше ассоциировался с риском развития идиопатического «тонкого» эндометрия, чем r аллель с 0,630 ($p=0,013$), тогда как частота аллеля A не вносила значительного вклада в развитие данного состояния ($p>0,05$).

1.2.5 Полиморфизм гена эстрогеновых рецепторов альфа

Эстрогеновые рецепторы (ЭР), расположенные как в цитоплазме, так и в ядре клеток, имеют функцию транскрипции. Перед соединением с эстрадиолом ЭР обычно соединяются с белком теплового шока 90. Они активируются при соединении с эстрадиолом, что приводит к изменению в 3х-линейной структуре эндометрия. ЭР регулируют функцию эстрадиола, способствуя росту и дифференциации клеток и поддерживая нормальные физиологические функции эндометрия [196]. ЭР-альфа являются гликопротеинами, относящиеся к суперсемейству I-типа Центротеки, которые также включают рецепторы стероидных гормонов, тироксина и ретинена. При нормальных уровнях эстрадиола можно предположить, что есть нарушения в ЭР.

Yuan R. и соавт. провели исследование, где изучили взаимосвязь между полиморфизмом RvuII и XbaI гена эстрогеновых рецепторов альфа и его экспрессией в «тонком» эндометрии [150]. В исследовании вошли 120 пациенток с «тонким» эндометрием неясной этиологии в основной группе и 112 пациенток с нормальным эндометрием в группе контроля.

Разница полиморфизма RvuII ЭР-альфа между двумя группами была статистически значимой ($p<0,05$). При R аллеле риск развития «тонкого» эндометрия был выше чем при r аллеле. Следовательно, можно предположить, что R аллель может быть наследственным геном рецептивности эндометрия. Разница полиморфизма XbaI ЭР α между двумя группами была статистически значимой ($p<0,05$), что свидетельствует о связи

полиморфизма гена XbaI ЭР-альфа с «тонким» эндометрием. Риск развития «тонкого» эндометрия при аллеле X была в 0,604 раз выше по сравнению с аллелем x, что свидетельствует о том, что ген X может быть фактором защиты.

1.2.6 Недостаточная экспрессия эстрогеновых рецепторов

При соединении гормона эстрадиола с эстрогеновым рецептором (ЭР), эстрогены способствуют восстановлению поврежденного эндометрия путем восстановления его васкуляризации [199].

Gao M. и соавт. в 2019г провели исследование для выявления связи между экспрессией эстрогеновых (ЭР) и прогестероновых рецепторов (ПР) и «тонким» эндометрием [121]. В исследовании вошли 39 пациенток. Из них 18 пациенток с толщиной эндометрия менее 7мм («тонкий» эндометрий), в группу контроля вошла 21 пациентка с нормальной толщиной эндометрия (7-14мм). Экспрессия ЭР и ПР была определена при помощи полуколичественного иммуногистохимического исследования.

При сравнении средних значений для ЭР, у пациенток с «тонким» эндометрием была статистически значимо снижена экспрессия ЭР ($p < 0,05$) в стромальных клетках в пролиферативной и секреторной фазах по сравнению с нормальным эндометрием. Однако более низкая экспрессия ЭР ($p < 0,05$) была обнаружена в железистых эпителиальных клетках в «тонком» эндометрии в фазе пролиферации, но не в фазе секреции. Таким образом, снижение экспрессии ЭР и их низкая экспрессия в железистых эпителиальных клетках может говорить о наличии «тонкого» эндометрия.

При сравнении средних значений для ПР, не было выявлено достоверных различий в экспрессии ПР между двумя группами, как в стромальных, так и в железистых эпителиальных клетках [121].

1.2.7 Недостаточный ангиогенез

Рядом исследований было показано, что нарушения ангиогенеза могут приводить к возникновению «тонкого» эндометрия. Alfer J. и соавт. провели исследование, в котором были включены субфертильные пациентки с «тонким» эндометрием [87]. Была произведена биопсия эндометрия у всех пациенток в поздней пролиферативной и ранней секреторной фазе одного менструального цикла. В группу контроля вошли пациентки с нормальным менструальным циклом и подтвержденной фертильностью, которым была показана гистерэктомия по поводу доброкачественных заболеваний матки. В образцах тканей исследовали экспрессию рецепторов стероидных гормонов и маркер пролиферации Ki-67. При иммуногистохимическом исследовании были определены антитела к молекулам, маркерам рецептивности эндометрия – бета3-интегрину, VEGF (сосудистый эндотелиальный фактор роста), LIF (лейкемия ингибирующий фактор) и CD56 (большой гранулярный лимфоцит, LGL).

Авторы выявили, что в железах при первой биопсии (поздняя фаза пролиферации) отсутствовали бета3-интегрин и LIF. В стромальных фибробластах была обнаружена только слабоположительная локализация этих двух молекул-маркеров рецептивности. В железах во всех образцах при второй биопсии (середина секреторной фазы) не было выявлено бета3-интегрин и две биопсии показали слабое атипичное окрашивание для LIF в некоторых железах.

Результаты иммуногистохимии для VEGF при первой и второй биопсии у субфертильных пациенток показали сниженную или атипичную экспрессию данного маркера. При биопсии в секреторной фазе – VEGF не экспресировалась в 7 случаях, в 4х случаях было слабое окрашивание. У субфертильных пациенток с «тонким» эндометрием, с толщиной равной или менее 7 мм при нормальной экспрессии и регуляции рецепторов стероидных

гормонов, по результату биопсии была выявлена недостаточность некоторых молекул-маркеров, которые ассоциированы с рецептивностью эндометрия.

Дефект созревания эндометрия скорее всего возникает в пролиферативной фазе и становится видимым в секреторной фазе. Таким образом, нарушения ангиогенеза могут лежать в основе недостаточной секреторной трансформации эндометрия, которые и способствуют наличию «тонкого» эндометрия и неспособности к имплантации эмбриона и снижению эффективности программ ВРТ.

1.2.8 Молекулярно-генетические механизмы возникновения «тонкого» эндометрия

Маекава R. и соавт. провели исследование о молекулярных механизмах в «тонком» эндометрии с использованием широкого геномного анализа экспрессии мРНК [151]. В исследование вошли 6 пациенток с бесплодием, которые были разделены на 2 группы: с нормальной толщиной эндометрия и «тонким» эндометрием.

Анализ показал, что в «тонком» эндометрии была повышена экспрессия генов связанных с цитотоксичностью клеток естественных киллеров [98]. У 56,6% пациенток с неудачами имплантации имелась локальная иммунная гиперактивация в эндометрии в середине секреторной фазы. Был обнаружен приток иммунных клеток и переключение локального иммунитета от адаптивного (Th1) типа на врожденный (Th2) тип во время «окна имплантации» [64].

Исследование показало повышение экспрессии таких генов, как IFN-гамма, FASLG, GZMB и TNF-альфа индуцирующие гены, такие как TNFAIP2 и TNFAIP6, а также была повышена цитотоксичность клеток естественных киллеров в «тонком» эндометрии [64]. После данных результатов можно

предположить, что в «тонком» эндометрии наблюдается аномальная гиперактивация клеток естественных киллеров и цитотоксическое/Th1 провоспалительное окружение, что ассоциировано с нарушением имплантации.

GO (Gene Ontology, геновая онтология) анализ выявил снижение экспрессии генов, связанных с катаболическими процессами, которые необходимы в расщеплении больших молекул, таких как полисахариды, жиры и белки на маленькие частицы, таких как моносахариды, жирные кислоты и аминокислоты. GO Анализ также выявил гены, связанные с процессом снижения окисления. Это гены - PPAR-гамма, XDH, CBR3, IDH1, CPT1, которые играют важную роль в клеточном ответе на оксидативный стресс. Активация гена PPAR-гаммы играет важную роль в защите против оксидативного стресса в сосудистых эндотелиальных клетках и кардиомиоцитах [25, 27]. В связи со снижением экспрессии генов антиоксидативного стресса можно предположить, что нарушение имплантации связано со снижением ответа на оксидативный стресс.

Также в данном исследовании было выявлено, что при «тонком» эндометрии имеется дисбаланс между Th1 провоспалительным/Th2-противовоспалительным иммунитетом и в этом состоянии увеличивается цитотоксичность, также нарушен защитный ответ на оксидативный стресс. Эти патологические молекулярные механизмы в «тонком» эндометрии могут быть ассоциированы с нарушением имплантации.

A.W. Le и соавт. изучили экспрессию PI3K, АКТ и Р-АКТ и исследовали роль PI3K/АКТ в сигнальном пути в «тонком» эндометрии [21]. В исследовании было включено 40 пациенток с маточным фактором бесплодия, 20 из них с нормальной толщиной эндометрия и 20 пациенток с «тонким» эндометрием.

Предполагается, что прогестерон стимулирует экспрессию eNOS через сигнальный путь PI3K/AKT [93]. Вортманин, ингибитор пути PI3K, ингибирует фосфорилирование эстрогена при стимулировании AKT. Kayisli G. и соавт. выявили, что в эндометрии сигнальный путь PI3K непосредственно регулируется при фосфорилировании AKT, который стимулируется эстрадиолом [72]. AKT сигналинг также непосредственно активируется эстрогенами, что способствует пролиферации и ремоделированию эндометрия.

P-AKT является высокоспецифичным молекулярным биомаркером для этого процесса, который необходим для децидуализации эндометрия и имплантации бластоцисты. У женщин с нормальным менструальным циклом P-AKT представлен в эпителиальном слое и в ядрах клеток функционального слоя в пролиферативной фазе, в то время как его уровни в цитоплазме и ядрах значительно ниже в секреторной фазе [185]. Высокие уровни P-AKT в клетках интерстиция в функциональном слое могут быть связаны с ремоделированием ткани в фазе менструации или во время имплантации. Однако, уровни P-AKT в интерстициальных клетках в базальном слое эндометрия в основном низкие в любой фазе менструального цикла [93].

Для децидуализации эндометрия и имплантация бластоцисты необходимо переключение от пролиферации эпителиальных клеток в пролиферацию интерстициальных клеток. При пролиферации клеток, индуцированной эстрогенами и прогестероном, сигнальный путь PI3K/AKT также связан с имплантацией [74]. Экспрессия AKT увеличивается во время имплантации у мышей. AKT в основном продуцируется в люминальных и железистых эпителиальных клетках эндометрия мышей до имплантации [75].

Результаты исследования показали, что экспрессия белка PI3K, AKT и P-AKT были значительно ниже в группе с «тонким» эндометрием по сравнению с нормальным эндометрием ($p < 0,05$).

Анализ корреляции Спирмена показал, что уровни P13K и АКТ положительно коррелировали с уровнем белка Р-АКТ как в группе с «тонким» эндометрием, так и в группе с нормальной толщиной эндометрия ($p < 0,05$). Выкидыши и бесплодие у женщин с «тонким» эндометрием могут быть связаны со снижением экспрессии P13K и АКТ.

1.3 Патофизиология возникновения «тонкого» эндометрия

Рост эндометрия является гормонозависимым процессом, нуждающийся в достаточной васкуляризации [80, 164, 165, 189]. В исследовании Miwa I. и соавт. было предположено, что патофизиологические механизмы «тонкого» эндометрия могут быть связаны с высоким сопротивлением кровотока в радиальных артериях матки - нижних ветвях маточной артерии [123]. Снижение кровотока эндометрия может влиять на рост железистого эпителия, приводя к снижению экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF): ключевой фактор в регуляции ангиогенеза эндометрия. Вследствие этого нарушается развитие сосудов эндометрия, что в дальнейшем снижает кровоток, приводя к его плохому росту - «тонкому» эндометрию.

Сниженная васкуляризация в «тонком» эндометрии, которую выявили авторы, может быть связана с низкими уровнями VEGF в «тонком» эндометрии, т.к. VEGF в основном продуцируется эпителиальными клетками, а в «тонком» эндометрии нарушен рост эпителиального слоя. Снижение и нарушение васкуляризации приводит к ухудшению кровотока и нарушению роста эндометрия. VEGF способствует не только увеличению ангиогенеза, но также увеличению сосудистой проницаемости в средней фазе секреции, что является необходимым фактором для успешной имплантации [89, 159, 165, 172]. Экспрессия VEGF достигает пика в середине секреторной фазы [183]. Таким образом, низкие уровни VEGF в «тонком» эндометрии

могут быть связаны с нарушением имплантации в связи с плохой рецептивностью эндометрия.

Ключевым вопросом является - как «тонкий» эндометрий препятствует нормальной имплантации? При гистологическом исследовании эндометрий состоит из 2х слоев: базальный и функциональный. Базальный слой, состоящий из множества спиральных артерий, остается интактным во время менструального цикла, а функциональный слой претерпевает множество изменений. Он кровоснабжается маленькими капиллярными сетями, растет большую часть времени менструального цикла и затем почти полностью отторгается при менструации. После овуляции происходит спазм спиральных артерий с последующим снижением кровотока к капиллярам функционального слоя, в результате чего снижается кислородное напряжение в функциональном слое, что способствует имплантации [149]. При «тонком» эндометрии имплантация эмбриона происходит близко к спиральным артериям базального слоя, которая обильно кровоснабжается и имеет высокое кислородное напряжение, что приводит к образованию активных форм кислорода и препятствует развитию эмбриона и его имплантации [32, 195].

1.4 Неинвазивные методы оценки рецептивности эндометрия

В клинической практике для оценки рецептивности эндометрия используют следующие неинвазивные косвенные методы исследования: оценка толщины эндометрия, его структуры и объема, доплерометрических показателей сосудов матки при проведении УЗИ. Saha T.K. и соавт. в проведенном исследовании определили пороговую толщину «тонкого» эндометрия - 5мм, что определило значимость измерения толщины эндометрия при УЗИ [152]. В этом исследовании всем женщинам было проведено УЗИ для определения толщины эндометрия в течение 16ч после проведенной гистероскопии. Анатомическое измерение образцов ткани

эндометрия было проведено сразу же после операции. Среднее значение разницы между двумя измерениями было 0,8мм. Несоответствие между измерениями было выявлено чаще у женщин с «тонким» эндометрием (т.е. с толщиной эндометрия менее 5мм), оно было равно 1,6мм, по сравнению с женщинами с нормальной толщиной эндометрия (равно или более 5мм), разница в измерении составила 0,2мм. При УЗИ ошибочно был поставлен диагноз «тонкого» эндометрия в 3х из 40 случаев (8%) и «тонкий» эндометрий принят за нормальный в 6 случаях из 40 (15%) [152].

Другие исследования, изучающие точность трансвагинального УЗИ для измерения толщины эндометрия, сравнили трансвагинальное УЗИ с гистероскопической оценкой эндометрия и гистопатологическим измерением толщины эндометрия [54]. Sterzik К. и соавт. выявили, что УЗИ не является достоверным методом определения рецептивности эндометрия в программах ВРТ, т.к. ни толщина эндометрия, ни его структура не связаны с гистологическими результатами [175].

Структура эндометрия при УЗ исследовании – это эхогенность эндометрия и примыкающего к нему миометрия [111]. Центральная эхогенная линия при проведении УЗИ - это полость матки, наружные линии – базальный слой эндометрия или место стыка эндометрия и миометрия. Относительно гипоэхогенные области между двумя наружными линиями и центральной линией представляют собой функциональный слой эндометрия. Структура эндометрия меняется во время менструального цикла, представляя собой гипоэхогенную структуру с отчетливой центральной эхогенной линией во время фазы пролиферации (т.е. структура или тип В: многослойный эндометрий с тремя гиперэхогенными линиями и внутренней гипоэхогенной областью), а во время секреторной фазы представлена в виде гиперэхогенной однородной структуры с отсутствием центральной эхогенной линии (т.е. структура или тип А: полностью однородный гиперэхогенный эндометрий) [60, 67]. Было выявлено, что отсутствие однородной гиперэхогенной

ультразвуковой структуры во время середины лютеиновой фазы связано с низкой частотой наступления беременности среди женщин с бесплодием, не получающим препараты для стимуляции овуляции, так и среди пациенток программы ЭКО с контролируемой стимуляцией суперовуляции [36].

В проспективном исследовании среди 330 женщин с бесплодием Sher G. и соавт. выявили значительно высокую частоту наступления беременности на цикл переноса эмбриона среди женщин с гипоэхогенным эндометрием (тип В) (33%) в фазе поздней пролиферации по сравнению с женщинами с гиперэхогенным эндометрием (тип А) (7%) [163]. Puerto B. и соавт. выявили, что наличие однородной гиперэхогенной структуры эндометрия с отсутствием центральной эхогенной линии (тип А) в день переноса эмбриона связано с высокой частотой имплантации в программах ВРТ [143].

Sharara F.I. и соавт. провели исследование, где сравнивали структуру эндометрия в день назначения ХГЧ и в день забора ооцитов с исходами программ ВРТ. В исследование вошли 86 женщин [160]. Более высокая частота имплантации была в группе с 3х-линейной структурой эндометрия в день назначения ХГЧ и/или в день забора ооцитов. Частота имплантации была 23% при наличии гипоэхогенного эндометрия в день забора ооцитов, а при гиперэхогенном эндометрии она составляла 10%. Наличие 3х-линейной структуры эндометрия до назначения прогестерона связано с более высокой частотой имплантации. В ретроспективном исследовании реципиенток донорских ооцитов в 99% случаев наступления беременности структура эндометрия была 3х-линейной, в то время как в циклах без наступления беременности такая структура была в 44% случаев [29].

При помощи измерения объема эндометрия при 3D УЗИ возможно более точное определение рецептивности эндометрия по сравнению с измерением его толщины [101]. Было выявлено, что объем эндометрия более 2мл ассоциирован с хорошей рецептивностью эндометрия [209]. Несмотря на то, что при объеме эндометрия менее 1мл, не было случаев наступления

беременности, даже при его увеличении до 2 мл, не было найдено связи с увеличением возможности наступления беременности [155].

Внедрение 3D-доплерометрии послужило прогрессу диагностической технологии в области репродуктивной медицины, т.к. стало возможным 3D визуализация сосудов и количественная оценка плотности сосудов и перфузии тканей [86]. Steer C.V. и соавт. выявили статистически значимую разницу в сосудистом сопротивлении между беременными и небеременными женщинами. Авторы предположили, что использование доплерометрии возможно для определения рецептивности эндометрия в программах ВРТ [173, 174]. Была выявлена значительно высокая частота имплантации у пациенток в программах ВРТ с пульсационным индексом в маточных сосудах менее 3,00 по сравнению с группой с высоким пульсационным индексом [201]. Yang J.H. и соавт. представили метод измерения интраэндометриальной области (EPDA) с помощью доплеровской сонографии и выявили, что при нормальной толщине эндометрия, но низком EPDA (менее 5мм²) были неблагоприятные репродуктивные исходы [194].

Основываясь на данных Wu H.M. и соавт. определение субэндометриального кровотока и индекса субэндометриальной васкуляризации (VFI) при помощи 3D доплеровского УЗИ может служить предиктором состояния рецептивности эндометрия и исходов беременности [190]. У женщин с высоким субэндометриальным VFI отмечалась более высокая частота наступления беременности, особенно при значении VFI более 0,24. В похожем исследовании Zaidi J. и соавт. пришли к заключению, что отсутствие цветового потока в субэндометриальной части и интраэндометриальной васкуляризации в день назначения ХГЧ является предиктором неудачи имплантации в программах ВРТ независимо от результата морфологического исследования эндометрия [200]. Raine-Fenning N.J. и соавт. при помощи 3D доплеровской ангиографии исследовали изменения васкуляризации эндометрия во время нормального

менструального цикла у женщин с бесплодием неясного генеза. Авторы описали преовуляторный пик кровотока и его постовуляторное снижение, достигающее самого низкого уровня во время имплантации, такие же изменения происходят и в концентрации эстрадиола в крови во время фолликулярной фазы и прогестерона во время лютеиновой фазы. Авторы пришли к заключению, что кровоток в эндометрии и субэндометрии значительно снижен у женщин с бесплодием неясного генеза во время средней-поздней фолликулярной фазы независимо от концентрации эстрадиола и прогестерона и морфологии эндометрия [144].

1.5 Гены маркеры рецептивности эндометрия

Толщину эндометрия принято считать косвенным методом оценки его рецептивности, но в одной работе, где авторы при гистологическом и ИГХ исследовании определяли экспрессию эстрогеновых рецепторов α (ЭР), прогестероновых рецепторов (ПР) и лейкемия ингибирующего фактора (LIF) в поверхностном, железистом эпителии и строме в нормальном и «тонком» эндометрии не было найдено статистически значимых различий в рецептивности «тонкого» и нормального эндометрия [8]. В настоящее время определение состоятельности секреторной трансформации эндометрия с помощью гистологического исследования структуры функционального слоя эндометрия является недостаточным и должно дополняться новыми высокоинформативными методами оценки рецептивности эндометрия [132].

В последние годы были проведены исследования глобальных транскриптомных профилей генов в различных условиях, оказывающих влияние на качественное состояние эндометрия. Основным результатом проведенных исследований стало выявление наиболее информативных маркеров «окна имплантации», часть из которых уже вошла в список

«золотого стандарта» рецептивности эндометрия [49, 78]. Исследование транскрипционных профилей генов GPX3, PAEP, DPP4, TAGLN, HABP2, IMPA2, AQP3, HLA-DOB, MSX1 и POSTN выявило значительное различие в уровне экспрессии мРНК этих генов в пререцептивном и рецептивном эндометрии и позволил разделить образцы по их рецептивному статусу [132].

Ген **GPX3** – относится к ферментам группы глутатионпероксидаз (GPX) и наряду с пероксиредоксинами они составляют семейство тиолпероксидаз — ферментов, катализирующих тиолзависимое восстановление H_2O_2 и органических гидропероксидов. Это обуславливает их защитную роль при окислительном стрессе. Промотор гена GPX3 содержит больше вероятных прогестерон-чувствительных элементов чем эстроген-чувствительных; экспрессия гена GPX3 в эндометрии усиливается после овуляции и во время беременности; в строме эндометрия прогестерон усиливает транскрипцию Gpx3 через транскрипционный фактор Nrf1 α . На лабораторных животных показана связь активации гена Gpx3 и экспрессии белка GPX3 в строме и имплантации бластоцисты в стенку матки. Подтверждено, что GPX3 снижает концентрацию H_2O_2 в эндометрии при беременности и при децидуализации *in vitro*. Предполагается уязвимость репродуктивной функции при физиологическом стрессе при недостаточной экспрессии GPX3 в эндометрии [4].

Ген **PAEP** - (прогестаген ассоциированный эндометриальный протеин), также известный как ассоциированный с беременностью альфа-2-глобулин (PAEG) или плацентарный протеин 14 (PP14), кодирует гликопротеин суперсемейства липокалинов, большая часть генов которых находятся на длинном плече хромосомы 9. PAEP имеет три изоформы, которые имеют важную роль в поддержании внутриматочной среды для обеспечения, наступления и пролонгирования беременности. В дополнение к эндометрию и амниотической жидкости, высокая экспрессия этого гликопротеина обнаружена в фолликулярной жидкости и семенной плазме, где его функции

ассоциированы с обеспечением последовательных шагов необходимых для оплодотворения [158].

Ген **DPP4** - дипептил пептидаза 4, также известный как CD26 кластер дифференциации, кодирует дипептил пептидазу-4, которая является мембранным ферментом, который ферментирует пептидную связь пролина в N-терминальной позиции. Генный продукт является поверхностью антигена активирующего CD26 Т клетки, экспрессируется на поверхности большинства клеток организма, участвует в иммунной регуляции, передаче сигнала, гомеостаза глюкозы и в апоптозе [206].

Ген **TAGLN** – трансгелин - этот ген кодирует изменяющий форму и чувствительный к трансформации актин-связывающий белок, который принадлежит к семейству кальпонинов. Он экспрессируется в сосудистых клетках и висцеральных гладких мышцах и является ранним маркером дифференцировки гладких мышц. Считается, что кодированный белок участвует в кальций-не зависящем сокращении гладких мышц. Он действует как супрессор опухолей, и отсутствие его экспрессии является ранним маркером клеточной трансформации и развитии некоторых опухолей. Jung-II Chaе и соавт., при исследовании белков ассоциированных с беременностью на эндометрии беременной матки животных, выявили, что ген TAGLN ассоциирован с регуляцией преобразования эндометрия для пролонгирования беременности [35].

Ген **НАВР2** - гиалуронан-связывающий белок 2. Этот ген кодирует члена семейства пептидаз S1 сериновых протеаз. Кодированный препротейн секретируется гепатоцитами и протеолизирован с образованием тяжелых и легких цепей, которые образуют зрелый гетеродимер. Дальнейший аутопротеолиз приводит к уменьшению количества неактивных пептидов. Эта внеклеточная протеаза связывает гиалуроновую кислоту и может играть роль в процессах коагуляции и фибринолиза. Мутации в этом гене связаны с немедулярным раком щитовидной железы и склонностью к венозной тромбоэмболии. В работе Altmäe S. и соавт. показано, что повышение

экспрессии данного гена связана с рецептивностью эндометрия в «окно имплантации» [19].

Ген **IMPA2** – инозитолмонофосфатаза 2. Кодированный белок катализирует дефосфоилирование инозитолмонофосфата и играет важную роль в передаче сигналов фосфатидинозитола. В исследовании Brianna Cloke и соавт. была выявлена пониженная экспрессия данного гена при нокдауне прогестероновых рецепторов в децидуализированном эндометрии [42].

Ген **AQP3** - белок группы аквапоринов, локализуется на базолатеральной мембране собирательных канальцев в почках. Аквапорин 3 является тетрамерным интегральным белком. Мономер состоит из 292 аминокислоты, содержит 2 tandemных повтора с 3 трансмембранными участками и петлю с характерным для аквапоринов мотивом аспарагин-пролин-аланин, которая формирует водный канал. Он формирует водный канал в клеточной мембране, в особенности в собирательных канальцах почек. Обеспечивает передвижение воды через клеточную мембрану в направлении осмотического градиента. Именно аквапорин 3 является основным каналом для транспорта глицерина, что, в частности, важно для всасывания глицерина кожей и, возможно, в клеточном метаболизме. Он играет важную роль в гидратации кожи, заживлении ран и росте опухолей [81].

Ген **HLA-DOB** - главный комплекс гистосовместимости, класс II, DO бета. Кодированная бета цепь белка, который играет вспомогательную роль в презентации антигенов. Белок HLA-DO при взаимодействии с HLA-DM супрессирует погрузку пептида молекул главного комплекса гистосовместимости класса II, предотвращая презентацию антигенов [71].

Ген **POSTN** - периостин. Этот ген кодирует секретированный белок внеклеточного матрикса, который играет роль в регенерации тканей, включая заживление ран и ремоделирование желудочков сердца после инфаркта миокарда. Кодированный белок связывается с интегринами для поддержания

адгезии и миграции эпителиальных клеток. Этот белок играет роль в поддержании раковых стволовых клеток и метастазировании. В исследовании Savaris R. F. и соавт. показана повышенная экспрессия гена POSTN в эндометрии средней стадии секреции и в эндометрии у пациенток с трубной беременностью [154].

Ген **MSX1** - msh homeobox 1 или homeobox gene 7 HOX7 кодирует протеин семейства homeobox. Как результат взаимодействия с компонентами комплексов транскрипции, этот белок обеспечивает подавление или дифференциацию генов во время эмбриогенеза, играет роль в супрессии роста ткани [71].

Ген **GPLY** – гранулизин. Продукт этого гена является членом семейства сапозиноподобных белков (SAPLIP) и находится в цитотоксических гранулах Т-клеток, которые высвобождаются при стимуляции антигеном. Этот белок присутствует в цитотоксических гранулах цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных клеток-киллеров и обладает противомикробной активностью в отношении *M. tuberculosis* и других организмов. В работе Maekawa R. и соавт., где авторы исследовали особенность экспрессии генов в «тонком» эндометрии, выявили повышение экспрессии данного гена в «тонком» эндометрии [110].

Ген **EDN3** - кодирует белок под названием эндотелин 3. Белки в семействе эндотелинов вырабатываются в различных клетках и тканях, где они участвуют в развитии и функционировании кровеносных сосудов, выработке определенных гормонов и стимуляции клеток. Эндотелин 3 функционирует, взаимодействуя с другим белком, рецептором эндотелина типа В (полученным из гена EDNRB), на поверхности клеток. Keator C. S. и соавторы провели работу, где исследовали экспрессию эндотелинов в эндометрии макак, которые получали различные схемы ЦГТ. Было выявлено, что при назначении эстрогеновых препаратов, а затем добавлении препаратов прогестерона, снижается экспрессия гена EDN3 как в функциональном слое эпителия, так и строме [91].

Ген **SFRP4** - ген SFRP4 кодирует белок, который ингибирует процесс передачи сигналов Wnt. Передача сигналов Wnt играет важную роль в развитии тканей и органов. В частности, регуляция этого сигнального процесса с помощью SFRP4 является очень важной для нормального развития и ремоделирования кости. Белок SFRP4 также играет роль в развитии жировой ткани. В исследовании Fitzgerald H. C. и соавт. было показано снижение экспрессии данного гена у пациенток с бесплодием неясного генеза по сравнению с фертильными женщинами [73].

1.6 Методы лечения «тонкого» эндометрия в программах ВРТ

1.6.1 Высокие дозы эстрадиола

При плохом росте эндометрия у пациенток с бесплодием первым шагом является изменение стандартной схемы назначения препаратов эстрадиола. Эстрогены способствуют пролиферации эндометрия при помощи сокращения спиральных артерий и уменьшения кислородного напряжения в функциональном слое, что способствует имплантации эмбриона [31, 193].

Основной путь назначения эстрадиола – это внутрь, нет значительного различия между микронизированным эстрадиолом и эстрадиол валератом [105]. Пациентки могут начинать прием с высоких доз препарата (от 6мг до 16мг). В основном, 2мг достаточно для блокирования гипоталамо-гипофизарной системы, поэтому нет необходимости добавления аГнРГ в лютеиновую фазу, т.к. это может привести к снижению кровотока в сосудах эндометрия [39].

Другие пути назначения эстрадиола – это внутримышечный, трансдермальный или влагалищный, они не имеют явных преимуществ друг перед другом и нет различий в частоте наступления беременности [57]. В

некоторых странах используют интраназальные эстрогены, но на данный момент мало исследований оценивающих их эффективность.

1.6.2 Инъекция ХГЧ в фазе пролиферации

Человеческий хорионический гонадотропин (ХГЧ) является гликопротеином, продуцируемым имплантирующимся эмбрионом, главная роль которого заключается в стимуляции продукции прогестерона желтым телом. Он также регулирует иммунную толерантность эмбриона во время процесса имплантации [133]. Lich P. и соавт. выявили, что внутриматочная инъекция 500 МЕ ХГЧ ингибирует инсулиноподобный фактор связывающий протеин-1 и макрофагальный колониестимулирующий фактор и стимулирует секрецию лейкоингибирующего фактора, сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и MMP-0 [104].

Основываясь на наличии рецепторов ХГЧ в эндометрии, Papanikolaou E.G. и соавт. провели пилотное исследование для выявления эффективности лечения пациенток с «тонким» эндометрием (менее 6 мм) при подкожном введении ХГЧ в фолликулярной фазе [135]. В исследование вошли 17 пациенток с «тонким» эндометрием, не отвечающие на лечение влагалищным эстрадиолом, силденафилом или витамином Е. В лечебном цикле на 8й день приема эстрадиола (17-бета эстрадиол 8мг в день), было назначено 150 МЕ ХГЧ подкожно на 7 дней. После измерения толщины эндометрия на УЗИ прием ХГЧ был прекращен, назначены препараты прогестерона (600мг микронизированного прогестерона) и был произведен перенос эмбриона в полость матки. Авторами было выявлено увеличение толщины эндометрия (5,2мм против 6 мм, $p=0,008$) у 52,9% пациенток она увеличилась более чем на 10%, а у 35,3% более чем на 20%. Беременность наступила у 2х пациенток из 5, у которых толщина эндометрия не увеличилась, процент живорождения составил 41%. Таким образом, авторы пришли к выводу, что назначение ХГЧ в фолликулярной фазе

менструального цикла увеличивает толщину эндометрия и улучшает клинические исходы программ ВРТ.

Этот эффект поддерживает концепцию о паракринном действии ХГЧ на эндометрий, что может увеличить его рецептивность. Однако, в исследовании Prapas N. и соавт. был выявлен обратный эффект: у реципиенток ооцитов с нормальным эндометрием, которые получали 750 МЕ ХГЧ каждый третий день приема эстрогенов, было отмечено не только уменьшение толщины эндометрия по сравнению с группой контроля, но также отмечалась значительно меньшая частота наступления клинической беременности (13,6% против 45,4%, $p < 0,05$) [142]. После 22 циклов исследование было преждевременно завершено по этическим соображениям. По мнению Papanikolaou и соавт. это несоответствие может быть связано с назначением высоких доз ХГЧ и они предположили, что более высокие дозы препарата могут иметь отрицательный эффект на рецептивность эндометрия [135].

1.6.3 Ацетилсалициловая кислота

Назначение низких доз аспирина гипотетически может увеличить рост эндометрия и имплантацию эмбриона в связи с его тройным механизмом действия: уменьшение субэндометриального сокращения миометрия, уменьшение воспаления путем ингибирования циклооксигеназы и биосинтеза простагландинов и улучшение кровотока в эндометрии [188].

В проспективном рандомизированном исследовании Weckstein L.N. и соавт. исследовали эффект низких доз аспирина у 28 реципиенток ооцитов с «тонким» эндометрием (менее 8мм) после терапии эстрогенами [189]. У пациенток, которые получали аспирин, наблюдалась более высокая частота имплантации и наступления клинической беременности по сравнению с пациентками без терапии. Однако лучшие результаты исходов беременности

были связаны не с толщиной эндометрия, а с улучшением кровотока эндометрия.

Hsieh Y.Y. и соавт. оценили эффект низких доз аспирина у женщин с «тонким» эндометрием при проведении внутриматочной инсеминации [79]. У пациенток, которые получали аспирин, была более высокая частота наступления беременности (18,4% против 8%), также улучшалась структура эндометрия, при его неизменной толщине и скорости кровотока сосудов матки.

1.6.4 Витамин Е и пентоксифиллин

Пентоксифиллин является синтетической производной метилксантина, который ингибирует фосфодиэстеразу путем повышения внутриклеточной цАПФ. Он имеет сосудорасширяющий эффект и увеличивает гибкость мембраны эритроцитов, также снижает вязкость крови путем ингибирования агрегации эритроцитов. Он также увеличивает фагоцитарную активность лейкоцитов и моноцитов и является антагонистом таких цитокинов как TNF-альфа, интерферон-гамма, ГМ-КСФ и ингибирует пролиферацию фибробластов и экстрацеллюлярного матрикса путем увеличения активности фермента коллагеназы [99].

Пентоксифиллин применяется для лечения сосудистых заболеваний: перемежающаяся хромота, патология периферических сосудов или язвы нижних конечностей, при алкогольных гепатитах, серповидноклеточной анемии, диабетической нейропатии, острой или хронической недостаточности мозгового кровообращения, его эффект усиливается при добавлении витамина Е [40].

Альфа-токоферол, или витамин Е является экзогенной жирорастворимой молекулой с антиоксидантным эффектом, т.к. он блокирует свободные радикалы кислорода и действует как вазодилататор. Данный препарат использовался вместе с пентоксифиллином для лечения побочных эффектов

лучевой терапии, т.к. они способствуют уменьшению поверхностного и костно-мышечного фиброза [40].

Данные положительные результаты дали основу для исследования возможности увеличения толщины эндометрия при комбинированной терапии витамином Е и пентоксифиллином. Letur-Konirsch Н. назначал данную терапию на 9 месяцев женщинам с преждевременным истощением яичников и толщина эндометрия у них увеличилась от 5мм до 7,4мм [102]. Ledee-Bataille N. и соавт. назначали данное лечение 18 реципиенткам донорских ооцитов, у которых был выявлен «тонкий» эндометрий, не поддающийся лечению препаратами эстрогенов [99]. После назначения витамина Е толщина эндометрия значительно увеличилась (4.9 ± 0.6 против 6.2 ± 1.4 мм). В обсервационном ретроспективном исследовании среди 20 женщин с «тонким» эндометрием Acharya S. и соавт. выявили увеличение толщины эндометрия после лечения витамином Е и пентоксифиллином (4.37 ± 1.5 мм против 6.05 ± 1.83 мм); в их исследовании толщина эндометрия увеличилась у 73,7% женщин [13]. Авторы рекомендуют дозы 800мг пентоксифиллина с добавлением 1000МЕ витамина Е в течение 6-8 месяцев. Лечение должно быть проведено перед циклом переноса эмбриона.

1.6.5 Силденафил-цитрат

Силденафил-цитрат – это селективный ингибитор 5-фосфодиэстеразы, фермента, который гидролизует цГМФ. Он оказывает влияние на гладкую мускулатуру эндотелия и играет важную роль в регуляции структуры сосудов, их роста и тонуса. Сосудорасширяющий эффект препарата использовался для лечения разных заболеваний, начиная от легочной гипертензии до эректильной дисфункции.

Sher G. и Fish J.D. описали возможность использования силденафила для лечения пациенток с «тонким» эндометрием [164]. В первой публикации они описали результаты среди 4х пациенток с субоптимальным ростом

эндометрия в программах ВРТ. После лечения силденафилом увеличился кровоток в маточных артериях, а также увеличилась толщина эндометрия. Авторы назначали 25мг препарата каждые 6 часов в виде влагалищных суппозиторий в пролиферативной фазе и отменяли до назначения ХГЧ или переноса эмбриона. Эти предварительные данные переняли другие авторы на больших группах пациенток с плохим ростом эндометрия и они достигли 70% успеха в увеличении толщины эндометрия [58]. Zinger M. и соавт. описали 2 успешных исхода у пациенток с синдромом Ашермана [208]. Описан и другой эффект силденафила: при увеличении толщины эндометрия он также может снизить активность клеток естественных киллеров, что может быть полезным для женщин с привычным невынашиванием беременности.

1.6.6 L-аргинин

Аргинин является необходимой аминокислотой, которая играет важную роль во многих физиологических процессах, таких как регуляция вазодилатации и кровотока, активации иммунной системы и воспалительного процесса. Он является основным субстратом для синтеза оксида азота, а также для орнитина и полиаминов, являющимися ключевыми факторами в плацентарном ангиогенезе и регуляции маточного кровотока [94]. Аргинин может увеличить кровоток при состояниях, когда эндотелиальная дисфункция связана с низкой выработкой оксида азота.

Takasaki A. и соавт. оценили влияние аргинина в дозе 6 мг в день на 9 пациенток с «тонким» эндометрием [179]. Авторы описали увеличение кровотока в радиальных маточных артериях в 89% случаев и толщину эндометрия более 8мм в 67% случаев. Но все же необходимы более крупные исследования для оценки эффективности этого метода лечения.

1.6.7 Мобилизация эндометриальных стволовых клеток из костного мозга

Недавно было выдвинуто предположение, что реконструкция эндометрия является перспективным методом для достижения беременности у женщин с тяжелыми повреждениями эндометрия, такими как синдром Ашермана или его атрофия. Этот метод основан на регенераторных способностях человеческого эндометрия, который является высокорегенеративной тканью и проходит более чем 400 циклов роста, дифференциации и отторжения на протяжении репродуктивного возраста женщины [61].

Было предложено три основных источника для клеточной реконструкции эндометрия. Первым является популяция клоногенных клеток, находящихся как в эпителиальном, так и в стромальном слоях эндометрия: эпителиальные прогениторные клетки и мезенхимальные стволовые клетки (МСК) [33, 62]. Эти клетки могут назначаться или стимулироваться у пациенток с синдромом Ашермана для его регенерации [153].

Второй описанный источник для регенерации эндометрия - стволовые клетки костного мозга. Исследования на людях и мышах дали предположения, что эти клетки соединяются в эндометрии в малых количествах и дифференцируются в эпителиальные, стромальные и эндотелиальные клетки эндометрия [181]. Было показано, что у пациенток-реципиенток от мужчин доноров стволовых клеток костного мозга были обнаружены мужские ХУ эндометриальные клетки (Cervello I. и соавт. [34]). Исследование показало, что трансплантация аутологичных моноклеарных стволовых клеток из подвздошного гребня в подэндометриальный слой у 6 пациенток с аменореей и синдромом Ашермана значительно улучшила толщину эндометрия при терапии экзогенными эстрогенами в последующие месяцы, также отмечалось возобновление менструации у 5 из 6 пациенток [169].

Другим источником для реконструкции эндометрия являются человеческие эмбриональные стволовые клетки. Они являются плюрипотентными стволовыми клетками, которые имеют потенциал дифференцироваться в любой тип клеток человеческого организма. Однако большое беспокойство при их трансплантации вызывает риск неконтролируемой дифференцировки в нежелательные типы клеток, таких как опухолевые клетки. Для предотвращения иммунологических осложнений, связанных с трансплантацией человеческих эмбриональных стволовых клеток, как альтернативное средство было предложено применение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток [178]. Их можно получить из фибробластов женщин с синдромом Ашермана для получения эпителиальных и стромальных клеток эндометрия, которые далее можно трансплантировать в матку с поврежденным эндометрием для его регенерации. Был опубликован только один случай регенерации эндометрия человека с репродуктивным успехом [125]. Аутологичные стволовые клетки костного мозга, полученные из подздошного гребня, были введены в матку женщине с синдромом Ашермана и «тонким» эндометрием, который не отвечал на терапию эстрогенами. Клетки были введены на 2й день менструального цикла после выскабливания полости матки. Далее были 4 цикла терапии эстрогенами, прогестероном и низкими дозами аспирина для достижения достаточной толщины и структуры эндометрия. Была проведена программа ЭКО с донорскими ооцитами и перенос эмбриона в 3х-слойный эндометрий толщиной 7,1мм. Была достигнута беременность одним плодом, срок которой был 8 недель на момент публикации исследования.

1.6.8 Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ)

В 2011г Gleicher N. и соавторами впервые было предложено применить препарат гранулоцитарного колониестимулирующего фактора для лечения «тонкого» эндометрия у пациенток в программах ВРТ [129].

Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) – это гликопротеин, который принадлежит к группе колониестимулирующих факторов и стимулирует развитие колонии гранулоцитов. Г-КСФ является аминокислотным полипептидом и многие клетки, в том числе и эндотелиальные моноциты и клетки эндометрия его продуцируют [23]. Г-КСФ играет важную роль в децидуализации эндометрия, развитии трофобласта и плацентарном метаболизме. Г-КСФ способствует мобилизации, миграции и дифференциации стволовых клеток. Также он способствует регенерации эндометрия путем стимуляции ангиогенеза и снижения апоптозной активности клеток эндометрия. Г-КСФ играет роль в имплантации эмбриона и развитии беременности через временную супрессию иммунного ответа, связанного с его влиянием на лимфоциты, макрофаги и Т-хелперы 2 [192].

Считается, что децидуальная ткань человека контролирует инвазию трофобласта посредством секреции цитокинов [109]. Колониестимулирующие факторы (КСФ) – это семейство белков (ГМ-КСФ, КСФ-1, Г-КСФ и ИЛ-3), которые стимулируют клеточную пролиферацию и индукцию дифференциации гемопоэтических прогениторных клеток. КСФ-1 был обнаружен в плацентарной ткани в первом триместре беременности и в железах эндометрия [45, 134]. Локальное повреждение эндометрия, которое может привести к локальному выделению цитокинов, включая и КСФ, увеличивает частоту имплантации эмбрионов, клинической беременности и живорождения в программах вспомогательных репродуктивных технологий [97, 207].

Децидуальная ткань контролирует инвазию трофобласта посредством секреции цитокинов [109, 163]. То, что местная небольшая травма способствует децидуализации эндометрия и имплантации эмбриона известно с 1907г. [108]. Varash A. и соавт. производили «скретчинг» эндометрия перед проведением программы ВРТ для увеличения частоты наступления

беременности [23]. Авторы предположили, что при этой манипуляции происходит высвобождение цитокинов и факторов роста из поврежденного эндометрия.

В клинической практике используется рекомбинантный Г-КСФ по различным показаниям уже более 20 лет. Этот препарат успешно используется для лечения нейтропении, возникающей при проведении химиотерапии у больных онкологическими заболеваниями [46, 66].

Но на данный момент неясно, может ли внутриматочное введение Г-КСФ увеличить толщину эндометрия у женщин с ранее диагностированным «тонким» эндометрием, не отвечающим на стандартные методы лечения и увеличить частоту наступления беременности. Известно, что назначение Г-КСФ в программах ВРТ не влияет на хромосомный набор эмбриона и поэтому его использование безопасно [14].

В исследовании Gleicher N. и соавт. использовали рекомбинантный Г-КСФ в дозе 300 мкг. Авторы сообщили об увеличении толщины эндометрия до 7мм и более через 48 часов после введения препарата 4 пациенткам в программе ВРТ, которым ранее неоднократно отменяли перенос эмбриона в связи с «тонким» эндометрием. В данном исследовании все 4 пациентки забеременели, но в одном случае была выявлена внематочная беременность, авторы не связывают ее с назначением препарата Г-КСФ [129].

В 2012г тот же коллектив авторов провел проспективное когортное пилотное исследование, включающее 21 пациентку в программе ВРТ, у которых в день назначения ХГЧ толщина эндометрия была менее 7мм и терапия высокими дозами препаратов эстрогена была неэффективна [127]. Пациенткам было произведено внутриматочное введение рекомбинантного Г-КСФ (Нейпоген) в дозе 300мкг в день назначения ХГЧ. Трём пациенткам было произведено повторное введение препарата через 48 часов в связи с наличием толщины эндометрия менее 7мм к этому времени. Авторы отметили увеличение толщины эндометрия от $6,4 \pm 1,4$ мм до $9,3 \pm 2,1$ мм

($p < 0,001$). Разница в толщине эндометрия была в среднем $2,9 \pm 2,0$ мм и авторы не отметили разницу между циклами с наступившей и с не наступившей беременностью. Перенос эмбриона был произведен всем пациенткам. Беременность наступила в 19,1% случаев.

В 2013г Varad D. H. и соавт. провели рандомизированное двойное слепое контролируемое исследование среди пациенток с нормальной толщиной эндометрия для оценки влияния Г-КСФ на частоту имплантации и наступления беременности в программах ВРТ [47]. Исследование включало 141 пациентку, из которых 129 были в программе ЭКО и 12 в программе криопереноса в первом цикле исследования. Всем пациенткам, вступающим во второй цикл терапии, было предложено участие в перекрестном исследовании.

Использовался препарат Г-КСФ – Нейпоген (300мкг/1,0мл, Филграстим). Утром, в день назначения ХГЧ, был введен 1 мл Г-КСФ или плацебо (физ. раствор) внутриматочно. Толщина эндометрия была измерена при трансвагинальном УЗИ перед введением препарата и через 5 дней - в день переноса эмбриона. **Результаты:** увеличение толщины эндометрия было статистически значимым в период 5дневного наблюдения для всей группы, оно составило в среднем 1,36 мм (95% ДИ, 0,98, 1,74; $p < 0,0001$). Увеличение толщины эндометрия было количественно больше в группе с Г-КСФ, но оно было статистически не значимым.

У 48 пациенток было положительное значение бета-ХГЧ крови после переноса эмбриона (по 24 в каждой группе). У 37 пациенток была диагностирована клиническая беременность в первом цикле лечения: в группе с Г-КСФ 18 (24,7%) из 73 и в группе с плацебо 19 (27,9%) из 68. Среди 37 клинических беременностей было 4 самопроизвольных выкидыша (1 в группе с Г-КСФ; 3 - в группе с плацебо).

35 пациенток прошли второй цикл перекрестного лечения. Клиническая беременность наступила у 15 пациенток: в группе с Г-КСФ 8 (50%) из 16 и в

группе с плацебо 7 (36,8%) из 19. В 4 случаях произошел самопроизвольный выкидыш, по 2 в каждой группе. Не было статистически значимого различия в общей частоте наступления беременности в первом и втором циклах исследования ($p=0,14$).

Авторы пришли к заключению, что внутриматочное использование препарата Г-КСФ увеличивает толщину эндометрия, но не влияет на частоту имплантации и наступление беременности.

В 2013г Yu Li и соавт. провели исследование, в которое было включено 59 пациенток [198]. Было проведено 40 криоциклов с внутриматочным введением Г-КСФ у 34 пациенток, 49 предыдущих криоциклов без применения Г-КСФ послужили в качестве группы самоконтроля. Среди 25 пациенток, отказавшихся от лечения Г-КСФ, было 80 криоциклов, которые послужили группой контроля. Частота отмены переноса эмбриона была самой низкой в группе с Г-КСФ (17,50%), 48,75% в группе контроля и 69,39% в группе с самоконтролем, различие было статистически значимым ($p<0,05$). Более высокая частота имплантации (15,85% против 7,89%) и клинической беременности (30,30% против 20,00%) наблюдались в группе с Г-КСФ по сравнению с группой самоконтроля, но результат не был статистически значимым ($p>0,05$).

В 2014г Eftekhar M. и соавт. провели нерандомизированное клиническое исследование среди 68 пациенток, у 34 из которых было произведено внутриматочное введение Г-КСФ и 34 пациентки были в группе контроля [113]. Средняя толщина эндометрия (на 12-13й день цикла) была аналогичной в обеих группах ($p=0,88$). Шести пациенткам в группе с Г-КСФ потребовалось повторное введение Г-КСФ (18,18%). Процент отмены криоцикла в связи с «тонким» эндометрием был одинаковым в обеих группах (15,20% против 15,20%) ($p=1,00$). У одной пациентки в группе с Г-КСФ была диагностирована внематочная беременность. Более высокая частота биохимической (39,30% против 14,30%) и клинической беременности (32,10% против 12,00%) наблюдалась в группе с Г-КСФ по сравнению с

группой контроля, но она была статистически не значимой. Авторы связывают результаты с механизмом действия Г-КСФ, который приводит к увеличению LIF и уменьшению CD16, CD 56, что играет важную роль в процессе имплантации. Авторы не отметили побочных эффектов при назначении Г-КСФ.

В 2014г Bin Xu и соавт. провели исследование для оценки эффективности двух протоколов с применением Г-КСФ для терапии «тонкого» эндометрия [26]. В исследовании было включено 82 пациенток с «тонким» эндометрием (толщина < 7мм). 30 пациенткам, которым ранее был отменен перенос эмбриона в связи с «тонким» эндометрием, производилось внутриматочное введение Г-КСФ. Пациентки были разделены случайным образом на 2 группы: 1я группа получала только Г-КСФ внутриматочно и 2я группа с применением Г-КСФ и «скретчингом» эндометрия во время введения препарата. 52 пациенткам была проведена программа криопереноса независимо от толщины эндометрия, они были включены в группу контроля.

В группах с Г-КСФ толщина эндометрия возросла с $5,7 \pm 0,7$ мм до $8,1 \pm 2,1$ мм после лечения Г-КСФ по сравнению с предыдущими циклами ($p < 0,001$). Увеличение толщины эндометрия статистически не различалось в 2х лечебных группах. Была установлена номинально, но статистически не значимая более высокая частота наступления беременности и живорождения в группе с Г-КСФ и «скретчингом» эндометрия по сравнению с группой только с применением Г-КСФ (53,8% против 42,9% и 38,5% против 28,6% соответственно). Статистически значимо выше была частота имплантации в группе с Г-КСФ по сравнению с группой контроля (31,5% против 13,9% ; $p < 0,01$; 48,1% против 25,0%; $p = 0,038$, соответственно). «Скретчинг» эндометрия не ухудшал терапию «тонкого» эндометрия препаратом Г-КСФ и способствовал наступлению беременности и живорождению.

В 2015г Tehraninejad E. и соавт. провели нерандомизированное клиническое исследование, в которое вошли пятнадцать пациенток с

«тонким» эндометрием, резистентных к терапии эстрадиолом и силденафилом [55]. Средняя толщина эндометрия до внутриматочной инфузии Г-КСФ была $3,6 \pm 0,98$ мм, а после терапии среднее значение толщины эндометрия составило $7,12 \pm 0,84$ мм ($p < 0,001$).

Был произведен перенос эмбрионов хорошего качества 13 пациенткам. Процент клинической беременности составил 20%. Отмечена статистически значимая разница между толщиной эндометрия до введения Г-КСФ по сравнению с днем переноса эмбриона ($p = 0,002$), но в частоте наступления беременности не было обнаружено значимой разницы. Разница между толщиной эндометрия до и после внутриматочного введения Г-КСФ была $3,53 \pm 0,88$ мм. Разница между прошлым криоциклом и циклом с Г-КСФ составила $1,36 \pm 1,1$ мм ($p = 0,001$).

Беременность наступила у 3х пациенток. Первая пациентка умерла из-за отравления угарным газом дома на сроке 34 недель беременности. У второй пациентки произошел самопроизвольный выкидыш на сроке 12 недель. У третьей было проведено кесарево сечение на сроке 30 недель в связи с преждевременным излитием околоплодных вод.

В 2015г Vineet V. Mishra и соавт. в проспективном исследовании включили 35 женщин с «тонким» эндометрием (менее 7 мм), резистентных к стандартным методам терапии [186]. Средняя толщина эндометрия перед введением Г-КСФ составила $5,86 \pm 0,58$ мм, а после терапии она увеличилась до $6,58 \pm 0,84$ мм. Хотя разница была 0,72 мм, что было статистически значимым, толщина эндометрия все еще была 7 мм, что было неблагоприятным фактором для переноса эмбрионов. Толщина эндометрия увеличилась до 7 мм только у 19 из 35 пациенток (54,28%), которым был произведен перенос эмбриона в полость матки. Из них у троих (15,78%) пациенток была биохимическая беременность, но ни у одной не было клинической беременности. У 16 пациенток перенос эмбриона был отменен в связи с недостаточной толщиной эндометрия (менее 7 мм) даже после введения Г-КСФ. У 9 из 35 участниц было произведено повторное введение

Г-КСФ. Объем эндометрия и показатели кровотока маточных сосудов – индекс васкуляризации (VI), индекс потока (FI), индекс потока васкуляризации (VFI) - также оценивали до и после введения Г-КСФ, но не было обнаружено статистически значимой разницы. Авторы не отметили побочных эффектов после введения Г-КСФ.

В 2016г Kupiski M. и соавт. провели исследование, в которое включили 62 пациенток с «тонким» эндометрием (менее 7мм), не отвечающие на стандартные методы терапии [120]. 29 пациенткам производили внутриматочное введение Г-КСФ, а 33 пациентки, которые отказались от участия в исследовании, послужили группой контроля. У пациенток в обеих группах была одинаковая толщина эндометрия при первичном измерении на УЗИ: 6,50мм (5,50-6,80 мм) в группе с Г-КСФ и 6,40мм (5,50-7,0 мм) в группе контроля. Однако после введения Г-КСФ толщина эндометрия значительно увеличилась в группе с Г-КСФ по сравнению группой контроля. В группе с Г-КСФ толщина эндометрия достигла 7,90 мм, тогда как в группе контроля - 6,90мм. В каждой группе забеременели по 5 женщин. Частота клинической беременности была 5/29 (17,24%) в группе с Г-КСФ и 5/33 (15,15%) в группе контроля. Процент живорождения – 2/29 (6,8%) в группе с Г-КСФ и 2/33 (6,06%) в группе контроля. Авторы пришли к выводу, что внутриматочное введение Г-КСФ приводит к увеличению толщины эндометрия, при этом увеличение частоты наступления беременности и живорождения не было выявлено. Также авторы отмечают малую выборку в данном исследовании, что могло повлиять на полученные результаты.

1.6.9 Аутологичная плазма, обогащенная тромбоцитами

Новым подходом лечения «тонкого» эндометрия является внутриматочное введение плазмы, обогащенной тромбоцитами (ПОТр). Плазма, обогащенная тромбоцитами производится из свежей цельной крови,

которая забирается из периферической вены в объеме 450 мл, хранится в антикоагулянтном растворе кислотнo-цитратной декстрозы [209]. После активации тромбоцитов в ПОТр становятся биоактивными цитокины и факторы роста, такие как сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), трансформирующий фактор роста (TGF), фактор роста тромбоцитов (PDGF) и эпидермальный фактор роста (EGF) [100]. Они могут регулировать миграцию клеток, пролиферацию, дифференциацию и способствуют накоплению внеклеточного матрикса. Данные факторы роста высвобождаются после дегрануляции тромбоцитов и способствуют реализации механизмов, необходимых для процесса регенерации тканей [68].

Факторы роста получают путем генетических и рекомбинантных инженерных процедур, однако, они очень дорогие и необходимы большие дозы для достижения оптимального терапевтического эффекта. Для сравнения, аутологичную ПОТр легко получить, она не дорогая и имеет высокую концентрацию факторов роста, таким образом, является хорошей альтернативой. Так как ПОТр является аутологичным препаратом, он не токсичен и не вызывает аллергических реакций, поэтому может быть использован по различным медицинским показаниям как метод улучшения регенерации тканей.

В настоящее время ПОТр широко используется в различных отраслях, таких как ортопедия и офтальмология, ее используют для лечения ран с целью улучшения регенерации тканей [48].

В 2014г Chang Y. и соавт. провели исследование, в которое включили 5 пациенток, находящихся в программе ВРТ, с «тонким» эндометрием (<7мм) после проведенной стандартной циклической гормональной терапии (ЦГТ) [191]. В дополнение к ЦГТ было произведено внутриматочное введение ПОТр в объеме 0,5-1мл на 10й день ЦГТ. При отсутствии роста эндометрия в течение 72ч, было произведено повторное введение препарата. Перенос эмбрионов производился при достижении толщины эндометрия более 7мм.

Результаты: авторы сообщили об увеличении толщины эндометрия более 7 мм и наступлении беременности у всех пациенток после терапии [191].

В 2017г Tandulwadkar S. R. и соавт. провели пилотное исследование для оценки эффективности внутриматочного введения аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами у бесплодных женщин с «тонким» эндометрием в программах криопереноса размороженного эмбриона [177]. Внутриматочное введение аутологичной ПОТр было произведено 68 женщинам от 22 до 40 лет с «тонким» эндометрием в данном цикле и у пациенток с отменой переноса эмбрионов в анамнезе в связи с отсутствием увеличения толщины эндометрия стандартными методами лечения. Также назначалась циклическая гормональная терапия с использованием эстрогеновых препаратов. 49 пациенткам было выполнено однократное введение ПОТр, 19 пациенткам было выполнено двукратное введение ПОТр ($p < 0,00001$ с 95% доверительным интервалом). Авторами были получены следующие результаты: средняя толщина эндометрия до применения ПОТр была 5мм, которая увеличилась до 7,22мм после применения компонента. Было зафиксировано значительное улучшение васкуляризации (на доплерографии) после проведенного лечения. Положительный результат теста на бета-ХГЧ был у 60,93% пациенток, а клиническая беременность наступила в 45,31% случаев. У 13 пациенток на момент публикации был 2 триместр беременности, у 13 пациенток - первый триместр, у 1 пациентки была внематочная беременность, у 3х – беременность по типу анэмбрионии, у 2х – самопроизвольный выкидыш, у 2 пациенток – биохимическая беременность.

В 2018г Molina A. и соавт. провели проспективное исследование, которое включило 19 пациенток, находящихся в программе ВРТ, от 33 до 45 лет с рефрактерным «тонким» эндометрием в анамнезе [15]. Пациенткам вводилась плазма, обогащенная тромбоцитами в полость матки на 10й день приема циклической гормональной терапии и повторное введение через 72

часа после первого введения. Авторами были получены следующие результаты: после первого введения препарата толщина эндометрия была более 7мм, а после второго введения - более 9 мм у всех пациенток. Всем пациенткам был произведен перенос эмбриона в полость матки. У 73,7% пациенток был положительный тест на беременность, из которых в 26,3% случаев беременность закончилась живорождением, у 26,3% - была продолжающаяся беременность на момент публикации, у 10,5% - биохимическая беременность, у 5,3% - анэмбриония и у 5,3% - антенатальная гибель плода на сроке 16 недель беременности. Авторы отмечают, что случаи с беременностью по типу анэмбрионии и гибелью плода на сроке 16 недель, были у женщин старшего репродуктивного возраста с применением собственных ооцитов, что могло повлиять на результат и авторы не связывают данные исходы с применением ПОТр.

В 2018г Eftekhar M. и соавт. провели рандомизированное клиническое исследование, в которое включили 83 пациенток с плохим ответом на стандартную циклическую гормональную терапию, с толщиной эндометрия менее 7мм на 13й день цикла в программах криопереноса размороженного эмбриона [113]. Пациентки были разделены на две группы: в группу с ПОТр вошли 40 пациенток, где в дополнение к ЦГТ в полость матки вводилось 0,5-1 мл плазмы, обогащенной тромбоцитами на 13й день цикла. В группу контроля вошли 43 пациентки, которые получали только ЦГТ. В группе с ПОТр у 23 пациенток толщина эндометрия возросла до 7мм и более после первого введения препарата, 10 пациенток достигли данной толщины эндометрия после повторного введения препарата через 48 часов. Исследователи разделили данные группы на 2 подгруппы в зависимости от наступления беременности. В группе с ПОТр толщина эндометрия увеличилась с $6,12 \pm 0,35$ до $8,80 \pm 0,75$ мм в подгруппе с наступлением беременности и с $6,06 \pm 0,59$ до $8,54 \pm 0,53$ мм в подгруппе, где беременность не наступила ($p=0,031$). А в группе контроля с $6,10 \pm 0,20$ до $8,06 \pm 0,40$ мм и

с $6,05 \pm 0,17$ до $8,04 \pm 0,27$ мм соответственно ($p=0,062$). Частота отмены цикла переноса эмбриона была ниже в группе с ПОТр, но она была статистически не значима (7 в группе с ПОТр и 10 в группе контроля, $p=0,061$).

В 2019г группа исследователей из Китая Yajie Chang и соавт. провели проспективное когортное исследование среди 64 пациенток с «тонким» эндометрием [192]. В группе с ПОТр вошли 34 пациентки, в группу контроля – 30 пациенток. Все пациентки получали циклическую гормональную терапию, в группе с ПОТр дополнительно вводилась плазма, обогащенная тромбоцитами в объеме 0,5-1мл на 10й день цикла и в день начала приема препаратов прогестерона. Частота отмены цикла переноса эмбриона была 19,05% в группе с ПОТр и 41,18% в группе контроля, что было статистически значимым ($p<0,05$). Толщина эндометрия после терапии в группе с ПОТр была $7,65 \pm 0,22$ мм, что было статистически значимо больше, чем в группе контроля $6,52 \pm 0,31$ мм ($p<0,05$). Частота наступления беременности в группе с ПОТр была 44,12 % и 20,00 % в группе контроля, разница была статистически значима ($p<0,05$). Частота невынашивания беременности и внематочной беременности статистически не отличались. Исследователи также проанализировали цито-компоненты плазмы в препарате ПОТр и в цельной крови. Средняя концентрация тромбоцитов в ПОТр была в 4,21 раза выше чем в цельной крови ($889,42 \pm 64,41 \times 10^3/\text{мкл}$ против $211,37 \pm 46,20 \times 10^3/\text{мкл}$, $p<0,01$). Концентрация PDGF-AB, PDGF-BB и TGF- β была выше в препарате ПОТр по сравнению с цельной кровью (33 нг/мл против 10нг/мл, 6.6 нг/мл против 1.5нг/мл, 30нг/мл против 13нг/мл, соответственно, $p<0,01$).

Таким образом, до настоящего времени нет эффективных методов в увеличении толщины эндометрия и улучшении исходов программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с «тонким» эндометрием, не исследована экспрессия генов маркеров рецептивности

«тонкого» эндометрия в «окно имплантации» и их влияние на исходы программ ВРТ. Все это создает предпосылки для дальнейших исследований в этом направлении и создания клинических протоколов по лечению бесплодия пациенток с «тонким» эндометрием в программах ВРТ.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материал исследования

Исследование проводилось в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор - академик РАН Г.Т. Сухих). Набор пациентов производился в 1 гинекологическом отделении (заведующий - к.м.н. А.Н. Абубакиров). В исследовании было включено 163 пациенток, обратившихся для лечения бесплодия методами ВРТ, с «тонким» эндометрием (толщина эндометрия не более 7 мм в период предполагаемого «окна имплантации») и неэффективными попытками ВРТ в анамнезе, которым производился перенос размороженного эмбриона в полость матки. Работа была одобрена комиссией по этике биомедицинских исследований при ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (протокол №12 от 21 декабря 2017 года).

Для решения задачи 1 – выявить особенности клинико-анамнестических данных у пациенток с нарушением репродуктивной функции и «тонким» эндометрием - было включено 163 пациенток.

Для решения задач 2, 3 и 4 пациентки были разделены на три группы методом простой рандомизации с неравномерным распределением по группам (метод конвертов) в зависимости от проводимой терапии.

Всем пациенткам, включенным в исследование, назначалась циклическая гормональная терапия с 4-5 дня м.ц., в случае отсутствия функциональных кист в яичниках и наличия линейной структуры эндометрия и при ее толщине не более 4-5 мм при проведении ультразвукового исследования. Пациенткам назначался препарат эстрадиола валерат по схеме до 12мг в сутки. С 15-16 дня м.ц. добавлялся микронизированный прогестерон в дозировке 600мг или дидрогестерон в дозировке 30мг.

- **1 группу** составили 43 пациенток с «тонким» эндометрием и бесплодием, для подготовки эндометрия к переносу размороженного эмбриона назначалась только циклическая гормональная терапия (ЦГТ).

- **2 группу** составили 46 пациенток с «тонким» эндометрием и бесплодием, которым в дополнение к ЦГТ внутриматочно, в стерильных условиях, с помощью катетера для инсеминации (Smiths Medical International Ltd.) вводился рекомбинантный препарат гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) Филграстим в дозировке 300 мкг на 5-6 и 8-9 дни м.ц. Следует отметить, что Филграстим в данном случае является препаратом «off label», т.к. согласно инструкции применения он не предназначен для внутриматочного введения. Согласно инструкции основной способ введения препарата – внутривенный и подкожный для лечения нейтропении.

- **3 группу** составили 74 пациентки с «тонким» эндометрием и бесплодием, которым в дополнение к ЦГТ внутриматочно, в стерильных условиях вводилась аутологичная плазма, обогащенная тромбоцитами в объеме 5-7 мл с помощью катетера для инсеминации (Smiths Medical International Ltd.) на 8-9, 10-11 и 12-13 дни м.ц.

На рисунке 1 представлен дизайн исследования.

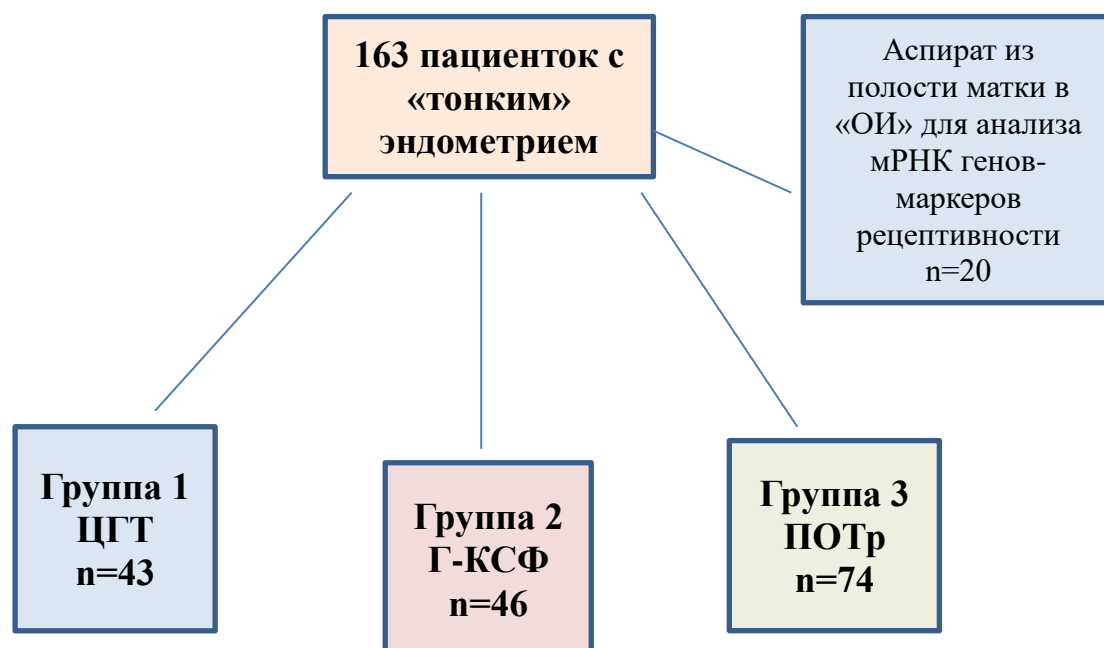


Рисунок 1. Дизайн исследования.

Оценивались следующие клиничко-лабораторные показатели, имеющие влияние на наступление беременности в программах ВРТ: возраст, индекс массы тела (ИМТ), гинекологические заболевания, длительность бесплодия, овариальный резерв (уровень АМГ, ФСГ), число программ ВРТ в анамнезе, толщина эндометрия в день переноса эмбриона (ПЭ), соматические заболевания.

Оценивались следующие исходы программ ВРТ:

- частота отмены цикла ПЭ в связи с неудовлетворительной толщиной эндометрия в день ПЭ (равная или менее 7 мм)
- частота биохимической беременности (на основании анализа крови на β -субъединицу ХГ (β -ХГ), при значении β -ХГ более 20 МЕ/л);
- частота клинической беременности (при визуализации плодного яйца на УЗИ через 21 день после ПЭ);
- частота потери беременности до 12 недель гестации;
- частота живорождения.

Для решения задачи 5 у 20 пациенток до вступления в исследуемые группы был взят аспират из полости матки в день предполагаемого «окна имплантации» на фоне приема ЦГТ - на 6й день приема препаратов прогестерона для исследования экспрессии уровня мРНК ряда генов (GPX3, PAEP, DPP4, TAGLN, HABP2, IMPA2, AQP3, HLA-DOB, MSX1, POSTN, GNLY, EDN3, SFRP4).

Для решения задачи 6 – полученные результаты обследования представлены в виде алгоритма действий репродуктолога при подготовке пациенток с «тонким» эндометрием в программах вспомогательных репродуктивных технологий с применением гранулоцитарного колониестимулирующего фактора и аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами.

2.2 Критерии включения и невключения в исследование

Критерии включения:

- возраст 20 – 42 лет;
- регулярный овуляторный менструальный цикл (25 – 34 дней);
- индекс массы тела: 18 – 30 кг/м²;
- оплодотворение методами ЭКО или ИКСИ;
- бесплодие, обусловленное трубным и/или мужским фактором и/или наружным генитальным эндометриозом;
- идиопатическое бесплодие;
- наличие в анамнезе 0 – 2 безуспешных циклов переносов эмбрионов в полость матки (не более 4 бластоцист);
- наличие не менее 3 витрифицированных бластоцист классов: 1) excellent ($\geq 3AA$); 2) good (3,4,5,6, AB and BA) и/или average (3,4,5,6 BB, AC и CA) (по классификации Gardner and Schoolcraft (1999));
- информированное согласие на участие в исследовании;

Критерии не включения:

- нескорректированные эндокринные заболевания и/или патологические состояния, сопровождаемые нарушениями овуляторной функции, негативно влияющие на имплантацию эмбриона;
- верифицированный лапароскопически и/или ультрасонографически наружный генитальный эндометриоз III – IV стадии распространения;
- интерстициальная и/или субсерозная миома матки более ≥ 4 см, субмукозная локализация миомы матки;
- гидросальпинкс с одной/обеих сторон по данным гистеросальпингографии и/или ультразвукового исследования;
- пороки развития внутренних половых органов до их хирургической коррекции;
- приобретенные значительные деформации полости матки, при которых невозможна или затруднена имплантация эмбрионов или вынашивание беременности;
- олигоастенотератозооспермия III - IV степени;
- тяжелые формы привычного невынашивания беременности (более 3 ранних потерь беременности);
- синдром Ашермана II – III стадий;
- наличие противопоказаний для применения гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (согласно инструкции для препарата);
- гинекологические и экстрагенитальные заболевания, психические заболевания, злокачественные новообразования любой локализации, острые воспалительные заболевания и хронические заболевания любой локализации в стадии обострения, являющиеся противопоказаниями для проведения программ ВРТ, вынашивания беременности и родов.

2.3 Методы исследования

Перед вступлением в программу ВРТ все пациентки были обследованы амбулаторно в соответствии с приказом Минздрава России №107н от 30.08.2012 г. "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению". Обследование включало обязательные методы исследования, специальные методы исследования, а также исследования по медицинским показаниям. Все обследования в рамках данного исследования, за исключением УЗИ органов малого таза, были проведены однократно.

Обязательные исследования:

1. определение антител к бледной трепонеме в крови (RW), антител класса М и G к вирусу иммунодефицита человека 1, 2 (ВИЧ 1,2), к антигену вирусного гепатита В и С (HBs-Ag, HCV);
2. микроскопическое исследование отделяемого половых органов на аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы, на грибы рода *Candida*, на атрофозоиты трихомонад;
3. исследование соскоба из цервикального канала на хламидии, микоплазму и уреоплазму методом полимеразной цепной реакции (ПЦР);
4. исследование соскоба из цервикального канала на вирус простого герпеса 1, 2, цитомегаловирус методом ПЦР;
5. определение кариотипа супругов, медико-генетическое консультирование.
6. общеклинический анализ крови;
7. биохимический анализ крови;
8. гемостазиограмма;
9. определение групповой и резус-принадлежности крови;
10. общий анализ мочи;

11. количественный анализ антител класса M, G к вирусу краснухи в сыворотке крови;
12. цитологическое исследование соскоба эндоцервикса и экзоцервикса;
13. УЗИ органов малого таза;
14. флюорография;
15. электрокардиография;
16. заключение терапевта о наличии или отсутствии противопоказаний для проведения программ ВРТ;
17. УЗИ молочных желез (до 35 лет) или маммография (после 35 лет);
18. УЗИ щитовидной железы;
19. гормоны крови (на 2-3 день менструального цикла): ЛГ, ФСГ, эстрадиол (Е2), ТТГ, свободный тироксин (Т4св), дегидроэпиандростерон-сульфат (ДГЭАС), пролактин, кортизол, тестостерон (Т), АМГ.

Специальные методы исследования включали исследование аспирата из полости матки на экспрессию мРНК генов GPX3, PAEP, DPP4, TAGLN, NAVP2, IMPA2, AQP3, HLA-DOB, MSX1, POSTN, GNLY, EDN3 и SFRP4 методом ПЦР в реальном времени.

2.3.1 Общеклинические методы исследования

Производился сбор анамнестических данных у пациенток, включающий возраст, наличие профессиональных вредностей, курения и других «вредных привычек», семейное положение. При первичном осмотре измерялся рост, оценивали ИМТ, артериальное давление (АД) и пульс. При сборе анамнеза обращали внимание на наследственность, аллергологический анамнез, перенесенные инфекционные и хронические соматические заболевания. Полученные данные вносили в индивидуальную карту пациента. Подробно оценивали характер менструального цикла и особенности его становления (возраст менархе, регулярность и продолжительность цикла, характер менструации, дисменорея), а также репродуктивный анамнез пациенток

(количество беременностей, наступивших естественным путем и с помощью ВРТ, срочные и преждевременных роды, аборты, самопроизвольные выкидыши, неразвивающиеся, внематочные беременности, наличие осложненных беременностей и родов, наличие живых детей и их развитие), уточнялось, беременности наступали с настоящим или иным половым партнером. Также выясняли перенесенные гинекологические заболевания, объем перенесенных оперативных вмешательств на органах малого таза. Оценивали наличие перенесенных инфекционных и соматических заболеваний, оперативных вмешательств. У каждой пациентки уточняли данные о продолжительности бесплодия, а также о проведенных диагностических и лечебных мероприятиях. Особое внимание уделяли изучению предшествующих попыток ВРТ, а именно: дата и время проведения ВРТ, протокол стимуляции суперовуляции, количество полученных ооцитов, количество полученных эмбрионов и их качество, качество эмбрионов при переносе в полость матки, исход программы. Количество криопротоколов в анамнезе, причины отмены переноса эмбриона, исходы программ криопереноса размороженных эмбрионов.

2.3.2 Ультразвуковое исследование органов малого таза

УЗИ органов малого таза выполнялось в отделении функциональной диагностики ФГБУ «НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова» Минздрава России (заведующий - профессор А.И. Гус). Первоначально УЗИ проводилось в цикле, предшествующему циклу переноса размороженных эмбрионов: в I фазу менструального цикла (на 5-8-й день). Оценивались размер и структура тела матки, толщина и структура эндометрия, размеры и объем яичников, наличие или отсутствие объемных образований в полости малого таза.

Далее УЗ-мониторинг проводился на 4-5 день менструального цикла, в день начала подготовки эндометрия к переносу размороженных эмбрионов, на 9-10 день менструального цикла для коррекции дозы эстрогенов, на 11-12,

13-14 и 15-16 дни м.ц. перед назначением препаратов прогестерона и на 19-21 день м.ц. в день переноса эмбриона. Во время УЗ-мониторинга проводилась оценка толщины и структуры эндометрия.

В дальнейшем УЗИ органов малого таза выполнялось на 21-й день после ПЭ в полость матки при наличии положительного результата β -ХГ с целью визуализации плодного яйца в полости матки. Повторное УЗИ органов малого таза проводилось через 5-6 недель после ПЭ в полость матки с целью определения сердцебиения плода.

2.3.3 Исследование уровня гормонов в плазме крови

Исследование гормонов в плазме крови пациенток осуществлялось в период ранней фолликулярной фазы (2-3 день менструального цикла) в цикле предшествующем программе криопереноса радиоиммунным методом в научно-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий - к.м.н. Т.Ю. Иванец). Использовались тест-системы «Hoffmann La Roche, Ltd.» Швейцария). Гормональное исследование перед программой криопереноса выполнялось с целью оценки функционального состояния эндокринной системы. Нормативные значения представлены в таблице 1.

Таблица 1

Нормативные показатели концентрации гормонов в плазме крови

Показатель	Норма	Единицы измерения
ФСГ	3,0-10,0	мЕд/мл
ЛГ	3,0-8,0	мЕД/мл
Е2	150-450	пмоль/л
Тестостерон	1,0-2,5	нмоль/л

Пролактин	120-500	мЕд/мл
ДГЭА-С	0,9-11,7	мкмоль/л
Кортизол	200-500	нмоль/л
Прогестерон (I фаза)	1,8-2,2	нмоль/л
Прогестерон (II фаза)	9,0-83,0	нмоль/л
ТТГ	0,4-2,5	мЕд/мл
Т4	54,0-156,0	нмоль/л
17-ОП	0,3-3,0	нмоль/л

2.3.4 Получение аспирата из полости матки

Аспират из полости матки брали в день предполагаемого «окна имплантации» - на фоне приема ЦГТ, на бй день приема препаратов прогестерона у 20 пациенток перед вступлением в исследуемые группы. Аспират из полости матки был взят атравматично, с помощью катетера для инсеминации (Smiths Medical International Ltd.). Катетер был введен в полость матки в стерильных условиях, не доходя до дна матки, при помощи шприца 5,0 мл создавался вакуум в полости матки, вследствие чего полученный аспират помещали в пробирки объемом 1,5 мл со специальной транспортной средой.

2.3.5 Исследование аспирата из полости матки методом полимеразной цепной реакции

Материал исследовался в лаборатории молекулярно-генетических методов исследования ФГБУ «НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава

России (руководитель – д.б.н. Д. Ю. Трофимов) с целью определения особенностей экспрессии маркеров рецептивности эндометрия у бесплодных пациенток с «тонким» эндометрием. Для этого была проведена оценка профиля экспрессии мРНК генов GPX3, PAEP, DPP4, TAGLN, HABP2, IMPA2, AQP3, HLA-DOB, MSX1, POSTN, GNLY, EDN3 и SFRP4. Уровень экспрессии мРНК вышеобозначенных генов измерялся методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с предварительной реакцией обратной транскрипции (ОТ-ПЦР)

Основные этапы ПЦР-исследования включали:

1. Взятие материала для определения экспрессии мРНК генов в пробирки объемом 1,5 мл со специальной транспортной средой (лизирующий раствор набора «Проба НК» производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) с целью предупреждения деградации РНК.
2. Хранение материала осуществляли при температуре 2–8°C не более 6 часов, далее при температуре минус 20°C в течение 1 месяца или при температуре минус 70°C в течение 1 года.
3. Была выделена РНК с помощью RNeasy Mini Kit (Qiagen, Germany). Ткань была прегомогенизирована в растворе изоцианида гуанида при помощи лабораторного гомогенизатора TissueLyser II и депротейнирована при помощи реагента QIAzol Lysis Reagent (Qiagen, Germany). Качество подготовки выделенного РНК было оценено при помощи Thermo NanoDrop 2000 спектрометра.
4. Обратная транскрипция. В качестве праймеров для обратной транскрипции использовали разработанные специфические олигонуклеотиды и обратную транскриптазу M-MuLV. Реакцию проводили при температуре 40° С в течение 30 минут, с последующей инактивацией обратной транскриптазы при 95°C в течение 5 минут.
5. Проведение полимеразной цепной реакции.

2.3.6 Подготовка эндометрия в программе переноса размороженного эмбриона

Всем пациенткам назначалась циклическая гормональная терапия с 4-5 дня м.ц., в случае отсутствия функциональных кист в яичниках и наличия линейной структуры эндометрия толщиной не более 4-5 мм при проведении ультразвукового исследования. Пациентки принимали препарат эстрадиола валерат по схеме до 12 мг в сутки. С 15-16 дня м.ц. добавлялся микронизированный прогестерон в дозировке 600мг или дидрогестерон в дозировке 30мг.

2.3.7 Перенос эмбриона в полость матки и ведение посттрансферного периода

Перенос эмбриона в полость матки осуществлялся на фоне приема ЦГТ, на 6-е сутки приема препаратов прогестерона с помощью «мягкого» катетера Wallace (Германия) или Cook (Австралия). В полость матки переносили один эмбрион лучшего качества. Ведение посттрансферного периода осуществлялось согласно принятым в клинической практике протоколам с продолжением приема вышеуказанных препаратов.

Через 14 дней после ПЭ в полость матки определялась концентрация β -ХГ в сыворотке крови пациентки. Тест на беременность считался положительным если уровень β -ХГ был более 20 МЕ/л. Через 21 день после ПЭ проводилось УЗИ для диагностики клинической беременности, при визуализации плодного яйца в полости матки регистрировалась клиническая беременность.

2.4 Технология получения аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами

Пациенткам на 8 день м.ц. производился забор аутологичной крови в объеме 400,0 мл в первый контейнер встроенной системы «Blood bag» (фирма JMS Singapore) с антикоагулянтом CPDA -63 ml. Далее контейнер с кровью центрифугировался в рефрижераторной центрифуге «Веспан» в течение 8 минут в режиме 1971g при температуре + 22 °С. После центрифугирования с помощью плазмоекстрактора плазма и тромбоциты (верхний и средний слой) перемещались во второй контейнер. Контейнер с аутоэритроцитами отсоединялся, и они реинфузировались пациентке. Второй контейнер с плазмой и тромбоцитами повторно центрифугировался в течение 10 минут с центробежным ускорением 5130g при температуре + 22 °С. После этого с помощью плазмоекстрактора в третий контейнер удалялся верхний слой - это нативная плазма, а нижний слой – концентрированные тромбоциты, взвешенные в плазме, перемещались в специальный контейнер для хранения тромбоцитов (фирма JMS, Singapore). Контейнер с аутологичной ПОТр маркировали, оставляли в течение 1 часа в спокойном состоянии для дезагрегации тромбоцитов, далее переносили в климатическую камеру для перемешивания тромбоцитов LmB Technologie GmbH (производство Германия), где она может храниться в течение 5 суток при температуре + 22 - +24 °С. При соблюдении данной методики из 400±50 мл цельной крови в результате двухэтапного центрифугирования получали 40±5 мл аутологичной ПОТр с содержанием 0,6-0,7 x 10¹¹ тромбоцитов в ней. В последующем в стерильных условиях аутологичная ПОТр разделялась на три дозы в контейнеры для хранения тромбоцитов, которые выдавались в процедурную в дни проведения манипуляции.

2.5 Статистическая обработка полученных данных

Статистическая обработка данных выполнялась с помощью таблиц «Microsoft Excel» и статистических программ «Statistica V10» (США) и SPSS Statistics 22 (США).

Для качественных данных определялись риски (%). Для сравнения категориальных данных в двух и более группах, а также для оценки значимых различий между ними использовался тест χ^2 . Для сравнения бинарных данных мерой сравнения явилось ОШ с доверительным интервалом 95% (95% ДИ). Для оценки диагностической значимости толщины эндометрия в прогнозировании частоты наступления беременности использовали ROC-анализ пакета SPSS Statistics 22.

Для анализа количественных данных в группах сравнения определялся вид распределения данных (тест Колмогорова-Смирнова, графический анализ данных). При нормальном распределении данных определялись средние значения со стандартным отклонением, для оценки различий в группах применялся метод параметрической статистики (t-тест). При ненормальном распределении данных определялись медианы с интерквартильным размахом, для оценки различий в группах применялся метод непараметрической статистики (тест Манна-Уитни).

Зависимые данные оценивались с помощью коэффициента корреляции. Корреляционный анализ проводился с использованием непараметрического корреляционного критерия Спирмена.

Различия между статистическими величинами считались статистически значимыми при уровне достоверности $p < 0,05$.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клинико-лабораторная характеристика пациенток с «тонким» эндометрием

В исследование было включено 163 пациентки с «тонким» эндометрием, бесплодием и неэффективными попытками ВРТ в анамнезе. В зависимости от назначаемой терапии для подготовки эндометрия к ПЭ пациентки были разделены на 3 группы: 1 группа – пациентки, получающие только ЦГТ, 2 группа – пациентки, получающие ЦГТ и внутриматочное введение Г-КСФ, 3 группа – пациентки, получающие ЦГТ и внутриматочное введение аутологичной ПОТр.

Были проанализированы и сравнены клинико-лабораторные показатели пациенток в зависимости от группы исследования. Все группы были равнозначно распределены и не различались по возрасту пациенток и антропометрическим данным (Таблица 2).

Таблица 2

Возраст и антропометрические данные обследованных пациенток

Показатель	Группа 1 ЦГТ n=43	Группа 2 Г-КСФ n=46	Группа 3 ПОТр n=74	р уровень
Возраст, лет	35,8 ± 5,8	37,4 ± 6,7	36 ± 5,9	p1 = 0,219 p2 = 0,818 p3 = 0,252
Рост, см	165,2 ± 6,1	165 ± 6,1	165,7 ± 6,6	p1 = 0,859 p2 = 0,672 p3 = 0,528
Масса тела, кг	64,4 ± 11,5	63,9 ± 12,3	63,5 ± 10,7	p1 = 0,837

				p2 = 0,662 p3 = 0,849
ИМТ, кг/м ²	23,6 ± 3,9	23,4 ± 3,9	23,0 ± 3,4	p1 = 0,876 p2 = 0,438 p3 = 0,549

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение, t-тест

p1- сравнение групп 1 и 2, p2 – сравнение групп 1 и 3, p3 – сравнение групп 2 и 3

В характеристике менструальной и сексуальной функции пациенток также не было различий (Таблица 3).

Таблица 3

Характеристика менструальной и сексуальной функции обследованных пациенток

Показатель	Группа 1 ЦГТ n=43	Группа 2 Г-КСФ n=46	Группа 3 ПОТр n=74	p уровень
Возраст менархе, лет	13,2 ± 1,1	13,4 ± 1,2	13,2 ± 1,2	p1 = 0,495 p2 = 0,778 p3 = 0,320
Длительность м.ц., дней	28,8 ± 3,8	28,8 ± 3,8	28,8 ± 3,5	p1 = 0,971 p2 = 0,944 p3 = 0,977
Длительность менструации, дней	4,7 ± 1,1	4,6 ± 0,9	4,7 ± 1,0	p1 = 0,684 p2 = 0,848 p3 = 0,482
Начало половой жизни, лет	19,6 ± 3,5	19,6 ± 2,8	19,4 ± 3,3	p1 = 0,964 p2 = 0,783 p3 = 0,789

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение, t-тест

p1- сравнение групп 1 и 2, p2 – сравнение групп 1 и 3, p3 – сравнение групп 2 и 3

Структура гинекологической заболеваемости среди пациенток была представлена наличием в анамнезе хламидиоза, полипов эндометрия, внутриматочной перегородки, внутриматочных синехий, хронического эндометрита, а также наружного генитального эндометриоза (НГЭ) 1-2 степени, аденомиоза 1-2 степени, доброкачественных образований яичников, СПКЯ, миомы матки малых размеров. Следует отметить высокую встречаемость диагноза хронический эндометрит (до 60,9%) среди данной группы пациенток, который был пролечен до вступления пациенток в программу ВРТ, но показатели данного заболевания статистически не различались между исследуемыми группами. Также пациентки не различались по частоте другой гинекологической патологии (Таблица 4).

Таблица 4

Структура гинекологической заболеваемости обследованных пациенток

Показатели	Группа 1 ЦГТ n=43	Группа 2 Г-КСФ n=46	Группа 3 ПОТр n=74	p уровень
Хламидиоз в анамнезе	3 (7,0%)	3 (6,5%)	5 (6,8%)	p1 = 0,932 p2 = 0,964 p3 = 0,960
Полипы эндометрия в анамнезе	13 (30,2%)	17 (37,0%)	22 (29,7%)	p1 = 0,503 p2 = 0,955 p3 = 0,412
Наружный генитальный эндометриоз	11 (25,6%)	7 (15,2%)	15 (20,3%)	p1 = 0,224 p2 = 0,506 p3 = 0,487

Аденомиоз	3 (7,0%)	1 (2,2%)	4 (5,41%)	p1 = 0,275 p2 = 0,730 p3 = 0,390
Миома матки	10 (23,3%)	12 (26,1%)	15 (20,3%)	p1 = 0,758 p2 = 0,705 p3 = 0,459
СПКЯ	3 (7,0%)	6 (13,0%)	9 (12,2%)	p1 = 0,343 p2 = 0,373 p3 = 0,888
Внутриматочные синехии в анамнезе	5 (11,6%)	9 (19,6%)	8 (10,8%)	p1 = 0,305 p2 = 0,893 p3 = 0,182
Внутриматочная перегородка в анамнезе	3 (7,0%)	4 (8,7%)	3 (4,1%)	p1 = 0,764 p2 = 0,490 p3 = 0,292
Хронический эндометрит в анамнезе	24 (55,8%)	28 (60,9%)	45 (60,8%)	p1 = 0,629 p2 = 0,597 p3 = 0,995
Доброкачественные образования яичников	4 (9,3%)	4 (8,7%)	6 (8,1%)	p1 = 0,921 p2 = 0,824 p3 = 0,910

Данные представлены как абсолютные значения и %, χ^2 -тест

p1- сравнение групп 1 и 2, p2 – сравнение групп 1 и 3, p3 – сравнение групп 2 и 3

Перенесенные оперативные вмешательства на органах малого таза среди пациенток представляли собой тубэктомию, резекцию яичников по поводу доброкачественных новообразований, миомэктомию, иссечение и коагуляцию очагов наружного генитального эндометриоза 1-2 степени. Данные операции были преимущественно выполнены лапароскопическим

доступом в 85,7% случае в 1 группе, в 91% случаев во 2 группе и в 100% случаев в 3 группе, в большинстве случаев при одном оперативном доступе выполнялись несколько вмешательств. Гистероскопия была выполнена всем пациенткам всех 3х групп, т.к. это являлось критерием включения в данное исследование с целью исключения внутриматочной патологии как причины возникновения «тонкого» эндометрия (Таблица 5).

Таблица 5

Структура перенесенных оперативных вмешательств среди обследованных пациенток

Показатели	Группа 1 ЦГТ n=43	Группа 2 Г-КСФ n=46	Группа 3 ПОТр n=74	р уровень
Тубэктомия	14 (32,6%)	12 (26,1%)	19 (25,7%)	p1 = 0,503 p2 = 0,426 p3 = 0,961
Миомэктомия	9 (20,9%)	10 (21,7%)	11 (14,9%)	p1 = 0,926 p2 = 0,401 p3 = 0,336
Резекция яичников	6 (14,0%)	4 (8,7%)	8 (10,8%)	p1 = 0,433 p2 = 0,614 p3 = 0,708
Иссечения и коагуляция очагов НГЭ	13 (30,2%)	8 (17,4%)	18 (24,3%)	p1 = 0,154 p2 = 0,486 p3 = 0,371
Лапароскопический доступ	12 (85,7%)	10 (91,0%)	15 (100%)	p1 = 0,692 p2 = 0,130 p3 = 0,234
Лапаротомический				p1 = 0,692

доступ	2 (14,3%)	1 (9,0%)	0	p2 = 0,130 p3 = 0,234
Гистероскопия	43 (100%)	46 (100%)	74 (100%)	p1 = 1,000 p2 = 1,000 p3 = 1,000

Данные представлены как абсолютные значения и %, χ^2 -тест

p1- сравнение групп 1 и 2, p2 – сравнение групп 1 и 3, p3 – сравнение групп 2 и 3

При анализе акушерского анамнеза среди пациенток групп 1, 2 и 3 была выявлена статистически значимая разница в наступлении беременности в результате ВРТ, у пациенток 3 группы, данный показатель был статистически значимо выше по сравнению с 1 и 2 группами. В других параметрах различий выявлено не было (Таблица 6).

Таблица 6

Акушерский анамнез у пациенток групп исследования

Показатели	Группа 1 ЦГТ n=43	Группа 2 Г-КСФ n=46	Группа 3 ПОТр n=74	р уровень
Число беременностей	1 (0-3)	2 (0-2)	1 (0-3)	p1 = 0,739 p2 = 0,676 p3 = 0,659
Число родов	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	p1 = 0,764 p2 = 0,135 p3 = 0,624
Число самопроизвольных выкидышей	0 (0-2)	1 (0-2)	0 (0-1)	p1 = 0,446 p2 = 0,674 p3 = 0,566

Число искусственных абортов	0 (0-0)	0 (0-1)	0 (0-0)	p1 = 0,706 p2 = 0,702 p3 = 0,112
Число внематочных беременностей	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	p1 = 0,464 p2 = 1,000 p3 = 1,000
Число беременностей в результате ВРТ	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)	p1 = 0,167 p2 = 0,046 p3 = 0,011

Данные представлены как медианы с интерквартильным размахом, тест Манна-Уитни
p1- сравнение групп 1 и 2, p2 – сравнение групп 1 и 3, p3 – сравнение групп 2 и 3

Среди пациенток групп 1, 2 и 3 не было выявлено статистически значимых различий в длительности бесплодия, распределении первичного и вторичного бесплодия, но у большей части пациенток было вторичное бесплодие у 60,5% пациенток в 1 группе, у 71,7% в 2 группе и у 60,8% в 3 группе, различия статистически не значимы (p1=0,261, p2=0,971 и p3=0,223, соответственно) (Рисунок 2). Каждая вторая беременность у пациенток завершилась потерей беременности до 12 недель гестации – 41 случай (56,2%) в 1 группе, 40 (50,0%) - во 2 группе, 67 (52,3%) - в 3 группе. В среднем у пациенток групп 1, 2 и 3 было по 2 попытки ЭКО/ИКСИ и программ криопереноса размороженного эмбриона. У пациенток в 3 группе было статистически значимо больше неэффективных программ ПЭ в анамнезе (p=0,003). А у пациенток 2 группы было статистически значимо больше отмены циклов ПЭ по причине «тонкого» эндометрия в анамнезе по сравнению с пациентками групп 1 и 3 (p<0,001 и p=0,005 соответственно) (Таблица 7).

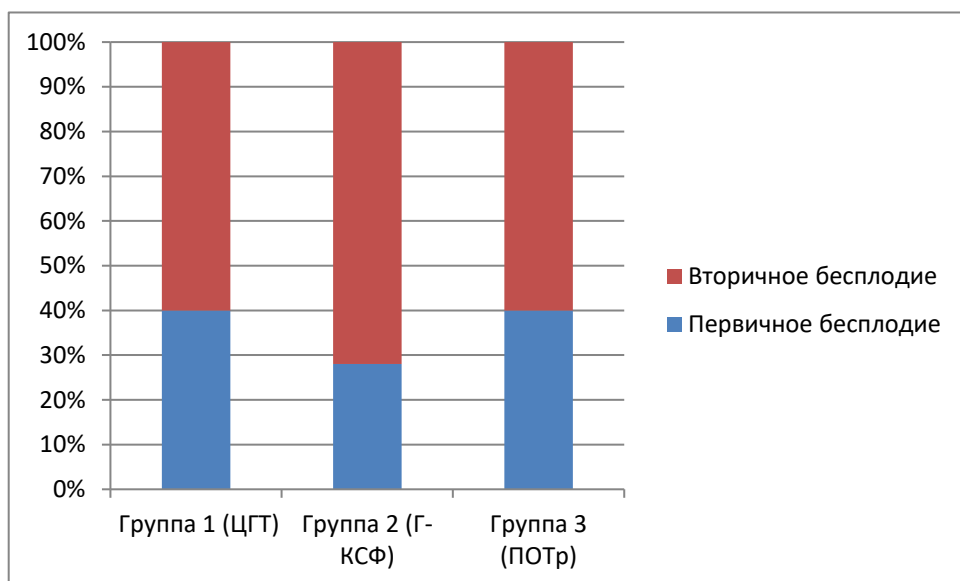


Рисунок 2. Структура бесплодия у обследованных пациенток.

Таблица 7

Характеристика программ ВРТ в анамнезе у пациенток групп 1,2 и 3

Показатели	Группа 1 ЦГТ n=43	Группа 2 Г-КСФ n=46	Группа 3 ПОТр n=74	p уровень
Длительность бесплодия, лет *	5,3 ± 4,6	5,3 ± 4,3	5,0 ± 3,7	p1 = 0,941 p2 = 0,707 p3 = 0,754
Число попыток ЭКО/ИКСИ в анамнезе ***	2 (1-3)	2 (1-4)	2 (1-3)	p1 = 0,831 p2 = 0,445 p3 = 0,799
Число попыток программ криопереноса в анамнезе ***	2 (1-3)	3 (2-5)	2 (1-3)	p1 = 1,000 p2 = 0,871 p3 = 0,626

Неэффективные программы ПЭ в анамнезе **	44 (35,2%)	57 (36,5%)	85 (53,5%)	p1 = 0,817 p2 = 0,003 p3 = 0,003
Отмена ПЭ в анамнезе из-за «тонкого» эндометрия **	32 (25,6%)	70 (44,9%)	47 (29,6%)	p1 < 0,001 p2 = 0,460 p3 = 0,005

* Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение, t-тест

** Данные представлены как абсолютные значения и %, χ^2 -тест

*** Данные представлены как медианы с интерквартильным размахом, тест Манна-Уитни
p1- сравнение групп 1 и 2, p2 – сравнение групп 1 и 3, p3 – сравнение групп 2 и 3

Бесплодие было обусловлено трубно-перитонеальным фактором в 1 группе у 17 (39,5%) пациенток, у 12 (26,1%) пациенток во 2 группе и у 23 (31%) пациенток в 3 группе ($p > 0,05$). Снижение овариального резерва было выявлено у 12 (27,9%) пациенток в 1 группе, у 14 пациенток (30,4%) во 2 группе и у 17 (23%) пациенток в 3 группе ($p > 0,05$). Мужской фактор бесплодия был выявлен у 7 (16,3%) супружеских пар в 1 группе, у 14 (30,4%) во 2 группе и у 25 (34%) супружеских пар в 3 группе ($p > 0,05$ для групп 1 и 2 и 2 и 3, $p = 0,041$ для групп 1 и 3), в 3 группе было статистически значимо больше супружеских пар с мужским фактором бесплодия по сравнению с 1 группой. Другие факторы бесплодия были у 6 (14%) пациенток в 1 группе, у 6 (13,1%) пациенток во 2 группе и у 9 (12%) пациенток в 3 группе ($p > 0,05$) (Рисунок 3).

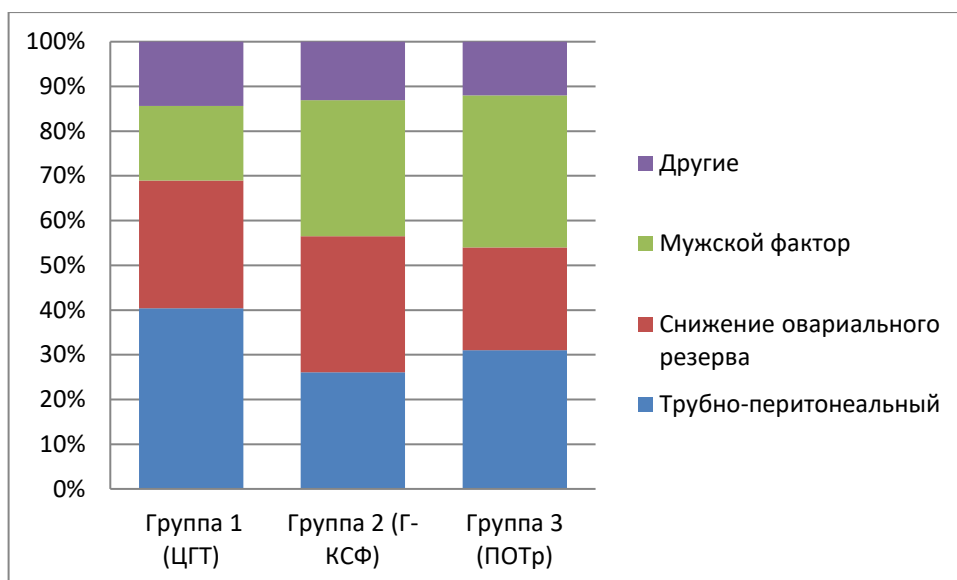


Рисунок 3. Структура причин бесплодия у обследованных пациенток

Среди соматических заболеваний у пациенток были выявлены заболевания желудочно-кишечного тракта (хронический гастродуоденит), мочевыделительной системы (хронический цистит, мочекаменная болезнь), заболевания сердечно-сосудистой системы (варикозное расширение вен нижних конечностей), органов дыхания (хронический бронхит, бронхиальная астма), эндокринной системы (гипотиреоз в результате аутоиммунного тиреоидита) и миопия различной степени.

Имеющиеся соматические заболевания у пациенток трёх групп на момент включения в программу ВРТ были в стадии ремиссии и не являлись противопоказанием для проведения программы ВРТ, наступления и вынашивания беременности. При анализе встречаемости хронической соматической патологии не было выявлено статистически значимых различий между исследуемыми группами (Таблица 8).

Структура соматических заболеваний у пациенток групп исследования

Заболевания	Группа 1 ЦГТ n=43	Группа 2 Г-КСФ n=46	Группа 3 ПОТр n=74	p уровень
Заболевания желудочно- кишечного тракта	6 (14,0%)	7 (15,2%)	9 (12,2%)	p1 = 0,867 p2 = 0,780 p3 = 0,633
Заболевания мочевыделительной системы	12 (27,9%)	15 (32,6%)	22 (29,7%)	p1 = 0,630 p2 = 0,904 p3 = 0,670
Заболевания сердечно-сосудистой системы	2 (4,7%)	3 (6,5%)	3 (4,1%)	p1 = 0,702 p2 = 0,878 p3 = 0,547
Заболевания органов дыхания	6 (14,0%)	5 (11,0%)	7 (9,5%)	p1 = 0,659 p2 = 0,456 p3 = 0,803
Заболевания эндокринной системы	3 (7,0%)	6 (13,0%)	4 (5,4%)	p1 = 0,343 p2 = 0,730 p3 = 0,142
Миопия различной степени	5 (11,6%)	5 (11,0%)	7 (9,5%)	p1 = 0,910 p2 = 0,710 p3 = 0,803

Данные представлены как абсолютные значения и %, χ^2 -тест

p1- сравнение групп 1 и 2, p2 – сравнение групп 1 и 3, p3 – сравнение групп 2 и 3

При анализе клинико-лабораторных показателей не было выявлено статистически значимых различий в данных клинического анализа крови, биохимического анализа крови, гемостазиограмме, общем анализе мочи.

Также были в пределах нормы результаты ЭКГ, флюорографии органов грудной клетки, мазка на флору из влагалища, УЗИ молочных желез/маммографии, цитологического исследования шейки матки, УЗИ щитовидной железы, бактериальные посевы из влагалища и шейки матки. Результаты исследования концентрации гормонов в сыворотке крови пациенток всех групп представлены в таблице 9. При анализе показателей уровня гормонов крови не было выявлено статистически значимых различий между группами 1, 2 и 3.

Таблица 9.

Уровень гормонов сыворотки крови у обследуемых пациенток.

Показатели	Группа 1 ЦГТ n=43	Группа 2 Г-КСФ n=46	Группа 3 ПОТр n=74	р уровень
ФСГ мЕд/мл	7,1 ± 5,1	9,8 ± 9,8	8,7 ± 9,4	p1 = 0,104 p2 = 0,240 p3 = 0,543
ЛГ мЕд/мл	4,9 ± 3,8	5,0 ± 5,2	6,1 ± 4,2	p1 = 0,354 p2 = 0,141 p3 = 0,326
Е2 пмоль/л	256,6 ± 155,9	257,9 ± 161,7	258,9 ± 169,9	p1 = 0,969 p2 = 0,940 p3 = 0,102
Пролактин мЕд/л	304,5 ± 149,8	252,9 ± 124,9	323,3 ± 139,1	p1 = 0,107 p2 = 0,690 p3 = 0,105
Т, нмоль/л	1,7 ± 1,3	1,5 ± 0,9	1,4 ± 0,6	p1 = 0,478 p2 = 0,205 p3 = 0,500

АМГ, нг/мл	2,6 ± 1,9	2,4 ± 2,5	2,5 ± 3,1	p1 = 0,751 p2 = 0,983 p3 = 0,787
ТТГ, мЕд/л	1,9 ± 0,7	1,9 ± 0,8	2,0 ± 0,7	p1 = 0,952 p2 = 0,714 p3 = 0,826
Т4, нмоль/л	83,0 ± 29,9	82,2 ± 32,5	79,7 ± 31,2	p1 = 0,894 p2 = 0,566 p3 = 0,681

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение, t-тест

p1- сравнение групп 1 и 2, p2 – сравнение групп 1 и 3, p3 – сравнение групп 2 и 3

3.2 Изменение толщины эндометрия в зависимости от различных схем подготовки «тонкого» эндометрия в программах ВРТ

Всем пациенткам проводилось УЗИ органов малого таза. Не было выявлено значимых различий в размерах матки и объеме яичников. Для оценки влияния различных схем подготовки «тонкого» эндометрия к ПЭ проводилось УЗИ органов малого таза на 9-10, 11-12, 13-14 и 15-16 дни м.ц. и на 19-21 день м.ц. Проводилось сравнение между толщиной эндометрия в день ПЭ (19-21 день м.ц.) между группами 1, 2 и 3 и оценивался прирост толщины эндометрия с 9-10 дня м.ц. до 19-21 день м.ц.

Средняя толщина эндометрия в день переноса эмбриона (19-21 день м.ц.) в группе 1 (ЦГТ) была 7,0 ± 1,1 мм, во 2 группе (Г-КСФ) – 7,9 ± 1,8 мм, в 3 группе (ПОТр) – 8,0 ± 1,3 мм. Разница между 1 и 2 группой статистически значима – p=0,003, разность средних значений – 0,96 (95% ДИ = 0,33; 1,59), между 1 и 3 группой разница также статистически значима – p<0,001, разность средних значений – 1,0 (95% ДИ = 0,53; 1,47), между 2 и 3 группой

разница статистически не значима – $p=0,790$, разность средних значений – $0,04$ (95% ДИ = $-0,53; 0,61$).

Далее был проанализирован прирост толщины эндометрия с 9-10 по 11-12 дни м.ц. были получены следующие результаты: разница между 1 и 2 группами была статистически значима - $p=0,015$ ($0,38 \pm 0,05$ мм и $0,68 \pm 0,11$ мм соответственно), разность средних значений – $0,30$ (95% ДИ = $0,05; 0,55$), разница между 1 и 3 группами статистически значима - $p=0,008$ ($0,38 \pm 0,05$ мм и $0,59 \pm 0,06$ мм соответственно), разность средних значений – $0,21$ (95% ДИ = $0,03; 0,39$), разница между 2 и 3 группами была статистически не значима - $p=0,474$, разность средних значений – $0,09$ (95% ДИ = $-0,14; 0,32$). При анализе прироста толщины эндометрия с 11-12 по 13-14 дни м.ц. было выявлено, что разница между 1 и 2 группами статистически значима - $p=0,006$ ($0,29 \pm 0,04$ мм и $0,54 \pm 0,08$ мм соответственно), разность средних значений – $0,25$ (95% ДИ = $0,07; 0,43$), разница между 1 и 3 группами статистически значима – $p<0,001$ ($0,29 \pm 0,04$ мм и $0,58 \pm 0,06$ мм соответственно), разность средних значений – $0,29$ (95% ДИ = $0,13; 0,45$), разница между 2 и 3 группами статистически не значима - $p=0,690$, разность средних значений – $0,04$ (95% ДИ = $-0,15; 0,23$).

Также оценивался прирост толщины эндометрия от 9-10 дня м.ц. до 15-16 дни м.ц. (перед назначением препаратов прогестерона) в зависимости от назначаемой терапии. В группе 1 (ЦГТ) средний прирост толщины эндометрия составил – $0,6 \pm 0,7$ мм, во 2 группе (Г-КСФ) – $1,0 \pm 1,6$ мм, в 3 группе (ПОТр) – $1,0 \pm 1,2$ мм. Разница между 1 и 2 группами статистически не значима – $p=0,103$, разность средних значений – $0,42$ (95% ДИ = $-0,10; 0,94$), но в 1й группе толщина эндометрия 8мм и более в день ПЭ была у 9 (20,9%) пациенток, а во 2й группе – у 18 (39,1%) пациенток, между 1 и 3 группами разница статистически значима, $p=0,008$, разность средних значений – $0,46$ (95% ДИ = $0,08; 0,84$), между 2 и 3 группами разница статистически не значима, $p=0,880$, разность средних значений – $0,04$ (95% ДИ = $-0,45; 0,53$) (Таблица 10).

Таблица 10

Толщина эндометрия в зависимости от терапии у пациенток групп
исследования

Показатели	Группа 1 ЦГТ n=43	Группа 2 Г-КСФ n=46	Группа 3 ПОТр n=74	p уровень
Толщина эндометрия в день ПЭ, мм	7,0 ± 1,1	7,9 ± 1,8	8,0 ± 1,3	p1 = 0,003 p2 < 0,001 p3 = 0,790
Прирост толщины эндометрия с 9-10 по 15-16 дни м.ц., мм	0,6 ± 0,7	1,0 ± 1,6	1,0 ± 1,2	p1 = 0,103 p2 = 0,008 p3 = 0,880
Прирост толщины эндометрия с 9-10 по 11-12 дни м.ц., мм	0,4 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,1	p1 = 0,015 p2 = 0,008 p3 = 0,474
Прирост толщины эндометрия с 11-12 по 13-14 дни м.ц., мм	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,1	p1 = 0,006 p2 < 0,001 p3 = 0,690

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение, t-тест

p1- сравнение групп 1 и 2, p2 – сравнение групп 1 и 3, p3 – сравнение групп 2 и 3

3.3 Исходы программ ВРТ в зависимости от схемы подготовки «тонкого» эндометрия к переносу эмбриона

Для определения влияния различных схем подготовки «тонкого» эндометрия к ПЭ была проанализирована частота отмены цикла ПЭ по причине неудовлетворительной толщины эндометрия ко дню ПЭ (менее 7мм), частота биохимической и клинической беременности, частота потерь беременности до 12 недель гестации и частота живорождения (Таблица 11).

Таблица 11

Исходы программ ВРТ у пациенток групп исследования

Показатели	Группа 1 ЦГТ n=43	Группа 2 Г-КСФ n=46	Группа 3 ПОТр n=74	р уровень
Частота отмены ПЭ в связи с «тонким» эндометрием	26 (60,5%)	18 (39,1%)	13 (17,6%)	p1 = 0,045 p2 < 0,001 p3 = 0,009
Частота биохимической беременности	1 (5,9%)	3 (10,7%)	3 (4,9%)	p1 = 0,612 p2 = 0,880 p3 = 0,349
Частота клинической беременности	1 (5,9%)	13 (46,4%)	25 (41,0%)	p1 = 0,030 p2 = 0,037 p3 = 0,762
Частота потерь беременности до 12 недель гестации	1 (5,9%)	2 (7,1%)	8 (13,1%)	p1 = 0,878 p2 = 0,454

				$p_3 = 0,097$
Частота живорождения	0	11 (64,7%)	17 (27,9%)	$p_1 = 0,015$ $p_2 = 0,034$ $p_3 = 0,444$

Данные представлены как абсолютные значения и %, χ^2 -тест

p_1 - сравнение групп 1 и 2, p_2 – сравнение групп 1 и 3, p_3 – сравнение групп 2 и 3

При сравнении показателя частоты отмены цикла ПЭ в связи с наличием «тонкого» эндометрия в день ПЭ были получены статистически значимые результаты, статистически значимо больше отмен циклов ПЭ было в 1 группе (ЦГТ) по сравнению с 2 (Г-КСФ) и 3 (ПОТр) группами ($p_1=0,045$ (ОШ-2,38 с 95% ДИ=1,02; 5,57) и $p_2<0,001$ (ОШ-7,18 с 95% ДИ=3,05; 16,89) соответственно), также статистически значимо больше циклов ПЭ отменили по этой причине во 2 группе (Г-КСФ) по сравнению с 3 группой (ПОТр) ($p_3=0,009$, ОШ-3,02 с 95% ДИ=1,30; 7,00). Частота биохимической беременности не различалась в исследуемых группах. Частота клинической беременности была статистически значимо ниже в 1 группе по сравнению с 2 и 3 группами ($p_1=0,030$ (ОШ – 16,55 с 95% ДИ=2,06; 133,03) и $p_2=0,037$ (ОШ – 21,43 с 95% ДИ=2,78; 164,94) соответственно), но этот показатель не различался между группами Г-КСФ и ПОТр. Не различалась частота потерь беременности до 12 недель гестации между всеми тремя группами. В группе 1 (ЦГТ) не было ни одного случая живорождения, данный показатель статистически различался по сравнению с 2 (Г-КСФ) и 3 (ПОТр) группами ($p_1=0,015$ и $p_2=0,034$, соответственно), но в данном показателе не было различий между 2 и 3 группами (Рисунок 4).

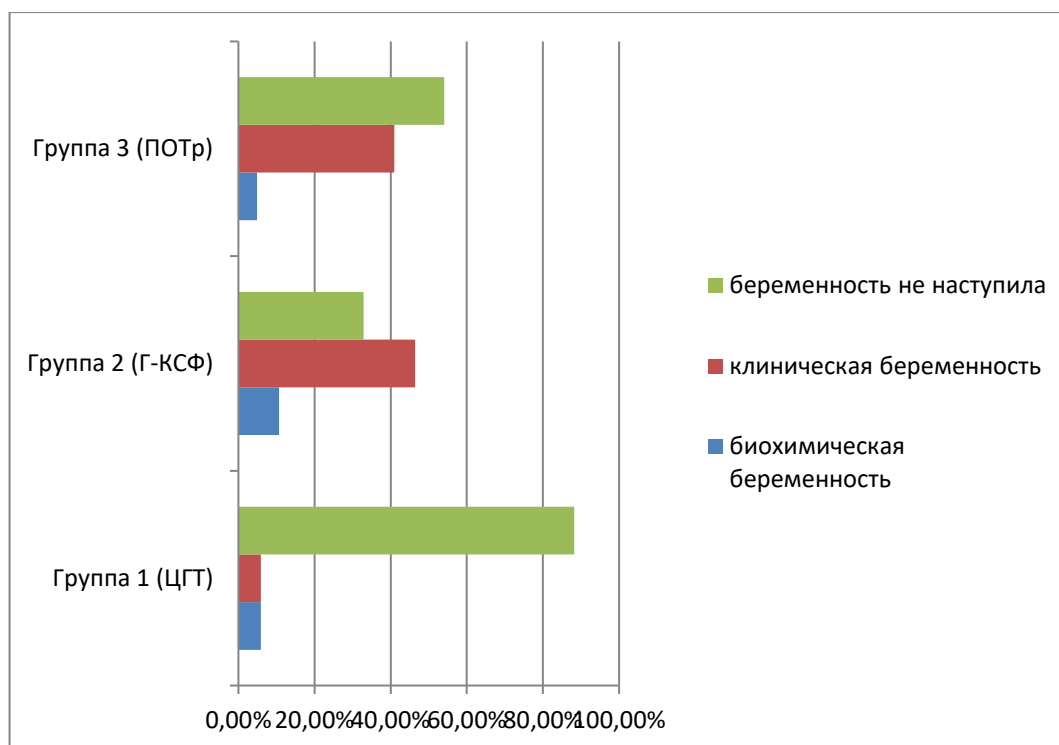


Рисунок 4. Исходы программ ВРТ в исследуемых группах пациенток

Следует отметить, что в нашем исследовании не наблюдалось ни одного побочного эффекта при назначении как аутологичной ПОТр, так и препарата Г-КСФ.

3.4 Клинико-лабораторная характеристика пациенток в зависимости от наступления беременности

Для выявления факторов, влияющих на наступление беременности у пациенток, вошедших в наше исследование, были выделены 106 пациенток, которым производился перенос размороженного эмбриона в полость матки, далее они были разделены на 2 группы:

- группа А (n=46) – беременность наступила

- группа Б (n=60) – беременность не наступила

Были проанализированы возраст и антропометрические показатели пациенток, вошедших в данные группы. При сравнении возраста, роста, веса, ИМТ – не было выявлено статистически значимых различий в данных показателях среди пациенток с наступившей и не наступившей беременностью (Таблица 12).

Таблица 12

Возраст и антропометрические данные пациенток групп А и Б

Показатель	Группа А n=46	Группа Б n=60	p уровень
Возраст, лет	35,9 ± 6,6	36,7 ± 6,1	p = 0,522
Рост, см	166,2 ± 6,9	166,3 ± 6,7	p = 0,922
Масса тела, кг	62,7 ± 12,0	66,2 ± 12,1	p = 0,135
ИМТ, кг/м ²	22,7 ± 3,9	23,9 ± 3,7	p = 0,120

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение, t-тест

При сравнении менструальной и сексуальной функций среди пациенток с наступившей и не наступившей беременностью статистически значимых различий выявлено не было (Таблица 13).

Менструальная и сексуальная функция пациенток групп А и Б

Показатель	Группа А n=46	Группа Б n=60	p уровень
Возраст менархе, лет	13,1 ± 1,1	13,3 ± 1,3	p = 0,312
Длительность цикла, дней	29,2 ± 4,2	28,8 ± 4,3	p = 0,691
Длительность менструации, дней	5,0 ± 0,9	4,7 ± 1,0	p = 0,065
Начало половой жизни, лет	19,9 ± 3,2	18,9 ± 2,8	p = 0,119

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение, t-тест

Структура гинекологической заболеваемости была представлена полипами эндометрия в анамнезе, миомой матки малых размеров, хроническим эндометритом, НГЭ и аденомиозом 1-2 степени, внутриматочными синехиями и перегородкой в анамнезе. Не было выявлено статистически значимых различий в распределении гинекологических заболеваний между группами с наступившей и не наступившей беременностью (Таблица 14).

Структура гинекологической заболеваемости у пациенток групп А и Б

Показатели	Группа А n=46	Группа Б n=60	p уровень
Хламидиоз в анамнезе	2 (4,4%)	6 (10,0%)	p = 0,275
Полипы эндометрия в анамнезе	15 (32,6%)	20 (33,3%)	p = 0,938
Наружный генитальный эндометриоз	14 (30,4%)	15 (25,0%)	p = 0,534
Аденомиоз	2 (4,4%)	4 (6,7%)	p = 0,580
Миома матки	13 (28,3%)	12 (20%)	p = 0,321
СПКЯ	6 (13,0%)	8 (13,3%)	p = 0,966
Внутриматочные синехии в анамнезе	1 (2,2%)	7 (11,7%)	p = 0,067
Внутриматочная перегородка в анамнезе	3 (6,5%)	3 (5,0%)	p = 0,737
Хронический эндометрит в анамнезе	26 (56,5%)	35 (58,3%)	p = 0,852
Доброкачественные образования яичников	3 (6,5%)	5 (8,3%)	p = 0,727

Данные представлены как абсолютные значения и %, χ^2 -тест

Среди пациенток с наступившей и не наступившей беременностью отмечались следующие оперативные вмешательства гинекологического профиля: тубэктомия, резекция яичников по поводу доброкачественных образований, миомэктомия, иссечение и коагуляция очагов НГЭ 1-2 степени. Не было выявлено значимых различий в структуре перенесенных оперативных вмешательств. Большая часть операций была произведена лапароскопическим доступом (в 93,8% случаев в группе А и в 83,8% случаев в группе Б), различия также статистически не значимы. Гистероскопия была произведена всем пациенткам, т.к. это служило критерием включения в наше исследование для исключения внутриматочной патологии в качестве причины возникновения «тонкого» эндометрия (Таблица 15).

Таблица 15

Структура перенесенных оперативных вмешательств у пациенток групп А и Б

Показатели	Группа А n=46	Группа Б n=60	p уровень
Тубэктомия	12 (26,1%)	22 (36,7%)	p = 0,248
Миомэктомия	10 (21,7%)	11 (18,3%)	p = 0,663
Резекция яичников	9 (19,6%)	7 (11,7%)	p = 0,261
Иссечение и	9 (19,6%)	14 (23,3%)	p = 0,334

коагуляция очагов НГЭ			
Лапароскопический доступ	30 (93,8%)	57 (83,8%)	p = 0,169
Лапаротомический доступ	2 (6,2%)	11 (16,2%)	p = 0,169
Гистероскопия	46 (100%)	60 (100%)	p = 1,000

Данные представлены как абсолютные значения и %, χ^2 -тест

При сравнении акушерского анамнеза у пациенток групп А и Б не было выявлено статистически значимых различий в количестве беременностей в анамнезе, также беременностей, наступивших в результате программ ВРТ, самопроизвольных выкидышей, внематочных беременностей и искусственных аборт (Таблица 16).

Таблица 16

Акушерский анамнез у пациенток групп А и Б

Показатели	Группа А n=46	Группа Б n=60	p уровень
Число беременностей	1 (0-3)	1 (0-3)	p = 0,208
Число родов	0 (0-0)	0 (0-0)	p = 0,744
Число самопроизвольных выкидышей	0 (0-1)	0 (0-1)	p = 0,557
Число искусственных абортов	0 (0-0)	0 (0-0)	p = 0,400

Число беременностей	внематочных	0 (0-0)	0 (0-0)	p = 0,464
Число беременностей	в результате ВРТ	0 (0-1)	0 (0-1)	p = 0,879

Данные представлены как медианы с интерквартильным размахом, тест Манна-Уитни

При сравнении структуры бесплодия среди пациенток с наступившей и не наступившей беременностью не было выявлено статистически значимых различий. Первичное бесплодие в группе А было у 18 (39,1%) пациенток, в группе Б – у 24 (40%) пациенток (p=0,928) (Рисунок 5).

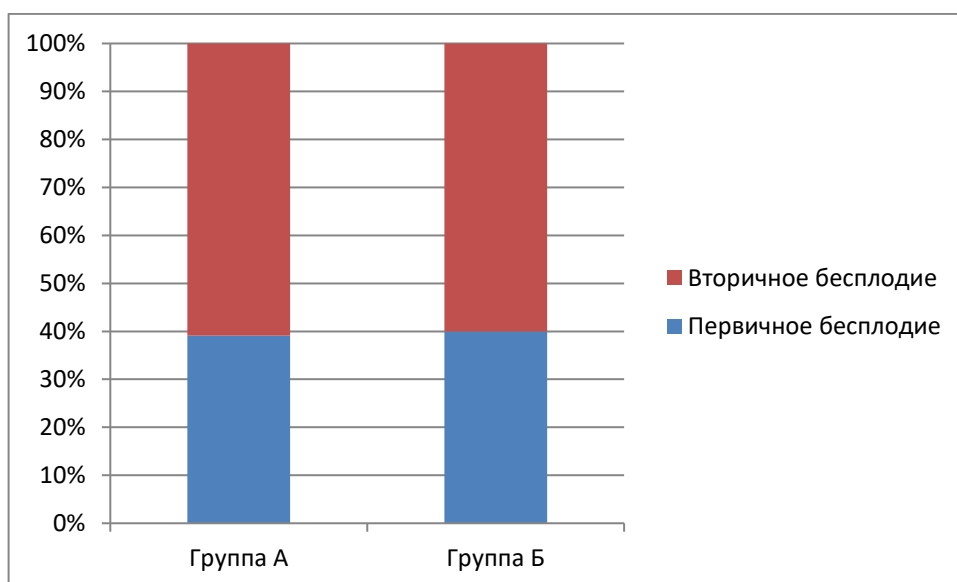


Рисунок 5. Характеристика бесплодия среди пациенток групп А и Б

При сравнении длительности бесплодия среди пациенток групп А и Б не было выявлено статистически значимых различий. Анализ программ ВРТ в анамнезе не выявил значимых различий в количестве попыток ЭКО и ИКСИ, программ криопереноса и отмены циклов криопереноса в связи с «тонким» эндометрием, но в группе с наступившей беременностью было статистически

значимо больше безуспешных попыток криопереноса в анамнезе (48 (75%) против 59 (45,0%), $p < 0,001$) (Таблица 17).

Таблица 17

Характеристика программ ВРТ в анамнезе у пациенток групп А и Б

Показатели	Группа А n=46	Группа Б n=60	p уровень
Длительность бесплодия, лет *	5,0 ± 3,5	4,9 ± 4,2	p = 0,883
Число попыток ЭКО и ИКСИ в анамнезе ***	2 (1-3)	2 (1-3)	p = 0,596
Число попыток программ криопереноса в анамнезе ***	2 (1-4)	2 (1-3)	p = 0,371
Неэффективные программы ПЭ в анамнезе **	48 (75,0%)	59 (45,0%)	p < 0,001
Отмена ПЭ в анамнезе из-за «тонкого» эндометрия **	21 (32,8%)	33 (25,2%)	p = 0,265

* Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение, t-тест

** Данные представлены как абсолютные значения и %, χ^2 -тест

*** Данные представлены как медианы с интерквартильным размахом, тест Манна-Уитни

Не было выявлено статистически значимых различий среди причин бесплодия между пациентками групп А и Б. Трубно-перитонеальный фактор

бесплодия был выявлен у 13 (28,3%) пациенток в группе А, в группе Б – у 24 (40,0%) ($p=0,209$), снижение овариального резерва – у 10 (21,7%) пациенток в группе А, у 14 (23,3%) пациенток - в группе Б ($p=0,846$), мужской фактор бесплодия был выявлен у 16 (34,8%) супружеских пар в группе А, в группе Б – у 18 (30,0%) супружеских пар ($p=0,152$), другие факторы бесплодия были у 7 (15,2%) пациенток в группе А, у 4 (6,7%) пациенток - в группе Б ($p=0,153$) (Рисунок 6).

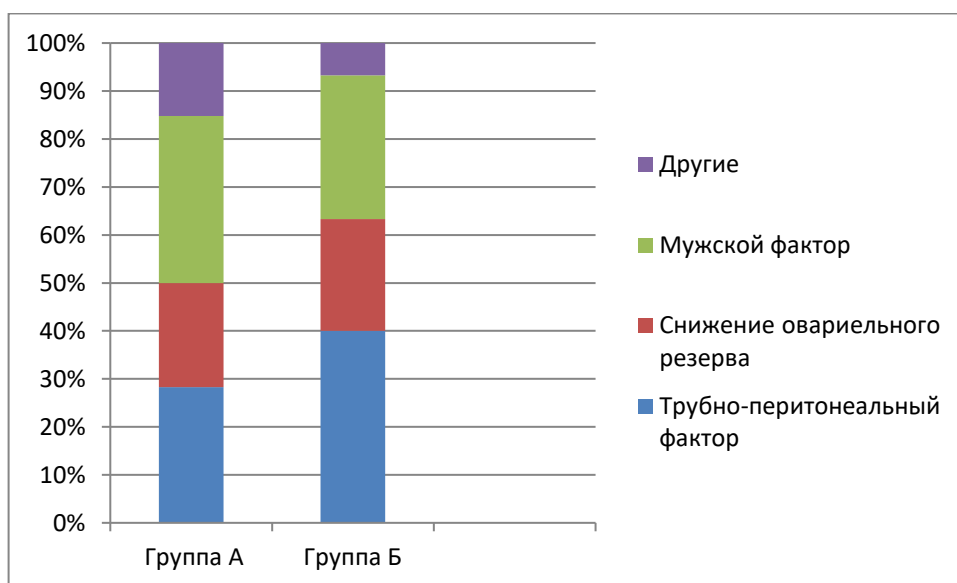


Рисунок 6. Структура причин бесплодия среди пациенток групп А и Б.

Среди соматических заболеваний у пациенток в группах А и Б были выявлены заболевания желудочно-кишечного тракта (хронический гастродуоденит), мочевыделительной системы (хронический цистит, мочекаменная болезнь), заболевания сердечно-сосудистой системы (варикозное расширение вен нижних конечностей), органов дыхания (хронический бронхит, бронхиальная астма), эндокринной системы (гипотиреоз в результате аутоиммунного тиреоидита) и миопия различной степени.

Имеющиеся соматические заболевания у пациенток трёх групп на момент

включения в программу ВРТ были в стадии ремиссии и не являлись противопоказанием для проведения программы ВРТ, наступления и вынашивания беременности. При анализе частоты выявления хронической соматической патологии не было выявлено статистически значимых различий между группой с наступившей и не наступившей беременностью (Таблица 18).

Таблица 18

Структура соматических заболеваний у пациенток групп А и Б

Заболевания	Группа А n=46	Группа Б n=60	p уровень
Заболевания желудочно-кишечного тракта	6 (13,0%)	8 (13,3%)	p = 0,966
Заболевания мочевыделительной системы	14 (30,4%)	11 (18,3)	p = 0,146
Заболевания сердечно-сосудистой системы	1 (2,2%)	4 (6,7%)	p = 0,280
Заболевания органов дыхания	3 (6,5%)	5 (8,3%)	p = 0,727
Заболевания эндокринной системы	5 (10,9%)	5 (8,3%)	p = 0,658
Миопия различной степени	4 (8,7%)	8 (13,3%)	p = 0,456

Данные представлены как абсолютные значения и %, χ^2 -тест

При сравнении показателей концентрации гормонов крови у пациенток с наступившей и не наступившей беременностью не было выявлено статистически значимых различий (Таблица 19).

Таблица 19.

Показатели содержания гормонов в сыворотке крови у пациенток групп А и Б.

Показатели	Группа А n=46	Группа Б n=60	р уровень
ФСГ мЕд/мл	9,1 ± 10,4	6,8 ± 5,3	р = 0,173
ЛГ мЕд/мл	6,0 ± 6,8	5,3 ± 6,8	р = 0,621
Е2 пмоль/л	255,5 ± 164,1	278,2 ± 168,2	р = 0,488
Пролактин мЕд/л	289,2 ± 140,5	322,2 ± 136,0	р = 0,227
Т, нмоль/л	1,3 ± 0,5	1,5 ± 0,8	р = 0,163
АМГ, нг/мл	3,0 ± 3,4	2,5 ± 2,2	р = 0,322
ТТГ, мЕд/л	1,8 ± 0,7	1,9 ± 0,8	р = 0,481
Т4, нмоль/л	81,6 ± 36,1	79,9 ± 27,7	р = 0,788

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение, t-тест

3.5 Влияние толщины эндометрия на наступление беременности

Был проведен анализ толщины эндометрия в день переноса эмбриона в группах с наступившей (группа А) и не наступившей беременностью (группа Б), в группе А – средняя толщина эндометрия в день ПЭ была равна 8,6 ± 1,4 мм, в группе Б – 7,9 ± 1,1 мм, разница статистически значима (р=0,013) (Рисунок 7).

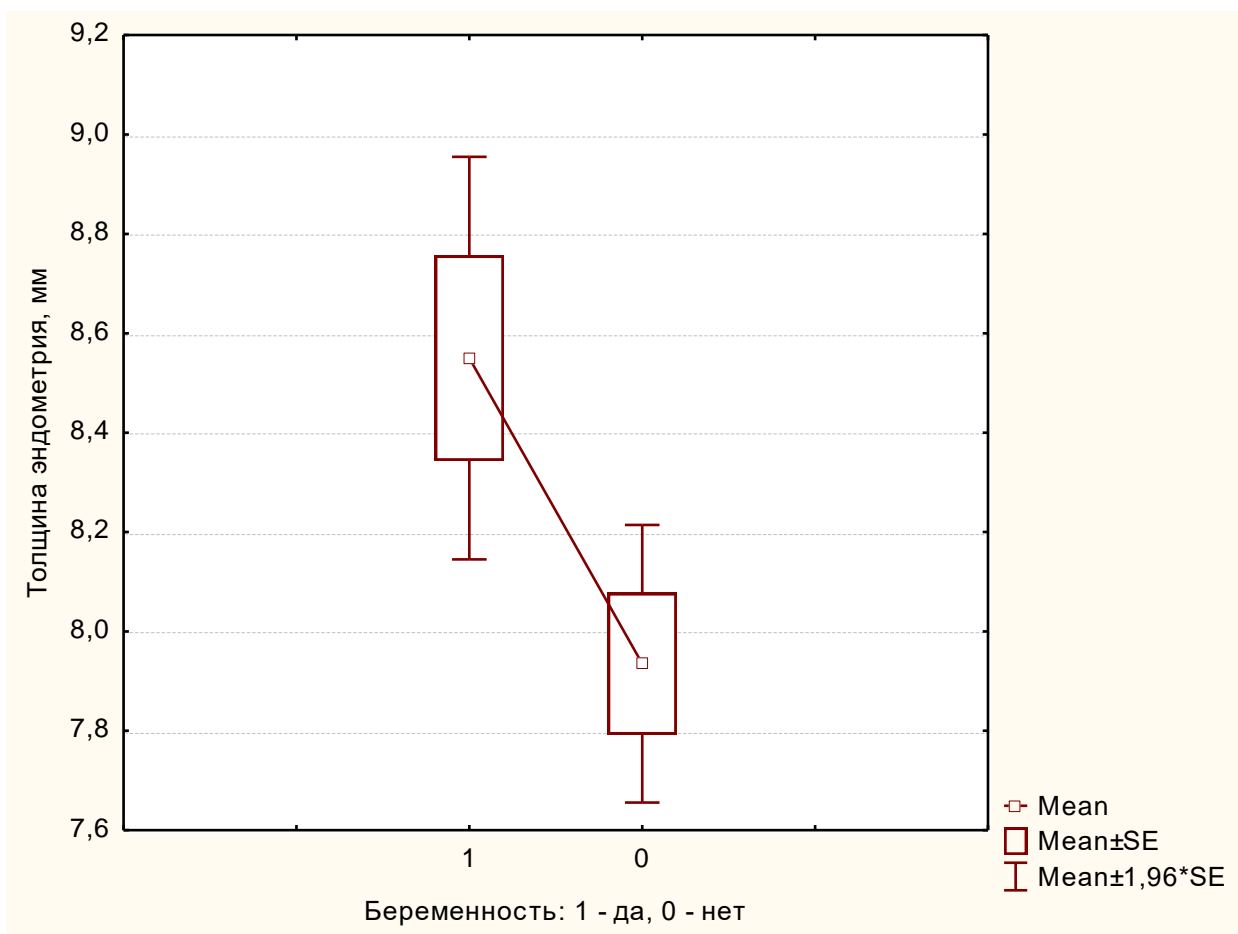


Рисунок 7. Толщина эндометрия у пациенток групп А и Б.

3.6 Пороговая толщина эндометрия, определяющая наступление беременности среди пациенток с «тонким» эндометрием в программах ВРТ

В данном исследовании беременность наступила у 46 пациенток во всех группах, из них у 28 (60,9%) пациенток беременность завершилась родами, у 18 (39,1%) пациенток беременность завершилась самопроизвольным прерыванием до 12 недель гестации. С помощью метода логистической регрессии, при проведении однофакторного анализа был выявлен пороговый уровень толщины эндометрия, при котором вероятность наступления беременности выше, данный показатель составил 7,9 мм, достоверность

модели и площадь под кривой (AUC) были максимальными (AUC=0,876, чувствительность (Se)=73,9%, специфичность (Sp)=85,0%). (Рисунок 8).

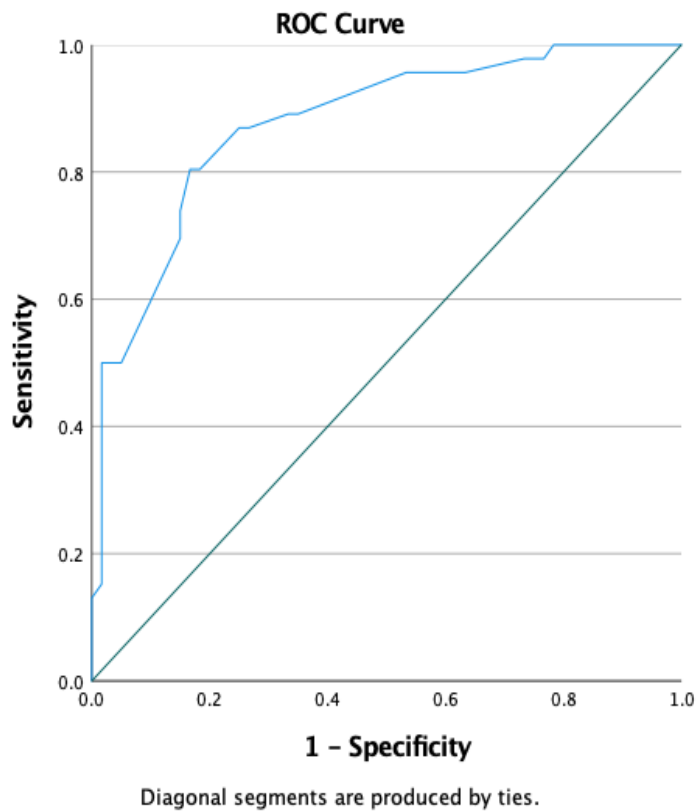


Рисунок 8. ROC-кривая зависимости наступления беременности от толщины эндометрия

3.7 Молекулярно-генетическое исследование аспирата из полости матки в период «окна имплантации»

На момент планирования научного исследования отсутствовали достаточные литературные данные об особенностях экспрессии мРНК в эндометрии в предполагаемое «окно имплантации», поэтому нами было проведено пилотное исследование экспрессии ряда генов маркеров рецептивности эндометрия у пациенток с «тонким» эндометрием. Была проведена сравнительная оценка профиля экспрессии мРНК следующих

генов: GPX3, PAEP, DPP4, TAGLN, HABP2, IMPA2, AQP3, HLA-DOB, MSX1, POSTN, GNLV, EDN3 и SFRP4 методом от-ПЦР у 20 пациенток на фоне приема ЦГТ в день предполагаемого «окна имплантации». Ретроспективно пациентки были разделены на 2 группы: группа а (n=7) - пациентки, у которых беременность наступила в следующем цикле и группа б (n=13) - пациентки, у которых беременность не наступила в следующем цикле ПЭ. В результате анализа экспрессии мРНК генов-маркеров рецептивности эндометрия было выявлено, что экспрессия мРНК генов TAGLN и SFRP4 была статистически значимо выше в эндометрии пациенток с наступившей беременностью ($p < 0,05$), экспрессия мРНК данных генов имела умеренную корреляционную связь с наступлением беременности у пациенток данного исследования ($r = 0,557$ и $r = 0,527$ соответственно). У пациенток с наступившей беременностью уровень экспрессии мРНК гена TAGLN в эндометрии была в 1,9 раз выше, а мРНК гена SFRP4 в 4,6 раз выше по сравнению с эндометрием пациенток с не наступившей беременностью. Экспрессия мРНК генов MSX1, POSTN и EDN3 имела умеренную корреляционную связь с наступлением беременности ($r = 0,354$, $r = 0,436$ и $r = 0,391$ соответственно), но показатели статистически значимо не различались между группами а и б ($p > 0,05$). Экспрессия мРНК гена MSX1 была в 2,4 раза, гена POSTN в 3,6 раз и гена EDN3 в 2,1 раз выше у пациенток с наступившей беременностью по сравнению с пациентками, у которых беременность не наступила. Анализ экспрессии мРНК вышеуказанным генов представлен в таблице 20 и на рисунке 9.

Уровень экспрессии мРНК генов-маркеров рецептивности эндометрия у пациенток с «тонким» эндометрием в группах а и б

	Группа а (n=7)	Группа б (n=13)	r-	p-уровень
GPX3	0,00087 (0,00045- 0,00190)	0,00097 (0,00037- 0,00186)	0,135	p > 0,05
PAEP	0,01441 (0,00612- 0,12466)	0,04961 (0,02015- 0,24713)	-0,105	p > 0,05
DPP4	0,02538 (0,01920- 0,02981)	0,02689 (0,01545- 0,06323)	0,061	p > 0,05
TAGLN	0,50581 (0,46960- 0,59560)	0,26182 (0,19615- 0,46116)	0,557	p < 0,05
HABP2	0,02551 (0,01145- 0,05343)	0,02882 (0,01144- 0,07606)	0,045	p > 0,05
IMPA2	0,05693 (0,02596- 0,08446)	0,07015 (0,03125- 0,11529)	0,001	p > 0,05
AQP3	0,12214 (0,08482- 0,18073)	0,11936 (0,06546- 0,34151)	0,136	p > 0,05
HLA-DOB	0,03590	0,03847	0,120	p > 0,05

	(0,02920- 0,05944)	(0,02341- 0,09921)		
MSX1	1,41421 (0,58661- 1,59662)	0,60151 (0,40613- 1,05946)	0,354	p > 0,05
POSTN	0,09921 (0,04276- 0,14640)	0,02720 (0,01255- 0,08152)	0,436	p > 0,05
GPLY	0,12074 (0,04049- 0,26929)	0,13243 (0,06935- 0,36182)	0,083	p > 0,05
EDN3	0,24148 (0,10821- 0,52307)	0,11266 (0,05195- 0,32988)	0,391	p > 0,05
SFRP4	1,51572 (0,76245- 1,96961)	0,32609 (0,19389- 0,56775)	0,527	p < 0,05

Данные представлены как медианы с интерквартильным размахом, тест Манна-Уитни,
r - коэффициент корреляции

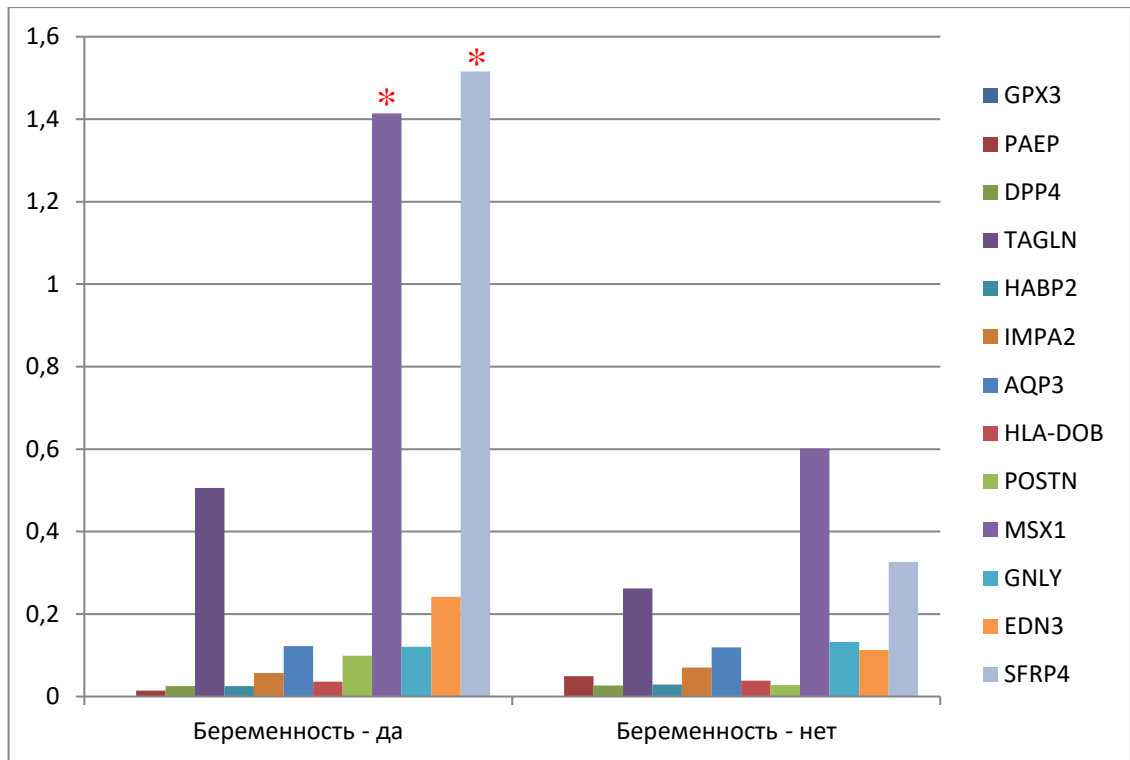


Рисунок 9. Уровень экспрессии мРНК генов маркеров рецептивности эндометрия у пациенток групп а и б

В связи с выявлением мРНК генов TAGLN и SFRP4 в эндометрии, ассоциированных с более высокой частотой наступления беременности, мы решили провести анализ экспрессии мРНК генов-маркеров рецептивности эндометрия среди пациенток лечебных групп с целью выявления их однородности по данным показателям. В группе с ЦГТ вошли 9 пациенток, в группе с Г-КСФ – 4 пациентки, в группе с ПОТр – 7 пациенток. Было выявлено статистически значимое увеличение экспрессии мРНК гена EDN3 в группе с ПОТр по сравнению с группой с Г-КСФ, но вышеуказанный ген не был ассоциирован с более высокой частотой наступления беременности, поэтому лечебные группы были сопоставимы по уровню экспрессии мРНК генов-маркеров рецептивности эндометрия (таблица 21).

Уровень экспрессии мРНК генов-маркеров рецептивности эндометрия у пациенток с «тонким» эндометрием в лечебных группах

	Группа 1 ЦГТ n= 9	Группа 2 Г-КСФ n= 4	Группа 3 ПОТр n= 7	p-уровень
GPX3	0,00087 (0,00041- 0,00332)	0,00114 (0,00037- 0,00195)	0,00097 (0,000311- 0,00140)	p1 > 0,05 p2 > 0,05 p3 > 0,05
PAEP	0,02658 (0,01441 – 0,04961)	0,16652 (0,11913 – 0,19072)	0,02720 (0,00545 – 0,42782)	p1 > 0,05 p2 > 0,05 p3 > 0,05
DPP4	0,02538 (0,01284 – 0,03273)	0,01649 (0,01540 – 0,02408)	0,04269 (0,02387 – 0,06964)	p1 > 0,05 p2 > 0,05 p3 > 0,05
TAGLN	0,50581 (0,26182 – 0,62996)	0,38807 (0,30169 – 0,46801)	0,29389 (0,18624 – 0,46725)	p1 > 0,05 p2 > 0,05 p3 > 0,05
HABP2	0,02628 (0,01144 – 0,80586)	0,03361 (0,01397 – 0,05798)	0,02882 (0,00897 – 0,90735)	p1 > 0,05 p2 > 0,05 p3 > 0,05
IMPA2	0,03716 (0,02752 – 0,06622)	0,08643 (0,06560 – 0,10586)	0,07015 (0,03108 – 0,10971)	p1 > 0,05 p2 > 0,05 p3 > 0,05
AQP3	0,11266 (0,06546 – 0,34151)	0,14550 (0,08335 – 0,21060)	0,12214 (0,08657 – 0,29487)	p1 > 0,05 p2 > 0,05 p3 > 0,05

HLA-DOB	0,03590 (0,03273 – 0,04369)	0,05799 (0,02231 – 0,11903)	0,03847 (0,02676 – 0,08166)	p1 > 0,05 p2 > 0,05 p3 > 0,05
MSX1	0,82169 (0,44033 – 1,58740)	0,51589 (0,34239 – 0,86198)	0,66742 (0,53677 – 1,20491)	p1 > 0,05 p2 > 0,05 p3 > 0,05
POSTN	0,04318 (0,02720 – 0,09921)	0,06228 (0,01951 – 0,12174)	0,05317 (0,00808 – 0,05317)	p1 > 0,05 p2 > 0,05 p3 > 0,05
GPLY	0,12074 (0,06935 – 0,18091)	0,35974 (0,30135 – 0,35974)	0,09583 (0,00341 – 0,15061)	p1 > 0,05 p2 > 0,05 p3 > 0,05
EDN3	0,11008 (0,07784 – 0,24148)	0,07914 (0,04482 – 0,12004)	0,51169 (0,24368 – 0,67184)	p1 > 0,05 p2 > 0,05 p3 < 0,05
SFRP4	0,58102 (0,35766 – 1,51572)	0,26937 (0,20797 – 0,42340)	0,56775 (0,19105 – 2,54560)	p1 > 0,05 p2 > 0,05 p3 > 0,05

Данные представлены как медианы с интерквартильным размахом, тест Манна-Уитни

p1- сравнение групп 1 и 2, p2 – сравнение групп 1 и 3, p3 – сравнение групп 2 и 3

Таким образом, в результате проведенного исследования выявлены наиболее значимые клинико-anamнестические данные пациенток с «тонким» эндометрием и нарушением репродуктивной функции – это наличие хронического эндометрита до 60,9% случаев, потери беременности до 12 недель гестации до 56% случаев и множественные неэффективные попытки ВРТ в анамнезе. Применение Г-КСФ и аутологичной ПОТр повышают эффективность программ ВРТ у пациенток с «тонким» эндометрием: частота клинической беременности и живорождения была статистически значимо

выше в группах с применением данных препаратов в дополнение к ЦГТ по сравнению с группой с применением только ЦГТ. Было выявлено, что повышение экспрессии мРНК генов TAGLN и SFRP4 в период предполагаемого «окна имплантации» у пациенток с «тонким» эндометрием является прогностически благоприятным признаком наступления беременности.

В результате исследования был разработан алгоритм применения Г-КСФ и аутологичной ПОТр, который позволяет повысить эффективность программ ВРТ у пациенток с «тонким» эндометрием (см. Приложение).

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Во всем мире от 8 до 12% пар репродуктивного возраста страдают бесплодием [82]. В то время как средняя распространенность бесплодия в мире составляет 9%, в некоторых регионах оно достигает 30%. Несмотря на достижения в технологии экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и отбора эуплоидного эмбриона, 30% программ ВРТ до сих пор не приводит к живорождению [59]. Успешная имплантация зависит от качества эмбриона, рецептивного эндометрия и хорошей технологии переноса эмбриона [52]. Рецептивность эндометрия играет важную роль во взаимодействии эмбриона с эндометрием. Метод определения оптимального рецептивного эндометрия перед переносом эмбриона является дискуссионным вопросом [122]. Для оценки рецептивности эндометрия было предложено множество способов [187]; среди них одним из методов является ультразвуковая оценка толщины эндометрия, которая играет важную роль в определении рецептивности эндометрия [30]. В метаанализе Kasius A. и соавт. было показано, что при «тонком» эндометрии происходит снижение частоты наступления беременности [90].

«Тонкий» эндометрий является причиной не только снижения частоты наступления беременности, но также, по-видимому, связан с неблагоприятными перинатальными исходами [41], невынашиванием беременности [197] и аномальной плацентацией [39]. В исследовании Zhang J. и соавт. среди 6181 пациенток было показано, что толщина эндометрия менее 8мм в день ПЭ была связана со статистически значимо более низким весом новорожденных по сравнению с пациентками с толщиной эндометрия более 10мм, разница в весе составила 89-108г [203]. Толщина эндометрия 7 мм наиболее часто была описана в качестве пороговой толщины для определения «тонкого» эндометрия [28, 53, 90]. Хотя влияние толщины эндометрия на исходы программ ВРТ ранее подвергались сомнению,

последние исследования, основанные на нескольких тысячах переносов эмбрионов, четко определили негативное влияние «тонкого» эндометрия как на частоту наступления беременности, так и на акушерские исходы [33, 52, 153]. Распространенность «тонкого» эндометрия варьируется в зависимости от опубликованных исследований: она колеблется от 2,4% [90] до 8,5% [146], но лечение пациенток с «тонким» эндометрием представляет собой большую проблему для клиницистов.

Одними из новых методов увеличения толщины эндометрия и улучшения исходов программ ВРТ являются гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) и аутоплазма, обогащенная тромбоцитами (ПОТр). Г-КСФ представляет собой гликопротеин, который вырабатывается многочисленными тканями, участвующими не только в кроветворении, но также и в росте эндометрия [83]. Отсюда и была выдвинута гипотеза применения Г-КСФ для улучшения исходов программ ВРТ у женщин с рефрактерным «тонким» эндометрием. Внутриматочное введение препарата Г-КСФ была впервые успешно описана в 2011 году Gleicher N. и соавт. среди четырех пациенток в программах криопереноса размороженных эмбрионов на фоне приема ЦГТ, у всех 4х пациенток увеличилась толщина эндометрия и наступила клиническая беременность [129].

Плазма, обогащенная тромбоцитам (ПОТр) представляет собой концентрат тромбоцитов, суспендированных в небольшом количестве плазмы после центрифугирования, что приводит к выпуску многочисленных цитокинов и факторов роста. Это обеспечивает улучшение регенерации тканей [17]. Первое исследование по применению аутологичного ПОТр в программах ВРТ было опубликовано Chang Y. и соавт. в 2015 году, где препарат вводился внутриматочно пяти пациенткам с «тонким» эндометрием в программах криопереноса размороженных эмбрионов на фоне приема ЦГТ. Толщина эндометрия увеличилась через 48-72 ч после введения ПОТр у всех

пациенток и достигла более 7 мм в день начала введения препарата прогестерона. У всех пяти пациенток наступила беременность [191].

Все вышеизложенное и определило цель данной работы: повысить эффективность программ ВРТ при подготовке пациенток с «тонким» эндометрием к переносу размороженных эмбрионов с использованием гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) и аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами (ПОТр).

Для ее решения в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России было обследовано 163 пациенток с «тонким» эндометрием (толщина эндометрия не более 7 мм в день переноса эмбриона в криоцикле), бесплодием и неэффективными попытками ВРТ в анамнезе. Исследование было проспективным рандомизированным.

Все женщины методом простой рандомизации с неравномерным распределением по группам были разделены на три группы: в первую группу вошли 43 пациенток, которые получали только ЦГТ, во 2 группу – 46 пациенток, которые в дополнение к ЦГТ внутриматочно получали препарат Г-КСФ в дозе 300мкг, в 3 группу вошли 74 пациенток, которым в дополнение к ЦГТ внутриматочно вводилась аутологичная ПОТр в объеме 5-7мл.

Средний возраст пациенток 1 группы составил $35,8 \pm 5,8$ лет, 2 группы - $37,4 \pm 6,7$ лет, 3 группы - $36 \pm 5,9$ лет, различия статистически не значимы. По данному показателю можно сказать, что пациентки с «тонким» эндометрием в большинстве случаев - это женщины старшего репродуктивного возраста. Пациентки также не различались по показателю ИМТ и в основном этот показатель был в пределах нормы: для первой группы он составил в среднем - $23,6 \pm 3,9$ кг/м², для 2 группы - $23,4 \pm 3,9$ ИМТ, кг/м², для 3 группы - $23,0 \pm 3,4$ кг/м², различия статистически не значимы.

Также не было выявлено статистически значимых различий в менструальной функции у пациенток данного исследования. Средний возраст

менархе для групп 1 и 3 составил 13,2 года, для 2 группы – 13,4 лет. Длительность менструального цикла у всех пациенток данного исследования в среднем составила 28,8 дней, а длительность кровянистых выделений – 4,7 дней у пациенток 1 и 3 группы и 4,6 дней у пациенток 2 группы, что тоже свидетельствует об отсутствии нарушений менструальной функции у данной группы пациенток.

Самым частым диагнозом среди гинекологических заболеваний у пациенток данного исследования был хронический эндометрит, который был гистологически и иммуногистохимически подтвержден после проведения гистероскопии (ГС) и биопсии эндометрия в предыдущих циклах, после чего у данных пациенток была проведена антибактериальная и физиотерапия. В 1 группе данная патология была у 24 (55,8%) пациенток, во 2 группе – у 28 (60,9%) пациенток, в 3 группе – у 45 (60,8%) пациенток. Различия были статистически не значимы. На втором месте по распространенности были полипы эндометрия в анамнезе, которые также были удалены хирургическим путем во время ГС и отдельного диагностического выскабливания (РДВ). В 1 группе полипы эндометрия были у 13 (30,2%) пациенток, во 2 группе – у 17 (37,0%) пациенток, в 3 группе – у 22 (29,7%) пациенток. Различия также были статистически не значимы.

Среди оперативных вмешательств на половых органах на первом месте была ГС, она была произведена всем пациенткам в анамнезе, т.к. это было одним из критерием включения в данное исследования для исключения внутриматочной патологии как причины возникновения «тонкого» эндометрия. Также у пациенток в анамнезе были тубэктомия - в связи с трубной беременностью или гидросальпинксами, консервативная миомэктомия, иссечение и коагуляция очагов НГЭ и резекция яичников по поводу доброкачественных образований. Различия между тремя группами были статистически не значимы по данным показателям. В основном операции были выполнены лапароскопическим доступом: в 1 группе в 12

(85,7%) случаев, во 2 группе – в 10 (91,0%) случаев, в 3 группе во всех 15 (100%) случаях.

В акушерском анамнезе пациенток была выявлена статистически значимая разница в числе беременностей, наступивших в результате ВРТ: в 3 группе оно было значимо больше по сравнению с группами 1 и 2, но данный показатель не мог повлиять на однородность исследуемых групп. В остальных показателях значимых различий выявлено не было. А в структуре бесплодия в основном преобладало вторичное бесплодие среди пациенток всех трех групп. Следует отметить, что практически каждая вторая беременность у всех пациенток данного исследования закончилась самопроизвольным прерыванием до 12 недель гестации. В 3 группе отмечалось статистически значимо больше неэффективных программ ПЭ в анамнезе (85 (53,5%) случаев), а во 2 группе статистически значимо больше было отмененных циклов ПЭ в анамнезе в связи с «тонким» эндометрием – 70 (44,9%) случаев. Мы считаем, что данные показатели не смогли повлиять на однородность групп исследования.

Причины бесплодия у пациенток данного исследования в основном были представлены трубно-перитонеальным фактором, снижением овариального резерва и мужским фактором. Статистически значимо различался только показатель мужского бесплодия, он встречался в 3,6 раз чаще в 3 группе по сравнению с 1 группой, что возможно и стало причиной статистически значимо неэффективных циклов ПЭ в анамнезе у данной группы пациенток, т.к. известно, что при мужском факторе бесплодия часто страдает качество эмбрионов и также выше показатель анеуплоидии эмбрионов.

При анализе соматической патологии все три группы исследования также не различались.

Всем пациенткам было проведено комплексное клиничко-лабораторное обследование. Ни у одной из пациенток не было выявлено отклонений от нормативных показателей ни в клиническом, ни в биохимическом анализе

крови, ни в общем анализе мочи, ни в коагулограмме. Изучение уровней гормонов в периферической крови также не обнаружило отклонений от нормы и данные были сопоставимы во всех группах.

Далее мы провели сравнение толщины эндометрия в день ПЭ (19-21 день м.ц.) и прироста в толщине эндометрия с 9-10 по 11-12, с 11-12 по 13-14 дни м.ц. и с 9-10 дня м.ц. по 15-16 дни м.ц. в зависимости от назначаемой терапии. Было обнаружено, что средняя толщина эндометрия в день ПЭ была статистически значима больше во 2 и 3 группах по сравнению с 1 группой, но данный показатель не различался между группами с применением Г-КСФ и ПОТр. Средняя толщина эндометрия в день переноса эмбриона (19-21 день м.ц.) в группе 1 (ЦГТ) была $7,0 \pm 1,1$ мм, во 2 (Г-КСФ) группе – $7,9 \pm 1,8$ мм, в 3 группе (ПОТр) – $8,0 \pm 1,3$ мм. Разница между 1 и 2 группой статистически значима – $p=0,003$, разность средних значений – $0,96$ (95% ДИ = $0,33; 1,59$), между 1 и 3 группой разница также статистически значима – $p<0,001$, разность средних значений – $1,0$ (95% ДИ = $0,53; 1,47$), между 2 и 3 группой разница статистически не значима – $p=0,790$, разность средних значений – $0,04$ (95% ДИ = $-0,53; 0,61$). При анализе прироста толщины эндометрия с 9-10 по 11-12 дни м.ц. была выявлена статистически значимая разница между 1 и 2 и 1 и 3 группами: $p=0,015$ ($0,38 \pm 0,05$ мм и $0,68 \pm 0,11$ соответственно), разность средних значений – $0,30$ (95% ДИ = $0,05; 0,55$) и $p=0,008$ ($0,38 \pm 0,05$ мм и $0,59 \pm 0,06$ мм соответственно), разность средних значений – $0,21$ (95% ДИ = $0,03; 0,39$) соответственно. Такие же результаты были получены при сравнении прироста толщины эндометрия с 11-12 по 13-14 дни м.ц.: $p=0,006$ ($0,29 \pm 0,04$ мм и $0,54 \pm 0,08$ мм соответственно), разность средних значений – $0,25$ (95% ДИ = $0,07; 0,43$) и $p<0,001$ ($0,29 \pm 0,04$ мм и $0,58 \pm 0,06$ соответственно), разность средних значений – $0,29$ (95% ДИ = $0,13; 0,45$) соответственно. Между 2 и 3 группами при анализе прироста толщины эндометрия с 9-10 по 11-12 и с 11-12 по 13-14 дни м.ц. статистически значимых различий выявлено не было. Следует отметить, что в группе с ЦГТ прирост толщины эндометрия с 9-10 по 11-12 дни м.ц. был незначительно

больше прироста толщины эндометрия с 11-12 по 13-14 дни м.ц. Также в группе с Г-КСФ прирост толщины эндометрия был больше с 9-10 по 11-12 дни м.ц., а в группе с ПОТр толщина эндометрия росла равномерно, возможно это связано с назначением препаратов для увеличения толщины эндометрия в разные дни м.ц. Препарат Г-КСФ вводился внутриматочно на 5-6 и 8-9 дни м.ц., ПОТр вводился на 9-10, 11-12 и 13-14 дни м.ц. Но при анализе прироста толщины эндометрия с 9-10 по 15-16 дни м.ц. мы выявили статистически значимую разницу только между 1 и 3 группами. В группе 1 (ЦГТ) средний прирост толщины эндометрия составил $-0,6 \pm 0,7$ мм, во 2 группе (Г-КСФ) $-1,0 \pm 1,6$ мм, в 3 группе (ПОТр) $-1,0 \pm 1,2$ мм. Разница между 1 и 2 группами статистически не значима – $p=0,103$, разность средних значений $-0,42$ (95% ДИ = $-0,10; 0,94$), но в 1й группе толщина эндометрия 8мм и более в день ПЭ была у 9 (20,9%) пациенток, а во 2й группе – у 18 (39,1%) пациенток, разница между 1 и 3 группами – статистически значима, $p=0,008$, разность средних значений $-0,46$ (95% ДИ = $0,08; 0,84$), между 2 и 3 группами разница статистически не значима, $p=0,880$, разность средних значений $-0,04$ (95% ДИ = $-0,45; 0,53$). Полученные данные свидетельствует о том, что назначаемая терапия (Г-КСФ и ПОТр) положительно влияет на толщину эндометрия и она достигает значений более 7мм, что по данным литературы является оптимальной толщиной для прогнозирования эффективности программ ВРТ. Схожие результаты получили Nazari L. и соавт. в двойном слепом РКИ среди 60 пациенток с «тонким» эндометрием, где авторы отметили статистически значимо больше толщину эндометрия в группе с назначением ПОТр по сравнению с группой контроля [126]. Но наши данные не согласуются с исследователями, которые сравнивали толщину эндометрия в день ПЭ в группе с Г-КСФ и группой контроля, в исследовании Eftekhari M. и соавт. и Singh R. и соавт. не выявили статистически значимых различий между данными двумя группами ($7,9 \pm 0,6$ против $8,2 \pm 0,8$ ($p=0,10$) и $8,8 \pm 2,5$ против $7,2 \pm 2,9$ ($p=0,05$) соответственно) [113, 172]. Наши данные также не согласуются с данными исследования Kim

Н. и соавт., где не было выявлено статистически значимого увеличения толщины эндометрия после назначения ПОТр ($p > 0,05$) [95]. Но схожие с нашими данные получили Kunicki M. и соавт., в исследовании авторов было отмечено статистически значимый прирост в толщине эндометрия после назначения Г-КСФ: в среднем с 6,5 мм до 7,9 мм в группе с Г-КСФ, с 6,4 мм до 6,9 мм в группе контроля ($p = 0,005$) [120]. Следует отметить, что в опубликованной литературе мы не нашли работ, сравнивающих эффективность Г-КСФ и ПОТр у пациенток с «тонким» эндометрием.

При анализе исходов программ ВРТ в зависимости от подготовки «тонкого» эндометрия к ПЭ была отмечена статистически значимая большая частота отмены ПЭ в связи с «тонким» эндометрием в группе 1 по сравнению с группами 2 и 3 ($p = 0,045$ и $p < 0,001$ соответственно), но данный показатель различался и между 2 и 3 группами (18(39,1%) против 13 (17,6%), $p = 0,009$), что свидетельствует о том, что на увеличение толщины эндометрия лучше всего влияло назначение ПОТр и в группе после ее применения было наименьшее количество пациенток с эндометрием менее 7 мм. Частота клинической беременности была статистически значимо выше в 2 и 3 группах по сравнению с 1 группой ($p = 0,030$ (ОШ – 16,55 с 95% ДИ = 2,06; 133,03) и $p = 0,037$ (ОШ – 21,43 с 95% ДИ=2,78; 164,94) соответственно), но данный показатель не различался между группами Г-КСФ и ПОТр ($p = 0,762$). Наши данные согласуются с данными метаанализа Li J. и соавт., которые сравнили частоту наступления клинической беременности 607 пациенток в 6 исследованиях с применением Г-КСФ [84]. По данным авторов беременность наступила у 67 (25,1%) пациенток в группе с Г-КСФ и у 49 (14,4%) пациенток в группе контроля (ОШ - 1,563 с 9% ДИ: 1,122; 2,176). Также наши данные согласуются с данными Nazari L. и соавт. и Kim H. и соавт., в исследовании авторов также была отмечена статистически значимо большая частота наступления беременности в группе с ПОТр по сравнению с группой контроля (33,3% против 3,3%, $p = 0,048$ и 30,0% против 0% соответственно) [95, 126]. В литературе мы не нашли работ по сравнению Г-КСФ и ПОТр у

пациенток с «тонким» эндометрием, но в работе Mehrafza M. и соавт. сравнивали данные препараты у пациенток с повторными неудачами имплантации и по результатам исследования авторы отметили статистически значимо высокую частоту наступления беременности в группе ПОТр по сравнению с группой Г-КСФ (40,3% против 21,4%, $p=0,025$), что не согласуется с данными нашего исследования [115].

При сравнении частоты потерь беременности до 12 недель гестации значимые различия не были получены, но при сравнении частоты живорождения между группами была выявлена статистически значимо высокая частота живорождения в 2 и 3 группе по сравнению с группой ЦГТ ($p=0,015$ и $p=0,034$ соответственно), но данный показатель не различался между группами Г-КСФ и ПОТр ($p=0,444$).

Результаты нашего исследования свидетельствуют о благоприятном влиянии Г-КСФ и ПОТр на исходы программ ВРТ в равной степени и нет убедительных данных, свидетельствующих о преимуществе одного метода подготовки пациенток с «тонким» эндометрием к ПЭ над другим. Одним из возможных механизмов влияния Г-КСФ на толщину эндометрия и частоту наступления беременности можно считать тот факт, что в репродуктивном тракте Г-КСФ секретируется в эндометрии во время лютеиновой фазы, вызывая тем самым сосудистое ремоделирование и децидуализацию, а также он секретируется во время беременности в плаценте, тем самым способствуя поддержанию беременности. Кроме того, Г-КСФ обладает трофическим действием на плаценту и играет роль в развитии эмбриона [50]. Г-КСФ может увеличивать толщину эндометрия через стимулирование стволовых клеток эндометрия или мобилизацию стволовых клеток костного мозга [63]. Кроме того, Г-КСФ может иметь местный ангиогенный эффект в связи с увеличением эндотелиальных клеток-предшественников и экспрессией проангиогенных генов в моноцитах [118, 138]. Что касается механизма действия ПОТр, то применение данного препарата усиливает экспрессию LIF в стромальных клетках эндометрия, что и может увеличить рецептивность

эндометрия [204]. Также было выдвинуто предположение, что ПОТр может оказать некоторое влияние на имплантацию эмбриона. Amable P.R. и соавт. показали, что в ПОТр отмечается увеличение уровней 12 белков по сравнению с плазмой цельной крови или плазмы с низким содержанием тромбоцитов. Данные белки представляют собой шесть факторов роста (PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB, TGF-b1, TGF-b2 и EGF), три противовоспалительных цитокина (IL-4, IL-13 и IFN-a) и три провоспалительных цитокина (IL-8, IL-17 и TNF-a) [20]. Данные цитокины и факторы роста могут улучшить рецептивность эндометрия.

На следующем этапе нашего исследования мы ретроспективно разделили пациенток, которым был произведен ПЭ, на 2 группы в зависимости от наступления беременности для определения других причин, влияющих на наступление беременности у пациенток с «тонким» эндометрием: группа А – 46 пациенток, у которых беременность наступила и группа Б – 60 пациенток, у которых беременность не наступила.

При сравнении возраста, антропометрических данных, менструальной функции, гинекологических и соматических заболеваний, а также перенесенных операций на органах малого таза не было выявлено статистических значимых различий между данными группами. Также не было выявлено разницы в акушерском анамнезе, структуре и причинах бесплодия, уровнях гормонов в плазме крови между группами А и Б. Но была выявлена статистически значимая разница в количестве неэффективных программ криопереноса в анамнезе, в группе с наступившей беременностью данный показатель был статистически значимо выше (48 (75,0%) против 59 (45,0%) соответственно, $p < 0,001$). Данный результат возможно объяснить тем, что при множестве неэффективных попыток ПЭ пациентки обследуются более углубленно и устраняются причины возможных неудачных попыток ПЭ, что в последующем способствует благоприятному исходу программ ВРТ.

Также мы сравнили толщину эндометрия между группами с наступившей и не наступившей беременностью, в группе с наступившей беременностью толщина эндометрия была статистически значима больше, чем в группе с не наступившей беременностью ($8,6 \pm 1,4$ мм против $7,9 \pm 1,1$, соответственно, $p=0,013$). Мы также с помощью метода логистической регрессии при проведении однофакторного анализа выявили пороговый уровень толщины эндометрия, при котором вероятность наступления беременности выше, данный показатель составил - 7,9 мм, (AUC=0,876, чувствительность (Se)=73,9%, специфичность (Sp)=85,0%). Наши данные согласуются с данными исследования Liu и соавт., где авторы пришли к заключению, что в криоциклах с переносом размороженного эмбриона, частота клинической беременности ($p=0,007$) и живорождения снижаются ($p=0,002$) с уменьшением каждого миллиметра в толщине эндометрия менее 7 мм, без значительной разницы в показателях потери беременности до 12 недель гестации [107].

Далее мы провели анализ мРНК генов GPX3, PAEP, DPP4, TAGLN, HABP2, IMPA2, AQP3, HLA-DOB, MSX1, POSTN, GNLY, EDN3 и SFRP4 в эндометрии у 20 пациенток на фоне приема ЦГТ в день предполагаемого «окна имплантации», анализ производился методом ОТ-ПЦР. Мы разделили результаты ретроспективно в зависимости от наступления беременности. Группа а – пациентки, у которых беременность наступила в следующем цикле при проведении ПЭ и группа б - пациентки, у которых беременность не наступила в следующем цикле. В результате анализа мы выявили, что экспрессия мРНК генов TAGLN и SFRP4 была статистически значимо выше в эндометрии пациенток с наступившей беременностью ($p<0,05$), экспрессия мРНК данных генов имела умеренную корреляционную связь с наступлением беременности у пациенток данного исследования ($r=0,557$ и $r=0,527$ соответственно). У пациенток с наступившей беременностью уровень экспрессии мРНК гена TAGLN в эндометрии была в 1,9 раз выше, а мРНК гена SFRP4 в 4,6 раз выше по сравнению с эндометрием пациенток с не

наступившей беременностью. Мы также проанализировали экспрессию мРНК генов-маркеров рецептивности эндометрия среди лечебных групп и выявили статистически значимое увеличение экспрессии мРНК гена EDN3 в группе с ПОТр по сравнению с группой с Г-КСФ, но данный ген не был ассоциирован с более высокой частотой наступления беременности, поэтому лечебные группы были сопоставимы по уровню экспрессии генов-маркеров рецептивности эндометрия.

Ген TAGLN (трангелин) - кодирует изменяющий форму и чувствительный к трансформации актин-связывающий белок, который принадлежит к семейству кальпонинов. Он экспрессируется в сосудистых и висцеральных гладких мышцах и является ранним маркером дифференцировки гладких мышц. Jung-II Chae и соавт., при исследовании белков ассоциированных с беременностью на эндометрии беременной матки животных, выявили, что ген TAGLN ассоциирован с регуляцией преобразования эндометрия для пролонгирования беременности [35]. Ген SFRP4 кодирует белок, который ингибирует процесс передачи сигналов Wnt. Передача сигналов Wnt играет важную роль в развитии тканей и органов, являясь одним из внутриклеточных сигнальных путей, регулирующий эмбриогенез, дифференцировку клеток и развитие злокачественных опухолей. В исследовании Fitzgerald H. и соавт. было показано снижение экспрессии данного гена у пациенток с бесплодием неясного генеза по сравнению с фертильными женщинами [73].

Данные результаты возможно применить в будущем для прогнозирования исходов программ ВРТ у пациенток с «тонким» эндометрием, т.к. до настоящего времени нет четких показателей экспрессии генов в эндометрии, которые определяют ее рецептивность. Наши данные не согласуются с данными исследования Burmenskaya O.V. и соавт., где авторы определили экспрессию мРНК генов PAEP, DPP4, MSX1 и HLA-DOB как определяющую рецептивность эндометрия, но в данном исследовании

производилось сравнение уровня экспрессии мРНК данных генов с гистологической картиной эндометрия [132]. В исследовании Altmäe S. и соавт., было определено, что снижение экспрессии мРНК генов SFRP4, EDN3, OLFM1, CRABP2 and MMP7 ассоциирована с рецептивным эндометрием, что также не согласуется с данными нашего исследования, т.к. в нашем исследовании отмечалось увеличение экспрессии мРНК гена SFRP4 [18]. Но следует отметить, что вышеуказанные исследования были проведены на эндометрии с нормальной толщиной, возможно в «тонком» эндометрии имеются особенности экспрессии вышеуказанных генов маркеров, но мы не нашли исследований сравнивающих экспрессию вышеуказанных генов в нормальном и «тонком» эндометрии.

Результаты проведенного исследования продемонстрировали преимущество применения препаратов Г-КСФ и ПОТр для подготовки пациенток с «тонким» эндометрием к программам криопереноса размороженных эмбрионов в добавление к ЦГТ по сравнению с назначением только ЦГТ. Следует отметить, что в нашем исследовании не было выявлено ни одного побочного эффекта после назначения данных препаратов.

ВЫВОДЫ

1. Для пациенток с «тонким» эндометрием и неэффективными программами ВРТ характерны: наличие в анамнезе хронического эндометрита – у 59,1%; у каждой второй – потеря беременности до 12 недель гестации; отсутствие наступления беременности в программах криопереноса размороженного эмбриона в анамнезе у 41,7% пациенток.
2. Применение аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами в сочетании к ЦГТ приводит к увеличению толщины эндометрия у пациенток с «тонким» эндометрием по сравнению с назначением только ЦГТ (средняя толщина эндометрия в день ПЭ - $8,0 \pm 1,3$ мм против $7,0 \pm 1,1$ мм соответственно, $p < 0,001$, разность средних значений – 1,0 (95% ДИ = 0,53; 1,47)), что позволяет повысить эффективность программ ВРТ (частота клинической беременности 41,0% против 5,9% соответственно, $p = 0,037$, ОШ – 16,55 с 95% ДИ = 2,06; 133,03, частота живорождения 27,9% против 0%, $p = 0,034$).
3. Применение препарата гранулоцитарного колониестимулирующего фактора в добавлении к ЦГТ приводит к увеличению толщины эндометрия у пациенток с «тонким» эндометрием по сравнению только с назначением ЦГТ (средняя толщина эндометрия в день ПЭ - $7,9 \pm 1,8$ мм против $7,0 \pm 1,1$ мм, $p = 0,003$, разность средних значений – 0,96 (95% ДИ = 0,33; 1,59)), что позволяет повысить эффективность программ ВРТ (частота клинической беременности 46,4% против 5,9% соответственно, $p = 0,030$, ОШ – 21,43 с 95% ДИ=2,78; 164,94, частота живорождения 64,7% против 0%, $p = 0,015$).
4. Методы подготовки эндометрия с применением аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора не различались между собой по

- эффективности при сравнении исходов программ ВРТ (частота клинической беременности 41,0% и 46,4% соответственно, $p=0,762$, частота живорождения 27,9% и 64,7% соответственно, $p=0,444$).
5. Пороговым уровнем толщины эндометрия, при достижении которого возрастает частота наступления беременности у пациенток с «тонким» эндометрием является толщина эндометрия равная 7,9мм, площадь под кривой (AUC) = 0,876, чувствительность (Se)=73,9%, специфичность (Sp)=85,0%.
 6. Молекулярно-генетическими маркерами прогноза наступления беременности у пациенток с «тонким» эндометрием являются увеличение в эндометрии в «окно имплантации» экспрессии мРНК гена TAGLN в 1,9 раз и мРНК гена SFRP4 в 4,6 раз, экспрессия мРНК в данных генов имела умеренную корреляционную связь с наступлением беременности у пациенток данного исследования ($r=0,557$ и $r=0,527$ соответственно).
 7. Разработанный алгоритм подготовки пациенток с «тонким» эндометрием в программах вспомогательных репродуктивных технологий с применением гранулоцитарного колониестимулирующего фактора и аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами позволяет повысить эффективность программ ВРТ до 46,4%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При проведении программ криопереноса размороженного эмбриона пациенткам с «тонким» эндометрием (менее 7мм) для улучшения исходов программ ВРТ рекомендовано назначение препарата Г-КСФ или аутологичной ПОТр внутриматочно в дополнение к ЦГТ. Г-КСФ и аутологичную ПОТр можно одинаково рекомендовать для подготовки пациенток с «тонким» эндометрием к ПЭ, т.к. при их назначении не было отмечено различий в исходах программ ВРТ.
2. Препарат Г-КСФ рекомендовано вводить в дозировке 300 мкг внутриматочно на 5-6 и 8-9 дни м.ц в дополнение к ЦГТ.
3. Аутологичную ПОТр рекомендовано вводить внутриматочно в объеме 5-7мл на 8-9, 10-11 и 12-13 дни м.ц. в дополнение к ЦГТ. Изготовление аутологичной ПОТр следует проводить в специализированных отделениях гравитационной хирургии крови, кабинетах трансфузиологии сертифицированными специалистами, обеспечивающими получение качественной аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами в количестве не менее $0,5-0,6 \times 10^{11}$.
4. При проведении программы криопереноса размороженного эмбриона у пациенток с «тонким» эндометрием рекомендовано произвести ПЭ при достижении толщины эндометрия более 7,9мм.
5. В цикле предшествующем программе криопереноса размороженного эмбриона у пациенток с «тонким» эндометрием рекомендовано атравматичное взятие аспирата из полости матки в предполагаемое «окно имплантации» для определения уровня экспрессии мРНК генов TAGLN и SFRP4, повышение экспрессии данных генов является прогностически благоприятным признаком наступления беременности.

6. В клинической практике репродуктолога рекомендуется использовать алгоритм, разработанный на основании полученных данных (см. Приложение)

Список сокращений

АД – артериальное давление

АМГ – антимюллеров гормон

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии

Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

ДГЭАС – дегидроэпиандростерон-сульфат

ДИ – доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИГХ – иммуногистохимия

ИКСИ - (от *англ.* – intracytoplasmic sperm injection, ICSI) интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида в ооцит

ИЛ-3 – интерлейкин-3

ИМТ – индекс массы тела

ИР – индекс резистентности

КСФ – колониестимулирующий фактор

ЛГ – лютеинизирующий гормон

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

м.ц. – менструальный цикл

МСК – мезенхимальные стволовые клетки

НГЭ – наружный генитальный эндометриоз

ОИ – окно имплантации

ОТ-ПЦР - полимеразная цепная реакция со стадией обратной транскрипции

ОШ – отношение шансов

ПОТр – плазма, обогащенная тромбоцитами

ПР – прогестероновые рецепторы
ПЦР – полимеразная цепная реакция
ПЭ – перенос эмбриона
СПКЯ – синдром поликистозных яичников
Т – тестостерон
Т₄ – тироксин
ТТГ – тиреотропный гормон
УЗИ – ультразвуковое исследование
ФСГ – фолликулостимулирующий гормон
ХГЧ – хорионический гонадотропин
ЦГТ – циклическая гормональная терапия
цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат
ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение
ЭР – эстрогеновые рецепторы
βХГ – β-субъединица хорионического гонадотропина
3D – трехмерное изображение
AUC – площадь под кривой
Е2 – эстрадиол
EGF – эпидермальный фактор роста
GO – генная онтология
НОХ - гены гомеобокса
IFN – интерферон
LIF – лейкемия ингибирующий фактор
TNF – фактор некроза опухолей
VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста

Список литературы

1. Абдурахманова, Н. Ф. Результаты программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с «тонким» эндометрием / Н. Ф. Абдурахманова, А. Д. Гвоздева, М. М. Зиганшина, Н. В. Долгушина // Гинекология. – 2019. – Т. 21, N1. – С. 23 -27.
2. Боярский, К. Ю. Современный взгляд на проблему рецептивности и тонкого эндометрия в программах ВРТ (обзор литературы) / К. Ю. Боярский, С. Н. Гайдуков, Н. А. Пальченко // Проблемы репродукции. – 2013. -N 4. – С. 51 - 60.
3. ВРТ в России в 2017 Г. / В.С. Корсак [и др.] // Материалы XXIX международной конференции РАРЧ "Репродуктивные технологии сегодня и завтра". - Ростов-на-Дону – С. 6 –9
4. Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66. – № 2. – С. 104–111.
5. Здановский, В.М. Результаты применения вспомогательных репродуктивных технологий у бесплодных пациенток с патологией эндометрия / В. М. Здановский, Н. Б. Буравченко // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2010. - N 2. -С. 39 – 42.
6. Корнеева, И.Е. Другие патологические изменения матки и эндометрия как причина бесплодия (классификация, клиника, диагностика, лечение) / И.Е. Корнеева, А.А. Феоктистов, А.В. Шуршалина // Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению: Руководство для врачей. — М., 2005. — С. 397—427.
7. Корсак, В.С. Значимость толщины и ультразвуковой структуры эндометрия в программе ЭКО / В. С. Корсак, Б. А. Каменецкий, А. В. Михайлов // Проблемы репродукции. – 2001. – Т. 7, N 3. - С. 36 - 39.

8. Куликова, Г. В. Рецептивность «тонкого» эндометрия у пациенток в программах вспомогательных репродуктивных технологий / Г. В. Куликова, Н. Ф. Абдурахманова, Н. М. Файзуллина [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2019. -N 10. С. -100 - 107.
9. Митюрин, Е. В. Рецептивность эндометрия в программе экстракорпорального оплодотворения / Е. В. Митюрин, С. Г. Перминова, Т. А. Демура [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2014. - N2. – С. 14 – 20.
10. Подзолкова, Н. М. Бесплодие. Диагностика, современные методы лечения / Н. М. Подзолкова и др. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 144 С.
11. Половнева, М. И. Современные методы оценки «окна имплантации» у пациенток, проходящих лечение в программе экстракорпорального оплодотворения / М. И. Половнева, И. Е. Корнеева, О. В. Бурменская // *Акушерство и гинекология*. – 2018. -N 7. – С. 26 - 30.
12. ЭКО при гинекологических и эндокринных заболеваниях / Под ред. Т.А. Назаренко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – С. 176.
13. Acharya, S. The use of combination of pentoxifylline and tocopherol in women with a thin endometrium undergoing assisted conception therapies – a report of 20 cases/ S. Acharya, E. Yasmin, A. H. Balen // *Humam Fertility*. – 2009. - N 12. – P. 198–203.
14. Agerholm, I. Culture of human oocytes with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor has no effect on embryonic chromosomal constitution./ I. Agerholm, A. Loft, F. Hald et al. // *Reprod Biomed Online*. - 2010. – N 20. – P. 477– 561.
15. Aixa, M. Platelet-rich plasma as an adjuvant in the endometrial preparation of patients with refractory endometrium. / A. Molina, J. Sánchez, W. Sánchez et al. // *JBRA Assisted Reproduction*. – 2018. –Volume 22(1). - P. 42 - 48.

16. Al-Serehi, A. Placenta accreta in association with fibroids and Asherman Syndrome. / A. Al-Serehi, A. Mhoyan, M. Brown M. et al. // *J. Ultrasound Med.* – 2008. - N 27. - P. 1623–1628.
17. Alsousou, J. The role of platelet-rich plasma in tissue regeneration. / J. Alsousou, A. Ali, K. Willett et al. // *Platelets.* – 2013. – N 24. - P. 173–82.
18. Altmäe, S. Meta-signature of human endometrial receptivity: a meta-analysis and validation study of transcriptomic biomarkers. / S. Altmäe, M. Koel, U. Võsa et al. // *Sci Rep.* – 2017. – Volume 7(1). – P. 100 - 177.
19. Altmäe, S. Research resource: interactome of human embryo implantation: identification of gene expression pathways, regulation, and integrated regulatory networks. / S. Altmäe, J. Reimand, O. Hovatta et al. // *Mol Endocrinol.* – 2012. Volume 26(1). – P. 203–217.
20. Amable, P. R. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. / P. R. Amable, R. B. Carias, M.V. Teixeira et al. // *Stem Cell Res Ther.* – 2013. - N 4. – P. 67.
21. A.W., Le. PI3K, AKT, and P-AKT levels in thin endometrium. / A.W. Le, L.L. Shan, X.Y. Dai et al. // *Chen Genetics and Molecular Research.* – 2016. - Volume 15 (1).
22. Bakos, O. Transvaginal sonographic evaluation of endometrial growth and texture in spontaneous ovulatory cycles – a descriptive study. / O. Bakos, O. Lundkvist, T. Bergh et al. // *Hum Reprod.* – 1993. - N 8. – P. 799–806.
23. Barash, A. Local injury to the endometrium doubles the incidence of successful pregnancies in patients undergoing in vitro fertilization. / A. Barash, N. Dekel, S. Fieldust et al. // *Fertil Steril.* – 2003. – Volume 79. - P. 1317–1322.
24. Basir, G. S. Evaluation of cycle-to-cycle variation of endometrial responsiveness using transvaginal sonography in women undergoing assisted reproduction. / G. S. Basir, W. S. O, W. W. So et al. // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2002. - N 19. – P. 484–489.

25. Beyer, A. M. Endothelium-specific Interference with peroxisome proliferator activated receptor gamma causes cerebral vascular dysfunction in response to a high-fat diet. / A. M. Beyer, W. J. de Lange, C. M. Halabi et al. // *Circ Res.* – 2008. – N 103. – P. 654-661.
26. Bin, X. Two protocols to treat thin endometrium with granulocyte colony-stimulating factor during frozen embryo transfer cycles. / X. Bin, Z. Qiong, H. Jie et al. // *Reprod Biomed Online.* – 2015. – Volume 30 (4). – P. 349 – 358.
27. Blanquicett, C. Oxidative stress modulates PPAR gamma in vascular endothelial cells. / C. Blanquicett, B.Y. Kang, J. D. Ritzenthaler et al. // *Free Radic Biol Med.* – 2010. – N 48. – P. 1618 - 1625.
28. Bozdog, G. The impact of endometrial thickness and texture on intracytoplasmic sperm injection outcome. / G. Bozdog, I. Esinler, H. J. Yarali et al. // *Reprod Med.* – 2009. – N 54. – P. 303–3014.
29. Bustillo, M. Uterine receptivity in an oocyte donation programme. / M. Bustillo, L. W. Krysa, C. B. Coulam et al. // *Hum Reprod.* – 1995. – N 10. – P. 442 – 445.
30. Cakmak, H. Implantation failure: molecular mechanisms and clinical treatment. / H. Cakmak, H. S. Taylor et al. // *Hum Reprod Update.* – 2011. - N 7. – P. 242 - 253.
31. Casper, R.F. It's time to pay attention to the endometrium. / R. F. Casper // *Fertility and Sterility.* – 2011. – N 96. – P. 519–521.
32. Catt, J. W. Toxic effects of oxygen on human embryo development. / J. W. Catt, M. Henman. // *Human Reproduction.* – 2000. – N 15. – P. 199–206.
33. Cervello, I. Reconstruction of endometrium from human endometrial side population cell lines. / I. Cervello, A. Mas, Gil-Sanchis et al. // *PLoS ONE.* – 2011. - N 6. - e21221.
34. Cervello, I. Bone marrow-derived cells from male donors do not contribute to the endometrial side population of the recipient. / I. Cervello, C. Gil-Sanchis, A. Mas et al. // *PLoS ONE.* – 2012. - N 7. - e30260.

35. Chae, J. I. Proteomic analysis of pregnancy-related proteins from pig uterus endometrium during pregnancy. / J. I. Chae, J. Kim, S. G. Lee et al. // *Proteome Sci.* – 2011. – N 9. – P. 41.
36. Check, J. H. Evaluation of a nonhomogeneous endometrial echo pattern in the midluteal phase as a potential factor associated with unexplained infertility. / J. H. Check, R. Gandica, C. Dietterich et al. // *Fertility and Sterility.* – 2003. - N 79. – P. 590–593.
37. Check, J. H. Neither sildenafil nor vaginal estradiol improves endometrial thickness in women with thin endometria after taking oral estradiol in graduating dosages. / J. H. Check, V. Graziano, G. Lee et al. // *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* – 2004. – N 31. – P. 99–102.
38. Check, J. H. Adverse effect of a homogeneous hyperechogenic endometrial sonographic pattern, despite adequate endometrial thickness on pregnancy rates following in-vitro fertilization. / J. H. Check, D. Lurie, C. Dietterich et al. // *Human Reproduction.* – 1993. - N 8. – P. 1293–1296.
39. Chen, M. J. Extended estrogen administration for women with thin endometrium in frozen-thawed in vitro fertilization programs. / M. J. Chen, J. H. Yang, F. H. Peng et al. // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2006. – N 23. – P. 337–342.
40. Chiao, T.B. Role of pentoxifylline and vitamin E in attenuation of radiation-induced fibrosis. / T. B. Chiao, A. J. Lee. // *Ann. Pharmacother.* – 2005. – N 39. – P. 516–522.
41. Chung, K. Factors influencing adverse perinatal outcomes in pregnancies achieved through use of in vitro fertilization. / K. Chung, C. Coutifaris, R. Chalian et al. // *Fertility and Sterility.* – 2006. – N 86. – P. 1634–1641.
42. Cloke, B. The androgen and progesterone receptors regulate distinct gene networks and cellular functions in decidualizing endometrium. / B. Cloke, K. Huhtinen, L. Fusi et al. // *Endocrinology.* – 2008. – Volume 149(9). – P. 4462–4474.

43. Conforti, A. The management of Asherman syndrome: a review of literature. / A. Conforti, C. Alviggi, A. Mollo et al. // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2013. - N 11. – P. 118.
44. Critchley, H.O. Abdominal irradiation in childhood: the potential for pregnancy. / H.O. Critchley, W. H. Wallace, S. M. Shalet et al. // *J. Obstet. Gynaecol.* – 1992. – N 99. – P. 392–394.
45. Daiter, E. Expression of colony-stimulating factor-1 in the human uterus and placenta. / E. Daiter, S. Pampfer, Y. G. Yeung et al. // *Journal Clin Endocrinol Metab.* – 1992. – N 74. – P. 850–858.
46. Dale, D. C. Severe chronic neutropenia: treatment and follow-up of patients in the Severe Chronic Neutropenia International Registry. / D. C. Dale, T. E. Cottle, C. J. Fier et al. // *Am J Hematol.* – 2003. – N 72. – P. 82–93.
47. David, H. Barad. A randomized clinical trial of endometrial perfusion with granulocyte colony-stimulating factor in in vitro fertilization cycles: impact on endometrial thickness and clinical pregnancy rates. / David H. Barad, Yao Yu, Vitaly A. Kushnir. // *Fertility and Sterility.* – 2014. - Volume 101. - N 3. – P. 0015-0282.
48. Dhillon, R. S. Platelet-rich plasma therapy - future or trend? / R. S. Dhillon, E. M. Schwarz, M. D. Maloney. // *Arthritis Res Ther.* – 2012. - N 14. – P. 219.
49. Díaz-Gimeno, P. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature. / P. Díaz-Gimeno, J. A. Horcajadas, J.A. Martínez-Conejero et al. // *Fertility and Sterility.* – 2011. Volume 95(1). – P. 50-60.
50. Duan, J. S. Production of granulocyte colony stimulating factor in decidual tissue and its significance in pregnancy. / J. S. Duan. // *Osaka City Med J.* - 1990. - N 36. – P. 81-97.
51. Edwards, RG. Human implantation: the last barrier in assisted reproduction technologies? / R. G. Edwards. // *Reprod Biomed Online.* – 2006. – N 13. – P. 887–904.

52. Eftekhar, M. Effect of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) on IVF outcomes in infertile women: an RCT. / M. Eftekhar, R. Hosseini-sadat, R. Baradaran et al. // *Int J Reprod BioMed.* – 2016. - N 14. – P. 341-346.
53. El-Toukhy, T. The relationship between endometrial thickness and outcome of medicated frozen embryo replacement cycles. / T. El-Toukhy, A. Coomarasamy, M. Khairy et al. // *Fertility and Sterility.* – 2008. – N 89. - P. 832–839.
54. Emanuel, M. H. A prospective comparison of transvaginal ultrasonography and diagnostic hysteroscopy in the evaluation of patients with abnormal uterine bleeding: clinical implications. / M. H. Emanuel, M. J. Verdel, K. Wamsteker et al. // *Am J Obstet Gynecol.* – 1995. - N 172. – P. 547–552.
55. Tehraninejad, E. G-CSF intrauterine for thin endometrium, and pregnancy outcome. / E. Tehraninejad, F. D. Tanha, E. Asadi et al. // *Journal of Family and Reproductive Health.* - 2015.
56. Esmailzadeh, S. Endometrial thickness and pregnancy outcome after intrauterine insemination. / S. Esmailzadeh, M. Faramarzi. // *Fertility and Sterility.* – 2007. - N 88. – P. 432–437.
57. Fanchin, R. Vaginal versus oral E2 administration: effect on endometrial thickness, uterine perfusion, and contractility. / R. Fanchin, C. Righini, L. M. Shinnauer et al. // *Fertility and Sterility.* – 2012. - N 76. – P. 994–998.
58. Firouzabadi, R. D. Effect of sildenafil citrate on endometrial preparation and outcome of frozen-thawed embryo transfer cycles: a randomized clinical trial. / R. D. Firouzabadi, R. Davar, F. Hojjat et al. // *Iran J. Reprod. Med.* – 2013. – N 11. – P. 151–158.
59. Franasiak, J. M. Contribution of immunology to implantation failure of euploid embryos. / J. M. Franasiak, R. T. Scott. // *Fertility and Sterility.* - 2017. – N 7. – P. 1279-1283.
60. Friedler, S. The role of ultrasonography in the evaluation of endometrial receptivity following assisted reproductive treatments: a critical review. / S.

- Friedler, J. G. Schenker, A. Herman et al. // *Human Reproduction Update*. – 1996. - N 2. – P. 323–335.
61. Gargett, C.E. Uterine stem cells: what is the evidence? / C. E. Gargett // *Human Reproduction*. – 2007. - Update 13. – P. 87–101.
62. Gargett, C. E. Isolation and culture of epithelial progenitors and mesenchymal stem cells from human endometrium. / C. E. Gargett, K. E. Schwab, R. M. Zillwood et al. // *Biol. Reprod.* – 2009. – N 80. – P. 1136–1145.
63. Gargett, C. E. Endometrial reconstruction from stem cells. / C. E. Gargett, L. Ye // *Fertility and Sterility*. – 2012. - N 98. – P. 11-20.
64. Gellersen, B. Decidualization of the human endometrium: mechanisms, functions, and clinical perspectives. / B. Gellersen, I. A. Brosens, J. J. Brosens et al. // *Semin Reprod Med.* – 2007. – N 25. – P. 445 - 453.
65. Gnainsky, Y. Implantation: mutual activity of sex steroid hormones and the immune system guarantee the maternal-embryo interaction. / Y. Gnainsky, N. Dekel, I. Granot et al. // *Semin Reprod Med.* – 2014. – N 32. – P. 337 – 345.
66. Gomez, R. C. Colony-stimulating factors: clinical evidence for treatment and prophylaxis of chemotherapy-induced febrile neutropenia. / R. C. Gomez, M. A. Pinto, B. M. Gonzalez et al. // *Clin Transl Oncol.* – 2006. – N 8. – P. 729 – 734.
67. Gonen, Y. Endometrial thickness and growth during ovarian stimulation: a possible predictor of implantation in in vitro fertilization. / Y. Gonen, R. F. Casper, W. Jacobson et al. // *Fertility and Sterility*. – 1989. – N 52. – P. 446 – 450.
68. Grageda, E. Bone formation in the maxillary sinus by using platelet-rich plasma: an experimental study in sheep. / E. Grageda, J. L. Lozada, P. J. Boyne et al. // *J Oral Implantol.* – 2005. - N31. – P. 2 - 17.

69. Grow, D. R. Oral contraceptives maintain a very thin endometrium before operative hysteroscopy. / D. R. Grow, K. Iromloo // *Fertility and Sterility*. – 2006. - N 85. P. 204 – 207.
70. Grunfeld, L. High-resolution endovaginal ultrasonography of the endometrium: a noninvasive test for endometrial adequacy. / L. Grunfeld, B. Walker, P. A. Bergh et al. // *Obstet Gynecol*. – 1991. - N 78. – P. 200 – 204.
71. Guce, A. I. HLA-DO acts as a substrate mimic to inhibit HLA-DM by a competitive mechanism. / A. I. Guce, S. E. Mortimer, T. Yoon et al. // *Nat Struct Mol Biol*. – 2013. – N 20. P. 90 – 8.
72. Guzeloglu, K. O. In vivo and in vitro regulation of Akt activation in human endometrial cells is estrogen dependent. / K. O. Guzeloglu, U. A. Kayisli, G. Luleci et al. // *Biol.Reprod*. – 2004. – N 71. – P. 714 - 721.
73. Harriet, C. F. Idiopathic infertility in women is associated with distinct changes in proliferative phase uterine fluid proteins. / H. C. Fitzgerald, J. Evans, N. Johnson et al. // *Biology of Reproduction*. – 2018. - Volume 98, Issue 6. – P. 752 – 764.
74. Haynes, M. P. Src kinase mediates phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent rapid endothelial nitric-oxide synthase activation by estrogen. / M. P. Haynes, L. Li, D. Sinha et al. // *J. Biol. Chem*. – 2003. – N 278. – P. 2118 – 2123.
75. Herington, J. L. Do molecular signals from the conceptus influence endometrium decidualization in rodents? / J. L. Herington, B. M. Bany // *J. Exp. Zoolog. B Mol. Dev. Evol*. – 2009. – N 312B. – P. 797 – 816.
76. Hock, D. L. Sonographic assessment of endometrial pattern and thickness in patients treated with clomiphene citrate, human menopausal gonadotropins, and intrauterine insemination. / D. L. Hock, M. K. Bohrer, C. V. Ananth et al. // *Fertility and Sterility*. – 1997. - N 68. – P. 242 – 245.
77. Hooker, A. B. Systematic review and meta-analysis of intrauterine adhesions after miscarriage: prevalence, risk factors and longterm

- reproductive outcome. / A. B. Hooker, M. Lemmers, A. L. Thurkow et al. // Human Reproduction. – 2014. - Update 20. – P. 2062 – 2078.
78. Horcajadas, J.A. Wide genomic analysis of human endometrial receptivity: new times, new opportunities. / J. A. Horcajadas, A. Pelicer, C. Simon et al. // Human Reproduction. – 2007. – Volume 13(1). – P. 77 - 86.
79. Hsieh, Y.Y. Lowdose aspirin for infertility womenwith thin endometrium receiving intrauterine insemination: a prospective, randomized study. / Y. Y. Hsieh, H. D. Tsai, C. C. Chang et al. // J. Assist. Reprod. Genet. – 2000. - N 17. – P. 174 – 177.
80. Hurst, B. S. Low-dose aspirin does not improve ovarian stimulation, endometrial response or pregnancy rates for in vitro fertilization. / B. S. Hurst, J. T. Bhojwani, P. B. Marshburn et al. // J Exp Clin Assist Reprod. – 2005. – Volume 2. – P. 8.
81. Hussein, A. A. Renal ischaemia/reperfusion injury: possible role of aquaporins. / A. A. Hussein, Z. H. El-Dken, N. Barakat et al. // Acta Physiol (Oxf). – 2012. - Volume 204 (3). – P. 308 - 316.
82. Inhorn, M. C. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. / M. C. Inhorn, P. Patrizio // Human Reproduction Update. – 2015. - N 7. – P. 411 - 426.
83. Jensen, J. R. A potential role for colony-stimulating factor 1 in the genesis of the early endometriotic lesion. / J. R. Jensen, C. A. Witz, R. S. Schenken et al. // Fertility and Sterility. – 2010. – N 93. P. 251 – 256.
84. Jie, L. The effect of G-CSF on infertile women undergoing IVF treatment: a meta-analysis. / L. Jie, M. Sien, C. Yang et al. // Systems Biology in Reproductive Medicine. - 2017
85. Jindal, U. Favorable infertility outcomes following anti-tubercular treatment prescribed on the sole basis of a positive polymerase chain reaction test for endometrial tuberculosis. / U. Jindal, S. Verma, Y. Bala et al. // Human Reproduction. – 2012. – N 27.- P. 1368 – 1374.

86. Jinno, M. Measurement of endometrial tissue blood flow: a novel way to assess uterine receptivity for implantation. / M. Jinno, T. Ozaki, M. Iwashita et al. // *Fertility and Sterility*. – 2001. - N 76. – P. 1168 – 1174.
87. J., Alfer. Insufficient Angiogenesis: Cause of Abnormally Thin Endometrium in Subfertile Patients? / J. Alfer, R. Dittrich, M. W. Beckmann et al. // *Geburtsh Frauenheilk.* – 2017. - N 77. – P. 756 – 764.
88. J. A., Garcia-Velasco. Strategies to manage refractory endometrium: state of the art in 2016. / J. A. Garcia-Velasco et al. // *Reproductive BioMedicine Online*. – 2016.
89. Kashida, S. Regulation and role of vascular endothelial growth factor in the corpus luteum during mid-pregnancy in rats. / S. Kashida, N. Sugino, S. Takiguchi et al. // *Biol Reprod.* – 2001. – N 64. – P. 317 – 323.
90. Kasius, A. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and meta-analysis. / A. Kasius, J. G. Smit, H. L. Torrance et al. // *Human Reproduction*. – 2014. - Update 20. – P. 530 – 541.
91. Keator, C. S. Estrogen and progesterone regulate expression of the endothelins in the rhesus macaque endometrium. / C. S. Keator, K. Mah, L. Ohm et al. // *Human Reproduction*. – 2011. – Volume 26(7). – P. 1715 – 1728.
92. Khalifa, G. Sonographic appearance of the endometrium: the predictive value for the outcome of in vitro fertilization in stimulated cycles. / G. Khalifa, R. G. Brzyski, S. Oehninger et al. // *Human Reproduction*. - 1992. – N 7. – P. 677 – 680.
93. Khorram, O. Influence of progesterone on endometrial nitric oxide synthase expression. / O. Khorram, G. Han. // *Fertility and Sterility*. – 2009. - N 91 (Suppl). – P. 2157 - 2162.
94. Kim, J.Y. Select nutrients in the ovine uterine lumen. VII. Effects of arginine, leucine, glutamine, and glucose on trophectoderm cell signaling, proliferation, and migration. / J. Y. Kim, R. C. Burghardt, G. Wu et al. // *Biol. Reprod.* – 2011. - N 84. – P. 62 – 69.

95. Kim, H. Effect of Autologous Platelet-Rich Plasma Treatment on Refractory Thin Endometrium During the Frozen Embryo Transfer Cycle: A Pilot Study. / H. Kim, J. E. Shin, H. S. Koo et al. // *Front. Endocrinol.* – 2019. - Volume 10:61.
96. Kovacs, P. The effect of endometrial thickness on IVF/ICSI outcome. / P. Kovacs, S. Matyas, K. Boda et al. // *Human Reproduction.* – 2003. – N 18. – P. 2337 – 2341.
97. Ledee, N. Cytokines and chemokines in follicular fluids and potential of the corresponding embryo: the role of granulocyte colony-stimulating factor. / N. Ledee, R. Lombroso, L. Lombardelli et al. // *Human Reproduction.* – 2008. - N 23. – P. 2001 – 2009.
98. Ledee, N. The uterine immune profile may help women with repeated unexplained embryo implantation failure after in vitro fertilization. / N. Ledee, M. Petitbarat, L. Chevrier et al. // *Am J Reprod Immunol.* -2016. –N 75. – P. 388 - 401.
99. Ledee-Bataille ,N. Combined Treatment by pentoxifillyne and tocopherol for recipient women with a thin endometrium enrolled in an oocyte donation programme. / N. Ledee-Bataille, F. Olivennes, J. L. Lefaix et al. // *Human Reproduction.* – 2002. - N 17. – P. 1249 – 1253.
100. Lee, J. W. Platelet-rich plasma: quantitative assessment of growth factor levels and comparative analysis of activated and inactivated groups. / J. W. Lee, O. H. Kwon, T. K. Kim et al. // *Arch Plast Surg.* – 2013. - N 40. – P. 530 - 535.
101. Lee, A. Endometrial volume change during spontaneous menstrual cycles: volumetry by transvaginal three-dimensional ultrasound. / A. Lee, M. Sator, A. Kratochwil et al. // *Fertility and Sterility.* – 1997. – N 68. – P. 831 – 835.
102. Letur-Konirsch, H. Successful pregnancies after combined pentoxifylline-tocopherol treatment in women with premature ovarian failure who are resistant to hormone replacement therapy. / H. Letur-

- Konirsch, S. Delanian. // *Fertility and Sterility*. – 2003. – N 79. – P. 439 – 441.
103. Levent, M. Thin endometrium in assisted reproductive technology. / M. Levent, C. Senturk, E. Tamer et al. // *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. – 2008. - N 20. – P. 221 – 228.
104. Licth, P. Is human chorionic gonadotropin directly involved in the regulation of human implantation? / P. Licth, H. Flur, J. Neuwinger et al. // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2007. - N 269. – P. 85 – 92.
105. Lignieres, B. Biological effects of estradiol-17 beta in postmenopausal women: oral versus percutaneous administration. / B. Lignieres, A. Basdevant, G. Thomas et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1986. - N 62. – P. 536 – 541.
106. Lindhard, A. Ultrasound characteristics and histological dating of the endometrium in a natural cycle in infertile women compared with fertile controls. / A. Lindhard, V. Ravn, U. Bentin-Ley et al. // *Fertility and Sterility*. – 2006. - N 86. – P. 1344 – 1355.
107. Liu, K. E. The impact of a thin endometrial lining on fresh and frozen-thaw IVF outcomes: an analysis of over 40 000 embryo transfers. / K. E. Liu, M. Hartman, A. Hartman et al. // *Human Reproduction*. - 2018. – Volume 33(10). – P. 1883 – 1888.
108. Loeb, L. Uber die experimentelle Erzeugung von Knoten von Deciduagewebe in dem Uterus des Meerschweinchen nach statgefundener Copulation. / L. Loeb // *Zbt Allgem Path Path Anat.* – 1907. – N 18. – P. 563 – 565.
109. Loke, Y. Decidua in human implantation. / Y. Loke, A. King, T. Burrows et al. // *Human Reproduction*. – 1995. – Volume 10(Suppl 2). – P. 14 – 21.
110. Maekawa, R. Thin endometrium transcriptome analysis reveals a potential mechanism of implantation failure. / R. Maekawa, T. Taketani, Y. Mihara et al. // *Reprod Med Biol.* – 2017. – Volume 16(2). – P. 206 – 227.

111. Makker, A. Endometrial receptivity: clinical assessment in relation to fertility, infertility, and antifertility. / A. Makker, M. M. Singh et al. // *Med Res Rev.* – 2006. - N 26. – P. 699 – 746.
112. Martinez-Rubio, M. P. Ultrasonographic and pathological endometrial findings in asymptomatic postmenopausal women taking antihypertensive drugs. / M. P. Martinez-Rubio, J. L. Alcazar et al. // *Maturitas* 2003. – N 46. – P. 27 – 32.
113. M. Eftekhar. Transvaginal perfusion of G-CSF for infertile women with thin endometrium in frozen ET program: A nonrandomized clinical trial. / M. Eftekhar, M. Sayadi, F. Arabjahvani et al. // *Iran J Reprod Med.* – 2014. - Volume 12. - N 10. – P. 661-666.
114. M. Eftekhar. Can autologous platelet rich plasma expand endometrial thickness and improve pregnancy rate during frozen-thawed embryo transfer cycle? A randomized clinical trial. / M. Eftekhar, N. Neghab, E. Naghshineh et al. // *Taiwan Association of Obstetrics & Gynecology.* – 2018. – P. 1028 – 1059.
115. Mehrafza, M. Comparing the Impact of Autologous Platelet-rich Plasma and Granulocyte Colony Stimulating Factor on Pregnancy Outcome in Patients with Repeated Implantation Failure. / M. Mehrafza, R. Kabodmehri, Z. Nikpouri et al. // *J Reprod Infertil.* – 2019. - Volume 20(1). – P. 35 - 41.
116. Matteo, M. Abnormal pattern of lymphocyte subpopulation in the endometrium of infertile women with chronic endometritis. / M. Matteo, E. Cicinelli, P. Greco et al. // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2009. - N 61. – P. 322 – 329.
117. Mazzon, I. Does hysteroscopic myomectomy reduce cold loop intrauterine adhesion? A retrospective study. / I. Mazzon, A. Favilli, M. Cocco et al. // *Fertility and Sterility.* – 2014. - N 101. – P. 294 – 298.

118. Meier P. G-CSF induced arteriogenesis in humans: molecular insights into a randomized controlled trial. / P. Meier, S. Gloekler, B. Oezdemir et al. // *Curr Vasc Pharmacol.* – 2013. - N 11. – P. 38 - 46.
119. McWilliams, G. D. Changes in measured endometrial thickness predict in vitro fertilization success. / G. D. McWilliams, J. L. Frattarelli et al. // *Fertility and Sterility.* – 2007. - N 88. – P. 74 – 81.
120. M. Kunicki. Granulocyte colony stimulating factor treatment of resistant thin endometrium in women with frozen-thawed blastocyst transfer. / M. Kunicki, K. Łukaszuk, J. Liss et al. // *Systems Biology in Reproductive Medicine.* – 2016. – N 125. – P. 15 - 25.
121. M. Gao. Abnormal expression of estrogen receptor is associated with thin endometrium. / M. Gao, C. Cao, X. Zhang et al. // *Gynecological Endocrinology.* - 2019. - N 155. – P. 40 – 45.
122. Miravet-Valenciano, J. A. Understanding and improving endometrial receptivity. / J. A. Miravet-Valenciano, A. Rincon-Bertolin, F. Vilella et al. // *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2015. – N 27. – P. 187 – 192.
123. Miwa, I. Pathophysiologic features of “thin” endometrium. / I. Miwa, H. Tamura, A. Takasaki et al. // *Fertility and Sterility.* – 2009. – N 91. – P. 998 – 1004.
124. Mylonas, I. Steroid receptors ER- α , ER- β , PR-A and PR-B are differentially expressed in normal and atrophic human endometrium. / I. Mylonas, U. Jeschke, N. Shabani et al. // *Histol. Histopathol.* – 2007. – N 22. – P. 169 - 176.
125. Nagori, C.B. Endometrial regeneration using autologous adult stem cells followed by conception by in vitro fertilization in a patient of severe Asherman’s syndrome. / C. B. Nagori, S. Y. Panchal, H. Patel et al. // *J. Hum. Reprod. Sci.* – 2011. - N 4. – P. 43 – 48.
126. Nazari, L. “Effects of autologous platelet-rich plasma on endometrial expansion in patients undergoing frozen-thawed embryo transfer: A double-

- blind RCT.” / L. Nazari, S. Salehpour, S. Hoseini et al. // *Int J Reprod BioMed.* – 2019. - N 17. – P. 443 – 448.
127. N. Gleicher. A pilot cohort study of granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of unresponsive thin endometrium resistant to standard therapies. / N. Gleicher, A. Kim, T. Michaeli et al. // *Human Reproduction.* – 2012. – Volume 0. – P. 1 – 6.
128. Nilsson, M. Association of estrogen receptor β gene polymorphisms with bulimic disease in women. / M. Nilsson, S. Naessen, I. Dahlman et al. // *Mol. Psychiatry.* – 2004. - N 9. – P. 28 - 34.
129. N. Gleicher. Successful treatment of unresponsive thin endometrium. / N. Gleicher, V. Andrea, D. H. Barad et al. // *Fertility and Sterility.* – 2011. Volume 95. - N 6.
130. Okman-Kilic, T. The effects of antihypertensive agents on endometrial thickness in asymptomatic, hypertensive, postmenopausal women. / T. Okman-Kilic, M. Kucuk et al. // *Menopause.* – 2003. – N 10. – P. 362 – 365.
131. Oliveira, J. B. Endometrial ultrasonography as a predictor of pregnancy in an in-vitro fertilization programme after ovarian stimulation and gonadotrophin-releasing hormone and gonadotrophins. / J. B. Oliveira, R. L. Baruffi, A. L. Mauri et al. // *Human Reproduction.* – 1997. – N 12. – P. 2515 – 2518.
132. O. V. Burmenskaya. Transcription profile analysis of the endometrium revealed molecular markers of the personalized ‘window of implantation’ during invitro fertilization. / O. V. Burmenskaya, V. K. Bozhenko, V. Yu. Smolnikova et al. // *Gynecological Endocrinology.* – 2017. - N 33. – P. 22 – 27.
133. Paiva, P. Human chorionic gonadotrophin regulates FGF2 and other cytokines produced by humanendometrialepithelial cells, providing a mechanism for enhancing endometrialreceptivity. / P. Paiva, N. J. Hannan, C. Hincks et al. // *Human Reproduction.* – 2011. - N 26. – P. 1153 – 1162.

134. Pampfer, S. Expression of the colonystimulating factor-1 receptor (c-fms proto-oncogene product) in the human uterus and placenta. / S. Pampfer, E. Daiter, D. Barad et al. // *Biol Reprod.*- 1992. – N 46. – P. 48 – 57.
135. Papanikolaou, E.G. Follicular HCG endometrium priming for IVF patients experiencing resisting thinendometrium. A proof of concept study. / E. G. Papanikolaou, D. Kyrou, G. Zervakakou et al. // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2013. - N 30. – P. 1341 – 1345.
136. Paria, B. C. Molecular signaling in uterine receptivity for implantation. / B. C. Paria, H. Song, S. K. Dey et al. // *Semin Cell Dev Biol.* – 2000. – N 11. – P. 67 – 76.
137. Pellicer, A. In vitro fertilization plus perimplantation genetic diagnosis in patients with recurrent miscarriage: an analysis of chromosome abnormalities in human preimplantation embryos. / A. Pellicer, C. Rubio, F. Vidal et al. // *Fertility and Sterility.* – 1999. – N 71. – P. 1033 – 1039.
138. Piccinni, M. P. T cells in normal pregnancy and recurrent pregnancy loss. / M. P. Piccinni // *Reprod Biomed Online.* – 2006. - N 13. – P. 840 - 844.
139. Piccinni, M. P. T helper cell mediated-tolerance towards fetal allograft in successful pregnancy. / M. P. Piccinni, L. Lombardelli, F. Logiodice et al. // *Clin Mol Allergy CMA.* – 2015. – P. 13 - 19.
140. Pinto, V. Altered uterine contractility in women with chronic endometritis. / V. Pinto, M. Matteo, R. Tinelli et al. // *Fertility and Sterility.* – 2015. - N 103. – P. 1049 – 1052.
141. Psychoyos, A. Uterine receptivity for nidation. / A. Psychoyos // *Ann NY Acad Sci.* – 1986. - N 476. – P. 36 - 42.
142. Prapas, N. Low dose human chorionic gonadotropin during the proliferative phase may adversely affect endometrial receptivity in oocyte recipients. / N. Prapas, A. Tavaniotou, Y. Panagiotidis et al. // *Gynecol. Endocrinol.* – 2009. - N 25. - P 53 – 59.

143. Puerto, B. Ultrasonography as a predictor of embryo implantation after in vitro fertilization: a controlled study. / B. Puerto, M. Creus, F. Carmona et al. // *Fertility and Sterility*. – 2003. – N 79. – P. 1015 – 1022.
144. Raine-Fenning, N. J. Quantifying the changes in endometrial vascularity throughout the normal menstrual cycle with threedimensional power Doppler angiography. / N. J. Raine-Fenning, B. K. Campbell, N. R. Kendall et al. // *Human Reproduction*. – 2004. - N 19. – P. 330 – 338.
145. Revel, A. Defective endometrial receptivity. / A. Revel // *Fertility and Sterility*. – 2012. - N 97. –P. 1028 – 1032.
146. Ribeiro, V. C. Should we continue to measure endometrial thickness in modern-day medicine? The effect on live birth rates and birth weight. / V. C. Ribeiro, S. Santos-Ribeiro, N. De Munck et al. // *Reprod BioMed Online*. – 2018. – N 36. – P. 416 – 426.
147. Richter, K. S. Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, based on 1,294 cycles of in vitrofertilization with transfer of two blastocyst-stage embryos. / K. S. Richter, K. R. Bugge, J. G. Bromer et al. // *Fertility and Sterility*. – 2007. – N 87. – P. 53 – 59.
148. Romero, R. Can endometrial infection/inflammation explain implantation failure, spontaneous abortion, and preterm birth after in vitro fertilization? / R. Romero, J. Espinoza, M. Mazor et al. // *Fertility and Sterility*. – 2004. - N 82. – P. 799 – 804.
149. Rossman, I. The injection of the blood vascular system of the uterus. / I. Rossman, G. W. Bartelmez et al. // *Anat Rec*. – 1957. – N 128. – P. 223 – 231.
150. Rui, Y. A Study on the Estrogen Receptor Gene Polymorphism and Its Expression in Thin Endometrium of Unknown Etiology. / Y. Rui, L. Ai-Wen et al. // *Gynecol Obstet Invest*. – 2012. – N 74. – P. 13 – 20.
151. Ryo, M. Thin endometrium transcriptome analysis reveals a potential mechanism of implantation failure. / M. Ryo, T.Taketani, Y. Mihara et al. // *Reprod Med Biol*. – 2017. – N 16. – P. 206 – 227.

152. Saha, T. K. The validity of transvaginal ultrasound measurement of endometrial thickness: a comparison of ultrasound measurement with direct anatomical measurement. / T. K. Saha, S. A. Amer, J. Biss et al. // *Bjog.* - 2004. - N 111. – P. 1419 – 1424.
153. Sasson, I.E. Stem cells and the pathogenesis of endometriosis. / I. E. Sasson, H. S. Taylor et al. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* - N 1127. – P. 106 – 115.
154. Savaris, R. F. Endometrial gene expression in early pregnancy: lessons from human ectopic pregnancy. / R. F. Savaris, A. E. Hamilton, B. A. et al. // *Lessey Reprod Sci.* – 2008. – Volume 15(8). – P. 797 – 816.
155. Schild R, L. Three-dimensional endometrial volume calculation and pregnancy rate in an in-vitro fertilization programme. / R. L. Schild, D. Indefrei, S. Eschweiler et al. // *Human Reproduction.* – 1999. - N 14. – P. 1255 – 1258.
156. Schild, R. L. Endometrial receptivity in an in vitro fertilization program as assessed by spiral artery blood flow, endometrial thickness, endometrial volume, and uterine artery blood flow. / R. L. Schild, C. Knobloch, C. Dorn et al. // *Fertility and Sterility.* – 2001. – N 75. – P. 361 – 366.
157. Schipper, E. Intrauterine Adhesions: Hysteroscopic Evaluation and Treatment, Prevention and Management. / E. Schipper, R. F. Valle, C. Nezhat et al. // 3rd Ed. *Society of Laparoscopic Surgeons.* – 2010. – P. 1 – 3.
158. Seppala, M. Glycodelin: a major lipocalin protein of the reproductive axis with diverse actions in cell recognition and differentiation. / M. Seppala, R. N. Taylor, H. Koistinen et al. // *Endocr Rev.* – 2002. - N 23. – P. 401 – 430.
159. Shapiro, H. The use of vaginal ultrasound for monitoring endometrial preparation in a donor oocyte program. / H. Shapiro, C. Cowell, R. F. Casper et al. // *Fertility and Sterility.* – 1993. - N 59. – P. 1055 – 1058.
160. Sharara, F.I. Endometrial pattern on the day of oocyte retrieval is more predictive of implantation success than the pattern or thickness on the

- day of hCG administration. / F. I. Sharara // *J Assist Reprod Genet.* – 1999.- N 16. – P. 523 – 528.
161. Sharkey, A. M. Vascular endothelial growth factor expression in human endometrium is regulated by hypoxia. / A. M. Sharkey, K. Day, A. McPherson et al. // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2000. – N 85. – P. 402 – 409.
162. Sharkey, A. Cytokines and implantation. / A. Sharkey // *Rev Reprod.* – 1998. – N 3. – P. 52 – 61.
163. Sher, G. Assessment of the late proliferative phase endometrium by ultrasonography in patients undergoing in-vitro fertilization and embryo transfer (IVF/ET). / G. Sher, C. Herbert, G. Maassarani et al. // *Human Reproduction.* – 1991. - N 6. – P. 232 – 237.
164. Sher, G. Vaginal sildenafil (Viagra): a preliminary report of a novel method to improve uterine artery blood flow and endometrial development in patients undergoing IVF. / G. Sher, J. D. Fisch et al. // *Human Reproduction.* – 2000. – N 5. – P. 806 – 809.
165. Sher, G. Effect of vaginal sildenafil on the outcome of in vitro fertilization (IVF) after multiple IVF failures attributed to poor endometrial development. / G. Sher, J. D. Fisch et al. // *Fertility and Sterility.* – 2002. – N 78. – P. 1073 – 1076.
166. Shiau, C. Intrapartum spontaneous uterine rupture following uncomplicated resectoscopic treatment of Asherman's syndrome. / C. Shiau, C. Hsieh, C. Chiang et al. // *Chang Gung Med. J.* – 2005. - N 28. – P. 123 – 127.
167. Shifren, J. L. Ovarian steroid regulation of vascular endothelial growth factor in the human endometrium: implications for angiogenesis during the menstrual cycle and in the pathogenesis of endometriosis. / J. L. Shifren, J. F. Tseng, C. J. Zaloudek et al. // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1996. – N 81. – P. 3112 – 3118.

168. Simon, C. Embryonic regulation in implantation. / C. Simon, J. C. Martin, A. Galan et al. // *Semin Reprod Endocrinol.* – 1999. – N 17. – P. 267 – 274.
169. Simon, C. Early pregnancy losses in in vitro fertilization and oocyte donation. / C. Simon, J. Landeras, J. L. Zuzuarregui et al. // *Fertility and Sterility.* – 1999. – N 72. - P. 1061 – 1065.
170. Simon, C. Molecular interactions between embryo and uterus in the adhesion phase of human implantation. / C. Simon, C. Moreno, J. Remohi et al. // *Human Reproduction.* – 1998. – N 13. – P. 219 – 232.
171. Singh, N. Autologous stem cell transplantation in refractory Asherman's syndrome: a novel cell based therapy. / N. Singh, S. Mohanty, T. J. Seth et al. // *Human Reproduction Sci.* – 2014. - N 7. – P. 93 – 98.
172. Singh, R. A prospective randomized controlled study (RCT) of Intra-uterine administration of Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) before embryo-transfer on resistant thin endometrium in IVF cycles. / R. Singh, M. Singh, A. Jindal et al. // *Human Reproduction.* – 2015. – N 30. – P. 280.
173. Steer, C. V. The use of transvaginal color flow imaging after in vitro fertilization to identify optimum uterine conditions before embryo transfer. / C. V. Steer, S. Campbell, S. L. Tan et al. // *Fertility and Sterility.* – 1992. - N 57. – P. 372 – 376.
174. Steer, C. V. Vaginal color Doppler assessment of uterine artery impedance correlates with immunohistochemical markers of endometrial receptivity. / C. V. Steer, S. L. Tan, D. Dillon et al. // *Fertility and Sterility.* – 1995. – Volume 63(1). – P. 101 - 108.
175. Sterzik, K. Lack of correlation between ultrasonography and histologic staging of the endometrium in in vitro fertilization (IVF) patients. / K. Sterzik, D. Grab, V. Schneider et al. // *Ultrasound Med Biol.* – 1997. - N 23. – P. 165 – 170.

176. Sugino, N. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors in human endometrium throughout the menstrual cycle and in early pregnancy. / N. Sugino, S. Kashida, A. Karube-Harada et al. // *Reproduction*. – 2002. – N 123. – P. 379 – 387.
177. Sunita, R. T. Autologous intrauterine platelet-rich plasma instillation for suboptimal endometrium in frozen embryo transfer cycles: A pilot study. / T. R. Sunita, V. N. Manasi, D. S. Akash et al. // *Journal of human reproductive sciences*. – 2017. - Volume 10. - Issue 3. – P. 208 - 212.
178. Takahashi, K. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. / K. Takahashi, K. Tanabe, M. Ohnuki et al. // *Cell*. – 2007. - N 131. – P. 861 – 872.
179. Takasaki, A. Endometrial growth and uterine blood flow: a pilot study for improving endometrial thickness in the patients with a thin endometrium. / A. Takasaki A, H. Tamura, I. Miwa et al. // *Fertility and Sterility*. – 2010. - N 93. – P. 1851 – 1858.
180. Taskin, O. Role of endometrial suppression on the frequency of intrauterine adhesions after surgery resectoscope. / O. Taskin, S. Sadik, A. Onoglu et al. // *J. Am. Assoc. Gynecol. Laparosc*. – 2000. - N 7. – P. 351 – 354.
181. Taylor, H.S. Endometrial cells derived from donor stem cells in bone marrow transplant recipients. / H. S. Taylor // *JAMA*. – 2004. - N 292. – P. 81 – 85.
182. Thomas, J. Mechanisms of mobilization of hematopoietic progenitors with granulocyte colony-stimulating factor. / J. Thomas, F. Liu, D. C. Link et al. // *Curr Opin Hematol*. – 2002. – N 9. – P. 183 - 189.
183. Torry, D. S. Vascular endothelial growth factor expression in cycling human endometrium. / D. S. Torry, V. J. Holt, J. A. Keenan et al. // *Fertility and Sterility*. – 1996. – N 66. – P. 72 – 80.

184. Touboul, C. Uterine synechia after hysteroscopic bipolar resection of submucosal myomas in patients With infertility. / C. Touboul, H. Fernandez, X. Deffieux et al. // *Fertility and Sterility*. – 2009. - N 92. – P. 1690 – 1693.
185. Toyofuku, A. Cyclic and characteristic expression of phosphorylated Akt in human endometrium and decidual cells in vivo and in vitro. / A. Toyofuku, T. Hara, T. Taguchi et al. // *Human Reproduction*. – 2006. - N 21. – P. 1122 – 1128.
186. Vineet, V. M. Effects of Granulocyte Colony-Stimulating Factor (GCSF) on Persistent Thin Endometrium in Frozen Embryo Transfer (FET) Cycles. / M. V. Vineet, C. Sumesh, S. Urmila et al. // *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India*. – 2016. - Volume 66(S1). – P. 407 – 411.
187. von Grothusen, C. Recent advances in understanding endometrial receptivity: molecular basis and clinical applications. / C. von Grothusen, S. Lalitkumar, N. R. Boggavarapu et al. // *Am J Reprod Immunol*. -2014. – N 72. – P. 148 – 157.
188. Wada, I. The benefits of low-dose aspirin therapy in women with impaired utrine perfusion during assisted conception. / I. Wada, C. C. Hsu, G. Williams et al. // *Human Reproduction*. – 1994. - N 9. – P. 1954 – 1957.
189. Weckstein, L. N. Low-dose aspirin for oocyte donation recipients with a thin endometrium: prospective, randomized study. / L. N. Weckstein, A. Jacobson, D. Galen et al. // *Fertility and Sterility*. – 1997. – N 68. – P. 927 – 930.
190. Wu, H. M. Detection of the subendometrial vascularization flow index by three-dimensional ultrasound may be useful for predicting the pregnancy rate for patients undergoing in vitro fertilizationembryo transfer. / H. M. Wu, C. H. Chiang, H. Y. Huang et al. // *Fertility and Sterility*. – 2003. - N 79. – P. 507 – 511.
191. Yajie, C. Autologous platelet-rich plasma promotes endometrial growth and improves pregnancy outcome during in vitro fertilization. / C.

- Yajie, L. Jingjie, C. Yuqing et al. // *Int J Clin Exp Med.* – 2015. – Volume 8(1). – P. 1286 - 1290.
192. Yajie, C. Autologous platelet-rich plasma infusion improves clinical pregnancy rate in frozen embryo transfer cycles for women with thin endometrium. / C. Yajie, L. Jingjie, W. Li-na et al. // *Medicine.* – 2019. - 98:3(e14062).
193. Yang, J. H. Optimal waiting period for subsequent fertility treatment after hysteroscopic various surgeries. / J. H. Yang, M. J. Chen, C. D. Chen et al. // *Fertility and Sterility.* – 2013. - N 99. – P. 2092 – 2096.
194. Yang, J. H. Association of endometrial blood flow as determined by a modified colour Doppler technique with subsequent outcome of in-vitro fertilization. / J. H. Yang, M. Y. Wu, C. D. Chen et al. // *Human Reproduction.* – 1999. - N 14. – P. 1606 – 1610.
195. Yang, H. W. Detection of reactive oxygen species (ROS) and apoptosis in human fragmented embryos. / H. W. Yang, K. J. Hwang, H. C. Kwon et al. // *Human Reproduction.* – 1998. – N 13. – P. 998 – 1002.
196. Ye, Y. ER suppresses slug expression directly by transcriptional repression. / Y. Ye, Y. Xiao, W. Wang et al. // *Biochem J.* – 2008. - N 416. – P. 179 – 187.
197. Yuan, X. Endometrial thickness as a predictor of pregnancy outcomes in 10787 fresh IVF-ICSI cycles. / X. Yuan, S. H. Saravelos, Q. Wang et al. // *Reprod BioMed Online.* – 2016. – N 33. – P. 197 – 205.
198. Yu, L. Granulocyte Colony-Stimulating Factor Administration for Infertile Women With Thin Endometrium in Frozen Embryo Transfer Program. / L. Yu, P. Ping, C. Xiaoli et al. // *Reproductive Sciences.* – 2014. - N 21. – P. 381.
199. Zadehmodarres, S. Treatment of thin endometrium with autologous platelet-rich plasma: a pilot study. / S. Zadehmodarres, S. Salehpour, N. Saharkhiz et al. // *JBRA Assist Reprod.* – 2017. – N 21. – P. 54 – 56.

200. Zaidi, J. Endometrial thickness, morphology, vascular penetration and velocimetry in predicting implantation in an in vitro fertilization program. / J. Zaidi, S. Campbell, R. Pittrof et al. // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 1995. - N 6. – P. 191 – 198.
201. Zaidi, J. Assessment of uterine artery blood flow on the day of human chorionic gonadotropin administration by transvaginal color Doppler ultrasound in an in vitro fertilization program. / J. Zaidi, R. Pittrof, A. Shaker et al. // *Fertility and Sterility.* – 1996. - N 65. – P. 377 – 381.
202. Zenke, U. Transfer and uterine factors are the major recipient-related determinants of success with donor eggs. / U. Zenke, R. J. Chetkowski // *Fertility and Sterility.* – 2004. - N 82, - P. 850 – 856.
203. Zhang, J. Effect of endometrial thickness on birthweight in frozen embryo transfer cycles: an analysis including 6181 singleton newborns. / J. Zhang, H. Liu, X. Mao et al. // *Human Reproduction.* – 2019. – Volume 34(9). – P. 1707 – 1715.
204. Zhang, S. Effects of platelet-rich plasma on the activity of human menstrual blood-derived stromal cells in vitro. / S. Zhang, P. Li, Z. Yuan et al. // *Stem Cell Res Ther.* – 2018. - N 9. – P. 48.
205. Zhang, X. Increased endometrial thickness is associated with improved treatment outcome for selected patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. / X. Zhang, C. H. Chen, E. Confino et al. // *Fertility and Sterility.* - 2005. - N 83. – P. 336 – 340.
206. Zhao, S. Elevation of plasma soluble CD26 levels during pregnancy. / S. Zhao, M. Song, Y. Fan et al. // *J Obstet Gynaecol Res.* – 2012. – N 38. – P. 272 – 279.
207. Zhou, L. Local injury to the endometrium in controlled ovarian hyperstimulation cycles improves implantation rates. /L. Zhou, R. Li, R. Wang et al. // *Fertility and Sterility.* – 2008. – N 89. – P. 1166 – 1176.

208. Zinger, M. Successful use of vaginal sildenafil citrate in two infertility patients with Asherman's syndrome. / M. Zinger, J. H. Liu, M. A. Thomas et al. // J. Womens Health. – 2006. - N 15. – P. 442 – 444.
209. Zollner, U. Impact of three-dimensionally measured endometrial volume on the pregnancy rate after intrauterine insemination. / U. Zollner, K. P. Zollner, S. Blissung et al. // Zentralbl Gynakol. – 2003. - N 125. – P. 136 – 141.

**Алгоритм подготовки пациенток с «тонким» эндометрием
в программах ВРТ**

