

<https://doi.org/10.17116/repro201723573-83>

Тканевые и молекулярные эффекты кавитированных растворов в восстановлении показателей рецептивности эндометрия у пациенток с маточной формой бесплодия

О.А. МЕЛКОЗЕРОВА, Н.В. БАШМАКОВА, Г.Н. ЧИСТЯКОВА, А.В. ЕСАРЕВА, О.Г. БАРЛИТ, А.А. ГИНИЯТОВА

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Минздрава России, Екатеринбург, Россия, 620028

Цель исследования — изучить эффективность кавитированных низкочастотным ультразвуком растворов гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF) в восстановлении показателей рецептивности эндометрия у пациенток с маточной формой бесплодия.

Материал и методы. Обследованы 92 женщины с маточным фактором бесплодия, обусловленным гипоплазией эндометрия, в динамике терапии, включающей орошение полости матки кавитированными ультразвуком низкой частоты лекарственными растворами. Контрольную группу составили 28 здоровых фертильных женщин. Проводили гистологическое и иммуногистохимическое исследование эндометрия в день предполагаемого «окна имплантации» ЛГ+7, в динамике до начала терапии и в следующем цикле после окончания лечения.

Результаты. После кавитационного орошения полости матки у 62 (67,39%) женщин с бесплодием в образцах эндометрия отмечалась адекватная васкуляризация стромы (до лечения 36,95%; $p=0,017$; в контроле 78,57%), у 68 (73,91%) женщин — снижение плотности стромального матрикса, у 64 (69,56%) — по данным световой микроскопии определялись зрелые пиноподии (исходно 28,26%; $p=0,0015$). На фоне терапии произошла нормализация отношения экспрессии ER α /PR в строме имплантационного эндометрия, что характеризовалось преобладанием пула PR ($1,01\pm 0,34$ до лечения против $0,36\pm 0,03$ после терапии; $p=0,040$; в контроле $0,34\pm 0,06$; $p>0,05$). Показатели стромальной экспрессии натуральных маточных киллеров CD56^{bright+} на фоне лечения у пациенток с бесплодием приходят в соответствие с показателями здоровых фертильных женщин (количество клеток в поле зрения): до лечения $35,21\pm 2,14$, после лечения $45,75\pm 3,18$, в контроле $47,8\pm 2,13$; $p>0,05$). Отмечается значимое снижение стромальной экспрессии CD3+: $78,17\pm 6,89$ против $23,83\pm 3,63$ клеток в поле зрения; $p=0,004$). Уровень экспрессии CD34 в строме эндометрия после лечения достоверно возрос ($20,88\pm 0,77$ против $33,83\pm 3,63$ клеток в поле зрения; $p=0,035$).

Заключение. Применение кавитированных растворов G-CSF для орошения полости матки представляется эффективным способом для восстановления тканевых и молекулярных показателей рецептивности эндометрия у пациенток с маточной формой бесплодия, обусловленной гипоплазией эндометрия.

Ключевые слова: маточная форма бесплодия, гипоплазия эндометрия, кавитационное орошение полости матки, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор.

Tissue and molecular effects of the cavitated solution in the endometrial receptivity rehabilitation of patients with the uterine infertility

O.A. MELKOZEROVA, N.V. BASHMAKOVA, G.N. CHISTYAKOVA, A.V. ESAREVA, O.G. BARLIT, A.A. GINIYATOVA

Ural Research Institute of Maternity and Child Care Russian Ministry of Health, Ekaterinburg, Russia, 620028

Objective — to evaluate the efficiency of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) cavitated low-frequency sonication in restoring endometrial receptivity in patients with uterine infertility.

Material and methods. 92 women with uterine infertility due to endometrial hypoplasia were examined in the dynamics of therapy including irrigation of the uterine cavity with cavitated low-frequency ultrasound with drug solutions. The control group consisted of 28 healthy fertile women. A histological and immunohistochemical study of the endometrium was performed on the «implantation window» LH + 7, in dynamics before the start of therapy and in the next cycle after the end of treatment.

Results. After cavitation irrigation of the uterine cavity, 62 (67.39%) women with infertility in the endometrial specimens had adequate vascularization of the stroma (before treatment, 36.95%; $p=0.017$, in control 78.57%), in 68 (73, 91%) women — a decrease in the density of the stromal matrix, in 64 (69.56%) — according to light microscopy data, mature pinopodia were determined (initially 28.26%; $p=0.0015$). On the background of therapy, the ratio of ER α /PR expression in the stroma of the implantation endometrium was normalized, which was characterized by the prevalence of the PR pool (1.01 ± 0.34 before treatment, 0.36 ± 0.03 after therapy; $p=0.040$, in control 0.34 ± 0.06 ; $p>0.05$). The parameters of stromal expression of natural uterine killers CD56 + bright against the background of treatment in patients with infertility come in accordance with the indices of healthy fertile women (from 35.21 ± 2.14 to 45.75 ± 3.18 cells l/s; in the control 47.8 ± 2.13 cells in l/s; $p>0.05$). A significant decrease in stromal expression of CD3+ is noted: 78.17 ± 6.89 cells in l/s versus 23.83 ± 3.63 cells in l/s; $p=0.004$. The expression level of CD34 in the endometrial stroma after the treatment was significantly increased (20.88 ± 0.77 cells in l/s versus 33.83 ± 3.63 cells in l/s; $p=0.035$).

Conclusion. The use of G-CSF cavitation solutions for irrigation of the uterine cavity appears to be effective in restoring tissue and molecular endometrial receptivity in patients with uterine infertility due to endometrial hypoplasia.

Keywords: uterine infertility, endometrial hypoplasia, cavitation irrigation of uterine cavity, granulocyte colony-stimulating factor.

Значительные успехи репродуктивной медицины, достигнутые за последние десятилетия, не решили проблему снижения демографических ресурсов нашей страны. По данным ВОЗ, частота бесплодных браков в России превышает 15%, что считается критическим уровнем для воспроизводства населения нации [1—3]. С внедрением вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) изменилась парадигма лидирующего фактора бесплодия: доминирующее положение теперь занимает маточный фактор, который составляет до 62% в структуре непреодоленных причин женского бесплодия в популяции российских женщин [4, 5].

Нарушение полноценной имплантации при переносе эмбрионов хорошего качества в связи с нерцептивным эндометрием является наиболее значимой причиной репродуктивных неудач ВРТ, занимая в их структуре до 70% [4, 6]. Поэтому в последние годы в фокусе научного интереса находятся исследования, посвященные изучению рецептивности эндометрия при патологии имплантации, связанной с бесплодием и привычным невынашиванием беременности.

Серьезнейшей проблемой является отсутствие мер воздействия на нерцептивный эндометрий. Описанные в литературе [7, 8] способы улучшения рецептивности эндометрия разрозненны и имеют весьма низкую доказательную базу. Проблема восприимчивости эндометрия к лекарственным факторам связана с отсутствием точки приложения для лечебного воздействия. Эффективность гормональной терапии рефрактерного эндометрия (уровень доказательности С) недостаточна 42—48% [9]. Средства, улучшающие микроциркуляцию и реологию крови, действуют на системном уровне, не приводя к существенным улучшениям репродуктивных исходов.

Трудности медикаментозного лечения больных с эндометриальной дисфункцией, ассоциированной с бесплодием, не только связаны со снижением восприимчивости эндометрия за счет изменения паттерна экспрессии его рецепторных белков, но и обусловлены поражением терминальных ветвей сосудистой сети матки, затрудняющим доставку действующих веществ в ткани. Данные обстоятельства определили поиск принципиально иных факторов воздействия на нерцептивный эндометрий, а также технологий доставки лекарственных веществ в пораженные ткани с применением физических энергий.

Цель работы — изучение эффективности применения кавитированных низкочастотным ультразву-

ком растворов гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF) в восстановлении показателей рецептивности эндометрия у пациенток с маточной формой бесплодия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено открытое проспективное рандомизированное контролируемое исследование с участием 92 женщин с маточной формой бесплодия, обусловленной гипоплазией эндометрия. Контрольную группу составили 28 здоровых фертильных женщин, в анамнезе которых не отмечалось случаев невынашивания беременности, имели место роды в срок через естественные родовые пути без отклонения от физиологического течения беременности и родового акта, закончившиеся рождением здоровых детей.

Критерии включения в исследование: репродуктивный возраст (18—40 лет), маточный фактор бесплодия, обусловленный гипоплазией эндометрия; толщина эндометрия не более 7 мм в день ЛГ+7 (период предполагаемого «имплантационного окна»), нормокоагуляция.

Критерии исключения: возраст моложе 18 и старше 40 лет; онкологические заболевания, соматическая патология, при которой вынашивание беременности противопоказано; бесплодие, не ассоциированное с гипоплазией эндометрия.

Технология ультразвуковой кавитационной терапии предусматривала проведение трех курсов орошения полости матки по пять процедур каждая, ежемесячно. Первые два курса процедур проводились в раннюю фолликулярную фазу на 7—9-й день менструального цикла, в качестве озвученной среды использовался физиологический раствор — 0,9% раствор натрия хлорида.

Третий курс проводился на 7-й день после овуляции (ЛГ+7), в период «имплантационного окна». В качестве озвученной среды использован препарат Filgrastim (рег. №ЛСР-002698/10) в дозе 300 мкг/мл в разведении на 200 мл 5% раствора декстрозы. Доза препарата Filgrastim в приготовленном растворе составляла 3 мкг/мл.

Для проведения орошения использовался аппарат Фотек АК-100-25 с усовершенствованным внутриматочным наконечником АА 211, исключающим трубный рефлюкс лекарственного вещества при выполнении процедуры. Скорость инфузии лекарственного препарата 100 мл/мин. Частота ультразву-

ковых колебаний 25 кГц, длительность процедуры 3—5 мин.

Данное исследование предварялось научным экспериментом по изучению воздействия энергии ультразвуковых волн низкой частоты (25 кГц/мин) на стабильность молекул действующего вещества препарата Filgrastim (G-CSF) с использованием метода масс-спектрометрии на квадрупольно-время-пролетном масс-спектрометре сверхвысокого разрешения maXis impact HD, «Bruker Daltonik GmbH». На основании протокола №74 от 27.04.15, масс-спектрометрический анализ молекул действующих веществ лекарственного препарата Filgrastim до и после обработки низкочастотным ультразвуком в спектре диапазона 20—25 кГц в течение 300 с свидетельствует о стабильном состоянии молекул и отсутствии их фрагментации на фоне ультразвукового воздействия.

Исследование эндометрия проводилось в день предполагаемого «окна имплантации» ЛГ+7, определяемого по данным мочевого теста на овуляцию, в динамике до начала терапии и в следующем цикле после окончания лечения.

Материалы биоптатов эндометрия для гистологического исследования фиксировали в 10% нейтральном формалине, заключали в парафин, делали срезы толщиной 5 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопическое исследование проводили на микроскоп Primo Star e Carl Zeiss (Германия).

Для иммуногистохимического исследования использовали двухэтапный стрептавидин-биотин-пероксидазный метод с демаскировкой антигена и применением стандартных наборов моноклональных и поликлональных антител фирм «Bond RTU Primary» и «Dako», США. На парафиновых срезах по стандартной методике с предварительной демаскировкой антигенов в СВЧ-печи с использованием соответствующих стандартных антител выявляли следующие маркеры: ER α , клон 6F-11; PR, клон 16; p53, клон DO-7; bcl-2, клон 100/D5; CD34, клон QBEnd/10; CD3, клон LN10; CD20, клон MJ1; CD56, клон 1213C3, Ki-67, клон SP6; поликлональные антитела к CD138, p16, VEGF-A, VEGF-R1, CD62L, LIF-R, LIF, NOXA; G-CSF, клон 2D10; HIF-1 α , клон OZ12.

Проявление реакции осуществлялось системой визуализации Dako Cytomation. Для визуализации первичных антител использовали безбиотиновую систему детекции Super Sensitive Polymer-HRP Detection System («Biogenex»).

Иммуногистохимическое исследование проводили на серийных парафиновых срезах. Результаты реакции рецепторов к эстрогенам и прогестеронам идентифицировались по ядерному или мембранному окрашиванию клеток для соответствующих маркеров с оценкой процента окрашенных клеток и ин-

тенсивности окраски клеток. Экспрессию рецепторов к эстрогенам и прогестеронам оценивали по 3-балльной шкале (слабая, средняя и выраженная степень). Для анализа результатов иммуногистохимических реакций использовали метод гистологического счета H-SCORE по формуле: $HS = 1a + 2b + 3c$, где a — % слабоокрашенных клеток, b — % умеренно окрашенных клеток, c — % сильно окрашенных клеток, 1, 2, 3 — интенсивность окрашивания, выраженная в баллах.

Для оценки экспрессии антигенов Ki-67, bcl-2, p16, NOXA в железах подсчитывали индексы пролиферации и апоптоза — отношение количества окрашенных ядер клеток к общему числу ядер в процентах при подсчете не менее 400 ядер. Экспрессия Ki-67, bcl-2, p16, NOXA в строме оценена путем подсчета количества окрашенных ядер в поле зрения при увеличении 400, при этом изучали не менее 10 полей зрения. Экспрессию CD3, CD20, CD56, CD138 оценивали путем подсчета позитивных клеток в поле зрения при увеличении 400, при этом изучали не менее 10 полей зрения.

Экспрессию CD34, HIF-1 α , VEGF-A и VEGF-R1 определяли в эпителии, строме эндометрия и эндотелии сосудов. Активность проявлялась в виде окрашивания мембраны и цитоплазмы эпителиальных и эндотелиальных клеток.

Экспрессию CD62L, LIF, LIF-R определяли на мембранах клеток поверхностного эпителия желез эндометрия путем подсчета количества окрашенных клеток в поле зрения при увеличении 400, при этом изучали не менее 10 полей зрения.

Статистический анализ данных осуществлялся с помощью пакета прикладных программ Statistica 7.0. Результаты обрабатывали методом вариационной статистики и представляли в виде $M \pm m$. Оценку достоверности различий средних величин и относительных показателей проводили с использованием t -критерия Стьюдента. За уровень значимости в исследовании принимали $p < 0,05$. Различия между непараметрическими переменными выявляли при помощи χ^2 Пирсона. Относительный риск оценивали по показателю отношения шансов (oddsratio — OR) с 95% доверительным интервалом (95% CI). Нулевая гипотеза отвергалась при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Средний возраст обследованных женщин составил $33,13 \pm 0,72$ года в основной группе и $32,52 \pm 0,68$ года в контрольной группе ($p > 0,05$). Группы были сопоставимы по возрасту.

Основной нозологией, формирующей клиническую картину маточной формы бесплодия, ассоциированного с «тонким» эндометрием, был хронический эндометрит, верифицированный в 68,47% наблюдений. Хронический эндометрит часто сочетался

Таблица 1. Морфологическая характеристика эндометрия у пациенток с бесплодием, обусловленным гипоплазией эндометрия в динамике терапии, ЛГ7+ день цикла ($p\% \pm m/абс.$)

Характеристика	До лечения (n=92)	После лечения (n=92)	Контроль (n=28)	χ^2/p		
				χ^2/p_{1-2}	χ^2/p_{1-3}	χ^2/p_{2-3}
Соответствует фазе цикла	82,61±7,01 (38)	86,95±7,12 (40)	89,28±6,16 (25)	0,432 0,243	0,661 0,416	0,035 0,849
Равномерное распределение желез	50,00±8,98 (23)	73,91±8,08 (34)	81,14±7,61 (23)	4,329 0,012	6,331 0,011	0,058 0,758
Железы в поздней пролиферации: выраженное хронометрическое отставание	37,03±3,71 (17)	10,86±3,64 (5)	10,71±5,22 (3)	6,423 0,016	6,745 0,016	0,224 0,217
Железы в ранней секреции: умеренное хронометрическое отставание	28,26±8,71 (13)	21,73±7,82 (10)	21,42±8,15 (6)	0,822 0,251	0,269 0,603	0,095 0,876
Железы в фазе средней секреции: хронометрическое соответствие	71,73±8,07 (33)	82,61±8,16 (38)	74,42±8,59 (20)	0,961 0,327	0,035 0,847	1,235 0,127
Железы в поздней секреции: умеренное хронометрическое опережение	17,39±7,01 (8)	8,69±2,75 (8)	10,71±6,39 (3)	3,019 0,082	0,596 0,45	0,748 0,749
Строма рыхлая	21,73±7,42 (10)	73,91±7,18 (34)	85,71±6,96 (24)	14,327 0,001	16,286 0,001	1,545 0,083
Плотная строма	69,56±8,32 (32)	23,91±8,85 (11)	10,71±6,16 (3)	12,323 0,002	19,924 0,0001	0,364 0,696
Сосуды стромы сужены	21,73±7,42 (10)	13,04±5,14 (6)	7,14±1,32 (2)	1,832 0,078	2,371 0,123	0,043 0,873
Выраженный сосудистый компонент стромы	36,95±8,65 (17)	67,39±6,16 (31)	78,57±8,15 (22)	6,627 0,011	9,638 0,0019	0,147 0,798
Наличие пиноподий	28,26±7,52 (13)	69,56±8,84 (32)	82,14±7,6 (23)	6,607 0,015	11,124 0,008	0,807 0,636
Полипы эндометрия	21,73±7,42 (10)	10,86±5,16 (5)	17,85±7,61 (5)	1,238 0,256	0,101 0,749	1,768 0,174
Хронический эндометрит	32,61±8,32 (15)	6,52±3,16 (3)	7,14±2,1 (2)	11,578 0,001	5,137 0,013	0,567 0,878

Примечание. С учетом поправки Бонферони, при сравнении трех групп наблюдения достоверными считаются различия при уровне значимости $p < 0,017$.

с воспалительными заболеваниями нижнего отдела репродуктивного тракта (56,52% против 7,14% в контроле; $p=0,04$). Около $1/3$ (28,26%) пациенток в основной группе страдали хроническим аднекситом и имели в анамнезе инфекции, передаваемые половым путем. Структура органических поражений матки, приводящих к нарушению фертильности, была представлена синдромом Ашермана (23,91%), пороками развития матки (7,69%).

Особенностью акушерского анамнеза пациенток с бесплодием, ассоциированным с «тонким» эндометрием, является доминирование у них вторичного бесплодия (67,39%). При этом только у $1/3$ (35,48%) пациенток основной группы вторичному бесплодию предшествовали роды. Главным образом вторичному бесплодию предшествовала серия медицинских абортс неразвивающихся беременностей (в среднем $2,46 \pm 0,54$ случая прерывания беременности), либо спонтанные аборты (в среднем $1,86 \pm 0,56$ случая абортс на одну пациентку данной группы).

По данным анамнеза, доминирующее положение в структуре репродуктивных потерь у пациенток основной группы принадлежит неразвивающейся беременности (63,83%), которую можно считать од-

ним из клинических проявлений эндометриопатии. Показана высокая частота (40,21%) хирургического аборта в анамнезе у пациенток с бесплодием, ассоциированным с «тонким» эндометрием. К методам ВРТ прибегали 69,56% пациенток основной группы. Число попыток ЭКО, предпринятых женщинами с бесплодием и гипоплазией эндометрия, достигало 6, что свидетельствует об отсутствии эффекта от проведения программ ВРТ у данных пациенток. 45,65% пациенток основной группы относились к категории *recurrent implantation failure* и имели две и более неудачные попытки ЭКО.

При анализе морфологической картины эндометрия в динамике терапии с применением кавитационного орошения полости матки раствором G-CSF констатировано восстановление синхронизации созревания желез эндометрия в среднесекреторной фазе менструального цикла в большинстве (82,61%) образцов имплантационного эндометрия женщин основной группы, что не отличалось от контрольных значений (74,42%; $p > 0,05$), тогда как до лечения только 57,77% образцов эндометрия при гистологическом исследовании соответствовало средней стадии секреции (табл. 1).

У пациенток основной группы частота верификации в период «имплантационного окна» образцов эндометрия с железами в стадии пролиферации снизилась до 10,86% против 37,03% до лечения ($p=0,016$). Это свидетельствует о нормализации системной и паракринной регуляции взаимодействия стромального и железистого компонентов эндометрия на фоне комплексной терапии.

Наиболее важным эффектом ультразвуковой кавитационной терапии представляется ее воздействие на строму эндометрия. После кавитационного орошения полости матки у 73,91% женщин с бесплодием удалось добиться снижения плотности стромального матрикса эндометрия, что имеет важное значение в секреторном ремоделировании эндометрия в период «окна имплантации». Рыхло лежащие волокна стромы имели в образцах эндометрия пациенток основной группы равномерную васкуляризацию с хорошим просветом сосудов и равномерным распределением желез в стадии секреции. У 67,39% женщин с бесплодием на фоне ультразвуковой кавитационной терапии в образцах эндометрия отмечалась адекватная васкуляризация стромы — до лечения 36,95% ($p=0,017$), в контроле — 78,57%.

Выраженное сужение сосудов стромы, обеднение стромальной матрицы сосудистым компонентом, признаки склероза сосудов отмечались после комплексной терапии гораздо реже — у 13,69% женщин с бесплодием (до лечения — у 21,73%).

Влияние комплексной терапии с применением ультразвукового кавитационного орошения полости матки G-CSF коснулось и маркеров тканевой рецептивности эндометрия. Отмечалось достоверное увеличение пула зрелых пиноподий в образцах эндометрия, обнаруживаемых по данным световой микроскопии в период «окна имплантации» у женщин с бесплодием по сравнению с исходной картиной до начала лечения (69,56% после лечения, 28,26% до лечения; $p=0,0015$).

При сравнительном анализе тканевого рецепторного статуса пациенток с репродуктивными неудачами, связанными с гипоплазией эндометрия, в динамике терапии обращает на себя внимание ряд положительных аспектов, связанных с изменением эндометриальной стероидной рецепции в группах наблюдения. Отмечена нормализация пула ER α в строме и железах эндометрия в среднюю лютеиновую фазу цикла во всех группах наблюдения до уровня, статистически соответствующего контрольным значениям (табл. 2). При этом после лечения исчезли достоверные различия в уровне экспрессии ER α в железах имплантационного эндометрия пациенток с бесплодием, которые отмечались до начала терапии: 231,09 \pm 8,76 балла до лечения против 198,47 \pm 18,68 балла в контроле; $p=0,044$) и 222,78 \pm 14,22 балла после терапии против 198,47 \pm 18,68 балла в контроле ($p>0,05$) (рис. 1).

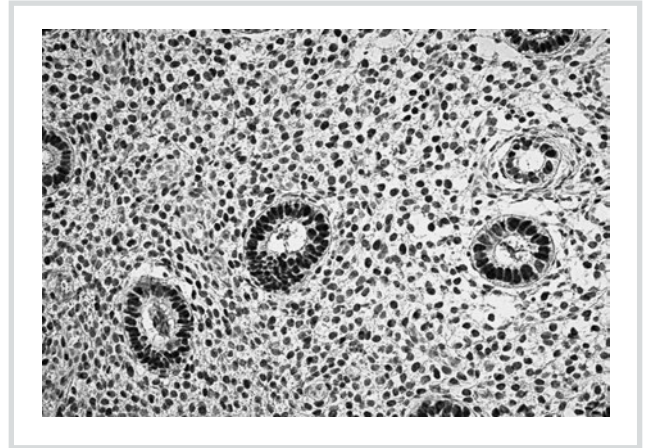


Рис. 1. До лечения: интенсивная ядерная экспрессия ER α железами и стромой имплантационного эндометрия (ЛГ 7+), наблюдаемая при нарушении рецептивности эндометрия.

Здесь и на рис. 2—4: световая микроскопия. Ув. 400.

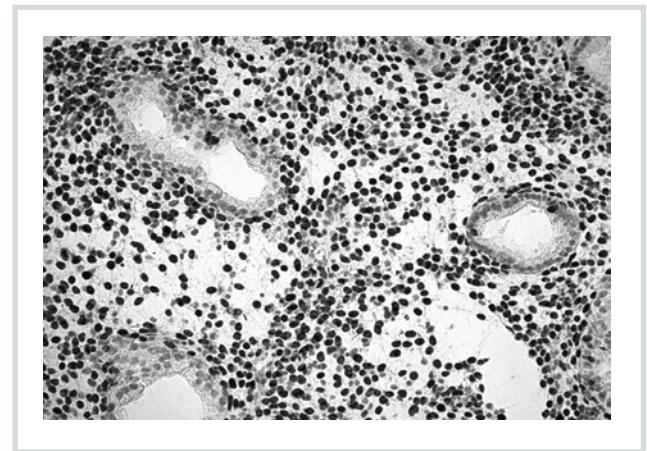


Рис. 2. После терапии: правильный паттерн экспрессии PR в имплантационном эндометрии: интенсивная экспрессия PR в ядрах стромы и исчезновение экспрессии PR в ядрах желез эндометрия (день цикла ЛГ 7+).

За счет этого произошла нормализация соотношения экспрессии ER α /PR в строме имплантационного эндометрия у данных пациенток, что характеризуется преобладанием пула прогестероновых рецепторов (рис. 2). Данный показатель, до лечения достоверно превышавший контрольные значения (1,01 \pm 0,34 против 0,34 \pm 0,06 соответственно; $p=0,040$), после терапии статистически соответствует показателям контрольной группы (0,36 \pm 0,03 против 0,34 \pm 0,06 соответственно; $p>0,05$). Та же тенденция отмечается и в железах эндометрия пациенток основной группы, однако здесь не получены достоверные различия показателей в динамике терапии (см. табл. 2).

В отношении презентации иммунокомпетентных клеток в имплантационном эндометрии отмеча-

Таблица 2. Иммуногистохимические показатели экспрессии клеточных и молекулярных маркеров рецептивной функции эндометрия (количество клеток в поле зрения, %) у женщин с маточным бесплодием, обусловленным гипоплазией эндометрия, в динамике терапии ($M \pm m$)

Параметр	Бесплодие ($n=92$)		Контроль ($n=28$)	p
	до лечения	после лечения		
ER α :				
в строме	117,19 \pm 10,05	101,56 \pm 18,75	95,53 \pm 15,30	нд
в железах	231,10 \pm 8,76	222,78 \pm 14,22	198,47 \pm 18,68	$p_{1-3}=0,044$
PR:				
в строме	265,48 \pm 5,13	266,67 \pm 7,41	263,47 \pm 17,13	нд
в железах	214,71 \pm 13,02	231,00 \pm 21,06	231,21 \pm 24,44	нд
ER α /PR:				
в строме	0,45 \pm 0,04	0,32 \pm 0,08	0,34 \pm 0,06	$p_{1-2}=0,042$
в железах	1,75 \pm 0,30	1,08 \pm 0,48	1,17 \pm 0,29	$p_{1-3}=0,040$ нд
CD3:				
в строме	78,17 \pm 6,89	23,83 \pm 3,63	3,00 \pm 1,50	$p_{1-2}=0,001$ $p_{1-3}=0,000$ $p_{2-3}=0,003$
в железах	50,56 \pm 4,61	26,00 \pm 5,48	11,00 \pm 1,53	$p_{1-2}=0,021$ $p_{1-3}=0,015$
CD20:				
в строме	25,71 \pm 5,42	2,75 \pm 0,26	0,80 \pm 0,41	$p_{1-2}=0,031$ $p_{1-3}=0,015$
в железах	6,13 \pm 1,32	2,52 \pm 0,29	3,00 \pm 1,47	нд
CD56+:				
в строме	35,21 \pm 2,14	45,75 \pm 3,18	47,8 \pm 2,13	$p_{1-2}=0,032$
в железах	7,32 \pm 1,12	17,28 \pm 2,32	14,56 \pm 2,14	$p_{1-5}=0,035$
CD138+:				
в строме	21,81 \pm 3,41	7,23 \pm 2,78	0	$p_{1-2}=0,035$
G-CSF:				
в строме	116,45 \pm 11,94	125,00 \pm 16,83	128,33 \pm 22,63	нд
в железах	232,74 \pm 10,19	226,67 \pm 16,22	258,80 \pm 12,20	нд
Ki-67:				
в строме	26,60 \pm 3,10	23,00 \pm 1,20	34,00 \pm 5,08	нд
в железах	64,44 \pm 8,41	55,00 \pm 10,76	75,00 \pm 19,06	нд
p53:				
в строме	34,86 \pm 5,68	53,00 \pm 2,12	81,81 \pm 7,61	$p_{1-2}=0,034$ $p_{1-3}=0,015$
в железах	59,29 \pm 7,08	72,00 \pm 8,01	93,83 \pm 1,23	$p_{1-3}=0,025$
bcl2:				
в строме	27,50 \pm 3,73	14,38 \pm 1,63	12,25 \pm 3,59	нд
в железах	62,38 \pm 4,06	22,33 \pm 4,32	23,00 \pm 3,07	$p_{1-2}=0,004$ $p_{1-3}=0,009$
NOXA:				
железы	254,19 \pm 8,12	234,44 \pm 15,94	274,44 \pm 13,31	нд
LIF в железах	120,00 \pm 5,90	143,33 \pm 6,20	132,62 \pm 10,19	$p_{1-2}=0,047$
LIF-R, баллы:				
в строме	67,74 \pm 10,92	103,75 \pm 8,49	85,56 \pm 19,31	$p_{1-2}=0,001$ $p_{1-3}=0,022$
в железах	123,55 \pm 12,02	140,00 \pm 18,09	165,56 \pm 23,16	$p_{1-3}=0,043$
CD62-L железы	207,07 \pm 11,70	235,00 \pm 11,84	171,29 \pm 19,41	$p_{2-3}=0,003$
CD34 в эндотелии стромы	20,88 \pm 0,77	33,83 \pm 3,63	37,99 \pm 1,23	$p_{1-2}=0,035$ $p_{1-3}=0,026$
VEGF-R1, баллы				
в строме	43,00 \pm 5,62	25,44 \pm 9,59	15,02 \pm 3,97	$p_{1-3}=0,033$
VEGF-A в строме	216,00 \pm 9,05	231,67 \pm 14,16	268,00 \pm 10,38	$p_{1-3}=0,018$
VEGF-A/VEGF-R1	5,02 \pm 0,62	14,62 \pm 0,68	17,87 \pm 2,38	$p_{1-2}=0,008$ $p_{1-3}=0,013$
HIF1- α в строме	6,52 \pm 0,26	6,43 \pm 0,46	5,02 \pm 0,55	нд
HIF1- α /CD34	1,18 \pm 0,52	0,34 \pm 0,02	0,27 \pm 0,03	нд

Примечание. нд — недостоверно.

ется выраженная динамика в уровне экспрессии CD3+, CD20+, CD56+, CD138+ на фоне терапии. Установлено достоверное снижение стромальной экспрессии CD3+ в основной группе наблюдения (количество клеток в поле зрения): до лечения $78,17 \pm 6,89$, после лечения $23,83 \pm 3,63$ ($p=0,004$). При этом теряется достоверность различий данных показателей относительно контрольных значений (см. табл. 2). Аналогичным образом на фоне лечения наблюдалось снижение уровня экспрессии CD3+ в железах эндометрия в основной группе (количество клеток в поле зрения): до лечения $50,56 \pm 4,61$, после лечения $26,00 \pm 5,48$ ($p=0,021$). На фоне терапии отмечалось снижение стромальной экспрессии CD20+ (количество клеток в поле зрения): до лечения $25,71 \pm 5,42$, после лечения $2,75 \pm 0,26$ ($p=0,031$).

Показатели стромальной экспрессии натуральных маточных киллеров CD56+^{bright} на фоне лечения у пациенток с бесплодием приходят в соответствие с показателями у здоровых фертильных женщин: до лечения $35,21 \pm 2,14$, после лечения $45,75 \pm 3,18$, в контроле $47,8 \pm 2,13$ ($p>0,05$). В железах имплантационного эндометрия изменения в уровне экспрессии CD56+ на фоне терапии представляются более выраженными. Имевшее статистическое значение снижение уровня экспрессии CD56+^{bright} в железах эндометрия у пациенток с бесплодием до начала терапии исчезает к моменту завершения лечения (количество клеток в поле зрения): до лечения $7,32 \pm 1,12$ ($p=0,035$), после лечения — $17,28 \pm 2,32$ ($p>0,05$), в контроле $14,56 \pm 2,14$.

На фоне терапии отмечалось достоверное снижение экспрессии маркера хронического эндометрита CD138 в строме эндометрия у женщин основной группы. Если экспрессия CD138+ до лечения выявлялась в $73,33 \pm 13,28\%$ образцов эндометрия, то после начала терапии частота выявления антител к CD138+ составила $11,11 \pm 7,12\%$, что свидетельствует о достоверном снижении данного показателя ($p=0,014$).

Достоверных изменений в уровне экспрессии G-CSF в строме и железах эндометрия не получено (см. табл. 2).

Не отмечено достоверных различий на фоне терапии в экспрессии маркера пролиферации Ki-67 в строме и железах имплантационного эндометрия у пациенток основной группы.

Процесс имплантации всегда сопровождается активацией в железах, строме, поверхностном эпителии и в сосудах эндометрия p53-зависимого апоптоза [7, 10]. Этот физиологический механизм является эстрогензависимым и регулируется посредством влияния ESR1 на транскрипцию bcl-2, регулируемую белками C-Jun [11]. Биологический смысл данного явления в период имплантации связан с мобилизацией клеток эндометрия для нормальной адгезии бластоцисты и инвазии трофобласта в строму и спиральные артерии матки.

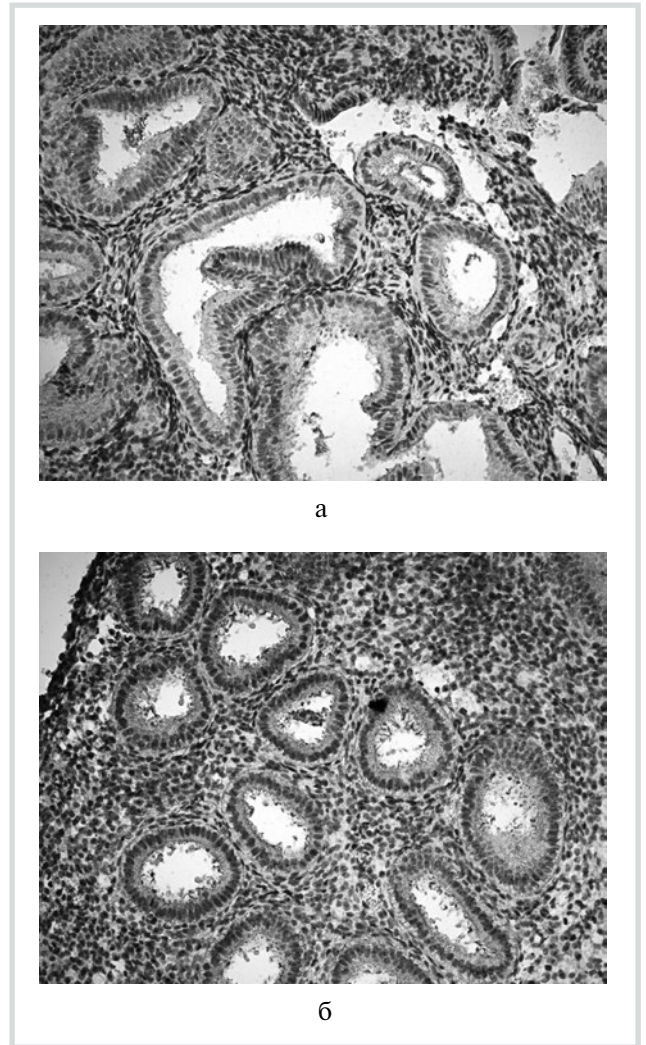


Рис. 3. а — до лечения: слабая цитоплазматическая экспрессия LIF в строме и железах эндометрия при нарушении его рецептивных свойств (день цикла ЛГ 7+); б — после терапии: выраженная цитоплазматическая экспрессии LIF в железах и строме рецептивного эндометрия (день цикла ЛГ 7+).

У пациенток с бесплодием после ультразвукового кавитационного орошения полости матки отмечалась активация p53-зависимого апоптоза в строме эндометрия. В железах имплантационного эндометрия у пациенток основной группы наблюдалась та же тенденция к активации p53-зависимого апоптоза, однако различия в значениях после терапии не достигали уровня достоверности.

У пациенток основной группы динамика экспрессии протоонкогенного ингибитора апоптоза bcl-2 в строме и железах имплантационного эндометрия на фоне терапии различалась. В железах эндометрия пациенток с бесплодием уровень экспрессии ингибитора апоптоза bcl-2 на фоне терапии снизился практически в 3 раза (с $62,38 \pm 4,06$ до

22,33±4,32%; $p=0,009$). В строме эндометрия изменения экспрессии bcl-2 в динамике терапии статистически незначимы (см. табл. 2).

Не выявлено достоверных изменений уровня экспрессии белка NOXA в имплантационном эндометрии в динамике терапии у женщин основной группы.

У пациенток с бесплодием исходно низкое значение экспрессии LIF (рис. 3) после терапии становится достоверно неотличимым от показателей контрольной группы (исходно 120,00±5,90 балла, в контроле 132,22±10,19 балла; $p=0,023$, после терапии 143,33±6,20 балла; $p=0,047$).

В то же время у пациенток с бесплодием на фоне терапии отмечалось значительное повышение стромальной рецепции LIF-R (67,74±10,92 балла против 103,75±8,49 балла после лечения; $p=0,001$). В железах эндометрия обеих групп наблюдения отмечалась положительная тенденция в отношении увеличения экспрессии LIF-R после терапии, однако железистый пул рецепторов LIF-R продолжал оставаться ниже контрольных значений (рис. 4).

Результаты исследования подтверждают, что одним из ведущих звеньев в патогенезе развития «тонкого» рефрактерного эндометрия является нарушение сосудистого стромального ремоделирования и цитоангиоархитектоники сосудистого дерева матки. При исследовании уровня экспрессии маркера эндотелиальных клеток CD34 в образцах имплантационного эндометрия в динамике терапии с применением G-CSF отмечено его достоверное увеличение у пациенток с бесплодием (количество клеток в поле зрения) до лечения 20,88±0,77, после лечения — 33,83±3,63 ($p=0,035$). Исходно низкие значения CD34 (рис. 5) у данных пациенток после терапии соответствовали уровню контрольных показателей (37,99±1,23 клеток в поле зрения; $p>0,05$).

Эндометрий женщин основной группы после терапии в меньшей степени экспрессировал антиангиогенный фактор VEGF-R1, достоверность различий по сравнению с контролем становится незначимой (см. табл. 2). В группе пациенток с бесплодием исходно низкий показатель экспрессии фактора активации ангиогенеза VEGF-A после терапии становился статистически неотличим от контрольных значений (216,00±9,05 балла до терапии, 231,67±14,16 балла после лечения и 268,00±10,38 балла в контроле; $p>0,05$).

Отношение VEGF-A/VEGF-R1, определяющее ангиогенный потенциал ткани эндометрия, имело в динамике терапии достоверный рост в основной группе, приближаясь статистически к контрольным значениям (от 5,02±0,62 до 14,62±0,68; $p=0,08$; 11,22±2,95 в контроле). Не отмечено достоверных изменений в уровне экспрессии HIF1 α в строме эндометрия в динамике терапии.

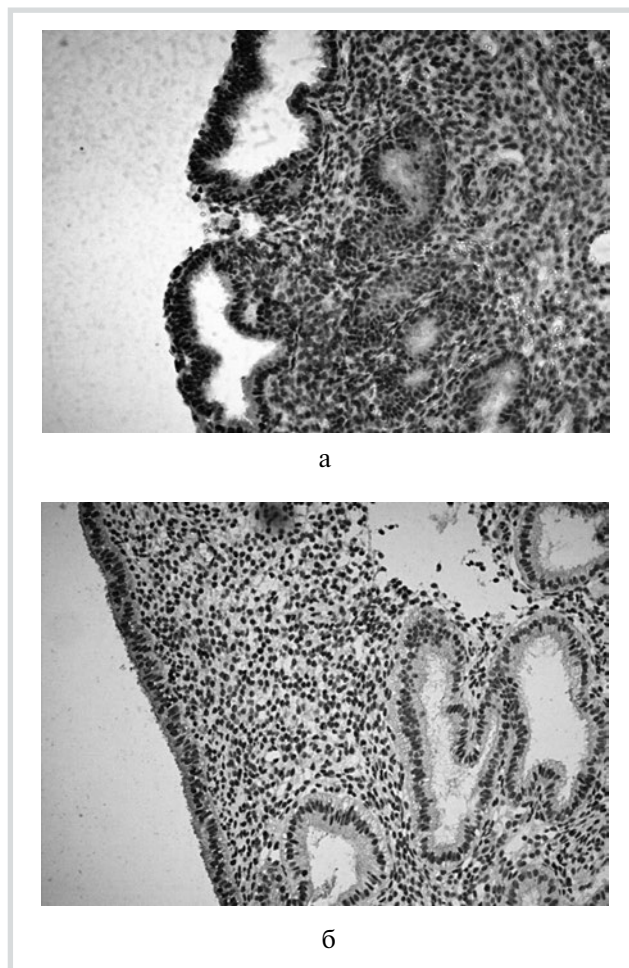


Рис. 4. а — до лечения: слабая и неравномерная экспрессия LIF-R на поверхности желез эндометрия и в ядрах стромы при нарушении рецептивности эндометрия (день ЛГ 7+); б — после терапии: интенсивная ядерная экспрессия LIF-R на поверхности желез рецептивного эндометрия (день цикла ЛГ 7+).

ОБСУЖДЕНИЕ

В многочисленных экспериментах показано, что низкочастотный ультразвук обладает потенциально важным эффектом воздействия на функциональную активность клеток, который может заметно влиять на восстановление тканей и процессы регенерации в естественных условиях. Низкочастотный ультразвук вызывает расширение кровеносных сосудов и увеличение регионарного кровотока в 2–3 раза, инициирует благоприятные изменения в микроциркуляторном русле и эндотелии сосудов, активизирует ангиогенез и развитие коллатерального кровотока [12–14]. Американские ученые O. Altland и соавт. [15] впервые опубликовали данные о NO-зависимом механизме вазодилатации, происходящем за счет стимуляции активности NO-синтазы в линии эндотелиальных клеток человека HUVEC *in vitro* под воздей-

ствием низкочастотного ультразвука низкой интенсивности. Свежие работы японских ученых К. Hanawa и Т. Shindo и соавт. [16, 17] подтвердили активацию ангиогенеза и увеличение плотности капилляров в кардиомиоцитах при применении ультразвука низкой частоты как в экспериментах *in vitro* (линия эндотелиальных клеток человека LIPUS), так и на свиной модели *in vivo*. J. Huang и соавт. [18] показали, что в основе активации эндотелиальной NO-синтазы в тканях под действием низкочастотного ультразвука лежит активация каскада PI3K-Akt-eNOS в эндотелиальных клетках.

Стратегически важным лечебным эффектом ультразвука низкой частоты *in vivo* является фонофоретический эффект, обеспечивающий доставку лекарственного вещества в ткани, минуя центральный кровоток. Вышеизложенные эффекты низкочастотного ультразвука, а также внушительный опыт использования данного метода в хирургии, травматологии, ортопедии, стоматологии для лечения раневой инфекции и хронических воспалительных процессов, определили наш научный интерес к изучению возможностей применения энергии ультразвуковых колебаний для восстановления морфологической структуры и функциональной активности «тонкого» рефрактерного эндометрия.

Выбор лекарственного вещества для ультразвуковой кавитации всегда определяется клинической ситуацией. Введение G-CSF в полость матки уже было описано для лечения рефрактерного эндометрия [19]. G-CSF активирует дифференцировку полипотентных стволовых клеток эндометрия и их пролиферацию, стимулирует высвобождение ангиогенных факторов роста CD56^{bright} +, CD16+ клетками эндометрия. С другой стороны, известно, что абсорбционная способность эндометрия является крайне низкой в связи с отсутствием в его функциональном слое лимфатических капилляров [21, 22]. Поэтому внутриматочный путь введения препаратов, особенно в случае гипоплазии эндометрия, обладает низкой биодоступностью.

Низкочастотный ультразвук, благодаря физическому эффекту кавитации в жидкой среде, может использоваться в качестве транспорта лекарственного вещества в ткани. Кавитированные растворы дают выраженный фонофоретический эффект, что позволяет доставлять лекарственные вещества в ткани на достаточную глубину, минуя центральный кровоток.

В нашем исследовании у пациенток с маточной формой бесплодия, обусловленной гипоплазией эндометрия, после терапии, включающей орошение полости матки кавитированным раствором колониестимулирующего фактора, отмечали восстановление нормальной морфофункциональной структуры эндометрия, что проявлялось синхронизацией секреторной трансформации желез эндометрия, деци-

дуализацией стромы и адекватной васкуляризацией ее в период «имплантационного окна», увеличением пула зрелых пиноподий на апикальной поверхности мембран эндометриальных желез.

Исходно у пациенток с эндометриопатией, обусловленной течением хронического эндометрита, по нашим наблюдениям, отмечалась высокая частота склеротической трансформации стромального компонента и обеднение сосудистой сети функционального слоя эндометрия. Необходимый для адекватной имплантации бластоцисты и последующей инвазии трофобласта процесс разрыхления стромального компонента секреторного эндометрия, лежащий в основе его децидуализации, был нарушен в период «имплантационного окна» более чем у 70% больных, в равной степени встречался при бесплодии и невынашивании беременности. Параллельно отмечалось нарушение васкуляризации стромального матрикса эндометрия у пациенток с бесплодием и невынашиванием беременности на фоне гипоплазии эндометрия. «Плотный» характер стромального компонента «тонкого» эндометрия с обеднением его сосудистой сети, сниженная активность апоптоза, вероятно, лежат в основе затруднения инвазии цитотрофобласта в спиральные артерии матки [22, 23].

Ультразвуковая кавитационная терапия позволяет снизить лимфоцитарно-макрофагальную инфильтрацию стромы, активировать процессы неоангиогенеза, изменить плотность стромального матрикса, приблизившего морфологическую картину к картине контрольных тканей имплантационного эндометрия.

По данным нашего исследования [16–18], отношение стромальной экспрессии VEGF-A/VEGF-R1, определяющее ангиогенный потенциал ткани эндометрия, в динамике кавитационной терапии G-CSF имело достоверный рост, статистически приближаясь к контрольным значениям. Крупномасштабные исследования японских ученых 2014–2016 гг., посвященные молекулярным механизмам активации ангиогенеза под влиянием ультразвуковых волн низкой частоты, установили PI3K-Akt-eNOS-зависимый путь активации eNOS в эндотелиальных клетках. Повышение функциональной активности эндотелиальных клеток сопровождается, по данным нашего исследования, достоверным увеличением в динамике кавитационной терапии G-CSF уровня экспрессии маркера эндотелиоцитов — CD34 в образцах имплантационного эндометрия пациенток с бесплодием.

Основные молекулярные эффекты G-CSF в отношении рецептивности и функциональной активности рефрактерного эндометрия у пациенток с бесплодием связаны с нормализацией пула ER α в строме и железах эндометрия, повышением до уровня контрольных значений экспрессии рецепторов к прогестерону в строме эндометрия, нормализацией

отношения экспрессии ER α /PR в строме эндометрия. На фоне терапии отмечалось достоверное снижение стромальной экспрессии CD3+, CD20+ до уровня, соответствующего таковому у здоровых фертильных женщин.

Изменение сосудистой архитектоники эндометрия на фоне кавитационной терапии раствором G-CSF сопровождалось активизацией рекрутинга натуральных киллеров из периферической крови в эндометрий. У женщин с бесплодием отмечалось возрастание экспрессии CD56^{bright}+ в строме эндометрия. И, наконец, на фоне комплексной терапии отмечалось достоверное снижение экспрессии маркера хронического эндометрита CD138+ в строме эндометрия у пациенток основной группы.

Эндометрий пациенток основной группы наблюдения после терапии демонстрировал умеренное повышение уровня цитоплазматической экспрессии

фактора, ингибирующего лейкемию (LIF), в строме и железах, а также значительное повышение стромальной рецепции его рецептора LIF-R.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итоги исследования, можно признать, что описанные позитивные изменения морфофункционального состояния, тканевых и молекулярных параметров рецептивности эндометрия свидетельствуют об эффективности технологии ультразвукового орошения полости матки кавитированными растворами в комплексной терапии пациенток с маточной формой бесплодия, обусловленной рефрактерным «тонким» эндометрием.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. The European health report 2015. Targets and beyond — reaching new frontiers in evidence. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2015. Ссылка активна на 28.08.2017 [The European health report 2015. Targets and beyond — reaching new frontiers in evidence. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2015. Accessed August 28, 2017. (In Russ.)]. <http://www.euro.who.int/en/data-and-evidence>
2. Health-2020: a European policy framework and strategy for the 21st century. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2013. Ссылка активна на 28.08.2017. <http://www.euro.who.int/en/publications/abstracts/health-2020-a-european-policy-framework-and-strategy-for-the-21st-century>
3. Ермоленко К.С., Радзинский В.Е., Рапопорт С.И. Современное состояние проблемы реализации фертильной функции женщин позднего репродуктивного возраста. *Клиническая медицина*. 2016; 94(1):10-15. Ссылка активна на 28.08.2017. [Ermolenko KS, Radzinskij VE, Rapoport SI. The current state of the problem of the realization of the fertile function of women of late reproductive age. *Klinicheskaya medicina*. 2016;94(1):10-15. (In Russ.)]. Accessed August 28, 2017 <http://www.medlit.ru/journals/view/clinicalmedicine/view/journal/2016/issue-1/69-sovremennoe-sostoyanie-problemy-realizacii-fertil-noy-funkcii-zhenschin-pozdnego-reproduktivnogo-vozrasta>
4. Регистр ВРТ РАРЧ. Отчет за 2014 г. СПб; 2015. Ссылка активна на 28.08.2017. [Register ART RAHR. Report for 2014. SPb; 2015. (In Russ.)]. Accessed August 28, 2017. http://www.rahr.ru/d_registr_otchet/registr_BRT_RARCH16.pdf
5. Гюльмамедова И.Д., Межова О.К. Проблемы имплантации в программе IVF. *Новости медицины и фармации*. 2008;253:17-27. Ссылка активна на 28.08.2017. [Gyul'mamedova ID, Mezhovalva OK. Problems of implantation in the IVF program. *Novosti mediciny i farmacii*. 2008;253:17-27. (In Russ.)]. Accessed August 28, 2017. <http://www.mif-ua.com/archive/article/5933>
6. Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., Пальченко Н.А. Современный взгляд на проблему рецептивности и тонкого эндометрия в программах ВРТ. Обзор литературы. *Проблемы репродукции*. 2013;4:3-7. Ссылка активна на 28.08.2017. [Boyarский KYu, Gajdukov SN, Pal'chenko NA. Modern view on the problem of receptivity and thin endometrium in ART programs. Literature review. *Problemy reprodukcii*. 2013;4:3-7. (In Russ.)]. Accessed August 28, 2017. <https://www.mediasphera.ru/issues/problemy-reprodukcii/2013/4/031025-72172013411>
7. Uterine Endometrial Function . Editor of H. Kanzaki. *Osaka: Springer*; 2017.
8. Молекулярные механизмы заболеваний репродуктивной системы. Под ред. Пальцева М.А. *СПб.: ЭКО-вектор*; 2017. [Molecular mechanisms of the reproductive system diseases. Editor of Pal'cev MA. SPb.: Eko-vektor; 2017. (In Russ.)].
9. Прегравидарная подготовка: клинический протокол. Под ред. Радзинского В.Е. М.: Status Praesens; 2016;23-25. Ссылка активна на 28.08.2017. [Pregavid preparation: the clinical protocol. Ed. of Radzinskij VE. M.: Status Praesens; 2016;23-25. (In Russ.)]. Accessed August 28, 2017. <https://praesens.ru/pregravidarnaya-podgotovka-klinicheskij-protokol-mezhdistsiplinarnoy-assotsiatsii-spetsialistov-repr>
10. Крылова Ю.М., Кветной И.М., Айламазян Э.К. Рецептивность эндометрия: молекулярные механизмы регуляции имплантации. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2013;2:63-74. [Krylova YuM, Kvetnoj IM, Ajlamazyan EhK. Receptivity of the endometrium: molecular mechanisms of regulation of implantation. *Zhurnal akusherstva i zhenskih boleznej*. 2013;2:63-74. <https://doi.org/10.17816/JOWD663135-142>
11. Li ZL, Ueki K, Kumagai K. Regulation of bcl-2 transcription by estrogen receptor-alpha and C-Jun in human endometrium. *Med Mol Morphol*. 2014;47(1):43-53. <https://doi.org/10.1007/s00795-013-0043-y>
12. Ramli R, Reher P, Harris M. The effect of ultrasound on angiogenesis: an in vivo study using the chick chorioallantoic membrane. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;24:591-596. PMID: 19885398
13. Barzelai S, Sharabani-Yosef O, Walden R. Low-intensity ultrasound induces angiogenesis in rat hind-limb ischemia. *Ultrasound Med Biol*. 2006;32:139-145. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2005.08.010>
14. Suchkova VN, Baggs RVB. Ultrasound improves tissue perfusion in ischemic tissue through a nitric oxide dependent mechanism. *Thromb Haemost*. 2002;88(5):865-870. Ссылка активна на 28.08.2017.

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Suchkova+V.N.%2C+2002%3B88%3A865%E2%80%933870>
15. Altland OD, Dalecki D, Suchkova VN. Low-intensity ultrasound increases endothelial cell nitric oxide synthase activity and nitric oxide synthesis. *J Thromb Haemost.* 2004;2:637-643. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2004.00655.x>
 16. Hanawa K, Ito K, Aizawa K. Low-intensity pulsed ultrasound induces angiogenesis and ameliorates left ventricular dysfunction in a porcine model of chronic myocardial ischemia. *PLoS One.* 2014;(9):8:104-863. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104863>. eCollection 2014
 17. Shindo T, Ito K, Ogata T. Low-intensity pulsed ultrasound enhances angiogenesis and ameliorates left ventricular dysfunction in a mouse model of acute myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2016;(36):6:1220-1229. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.115.306477>
 18. Huang JIA, Shi YO, Li RL. Angiogenesis effect of therapeutic ultrasound on HUVECs through activation of the PI3K-Akt-eNOS signal pathway. *Am J Transl Res.* 2015;(7):6:1106-1115. Ссылка активна на 28.08.2017. <http://www.ajtr.org/files/ajtr0004723.pdf>
 19. Cleicher N, Vidali A, Barad DH. Successful treatment of unreceptive thin endometrium. *Fertil Steril.* 2011;(95):6:2123-2137. <https://doi.org/10.1093/humrep/des370>
 20. Jerman LF, Hey-Cunningham A. The role of the lymphatic system in endometriosis: a comprehensive review of the literature. *J Biol Reprod.* 2015;(92):3:64-66. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.124313>
 21. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E. LYVE-1 immunohistochemical assessment of lymphangiogenesis in endometrial and lung cancer. *J Clin Pathol.* 2015;(58):2:202-206. <https://doi.org/10.1136/jcp.2004.019174>
 22. Шуршалина А.В. Хронический эндометрит: современные взгляды на проблему. *Consilium Medicum.* 2011;6:36-39. Ссылка активна на 28.08.2017. [Shurshalina AV. Chronic endometritis: current views on the problem. *Consilium Medicum.* 2011;6:36-39. Accessed August 28, 2017. http://con-med.ru/magazines/consilium_medicum/consilium_medicum-06-2011/khronicheskiy_endometrit_sovremennye_vzglyady_na_problemu
 23. Митюрин Е.В., Перминова С.Г., Демура Т.А., Галлямова Е.М. Морфофункциональное состояние эндометрия в стимулированных циклах программы экстракорпорального оплодотворения. *Акушерство и гинекология.* 2014;11:80-87. Ссылка активна на 28.08.2017. [Mityurina EV, Perminova SG, Demura TA, Gallyamova EM. Morpho functional state of the endometrium in stimulated cycles of in vitro fertilization program. *Akusherstvo i ginekologiya.* 2014;11:80-87. Accessed August 28, 2017. <https://lib.medvestnik.ru/articles/Morfofunkcionalnoe-sostoyanie-endometriya-v-stimulirovannyh-ciklah-programmy-ekstra-korporalnogo-oplodotvoreniya.html>