

Высшая школа общественного здравоохранения

УДК 618.14: 618.145

На правах рукописи

**МОШКАЛОВА ГАУХАР НАДИРБЕКОВНА**

**Патогенетические аспекты нарушения рецептивности эндометрия  
у пациенток с репродуктивными потерями**

8D10141 - «Медицина»

Диссертация на соискание степени  
доктора философии (PhD)

Научные консультанты:  
доктор медицинских наук, профессор  
Курманова А.М.  
доктор медицинских наук  
Аимбетова А.Р.  
Зарубежный научный консультант:  
Prof. Dr. Zeliha SELAMOĞLU  
(Турция)

Республика Казахстан  
Алматы, 2025

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ</b> .....	4
<b>ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	5
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	6
<b>1 СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ АСПЕКТАХ НАРУШЕНИЯ РЕЦЕПТИВНОСТИ</b> .....	12
1.1 Факторы риска рецидивов репродуктивных потерь .....	12
1.2 Молекулярные методы оценки рецептивности эндометрия .....	27
<b>2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	36
2.1 Характеристика обследованных больных.....	43
2.2 Методы исследования .....	43
2.2.1 Инструментальные исследования.....	44
2.2.2 Транскрипционный анализ эндометрия .....	45
2.2.3 Статистическая обработка данных .....	46
<b>3 ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	48
3.1 Анализ факторов риска репродуктивных потерь .....	48
3.1.1 Прогностическое значение толщины эндометрия в прогнозировании наступления беременности в циклах ЭКО.....	48
3.1.2 Мониторинг результативности экстракорпорального оплодотворения .....	60
3.1.3 Изучения толщины эндометрия в прогнозировании результатов ЭКО.	62
3.3 Показатели ультразвукового исследования и доплерометрии сосудов тонкого эндометрия.....	64
3.3 Экспрессия генов иммунного ответа при репродуктивных нарушениях .....	68
<b>4 АЛГОРИТМ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОК С НАРУШЕНИЯМИ РЕЦЕПТИВНОСТИ ЭНДОМЕТРИЯ</b> .....	77
4.1 Совершенствование методов ведения пациенток с нарушениями рецептивности эндометрия путем создания алгоритма ведения в прогнозировании успешности имплантации.....	77
4.2 Обсуждение результатов исследования.....	81
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	87
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b> .....	93
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ А</b> – Информированное согласие для пациентов .....	104
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Б</b> – Акты внедрения .....	106
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ В</b> – Свидетельство на авторское право.....	110

## НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие документы:  
Постановление Правительства Республики Казахстан. Об утверждении национального проекта «Качественное и доступное здравоохранение для каждого гражданина «Здоровая Нация»: утв. 12 октября 2021 года, №725.

Кодекс Республики Казахстан «О здоровье народа и системе здравоохранения» № 360-VI ЗРК от 07 июля 2020 года.

Постановление Правительства Республики Казахстан. Об утверждении перечня гарантированного объема бесплатной медицинской помощи: утв. 16 октября 2020 года, №672.

Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан. Об утверждении Правил оказания первичной медико-санитарной помощи: утв. 24 августа 2021 года, №ҚР ДСМ-90 (зарегистрирован в Министерстве юстиции Республики Казахстан 24 августа 2021 года, №24094).

Приказ Министерства Здравоохранения Республики Казахстан. Об утверждении правил прикрепления физических лиц к организациям здравоохранения, оказывающим первичную медико-санитарную помощь: утв. 13 ноября 2020 года, №ҚР ДСМ-194/2020.

Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан «Об утверждении правил и условий проведения вспомогательных репродуктивных методов и технологий» от 15 декабря 2020 года № ҚР ДСМ-272/2020.

Приказ от 15 февраля 2023 года № 23 О внесении изменений в приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан от 15 декабря 2020 года № ҚР ДСМ-272/2020 "Об утверждении правил и условий проведения вспомогательных репродуктивных методов и технологий".

ГОСТ 7.32-2017. Межгосударственный Стандарт. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

## ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ

ESHRE - Европейское общество репродукции человека и эмбриологии  
ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение  
NGS - next generation sequencing  
BPT - вспомогательные репродуктивные технологии  
IFV - in-vitro fertilization  
ПЭ – перенос эмбриона  
ОСМС - обязательное социальное медицинское страхование  
ХГЧ - хорионический гонадотропин человека  
GLP – Good Laboratory Practic  
GCP - Good Clinical Practic  
РПБ – рецидив потери беременности (RPL – recurrent pregnancy loss)  
РНИ – рецидив неудач имплантации (RIF – recurrent implantation failure)  
CXCL8 - C-X-C motif chemokine ligand 8  
CXCL1 - C-X-C motif chemokine ligand 1  
C4BPA - Complement Component 4 Binding Protein Alpha  
VEGF-B - Vascular endothelial growth factor B  
HAND2 - Heart- and neural crest derivatives-expressed transcript 2  
IL-15 -Interleukin 15  
ТВ - тромбиновое время  
ПТИ - протромбиновый индекс  
АЧТВ - активированное частичное тромбопластиновое время  
LH - luteinizing hormone  
FSH - follicle stimulating hormone  
TSH - thyroid stimulating hormone  
RNA - Ribonucleic acid  
DNA - Deoxyribonucleic acid  
PCR - polymerase chain reaction  
BMI – body mass index  
ROC - receiver operating characteristic  
VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста  
РФМК - растворимый фибрин-мономерный комплекс  
РИФ - реакция иммунофлюоресценции  
КОКСОН - Комитет по надзору в сфере образования и науки  
ERA - Endometrial Receptive Array  
RAGs - Receptivity Associated Genes  
WOI - window of implantation  
KEGG - Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Согласно данным Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (ESHRE) глобальной проблемой, затрагивающей около одной шестой всех пар репродуктивного возраста, являются репродуктивные потери [1,2]. Репродуктивные потери вследствие самопроизвольного выкидыша или рецидива неудач имплантации в программах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), в две трети случаев связаны с нарушением рецептивности эндометрия [3].

Среди причин ранних репродуктивных потерь значительная роль отводится хроническому эндометриту, при котором происходит истончение эндометрия, нарушения рецептивности и гемодинамики сосудов матки, что приводит к нарушению процессов имплантации [4-6]. Выраженные отклонения морфологических, гемодинамических, ультраструктурных, иммунологических и молекулярно-генетических параметров, характеризующих нормальное прегравидарное состояние эндометрия, могут обуславливать снижение его рецептивности [7-9].

Для прогнозирования имплантационной способности матки роль ультразвуковой диагностики возросла благодаря использованию ультрасонографической технологии высокого разрешения. В качестве неинвазивных маркеров рецептивности эндометрия предложены измерение толщины эндометрия, структуры эндометрия, цветная доплерометрия и измерение объема. Патофизиологические особенности «тонкого» эндометрия состоят в недостаточном росте железистого эпителия, обеднении сосудов с высоким уровнем импеданса кровотока в сосудах матки, как следствие, нарушении экспрессии ряда регуляторных цитокинов, ростовых факторов иммунокомпетентными клетками, что в свою очередь, снижает имплантационную способность эмбрионов [10]. Принято считать, что толщина эндометрия в период предполагаемого «имплантационного окна» менее 7 мм дает минимальные шансы на продуктивное зачатие. В настоящее время под понятием «тонкого» эндометрия подразумевается эндометрий с толщиной менее 7 мм к моменту завершения естественной и искусственной (при применении индукторов фолликулогенеза) или имитируемой фолликулярной фазы [3, с.7]. Однако, есть сообщения об успешной имплантации с минимальными пороговыми значениями эндометрия 4-5 мм и 6 мм, демонстрирующие, что «тонкий» эндометрий не обязательно исключает вероятность наступления беременности. Тем не менее, вероятность клинической беременности при толщине эндометрия  $\leq 7$  мм была значительно ниже по сравнению со случаями толщины эндометрия  $> 7$  мм (23,3 и 48,1% соответственно) [7, с. 6].

Факторы роста и цитокины имеют способность связываться со специфическими рецепторами клеточных поверхностей и выступать в качестве потенциальных внутриклеточных сигналов, регулирующие функции клеток эндометрия [11]. Достижения в области рецептивности эндометрия в отношении протеомики, эпигенетики, микроматрицы ДНК для мРНК и микроРНК, а также

фенотипирования иммунокомпетентных клеток, могут обеспечить потенциал для открытия новых биомаркеров рецептивности эндометрия [12].

Перспективными методами молекулярной диагностики репродуктивных нарушений является изучение гено- и фенотипа маркеров иммунного ответа. Изучение генов иммунного ответа, участвующих в образовании цитокинов и хемокинов, секреции, передачи сигналов интерлейкина и факторов транскрипции при дифференцировке и созревании клеток, будет иметь основополагающее значение для понимания диагностики патологических состояний при хроническом эндометрите и синдроме «тонкого» эндометрия» [13].

Современные исследования предоставили несколько доказательств того, что генетические факторы, регулирующие процессы ангиогенеза и инвазии, важны при имплантации эмбрионов. В литературе имеются исследования, показывающие, что генетические дефекты и даже генетические полиморфизмы генов, участвующих в этих процессах, могут привести к неудаче имплантации [14].

Изменения эндометрия, включая морфологические изменения, появление структурных белков на эпителиальных клетках, секреция растворимых регуляторных факторов и экспрессия молекулярных маркеров рецептивного эндометрия возникают вследствие изменения транскрипционной активности генов, которая определяется по количеству соответствующих матричных РНК (мРНК). Молекулы мРНК изучают современными иммуногенетическими методами - микроматричным анализом, высокопроизводительным секвенированием (NGS, next generation sequencing), обратной транскрипции с помощью количественной полимеразной цепной реакцией в реальном времени [15].

Наиболее перспективными генами для изучения рецептивности эндометрия являются гены иммунного ответа, отвечающие за каскад провоспалительных сигналов - СХС мотив хемокиновый лиганд 1 (CXCL1), альфа белок, связывающий 4 компонент комплемента (C4BPA), интерлейкин 15 (IL-15), транскрипт 2, экспрессируемый в сердце и производных нервного гребня (HAND2) и сосудистую пролиферацию - сосудистый эндотелиальный фактор роста В (VEGF-B).

Таким образом, комплексное изучение экспрессии генов эндометрия важны для идентификации биомаркеров, специфичных для рецептивного эндометрия. Эти маркеры могут быть использованы в качестве терапевтических мишеней для лечения бесплодия, вызванного неудачей имплантации.

**Цель исследования:** изучение патогенетических аспектов нарушения рецептивности эндометрия у пациенток с репродуктивными потерями на основании комплексной оценки эндометрия с помощью инструментальных и транскриптомных методов исследования.

**Задачи исследования:**

1. Проанализировать факторы риска неудач имплантации в программах ЭКО и привычного невынашивания и оценить прогностическую ценность

толщины эндометрия как один из основных предикторов репродуктивных потерь.

2. Изучить особенности эхографической картины и показатели сопротивления сосудов матки при цветной доплерометрии у женщин с невынашиванием.

3. Провести транскрипционный анализ активности генов иммунного ответа у пациенток рецидивами неудач имплантации в программах ЭКО и невынашивании.

4. Разработать алгоритм ведения пациенток с репродуктивными потерями в анамнезе на основании клинико-инструментальных данных и транскрипционного анализа биоптата эндометрия.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Среди множества факторов, влияющих на клинический исход, толщина эндометрия входит в число важных и независимых факторов для внутриматочной беременности, внематочной беременности и самопроизвольного аборта. Значение толщины эндометрия ниже 7 мм не только снижает вероятность наступления беременности, но и повышает вероятность самопроизвольного аборта и внематочной беременности.

2. Выявлена закономерность, дополняющая современную концепцию роли генов иммунного ответа в формировании рецептивного эндометрия. Возможными причинами неудач имплантации в программах ВРТ у пациенток с «тонким эндометрием» может быть сниженная экспрессия генов иммунного ответа *C4BPA*, *CXCL1* и *IL-15*, отражающая снижение рецептивности эндометрия, и как следствие, формирование нарушений имплантационной состоятельности эндометрия.

3. Разработан эффективный алгоритм прогноза риска неудач имплантации у пациенток с бесплодием, обусловленным «тонким эндометрием», с использованием клинико-anamnestических и иммуногенетических предикторов, с определением группы рисков, что следует иметь в виду при проведении прегравидарной подготовки.

#### **Предмет исследования**

Патогенетические механизмы нарушения рецептивности эндометрия у пациенток с репродуктивными потерями, включая роль толщины эндометрия, эхографическую картину, сосудистые характеристики матки и экспрессия генов иммунного ответа.

#### **Объекты исследования**

Пациентки с репродуктивными потерями, включая тех, кто страдает от невынашивания беременности и рецидивов неудач имплантации.

Работа выполнялась с 2021 года по 2023 год на базе Научного центра акушерства гинекологии и перинатологии.

#### **Научная новизна.**

Впервые показана прогностическая ценность толщины эндометрия (менее 7 мм) при наступлении внутри- и внематочной беременности, при самопроизвольном выкидыше.

Впервые показаны патогенетические аспекты нарушения рецептивности эндометрия в виде снижения экспрессии комбинации генов C4BPA+CXCL1 в эндометрии у пациенток с рецидивами неудач имплантации и с «тонким эндометрием» в сравнении с фертильными пациентками, а также снижение экспрессии гена IL-15 у пациенток с рецидивами неудач имплантации в программах ЭКО в сравнении с пациентками с рецидивами потери беременности. Указанные данные являются новыми и имеют важное прикладное значение в качестве теоретической основы для разработки профилактических стратегий.

Разработан новый инструмент при проведении прегравидарной подготовки перед проведением процедур ЭКО – алгоритм ведения пациенток с репродуктивными потерями в анамнезе на основании клинико-инструментальных данных и транскриптомного анализа биоптата эндометрия.

#### **Практическая значимость**

В результате проведенного исследования была обоснована значимость «тонкого эндометрия» при репродуктивных дисфункциях. Было предложено информирование женщин с тонким эндометрием о более низких шансах на зачатие, а в случае зачатия - о повышенном риске спонтанного аборта и внематочной беременности.

Для уточнения причины нарушения репродукции у женщин после проведения ультразвукового и доплерометрического исследования эндометрия, целесообразно исследования биоптата эндометрия на экспрессию генов иммунного ответа C4BPA, CXCL, IL15 в период имплантационного окна с 20-24 дня менструального цикла (без назначения гормональной терапии) с целью выявления снижения рецептивности эндометрия.

Разработан алгоритм прогнозирования успешности имплантации на основе изучения факторов риска рецидивов репродуктивных потерь, данных инструментального исследования и экспрессии генов иммунного ответа в дни «имплантационного окна», позволяющий составлять персонализированный план прегравидарной подготовки, и таким образом повысить результативность программ ЭКО (Свидетельство о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом, №52487 от «11» декабря 2024 года).

#### **Апробация и внедрение результатов исследования.**

Основные положения работы доложены и обсуждены на:

- V Международном научно-образовательном форуме «Ана мен бала», доклад «Факторы риска неудачных имплантации» (Алматы, 19 мая 2022);

- Международном Конгресс «Global Health», посвященный 25-летию со дня основания Казахстанского медицинского университета «ВШОЗ» и подписания Соглашения между Европейское региональное бюро ВОЗ и Министерством Здравоохранения Республики Казахстан, постерный доклад «Факторы риска репродуктивных потерь» (Алматы, 19 мая 2022);

- XXVIII Всероссийский Конгресс с международным участием «Амбулаторно поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от

менархе до менопаузы». Оценка гемодинамики сосудов матки у пациенток с рецидивами невынашивания, ассоциированными с синдромом «тонкого эндометрия» (Москва, 6-8 апреля 2022);

- I Конгресс акушеров-гинекологов Казахстана «Отбасы денсаулығы - Қазақстанның болашағы», доклад «Молекулярные подходы к диагностике рецептивности эндометрия при привычном невынашивании беременности» (Алматы, 31 марта 2023);

- Конференция ВШОЗ «Наука и молодежь», доклад «Молекулярная диагностика рецептивности эндометрия при репродуктивных потерях» (Алматы, 25.04.2023);

- XVII Международный конгресс по репродуктивной медицине. Мониторинг результативности экстракорпорального оплодотворения в системе ОСМС (Москва, 17-20 января 2023);

- II Международная научно-практическая конференция молодых ученых «Наука и молодежь: конференция по качеству медицинской помощи и медицинской грамотности, доклад «Толщина эндометрия как предиктор исхода беременности в программах ВРТ» (Алматы, 12.04.2024);

- Международная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы службы родовспоможения Республики Казахстан: проблемы и решения», доклад «Прогностическая ценность толщины эндометрия при исходах беременности» (Алматы, 16.05.2024).

#### **Опубликованные работы по теме диссертационной работы:**

- 2 статьи в издании, рекомендованном Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования Министерства науки и высшего образования;

- 4 статьи в изданиях, индексируемых в информационной системе Scopus, из них 2 статьи в издании Scopus CiteScore 3.6, перцентиль 72% в Acta Biomedica (2023, 2024); 1 статья в издании Scopus CiteScore 4.7, перцентиль 62% в Diagnostics, 1 статья в издании Scopus CiteScore 4.5, перцентиль 75% в Journal of Clinical Medicine.

- 2 тезиса в сборнике зарубежной международной конференций;

- Свидетельство о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом, №52487 от 11 декабря 2024 года «Алгоритм ведения пациенток с репродуктивными потерями в анамнезе на основании клинико-инструментальных данных и транскриптомного анализа биоптата эндометрия» (Приложение В).

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа выполнена согласно установленным правилам, и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, списка литературы из 133 источников. Диссертация изложена на страницах компьютерного текста, оформленного с соблюдением необходимых стандартов, содержит 21 таблицу и 10 изображений.

# 1 СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ АСПЕКТАХ НАРУШЕНИЯ РЕЦЕПТИВНОСТИ

## 1.1 Факторы риска рецидивов репродуктивных потерь

Репродуктивные потери связанные с невынашиванием беременности и безэффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий ВРТ является медицинской и социальной проблемой [16]. Научный интерес к проблеме невынашивания возрастает в связи с появлением новых диагностических возможностей, позволяющих уточнить этиологические факторы, и по-новому подойти к выяснению патогенетических механизмов невынашивания беременности [17].

Согласно данным Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (ESHRE), примерно каждая шестая пара в мире сталкивается с нарушениями репродуктивной функции в репродуктивном возрасте [1, с. 1616]. Включение вспомогательных репродуктивных технологий, таких как экстракорпоральное оплодотворение и перенос эмбрионов, в программы обязательного социального медицинского страхования открыло доступ к медицинской помощи для множества семей [18]. Реализация программы «Аңсаған сәби» позволила значительно расширить доступ к этим услугам, увеличив квоты на процедуру ЭКО в 7 раз [19]. Внедрение Государственной программы «Аңсаған сәби» позволило увеличить количество процедур ВРТ в 2,2 раза в 2021 году и 1,6 раз в 2022 году, при этом средний показатель эффективности процедуры (наступление беременности) составил 29,6%. В 2021-2022 гг. увеличилась обращаемость пациенток с более благоприятным анамнезом, позволяющим увеличить шансы на успешность процедуры ЭКО (возраст до 34 лет, наличие трубного фактора), однако, в системе ОСМС сохраняется проблема недообследования пациенток перед ЭКО, и как следствие, значимое увеличение доли потерь беременности (29,5%), недооценки других фактора риска неудач имплантации [20]. В этом контексте определение факторов риска неудач имплантации позволит провести всестороннюю оценку качества программы ЭКО и разработать меры по профилактике потерь беременности в ходе этой процедуры.

Хотя общая эффективность ЭКО продолжает расти, на данный момент основным ограничивающим фактором остаются неудачные попытки имплантации. Потери беременности после ЭКО и ПЭ превышают 50% и обусловлены множеством факторов, среди которых ведущими являются иммунные (алло- и аутоиммунные), тромбофилии (как врожденные, так и приобретенные), инфекционные и гормональные нарушения [21,22].

Этиология невынашивания чрезвычайно разнообразна. Данная патология может быть обусловлена хромосомными аномалиями, генными мутациями, наследственной предрасположенностью, эндокринными и иммунными нарушениями, аномалией развития матки [17, с. 6]. Также выделяют идиопатическое прерывание беременности, которое происходит, когда установить точную причину выкидыша не представляется возможным [23]. При наличии в анамнезе одного выкидыша, риск следующего самопроизвольного

выкидыша увеличивается до 20%, после двух выкидышей подряд этот риск возрастает до 28%, а после трех и более — до 43% [24]. По данным других авторов, неразвивающаяся беременность в анамнезе может увеличивать риск самопроизвольного прерывания беременности до 4 раз [25].

Врожденные аномалии или пороки развития могут быть обусловлены генетическими или хромосомными нарушениями, а также воздействием внешних факторов и тератогенов. К анатомическим причинам выкидыша относятся как врожденные, так и приобретенные аномалии матки, такие как внутриматочная перегородка, двурогая матка и внутриматочные спайки [23, с. 1123]. Исследования инфекционных агентов показали их важную роль в развитии самопроизвольных выкидышей, вызванных острым воспалительным процессом, который обычно возникает из-за вирусных инфекций (листерия моноцитогенес, токсоплазма гондии, парвовирус В19, вирус краснухи, вирус простого герпеса, цитомегаловирус, вирус лимфоцитарного хориоменингита) и приводящего к формированию первичной плацентарной недостаточности, порокам развития у плода и прерыванию беременности [26].

Эндокринопатии (дисфункция щитовидной железы, сахарный диабет, синдром поликистозных яичников) также могут способствовать развитию репродуктивных потерь за счет формирования неполноценной лютеиновой фазы и недостаточной децидуальной трансформации эндометрия [27]. Иммунологические причины невынашивания в основном связаны с развитием тромбофилических осложнений и гиперкоагуляции в силу врожденных или приобретенных тромбофилий и нарушения иммунной системы (например, системная красная волчанка, антифосфолипидный синдром), которые приводят к иммунологическому отторжению эмбриона или плода или формированию плацентарной недостаточности [28]. Как упоминалось ранее, генетические аномалии не выявляются с помощью стандартных тестов и, вероятно, являются одной из причин необъяснимых выкидышей. Влияние возраста матери на момент зачатия на частоту потерь беременности было установлено, что самый низкий риск потери беременности (9,8%) наблюдается у женщин в возрасте 25-29 лет. Риск потери беременности увеличивается у женщин в возрасте 30-35 лет, а затем резко возрастает до 33,2% у женщин в возрасте 40-44 лет [29]. Некоторые исследования показали, что >50% беременностей теряются у женщин старше 42 лет. Возраст ассоциированные репродуктивные потери в основном обусловлена хромосомными аномалиями (анеуплоидия) в зачаточном состоянии, причем >90% анеуплоидных выкидышей вызваны ошибками мейоза. Генетические факторы также могут быть связаны с риском выкидыша. Большинство исследований, оценивающих участие генетических факторов в риске выкидыша, были основаны на небольших размерах выборки, использовали неоднородные определения рецидивирующей потери беременности и обнаружили крайне противоречивые результаты [30].

Перенесенные воспалительные заболевания органов малого таза также достоверно являются факторами риска прерывания беременности в ранних сроках. Инфекционно-воспалительные процессы эндометрия занимают

лидирующие позиции среди причинных факторов невынашивания беременности. Среди них особое место принадлежит хроническому эндометриту. Хронический эндометрит - это клинко-морфологический синдром, при котором в результате персистирующего повреждения эндометрия инфекционным агентом возникают множественные вторичные морфофункциональные изменения, нарушающие циклическую биотрансформацию и прецептивность слизистой оболочки тела матки[31]. Хронический эндометрит часто протекает бессимптомно или с легкими неспецифическими симптомами, что затрудняет оценку его распространенности в общей популяции. Распространенность заболевания у женщин с повторной потерей беременности варьирует от 9 до 56 %. Такой широкий диапазон оценок, вероятно, связан с отсутствием консенсусных диагностических критериев. Предполагается, что хронический эндометрит может вызывать потерю беременности, поскольку способствует инфильтрации иммунных клеток в эндометрий[32]. Однако существует мало исследований, демонстрирующих измененную инфильтрацию иммунных клеток, кроме плазматических клеток, и нет экспериментальных данных, подтверждающих, что измененная инфильтрация эндометрия иммунными клетками. В связи с критической ролью устойчивой сигнализации прогестерона для имплантации и беременности, низкая выработка прогестерона во время лютеиновой фазы менструального цикла широко рассматривается как важная причина выкидыша. Однако попытки обнаружить нарушения лютеиновой фазы у женщин с повторными выкидышами не принесли положительных результатов[33]. Тем не менее, метаанализ двух крупных клинических испытаний показал, что вагинально вводимый микронизированный прогестерон улучшает результаты у женщин с вагинальным кровотечением во время беременности и с историей одного или нескольких выкидышей. Эффективность лечения прогестероном положительно коррелировала с количеством предыдущих потерь. Лечение прогестероном, вероятно, улучшает децидуализацию эндометрия у этих женщин, поскольку эндометриальные стромальные клетки, выделенные от небеременных женщин с историей повторных выкидышей, демонстрируют нарушенную способность к децидуализации и повышенное клеточное старение[34].

Поскольку плод является полуаллотрансплантатом материнского хозяина, иммунная толерантность имеет важное значение для успешной беременности. Эндометрий является первым местом прямого контакта между материнским иммунитетом и плацентарными клетками плода. Иммунные клетки, находящиеся в эндометрии, составляют около 40% всех клеток в децидуальной оболочке первого триместра и подвергаются модуляции до и после имплантации эмбриона, чтобы обеспечить материнскую толерантность плаценты плода[35]. Основная функция эндометрия заключается в создании и обеспечение оптимальной эндокринной/паракринной, иммунной и молекулярной среды, которая позволяет обеспечить правильное прикрепления, имплантации, инвазии, развития и полного созревания эмбриона. Чтобы выполнить эту задачу, эндометрий должен развить серию уникальных и поразительных адаптивных

изменений, которые в совокупности называются децидуализацией и приводят к глубокому морфологическому и функциональному перепрограммированию стромальных клеток эндометрия, которые дифференцируются в высокоспециализированные клетки с секреторными способностями. Ключевая функция иммунной толерантности во время беременности положила начало десятилетиям исследований иммунно-связанных причин и целей лечения рецидивирующей потери беременности[36]. Децидуальные лимфоциты выполняют важную функцию на ранних сроках беременности, включая контроль и поддержание децидуализации, содействие инвазии трофобласта, локальный ангиогенез и ремоделирование децидуальных спиральных артерий, очистку апоптотических и клеточных остатков и распознавание патогенов[35, с.15]. Связанные с беременностью изменения в иммунных клетках и системы, происходящие в эндометрии и децидуа во время беременности, определены лишь частично. Тем не менее, с точки зрения успеха имплантации, наиболее важные изменения, известные на сегодняшний день в иммунных клетках эндометрия включают макрофаги, маточные естественные киллерные (NK) клетки, дендритные клетки (DCs), Т-клетки, особенно цитолитические Т-клетки (CTLs), чьи специфические роли были, по крайней мере частично, определены. Точные механизмы, лежащие в основе набора и дифференциации резидентных в матке лимфоцитов, неясны, хотя вполне вероятно, что они зависят от децидуальных клеток, создающих микросреду, благоприятную для имплантации и плацентации[13, с. 429]. Одним из примеров этого процесса является секреция  $IFN\gamma$  и  $VEGF\alpha$  маточным NK-клетками памяти у многорожавших женщин, которые стимулируют ангиогенез и сосудистое ремоделирование трофобластом. После менструации повышение уровня эстрогена в яичниках приводит к быстрой пролиферации эндометриальных клеток перед овуляцией. Интенсивная пролиферация может вызвать репликационный стресс и состояние, предшествующее старению. После постовуляторного повышения уровня прогестерона эндометрий становится временно восприимчивым к имплантирующейся бластоцисте во время средней лютеиновой фазы цикла. Бластоциста прочно прикрепляется к эндометриальному люминальному эпителию, инициируя имплантацию и инвазию в эндометрий. Это окно имплантации также совпадает с интенсивным ремоделированием тканей в строме, вызванным дифференциацией стромальных клеток в специализированные децидуальные клетки и накоплением NK-клеток матки. Предстаряющие стромальные клетки появляются в результате этого процесса как стареющие децидуальные клетки, которые являются сильно воспалительными, производят обилие внеклеточных матричных белков и вызывают вторичное старение в соседних децидуальных клетках. Чтобы избежать этой судьбы, децидуальные клетки секретируют IL-15 и другие факторы, участвующие в рекрутировании и активации NK-клеток матки, которые, в свою очередь, нацеливаются на стареющие децидуальные клетки и устраняют их[31, с. 118]. Очистка стареющих децидуальных клеток местными врожденными иммунными клетками омолаживает эндометрий при имплантации

и имеет решающее значение для успешной трансформации стромы в децидуальную ткань беременности. Вскоре после имплантации линии плацентарных клеток быстро пролиферируют, и многочисленные ворсинки покрывают хорионический мешок. Каждая ворсинка состоит из мезодермального ядра, окруженного внутренним слоем клеток-предшественников цитотрофобласта и внешним слоем синцитиотрофобласта. На кончике ворсины клетки цитотрофобласта прерывают синцитиотрофобласт и сначала формируют столбчатую структуру, состоящую из клеток цитотрофобласта, прежде чем распространиться латерально, чтобы окружить весь зародыш. Эта цитотрофобластическая оболочка прикрепляет плаценту к децидуальной оболочке, а вневорсинчатые клетки трофобласта мигрируют и закупоривают терминальные ветви маточных спиральных артерий. Следовательно, зародыш запечатан и развивается при низком напряжении кислорода в критический период органогенеза, питаясь обильными железистыми выделениями. Низкоуровневая инфекция эндометрия может вызвать хронический эндометрит, характеризующийся притоком плазматических клеток. Механизмы, которые связывают инфильтрацию плазматических клеток с последующей потерей беременности, не полностью изучены, но, вероятно, включают хроническое воспаление и aberrantные врожденные иммунные реакции[32, с. 187].

Хронический эндометрит был впервые выделен как заболевание в международной статистической классификации болезней IX пересмотра 1975 года, а с 1997 г. фигурирует в качестве отдельной нозологической формы в МКБ-10. На Международном конгрессе в Барселоне в 2007 году было принято решение ставить диагноз и проводить лечение хронического эндометрита у всех женщин, переживших хотя бы одну неразвивающуюся беременность. У пациенток с диагнозом «бесплодие», которые долгое время лечились всеми возможными методами, включая вспомогательные репродуктивные технологии, хронический эндометрит выявляется в 60% случаев. В 2007 году на международном конгрессе в Барселоне (Испания) был принят консенсус выставлять диагноз и лечить хронический эндометрит у всех женщин, перенесших хотя бы одну неразвивающуюся беременность. Сложность диагностики хронического эндометрита определяется бессимптомной персистенцией в эндометрии смешанной вирусно-бактериальной флоры. В большинстве случаев инфекция обнаруживается не в цервикальном канале, а в биоптате эндометрия, причем воспалительные изменения наблюдаются как в функциональном, так и базальном слое эндометрия[37].

Успешная имплантация при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО) и переносе эмбрионов зависит от многих факторов, включая качество эмбрионов и восприимчивость матки. Восприимчивость эндометрия определяется как временная уникальная последовательность факторов, которые делают эндометрий восприимчивым к имплантации эмбриона. Это период времени, когда среда в матке благоприятна для принятия бластоцисты и последующей имплантации[34, с. 2].

Несмотря на обязательные и дополнительные пакеты обследований перед процедурой ЭКО, существует группа пациенток, для которых требуется особый подход в ходе проведения цикла ЭКО. В этом контексте выявление факторов риска неудачной имплантации, включая организационные, поможет провести комплексную оценку качества программы ЭКО и разработать меры по профилактике выкидышей после процедуры[20, с. 74].

Исследования, посвящённые этиологии и патогенезу неудач имплантации, как первичных, так и повторных, остаются спорными и вызывают много разногласий. Несмотря на значительный прогресс в области вспомогательных репродуктивных технологий, частота неудачных попыток забеременеть по-прежнему остаётся высокой. Существует большое количество исследований и обзоров, которые исследуют различные причины неудач, включая анатомические особенности матки, рецептивность эндометрия, а также нарушения соединительной ткани и иммунологические факторы, которые могут как негативно, так и позитивно влиять на успех ЭКО[27, с. 342].

Результаты ЭКО, связанные с толщиной эндометрия, остаются актуальной проблемой в области репродуктивной медицины. Недостаточная рецептивность эндометрия является причиной двух третей неудачных имплантаций, в то время как только одна треть неудач зависит от качества эмбрионов[38]. В мета-анализе Kasius et al. было установлено, что частота наступления клинической беременности ниже при ЭТ <7,0 мм, в то же время она не была связана с частотой сохранения беременности и рождения живых детей[7, с. 535]. В мета-анализе Gao et al. изучалась значительная роль толщины эндометрия в исходах беременности после ЭКО[39].

Рецептивность эндометрия уже определена как ключевой фактор, влияющий на частоту успешного ЭКО. В настоящее время для оценки состояния эндометрия во время циклов ЭКО используется ультразвуковое исследование - удобный и неинвазивный метод. Для определения рецептивности эндометрия используются такие сонографические параметры, как толщина эндометрия, рисунок эндометрия, объем эндометрия, а также эндометриальный и субэндометриальный кровоток. Наиболее частой патологией эндометрия, при которой возникают множественные вторичные морфофункциональные изменения, нарушающие циклическую трансформацию и рецептивность слизистой оболочки матки, является хронический эндометрит. При этом все чаще при данной патологии встречается синдром «тонкого» эндометрия. Диагностика тонкого эндометрия основана на ультразвуковом методе исследования, используемом с применением трансвагинального сканирования, проводимого в серошкальном режиме. Критерием «тонкого» эндометрия принято считать толщину эндометрия менее 7 мм и отсутствие трехслойной структуры в период «окна имплантации». В основе развития «тонкого» эндометрия лежит высокий уровень импеданса кровотока в артериях матки. Для оценки кровотока в сосудах матки и эндометрия используют цветное доплеровское картирование и спектральную доплерометрию[40].

Несмотря на то что уже проведено множество исследований, посвященных взаимосвязи между толщиной эндометрия и результатами ЭКО, консенсус не

достигнут и по прежнему остается спорным. Механизм отрицательного влияния «тонкого эндометрия», возможно, связан с тем, что бластоциста в процессе имплантации очень близко соприкасается со спиральными артериями и находится в области высокой концентрации кислорода, что негативно отражается на ее способности к нидации, а также создаются предпосылки для отклонений в метаболизме многочисленных биологических субстанций, которые контролируют тканевый гомеостаз в эндометрии и соответственно влияют на его рецептивность. В последние годы среди многочисленных причин невынашивания беременности большой интерес привлекает концепция эндометриопатий и нарушений имплантации, связанных с «тонким» эндометрием[41].

Основными признаками зрелости эндометрия и критериями прогноза успешного течения беременности, на которые ориентируются в клинической практике, являются толщина, морфологическая структура и рецептивность эндометрия[42]. У здоровых женщин репродуктивного возраста внутренняя оболочка матки регулярно претерпевает циклические изменения, затрагивающие ее толщину, структуру и кровоток. Качественную оценку состояния эндометрия и точное измерение его толщины осуществляют с помощью трансвагинальной эхографии, которая позволяет четко видеть границу между слизистой оболочкой и миометрием. В клинической практике начали активно обсуждаться ключевые аспекты, такие как зрелость эндометрия и критерии успешной имплантации, включая морфологию матки, ее структурную целостность и восприимчивость эндометрия. Восприимчивость эндометрия - важнейший фактор, участвующий в процессе имплантации эмбриона. Недостаточная толщина эндометрия может привести к снижению восприимчивости эндометрия. Примечательно, что оптимальная рецептивность эндометрия может быть достигнута при толщине эндометрия 8-14 мм, в то время как скорость имплантации эмбриона снижается при толщине менее или равной 7 мм[43]. При выполнении ультразвукового исследования за толщину эндометрия принимают максимальное значение переднезаднего размера М-эхо (изображение сразу двух слоев эндометрия, относящихся к противоположно расположенным стенкам матки в плоскости сканирования, и линию смыкания между этими слоями). Определение толщины М-эхо выполняют при продольном сканировании матки, одновременной визуализацией цервикального канала. Измерение осуществляют по наружным контурам М-эхо. Обращает внимание, что линия смыкания между передним и задним листками эндометрия, придающая эндометрию характерную трехлинейную структуру, обычно визуализируется во второй половине пролиферативной и в начале секреторной фазы. Толщина М-эхо в естественных циклах под влиянием гормональной регуляции достигает наибольших численных значений в середине секреторной фазы и к моменту овуляции в норме по данным УЗИ достигает 8–12 мм[44].

В норме предимплантационный эндометрий отличается наличием развитой капиллярной сети, микроциркуляции, оксигенации тканей, пролиферативной активности клеток эпителия и стромы, активным метаболизмом и готовностью

нейрорецепторного аппарата эндометрия. Период оптимальной рецептивности эндометрия начинается на 6 день после овуляции и продолжается 4-5 суток, что соответствует 20-24 дням менструального цикла и этот период называют «окном имплантации». Трансвагинальное УЗИ играет важную роль в современном управлении фертильностью. Регулирование кровотока в матке и яичниках является важным аспектом репродуктивной физиологии. Импульсная и цветная доплеровская технологии были использованы для того, чтобы показать, что кровоток, направленный в матку и яичник, претерпевает важные изменения в связи с циклическими гормональными изменениями и может быть легко обнаружен с помощью цветного доплера. Более логичным подходом было бы проанализировать все параметры ультрасонографии и доплера вместе, чтобы оценить восприимчивость матки. На основе многочисленных исследований по всему миру динамики цветового потока репродуктивных органов были разработаны различные системы оценок и критерии для прогнозирования имплантации эмбрионов, перенесенных в ходе вспомогательных репродуктивных технологий. Многие исследователи подчеркивают важность наличия многослойного (трехслойного) эндометрия как прогностического маркера успеха в программах ЭКО/ИКСИ. Не только измерение толщины эндометрия и ультразвуковая картина эндометрия, но и измерения маточного кровотока могут обладать прогностической ценностью в отношении имплантации. Для оценки кровотока в сосудах матки и эндометрия используют цветное картирование и спектральную доплерометрию. Оценивая маточную гемодинамику, особое внимание обращают на степень и симметрию васкуляризации миометрия, визуализацию всех последовательных ветвей сосудистого дерева матки (маточных, аркуатных, радиальных, базальных, спиральных артерий), наличие как систолической, так и диастолической составляющей кровотока в исследуемых сосудах, величину показателей углонезависимых индексов кривых скоростей кровотока: пульсационного индекса, индекса резистентности, систоло-диастолического соотношения[45].

Рецептивность эндометрия (толщина и васкуляризация) является предопределяющим фактором в прогнозировании исхода беременности у женщин. Если толщина, измеренная ультразвуком, составляет менее 7 мм, функциональный слой тонкий или отсутствует, и имплантирующийся эмбрион будет находиться гораздо ближе к спиральным артериям и более высокой сосудистости и концентрации кислорода в базальном эндометрии. Высокая концентрация кислорода вблизи базального слоя может быть губительной по сравнению с обычным низким напряжением кислорода в поверхностном эндометрии. Успешная имплантация зависит от тесного взаимодействия между бластоцистой и рецептивным эндометрием. Хорошее кровоснабжение периимплантационного эндометрия обычно считается необходимым условием для нормальной имплантации. В настоящее время, с развитием ультразвука, для оценки кровотока в эндометрии используется цветная доплеровская визуализация. Преимущества цветной доплерографии заключаются в высокой чувствительности к медленному кровотоку, меньшей зависимости от углов и

меньшей замутненности изображения. Наряду с толщиной эндометрия важнейшим показателем его состоятельности считаются эхографические признаки трехслойной структуры. Было показано, что даже при толщине эндометрия менее 7 мм наличие трехслойной структуры может обеспечить наступление беременности (24,4%) и низкую частоту выкидышей в первом триместре, тогда как при отсутствии признаков трехслойной структуры беременностей не наблюдалось. Гемодинамические показатели сосудов матки на 2-3 дни менструального цикла не отражают имплантационную способность эндометрия в циклах ЭКО. Восприимчивость эндометрия (толщина и сосудистость) является предопределяющим фактором в прогнозировании исхода беременности у женщин с репродуктивными потерями в анамнезе. Наиболее эффективным в отношении прогноза наступления беременности явилось определение гемодинамических показателей в спиральных и базальных артериях матки в день введения триггера овуляции и IR базальных и PI спиральных артерий в день переноса эмбрионов[8, с. 377]. Однако, исследование базальных и спиральных артерий не всегда представляется возможным как в день введения триггера овуляции, так и в день переноса эмбрионов. Поэтому, наиболее перспективным является комплексная оценка рецептивности эндометрия с применением доплерометрических показателей гемодинамики сосудов матки, иммуногистохимических и иммунологических маркеров имплантации[42, с. 998].

Помимо толщины при УЗИ можно оценить структуру эндометрия и состояние субэндометриального кровотока. Эндометрий при УЗИ имеет трехслойную структуру и состоит из: центральной эхогенной линии, соответствующей полости матки; внешних линий, соответствующих базальному слою эндометрия; относительно гипоэхогенной области между двумя внешними линиями и центральной линией, соответствующей функциональному слою эндометрия. При исследовании маточной гемодинамики обращают внимание на особенности васкуляризации миометрия, визуализации артерий матки, величину индексов сопротивления - пульсационного индекса (PI), индекса резистентности (IR); систоло-диастолическое соотношение (S/D). Изучение доплерометрических параметров сопротивления при спонтанной физиологически протекающей беременности у здоровых женщин выявило достоверное снижение IR и PI маточных, аркуатных, радиальных, базальных и спиральных артерий на ранних сроках по сравнению с аналогичными показателями у женщин с беременностью, завершившейся самопроизвольным абортom. Оценка комбинированного влияния толщины и структуры эндометрия в день введения хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) на клинический исход лечения проведена в 2896 циклах ЭКО/ИКСИ S.Chen и соавт. Авторы показали, что даже в случае толщины эндометрия менее 7 мм и наличия трехслойной структуры частота наступления беременности составила 24,4%. При величине эндометрия 7–14 мм и отсутствии трехслойности частота наступления беременности не уменьшалась, но значительно увеличивалось количество самопроизвольных выкидышей[46].

Рецептивность эндометрия - это сложный процесс, который обеспечивает эмбриону возможность прикрепиться, внедриться и развиваться, что в итоге приводит к появлению нового человека и продолжению рода[47]. У большинства здоровых женщин окно имплантации длится 3-6 дней в течение секреторной фазы. При определенных воспалительных или анатомических заболеваниях это окно сужается или смещается, препятствуя нормальной имплантации, что приводит к бесплодию или потере беременности[6, с. 61]. Способность эндометрия обеспечить нормальную имплантацию называется восприимчивостью, а оптимальная восприимчивость приводит к нормальным процессам имплантации, которые служат основой для здоровой беременности. Роберт Эдвардс однажды написал, что эндометрий является последним барьером на пути к прогрессу во вспомогательных репродуктивных технологиях. Нарушение процессов пролиферации функционального слоя эндометрия с неполноценностью и отставанием секреторной трансформации обуславливают неспособность половых гормонов обеспечивать адекватное циклическое преобразование эндометрия и, как следствие, приводить к патологической имплантации, исходом которой могут стать причинами ранних репродуктивных потерь[5, с. 887].

Гистероскопия или пайпель-биопсия с последующим гистологическим анализом эндометрия в фазу «окна имплантации» позволяют выявить значительные изменения в ультраструктуре морфологии эндометриальных эпителиальных клеток[48]. При электронном сканировании эпителия в период его максимальной рецептивности можно обнаружить эктоплазматические пиноподии, которые играют роль в облегчении прикрепления бластоцисты к поверхностному слою эндометриальных клеток. Хотя пиноподии считаются специфическим ультраструктурным маркером рецептивности эндометрия, в случаях её снижения не отмечено нарушения их функции. Поэтому наличие пиноподий не может служить точным маркером, определяющим рецептивность эндометрия[49].

К факторам риска эмбриональных потерь относятся: врожденные и приобретенные тромбофилии, хронический эндометрит, подтвержденный гистологически, а также нарушение кровообращения в малом тазу, выявленное с помощью доплерометрии сосудов матки. Применение стратегии тщательного выявления пациенток с подтвержденными факторами риска ранних эмбриональных потерь и комплексная подготовка таких женщин с использованием современных методов способствуют увеличению числа пациенток, успешно преодолевших эмбриональный порог после ЭКО и ПЭ на 20%, что в свою очередь положительно сказывается на основном показателе take baby home[16, с. 88].

Исходя из всего вышеизложенного, можно с уверенностью утверждать, что исследование этиопатогенетических факторов рецидивов репродуктивных потерь на современном этапе является крайне важным и необходимым для совершенствования организации медицинской помощи женщинам,

сталкивающимся с данной проблемой, что, в свою очередь, способствует улучшению демографической ситуации как в регионе, так и в стране в целом.

В последнее время наблюдается возрастающий интерес к концепции эндометриопатии и ее возможной связи с развитием выкидышей, что стало важной темой в последние годы. Особое внимание уделяется ее возможному воздействию на имплантацию, особенно в контексте «тонкого» эндометрия. Патологические особенности тонкого эндометрия характеризуются медленным ростом железистого эпителия, высоким сопротивлением у женщин репродуктивного возраста, не имеющих проблем со здоровьем, слизистая оболочка матки регулярно претерпевает циклические изменения, которые влияют на ее толщину, структуру и потенциал фертильности. В естественных циклах толщина М-эхо под влиянием гормональной регуляции достигает пиковых значений примерно к середине секреторной фазы и достигает нормального ультразвукового измерения 8–12 мм к моменту овуляции. На типичной предимплантационной стадии эндометрий имеет такие особенности, как хорошо развитая капиллярная сеть, микроциркуляция, оксигенация тканей, увеличение клеточного эпителия и пролиферации стромы, повышенная метаболическая активность и подготовленная нейрорецепторная система внутри эндометрия. Пик рецептивности эндометрия обычно начинается примерно на 6-й день после овуляции и продолжается в течение 4-5 дней, что соответствует 20-24 дням менструального цикла, называемым «окном имплантации». В основе развития «тонкого» эндометрия лежит высокий уровень импеданса кровотока в артериях матки. Для оценки кровотока в сосудах матки и эндометрия используют цветное доплеровское картирование и спектральную доплерометрию [50]. Поэтому тонкий эндометрий часто определяется как толщина эндометрия менее 7 мм при трансвагинальном ультразвуковом исследовании в поздней фолликулярной фазе или после овуляции [51].

Снижение рецептивности эндометрия связывают с дисфункцией регуляции гормонов на всех уровнях системы «гипоталамус-гипофиз-яичники-эндометрий». Существуют исследования, демонстрирующие у пациентов с гипоплазией эндометрия снижение экспрессии рецепторов эстрогена в стромальных клетках во время пролиферативной и секреторной фаз, тогда как в железистых эпителиальных клетках - только во время пролиферативной фазы [52].

Среди факторов риска выделяют ранние эмбрионические потери (с 14-го по 21-й день после ПЭ), связанные с низким овариальным резервом, хроническим эндометритом, совпадением по 3 и более антигенам II класса системы HLA, наличием антител к хорионическому гонадотропину человека [25], а также эмбрионические потери (с момента констатации сердцебиения до 10 недель беременности), связанные с врожденными и приобретенными тромбофилиями, хроническим эндометритом, индексом массы тела 28,7 кг/м<sup>2</sup> и более, нарушением кровообращения в малом тазу по данным доплерометрии сосудов матки [53].

Патофизиологические особенности «тонкого» эндометрия состоят в недостаточном росте железистого эпителия, обеднении сосудов и нарушении экспрессии ряда регуляторных цитокинов, ростовых факторов, натуральных киллеров, лимфоцитов, что в свою очередь, снижает имплантационную способность эмбрионов[54].

На успех программ вспомогательных репродуктивных технологий влияет множество факторов, включая возраст матери, характеристики эндометрия, такие как структура эндометрия, толщина эндометрия, субэндометриальный кровоток, а также количество эмбрионов, доступных для переноса[55]. Одним из важных факторов является рецептивность эндометрия, которую отражает его толщина. При этом рутинный мониторинг толщины эндометрия во время овариальной стимуляции не рекомендован, предлагается проводить измерение во время ультразвукового исследования при аспирации ооцитов или в день назначения триггера финального созревания ооцитов для диагностики очень тонкого эндометрия, который может повлиять на исход программы ВРТ[56]. Нарушения рецептивности эндометрия является существенной частью процесса имплантации эмбриона, а недостаточный рост эндометрия связан с более низкой вероятностью наступления беременности[57]. Многие методы диагностики и лечения применялись для улучшения рецептивности эндометрия, но их эффективность остается спорной.

За прошедшие годы было опубликовано много публикаций о потенциальных сонографических маркерах рецептивности эндометрия. Хотя это остается спорным вопросом, толщина эндометрия является наиболее широко используемым прогностическим фактором рецептивности эндометрия во время вспомогательных репродуктивных технологий, перинатальные исходы, включая преждевременные роды, показатели живорождения и гибели плода, связь, которая может быть объяснена сниженной избирательной способностью нарушения рецептивности эндометрия[58,59]. Снижение восприимчивости эндометрия связано со снижением вероятности беременности, самопроизвольного выкидыша, внематочной беременности, низкой массой тела при рождении и низким весом при рождении по сравнению с гестационным возрастом[60]. Большие когортные исследования показали значительное снижение числа показателей живорождения при уменьшении толщины эндометрия перед запуском овуляции в процедурах ЭКО/ИКСИ. Имплантация эмбриона в полость матки – сложный многоступенчатый процесс с вовлечением большого числа клеточных и гуморальных факторов, успешность которых зависит не только от исходного состояния эндометрия, но и от качества эмбриона[49, с. 609]. Данные об исходах беременности были схожими в свежих и замороженных циклах, включая показатели клинической беременности, имплантации и фертильности[61,62]. Тем не менее, толщина эндометрия был лучшим предиктором рецептивности эндометрия в свежих циклах, чем в замороженных циклах[63].

Наиболее распространенные причины истончения до 60% были связаны с внутриматочными вмешательствами, которые могли повредить базальный слой

эндометрия[64,65]. У некоторых женщин эндометрий также может быть тонким от природы [66]или под влиянием стероидных гормонов[67].

Результаты ЭКО у пациенток с нарушенной восприимчивостью эндометрия зависят не только от состояния эндометрия. Факторы риска и толщина эндометрия значительно влияют на показатель живорождения в свежих и замороженных циклах. Согласно результатам систематического обзора, у женщин с нарушенной восприимчивостью эндометрия важно применять индивидуальный подход с высококачественной диагностикой и эффективными методами лечения для достижения адекватной толщины с улучшенной восприимчивостью эндометрия[68].

При исследовании биоптатов эндометрия предлагают использовать молекулярно-генетические методы (геномика), с помощью которых изучают экспрессию генов, функция которых связана с клеточным метаболизмом, железистой секрецией, дифференцировкой клеток, межклеточной коммуникацией, адгезией, механизмами репарации и регуляции протеолиза. Транскриптомный анализ может предсказать тонкий эндометрий путем идентификации генов с повышенной активностью[69].

## **1.2 Молекулярные методы оценки рецептивности эндометрия**

Эндометрий обладает наибольшей восприимчивостью к имплантации эмбриона на стадии бластоцисты в период, называемый «имплантационным окном». Рецептивность эндометрия определяется совокупностью его структурно-функциональных характеристик, которые создают оптимальные условия для имплантации бластоцисты. Процесс имплантации зависит от сложной системы регуляции межмолекулярных и межклеточных взаимодействий, которые обеспечивают «диалог» между эмбрионом и восприимчивым эндометрием, а также способствуют проникновению эмбриона в децидуальный слой матки и дальнейшей дифференцировке клеток эмбриона и трофобласта[70]. При различных заболеваниях эндометрия происходит нарушение его секреторной трансформации, что приводит к снижению активности маточных желез, в том числе секреции эндометрия. Это, в свою очередь, уменьшает рецептивность эндометрия и нарушает взаимодействие эмбриона с материнским организмом на стадии до имплантации. С помощью микроматриц или NGS стало возможным провести одновременный анализ сразу большого количества транскриптов, но не было выявлено одного или нескольких ключевых генов, способных влиять на рецептивность эндометрия. Рецептивный статус эндометрия рассматривают как результат координированной экспрессии сразу большого количества генов, без доминирующей роли какого-то одного или нескольких факторов. Гены, показывающие существенное увеличение или снижение активности по результатам полногеномного анализа, не обязательно ключевые для успешной имплантации. Поэтому результаты полногеномных исследований не всегда совпадают с результатами анализа единичных транскриптов[71]. Для оценки рецептивности эндометрия разработаны и используются различные диагностические методы, включая гистологический анализ[72], электронную микроскопию[73], иммуногистохимическое

исследование[31, с. 118], определение уровня простагландинов с помощью масс-спектрометрии[74] и молекулярно-генетические исследования[75]. Эти методы в значительной степени зависят от различных факторов, в то время как молекулярные механизмы имплантации до сих пор остаются плохо изученными. Это стало причиной для проведения дополнительных исследований и разработки новых маркеров рецептивности эндометрия. Структурные изменения эндометрия, такие как образование пиноподий, изменения их морфологии, возникновение структурных белков на апикальной поверхности эпителиальных клеток, секреция растворимых регуляторных факторов и экспрессия молекулярных маркеров рецептивного эндометрия, происходят в результате изменения активности транскрипции генов под воздействием стероидных гормонов. Транскрипционную активность генов оценивают по количеству соответствующих мРНК. Для изучения уровня отдельных молекул мРНК обычно применяют нозерн-блот анализ (англ. Northern blot) или метод обратной транскрипции с количественной ПЦР. Для анализа общего набора молекул мРНК в клетке используют микроматричный анализ или высокопроизводительное секвенирование (next generation sequencing, NGS) — современные генетические технологии, которые позволяют исследовать экспрессию сотен и тысяч генов в одном эксперименте[34, с. 2; 76].

Одним из рекомендованных методов анализа экспрессии генов является метод Endometrial Receptive Array (ERA), который исследует 238 генов, а также метод Receptivity Associated Genes (RAGs), охватывающий 179 генов [15, с. 50]. ERA представляет собой специализированный ДНК-микрочип, включающий 238 генов, чья экспрессия варьирует на различных стадиях эндометриального цикла. С помощью этой комбинированной транскриптомной подписи можно определить окно имплантации (window of implantation – WOI). Анализ ERA помогает определить восприимчивость или невосприимчивость эндометрия, что позволяет прогнозировать изменения времени окна имплантации (WOI) и предоставляет доказательства для необходимости индивидуализации переноса эмбрионов. ERA - метод оценки рецептивности эндометрия, основанный на ограниченном наборе генов, что позволяет избежать использования полногеномных микрочипов и, таким образом, снижает затраты и упрощает анализ данных. Однако, как новый геномный инструмент, тест ERA имеет свои ограничения: он не способен точно определить оптимальное время для переноса эмбрионов или выявить заболевания матки, которые могут повлиять на имплантацию. Учитывая, что у пациенток с привычным невынашиванием и синдромом «тонкого» эндометрия причина эндометриопатий связана с хроническим эндометритом, поэтому перспективными методами диагностики дисфункций является изучение гено- и фенотипа маркеров иммунного ответа[77].

Анализ экспрессии мРНК с использованием Gene Ontology (GO) показал, что гены с повышенной активностью в «тонком» эндометрии включают несколько генов, связанных с иммунными процессами. Исследование Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) выявило, что гены, такие как

TNFAIP2 и TNFAIP6, а также те, что индуцируют IFN- $\gamma$ , FASLG, GZMB и TNF- $\alpha$ , связаны с цитотоксичностью натуральных киллеров. Также было обнаружено подавление генов, связанных с метаболизмом и реакциями на окислительный стресс. Эти гены, включая PPAR- $\gamma$ , XDH, CBR3, IDH1 и CPT1, играют важную роль в клеточных реакциях на окислительный стресс. Дополнительно, GO-анализ показал снижение активности генов, которые участвуют в катаболических процессах, направленных на расщепление крупных молекул, таких как полисахариды, липиды и белки, на более мелкие компоненты, такие как моносахариды, жирные кислоты и аминокислоты[78].

Достижения в области изучения рецептивности эндометрия, включая протеомику, эпигенетику, микроматрицу ДНК для мРНК и микроРНК, а также фенотипирование иммунокомпетентных клеток, открывают возможности для выявления новых биомаркеров эндометриальной рецептивности. На примере использования ДНК-микрочипа, исследования нормального и патологического эндометрия приводят к созданию растущего списка потенциальных биомаркеров, связанных с периодом имплантации. Выявлено 318 генов с увеличенной регуляцией и 322 гена с уменьшенной регуляцией в тонком эндометрии по сравнению с контрольным. Анализ путей GO и KEGG показал, что в тонком эндометрии наблюдается аномальная активация иммунных процессов и цитотоксичности естественных клеток-киллеров, что сопровождается повышенным уровнем воспалительных цитокинов, таких как IFN- $\gamma$ . Также в тонком эндометрии были снижены экспрессия генов, связанных с метаболизмом и антиоксидантным стрессом [22, с. 611; 79].

Гены, демонстрирующие значительные изменения в активности на основе полногеномного анализа, не всегда играют ключевую роль в успешной имплантации. Поэтому результаты полногеномных исследований могут не совпадать с данными, полученными из анализа отдельных транскриптов РНК. Винтегративной биомедицине используются различные подходы, основанные на анализе нескольких слоев данных о регуляции генов (генетические варианты, транскрипты РНК, профили метилирования ДНК, концентрации белков, метки хроматина)[80]. Это позволяет суммировать и анализировать общедоступные данные, полученные различными научными группами из отдельных омических подходов, посредством метаанализа мульти-исследований[81].

.Благодаря объединенному измерению экспрессии РНК и белков клеток иммунной системы можно получить результаты с большей статистической мощностью по сравнению с отдельными анализами.Целевые подходы экономят как затраты на секвенирование, так и время анализа, позволяя исследователям лучше использовать ресурсы для других иммунных исследований. В интегративной биомедицине применяются различные методы, которые учитывают несколько уровней данных о регуляции генов (генетические вариации, РНК-транскрипты, метилирование ДНК, белковые профили, хроматиновые метки)[81-83]. Это дает возможность суммировать и анализировать общедоступные данные, полученные различными научными

группами с использованием различных омических подходов, через метаанализ многократных исследований[84].

Репродуктивные нарушения могут возникать как при спонтанной, так и при искусственной беременности, а также при синдроме «тонкого» эндометрия. Причины эндометриопатий часто связаны с хроническим эндометритом. В настоящее время нет практических и эффективных диагностических инструментов, доступные для точного прогнозирования восприимчивости эндометрия. Транскриптомика, область, основанная на технологии микрочипов, имеет ряд процедуры для клинических приложений, хотя функциональная значимость большинства идентифицированных генов остается неясной.

Важно, что секвенирование РНК будет способствовать дальнейшему повысить точность и расширить клиническое применение транскриптома за счет обнаружения ранее неизвестных генов, которые могут быть использованы для изучения понимание восприимчивости эндометрия. В связи с этим перспективными методами диагностики дисфункций являются анализ генотипа и фенотипа маркеров иммунного ответа. В последнее десятилетие транскриптомика эндометрия была использована для обогащения наших знаний о патофизиологии эндометрия и для улучшения понимания процесса имплантации. Сообщалось, что значительное количество генов дифференциально экспрессируется между пререцептивной и рецептивной фазами эндометрия. Исследования, основанные на транскриптомном и молекулярном анализе эндометрия, способствовали пониманию механизмов имплантации и выявлению потенциальных молекулярных биомаркеров, определяющих восприимчивость эндометрия [85-87]. Транскриптомная подпись рецептивности эндометрия изучается с 2002 года, и было опубликовано множество исследований, в которых проводился анализ экспрессии генов в естественных или циклов контролируемой стимуляции яичников у фертильных и бесплодных женщин[88]. Множество генов демонстрируют дифференциальную экспрессию между пререцептивной и рецептивной фазами эндометрия, однако их число колеблется от 107 до 2878 в зависимости от разнообразия пациентов, участвующих в различных исследованиях. Исследования, в которых сообщалось об анализе экспрессии генов для выявления молекулярных биомаркеров рецептивности эндометрия либо в естественных, либо в контролируемых циклах стимуляции яичников для фертильных и бесплодных женщин. Во всех этих сравнениях секреторной фазы фертильных женщин в естественных циклах профили экспрессии генов различаются. Различия в результатах могут быть объяснены несколькими факторами, как как: размер выборок пациентов (от 6 до 88 образцов), возраст пациентов (от 22 до 39 лет), местонахождение пациентов (Европа, Северная Америка), время взятия проб в течение цикла, тип ДНК-микрочипов, содержащих различную геномную информацию (30 000 генов для микрочипов олигонуклеотидов Nu133P против 12 000 генов для Nu95A), статистические методологии, биоинформатические инструменты, образцы, сравниваемые у одних и тех же или разных пациентов. Успешная имплантация - сложный

процесс, требующий рецептивного эндометрия, жизнеспособного эмбриона и синхронизированного диалога между материнскими и эмбриональными тканями. Несмотря за последние несколько лет проведенные исследования транскриптомного анализа рецептивности эндометрия, необходимы дополнительные исследования, чтобы оптимизировать отбора биомаркеров рецептивности эндометрия и материнско-плодового диалога, которые влияют на исход беременности. Анализ онтологии генов показал, что деление и пролиферация клеток, клеточная сигнализация и реакция, внеклеточная организация и коммуникация, иммунологическая активность, пролиферация сосудов, регуляция кровяного давления и имплантация эмбриона - наиболее часто встречающиеся биологические термины в этой группе генов. Анализ главных компонент и дискриминантный функциональный анализ показал, что 40 из дифференциально экспрессируемых генов позволяют точно классифицировать образцы по статусу эндометрия (пролиферативный, пререцептивный, рецептивный и пострецептивный) как в фертильной, так и в бесплодных группах[89-91]. В некоторых исследованиях впервые продемонстрировано значительное снижение уровня нескольких транскриптов в эндометрии без явных отклонений и показано, что оно связано с неудачей имплантации. А также повторные неудачи имплантации у пациенток связаны с внутренним дефектом в экспрессии множества генов в эндометрии в начале окна имплантации. Как известно из исследования, снижение уровня нескольких транскриптов в рецептивный период в эндометрии в эндометрии, не имеющем других выраженных аномалий, впервые продемонстрировано в связи с неудачей имплантации[92,93].

Из-за важной роли различных иммунных путей в патогенезе необъяснимой рецидивирующей неудачи имплантации сложно выделить определённые гены, которые могут предсказать рецептивность эндометрия. Рецептивность эндометрия не ограничивается бинарным состоянием (все или ничего); вместо этого степень и характер аномальной рецептивности могут привести к различным репродуктивным проблемам, включая полную рецидивирующую неудачу имплантации (RIF) или бесплодие, а также рецидив потерю беременности (RPL) или выкидыш, а также более легкие формы неудачи имплантации и инвазии, такие как преэклампсия [94]. Во время имплантации эмбриона иммунные клетки выполняют функции ремоделирования тканей и иммуномодулирования, в том числе способствуют прикреплению эпителия, модулируют инвазию трофобласта, регулируют децидуальную трансформацию, ремоделируют маточной сосудистой сети и контроль воспалительной активации. Биоинформационные транскриптомные исследования человеческого эндометрия выявили сотни одновременно повышающих и понижающих регуляцию генов, которые участвуют в восприимчивости эндометрия, проводили метаанализ генов, связанных с восприимчивостью эндометрия, на 164 образцах эндометрия (76 из «пререцептивной» и 88 из эндометрия средней секреторной, «рецептивной» фазы), используя метод надежной ранговой агрегации (RRA), за которым следует анализ обогащения и прогноз

регуляторной микроРНК. Идентифицировали метасигнатуру восприимчивости эндометрия, включающую 57 генов мРНК в качестве предполагаемых маркеров восприимчивости, где 39 из них подтвердили экспериментально с помощью метода РНК-секвенирования в двух отдельных наборах данных. Гены метасигнатуры подчеркивают важность иммунных ответов, каскадного пути комплемента и участия экзосом в средних секреторных функциях эндометрия. Биоинформатическое исследование позволяет сузить поиск до 30 генов, при этом мета-сигнатуры генов подчеркивают важность иммунных реакций, идентифицированных генов метасигнатуры и вовлеченных путей вместе с их регуляторными микроРНК могут служить перспективными и востребованными биомаркерами восприимчивости эндометрия, фертильности и бесплодия[95], и в первую очередь, аномальной активации врожденной иммунной системы[96]. На мультиомиксных данных показал, что наиболее широко представленными генами восприимчивости эндометрия была группа, ответственная за пролиферацию сосудов [42, с. 998] и иммунологическую активность[97]. Немаловажную роль в процессах пролиферации клеток эндометрия и инвазии бластоцисты играют такие факторы, как интерлейкин (IL)-1 $\beta$ , сосудистый эндотелиальный ростовой фактор (VEGF), эпидермальный ростовой фактор (EGF), фактор роста фибробластов (FGF1), фактор ингибирования лейкемии (LIF). Патологические особенности «тонкого эндометрия» включают недостаточный рост железистого эпителия, снижение экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и истощение кровеносных сосудов[98]. Это особенно актуально для патологических состояний, связанных с тонким эндометрием. В тонком эндометрии, в отличие от нормального, локальное микроокружение в фазе пролиферации характеризуется уменьшением количества стромальных, эпителиальных, естественных киллеров, Т-клеток и увеличением клеточного старения в периваскулярных клетках[99].

Одним из критических факторов неудачи имплантации считается тонкий эндометрий, при котором толщина эндометрия в период «окна имплантации» составляет менее 7 мм. Для успешной имплантации требуется эмбрион высокого качества, эндометрий, готовый к восприятию, и их синхронность. Несмотря на достижения в области вспомогательных репродуктивных технологий, включая предимплантационный генетический скрининг, причины неудачных репродуктивных исходов многообразны. Эндометриальный фактор остается одним из основных факторов низкой успешности ЭКО, поскольку нарушение восприимчивости эндометрия является причиной двух третей неудачных имплантаций[100].

Существующие методы лечения не способны достичь удовлетворительных клинических эффектов у многих пациенток с тонким эндометрием[101]. В рецептивной фазе эндометрия у здоровой женщины большое количество генов, представляющих различные сигнальные пути и мета-сигнатуры, дифференциально экспрессируются[90, с. 220]. Однако многие исследователи предложили использовать наиболее часто встречающиеся гены для дальнейшего анализа[102].

Анализ онтологии генов показал, что широко распространенные метасигнатуры представлены генами иммунного ответа, включая каскад провоспалительных сигналов (СХС мотив хемокиновый лиганд 8 (CXCL8) и СХС мотив хемокиновый лиганд 1 (CXCL1)), каскад комплемента (альфа белок, связывающий 4 компонент комплемента (C4BPA)), аномальную активацию врожденной и адаптивной иммунной системы (интерлейкин 15 (IL-15), транскрипт 2, экспрессируемый в сердце и производных нервного гребня (HAND2) и интерферон гамма (INFG)), сосудистую пролиферацию (сосудистый эндотелиальный фактор роста В (VEGF-B)), разрушение внеклеточного матрикса и ремоделирование тканей (матриксная металлопептидаза 10 (MMP10)), генерацию пуриновых нуклеотидов (гипоксантинфосфорибозил-трансфераза 1 (HPRT1)) и клеточной адгезии (тенасцин С (TNC))[103]. В нашем исследовании были выбраны 5 генов иммунного ответа (CXCL1, INFG, C4BPA, VEGFB, HAND2 и IL15), активность которых была повышена в рецептивную фазу эндометрия у здоровых женщин. Кроме того, два из них C4BPA и CXCL1 показали снижение регуляции при неудачной имплантации у женщин[104]. Предполагается, что снижение экспрессии этих транскриптомов будет свидетельствовать о неудаче имплантации при естественных, также искусственных циклах беременности с тонким эндометрием. В настоящем исследовании был поставлен вопрос о том, будет ли наблюдаться пониженная регуляция выбранных генов в случае тонкого эндометрия у пациенток с повторными неудачами имплантации.

Таким образом, изучение генов иммунного ответа, участвующих в образовании цитокинов и хемокинов, секреции, передачи сигналов интерлейкина и факторов транскрипции при дифференцировке и созревании клеток, а также белков клеточной поверхности будет иметь основополагающее значение для понимания диагностики патологических состояний при хроническом эндометрите. Эти результаты будут способствовать выявлению биологических маркеров дисфункции эндометрия у пациенток с неудачами имплантации и привычным невынашиванием, что позволит персонализировать подходы к реабилитационной терапии до этапа ЭКО и улучшить результативность вспомогательных репродуктивных технологий.

#### Выводы

Недостаточная восприимчивость эндометрия является основным фактором, приводящим к неудаче имплантации и традиционный способ морфологического наблюдения эндометрия не может в достаточной степени определить состояние восприимчивости. Жизнеспособность эмбриона, рецептивность эндометрия и перекрестные помехи между эмбрионом и матерью являются тремя определяющими факторами успешной имплантации эмбриона. Преимплантационный генетический скрининг (ПГС) используется для исключения эмбрионы, несущие анеуплоидию, способствуют наступлению беременности, но клиническая частота наступления беременности не так удовлетворительна, как предполагалось. Хотя тонкий эндометрий широко признан критическим фактором неудачи имплантации, вклад регуляторной сети

микроРНК-мРНК в развитие этиологии заболевания еще предстоит выяснить. В данном исследовании был проведен интегративный анализ профилей экспрессии микроРНК-мРНК в тонком и прилежащем нормальном эндометрии пациенток с внутриматочной спайкой с целью построения транскриптомных регуляторных сетей. При синдроме «тонкого» эндометрия используются различные подходы к оценке рецептивности эндометрия в зависимости от причины возникновения. Одним из основных направлений преодоления репродуктивных потерь является диагностика эндометриальной дисфункции, ассоциированной с нарушением рецептивности и репаративного потенциала эндометрия. Настоящий обзор посвящен анализу состояния проблемы нарушения рецептивности эндометрия как причина репродуктивных потерь и современным методам диагностики. Для определения рецептивности эндометрия разработаны и используются различные методы. Наиболее перспективными методами диагностики периода «имплантационного окна» представляются подходы, основанные на объединенном изучении (мультиомика) генотипа (транскрипционный анализ) и фенотипа маркеров иммунного ответа.

## 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн диссертационного исследования представлены на рисунках 1, 2.



Рисунок 1 – Дизайн ретроспективного этапа диссертационного исследования

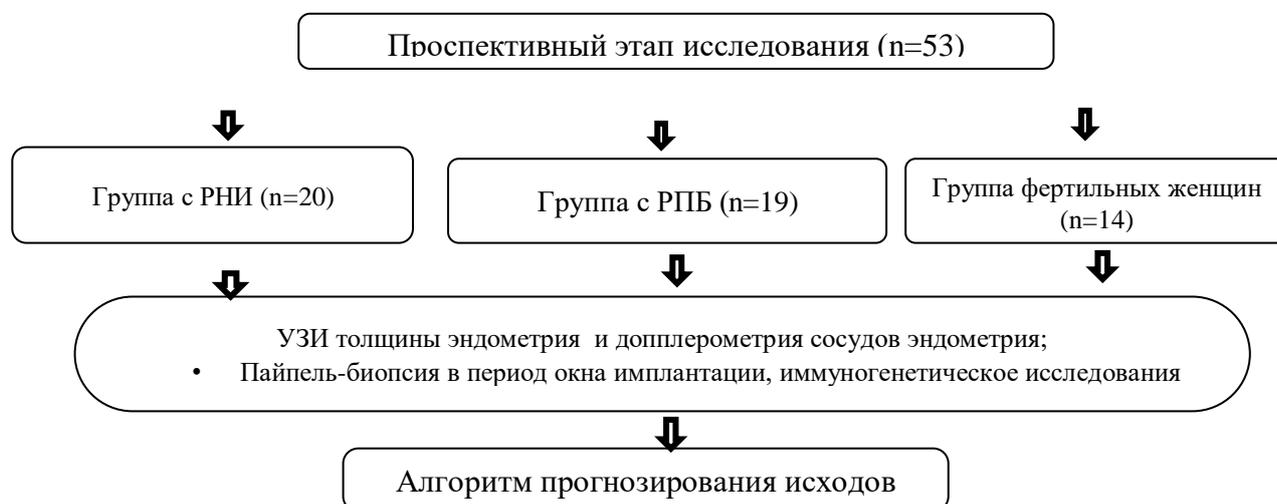


Рисунок 2 – Дизайн проспективного этапа диссертационного исследования

Предмет исследования: использованы следующие методы исследования: трансвагинальная эхография с цветовым доплеровским картированием спектральной доплерометрией; гистероскопия или пайпель биопсия с забором биоптата эндометрия; метод транскриптомного анализа: профиль экспрессии выбранных генов C4BPA, IL15, HAND2, VEGFB, CXCL1.

Объекты исследования: Ретроспективное и проспективное клинико-иммунологическое исследование пациенток с синдромом «тонкого» эндометрия (основная группа), в анамнезе которых были рецидивы потери плода в возрасте 20-45 лет. Группу сравнения составят пациентки без репродуктивных потерь и наличием нормальной толщины эндометрия на 20-24 дни цикла. На каждую пациентку составлена индивидуальная карта наблюдения, включающая результаты обследования с изучением жалоб, соматического и акушерско-гинекологического анамнеза, данных общего и гинекологического статуса, лабораторные, а также специальные методы исследования.

Для проведения исследования нами была разработана программа исследования, состоящая из следующих этапов (таблица 1).

Таблица 1 – Программа исследования

Задачи исследования	Этап исследования	Материалы исследования	Методы и дизайн исследования	Объем и объект исследования
1	2	3	4	5
1. Проанализировать факторы риска неудач имплантации в программах ЭКО и привычного невынашивания и оценить прогностическую ценность толщины эндометрия как один из основных предикторов репродуктивных потерь	Анализ международной литературы	Систематический обзор: Толщина эндометрия и исходы беременности, PRISMA Опубликованные статьи в базах данных Pubmed, Web of Science, ScienceDirect, Scopus и Google Scholar.	Методы исследования: анализ литературных источников и информационно-аналитический подход. Дизайн исследования: систематический обзор	20 источников на английском;
	Проведение ретроспективного исследования, логистический регрессионный анализ	База данных пациентов, которым были подсажены свежие эмбрионы в рамках по программе ЭКО-ИКСИ по госпрограмме Ансаган Саби в г. Алматы	Методы исследования: социологический, аналитический и статистический. Дизайн исследования: ретроспективный анализ данных	279 женщин, прошедших процедуру ЭКО в свежем цикле

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5
	Мониторинг результативности программы ЭКО-ПЭ	База данных пациентов, которым были подсажены свежие эмбрионы в рамках по программе ЭКО-ИКСИ по госпрограмме «Аңсаған сәби» в г. Алматы	Методы исследования: социологический, аналитический и статистический. Дизайн исследования: ретроспективный анализ данных	401 пациентка
2. Изучить особенности эхографической картины и показатели сопротивления сосудов матки при цветной доплерометрии у женщин с невынашиванием для выделения наиболее характерных признаков тонкого эндометрия	Проведение обсервационного исследования случай-контроль	Данные трансвагинальной эхографии и доплерометрии	Методы исследования: аналитический и статистический. Дизайн исследования: обсервационное исследование случай-контроль.	53 женщин: 20 пациентов РНИ, 19 - РПБ и 14 фертильных женщин
3. Провести транскрипционный анализ активности генов иммунного ответа у пациенток РПБ и РНИ	Проспективное исследование	транскрипционный анализ экспрессии генов <i>C4BPA</i> , <i>IL15</i> , <i>HAND2</i> , <i>VEGFB</i> , <i>CXCL1</i> . (ПЦР реал-тайм)	Методы исследования: аналитический и статистический. Дизайн исследования: обсервационное исследование случай-контроль.	Образцы эндометрия у 20 пациентов РНИ, 19 - РПБ и 14 фертильных женщин

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5
4. Разработать алгоритм по ведению пациентов с репродуктивными потерями на основе изучения анализа факторов риска репродуктивных потерь и иммуногенетических маркеров нарушения рецептивности эндометрия	Создание алгоритма прогнозирования наступления беременности у пациентов с различными нарушениями рецептивности эндометрия	Результаты этапов 1-4 диссертационной работы	Методы исследования: экспертная оценка, систематизация информации, аналитический подход.	Портреты пациентов с различными нарушениями рецептивности эндометрия

По первой задаче:

1. Проведен систематический обзор по оценке толщины эндометрия на исходы ЭКО/ЭКСИ по методологии PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyzes) с регистрацией исследования в Международном проспективном регистре систематических обзоров PROSPERO (ID:CRD42022359149). Поиск проводился в базах данных PubMed, Web of Science, ScienceDirect, Google Scholar и Open Grey с июля 2022 по октябрь 2022 года.

Критериями включения исследований были: 1) когортные исследования или рандомизированные клинические испытания; 2) субфертильные женщины, проходящие ЭКО или ИКСИ (в возрасте  $\geq 18$  лет); 3) толщина эндометрия измерялась с помощью трансвагинального УЗИ; 4) сообщалось о доле или количестве пациенток с интересующими исходами; 5) были опубликованы на английском языке с января 2014 по октябрь 2022 года.

Критерии исключения: 1) публикации, в которых отсутствовала необходимая информация; 2) публикации, в которых повторялись ранее представленные результаты исследований; 3) высокий риск необъективности; 4) в исследовании использовались донорские ооциты.

В результате всестороннего поиска в Pubmed, Web of Science, ScienceDirect, Scopus и Google Scholar было найдено 1939 недублирующих друг друга названий. Дальнейший отбор релевантных статей на основе названия и аннотации дал 837 записей. 81 полнотекстовая статья была проверена на пригодность к использованию, и 20 статей были включены в систематический обзор. Блок-схема отбора исследований представлена на рисунке 3.

Большинство исследований проводилось в Китае (одиннадцать). Мы также включили исследования из Турции [105], Португалии [106], Аргентины [31, с. 118], Израиля [107], Швейцарии [108], Канады [109], Южной Кореи [47, с. 1], Великобритании [55, с. 524] и Индии [110]. Семь исследований были

ретроспективными когортными, семь - ретроспективными, два - проспективно-интервенционными, два - проспективными, одно - продольно-экспериментальным и одно - проспективно-интервенционным. В шести исследованиях сообщалось о переносе свежих эмбрионов, а в 11 исследованиях - о переносе замороженных эмбрионов. В трех исследованиях сообщалось о переносе как свежих, так и замороженных эмбрионов. Все исследования имели низкий риск необъективности.

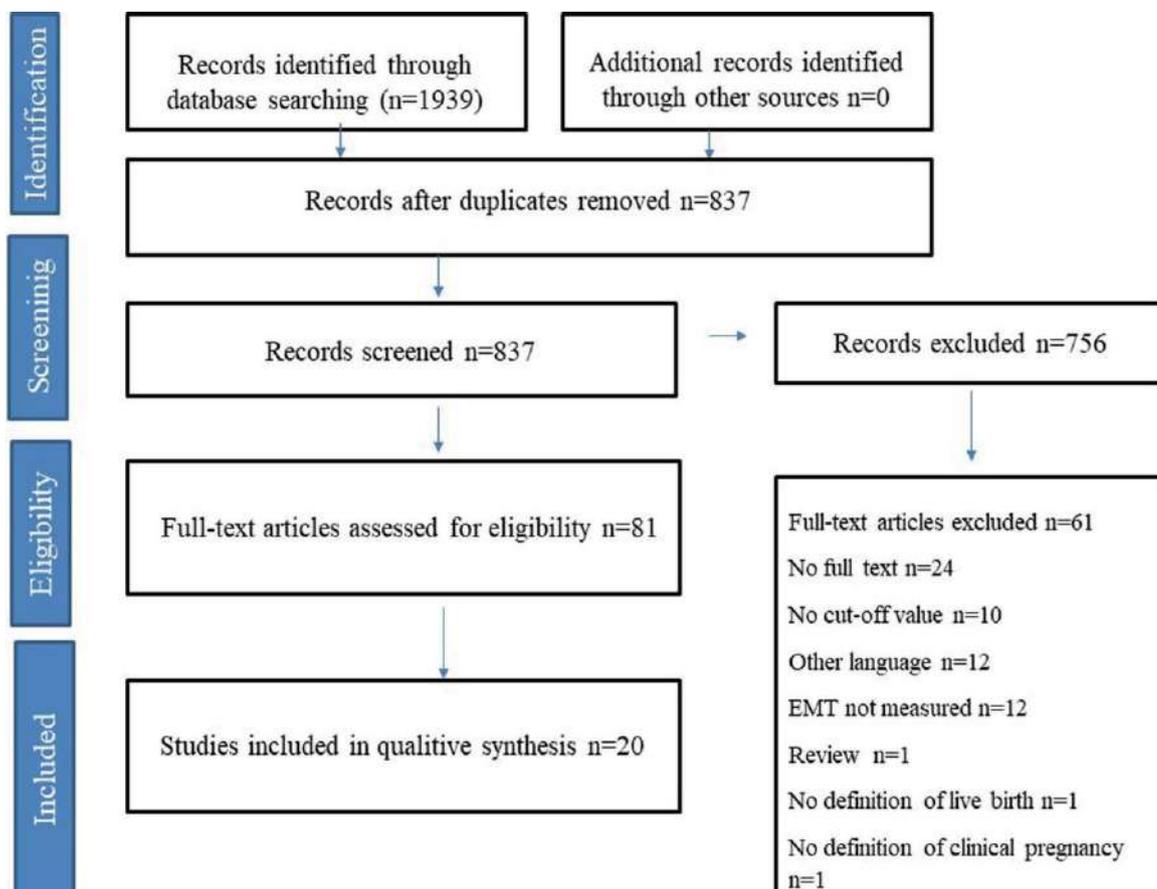


Рисунок 3 - Блок-схема отбора исследований

Мониторинг качества программы ЭКО проведен в Научном центре акушерства, гинекологии и перинатологии (НЦАГП) г. Алматы, Казахстан у 401 пациентки в 2020-2022 гг., в том числе в 2020 г – у 58, 2021 г. - у 133, 2022 г. – у 210 пациенток. Мониторинг проводили по чек-листу, включающему следующие параметры: возраст, причина бесплодия, данные акушерско-гинекологического анамнеза, лабораторно-инструментального исследования, спермограммы, процедуры ЭКО, результативность программы ЭКО. Полученные результаты были обработаны с помощью программы Microsoft Office Excel 2016. Различия между относительными величинами сравниваемых групп оценивали с помощью критерия  $\chi^2$  при уровне значимости  $p\text{-value} < 0,05$ .

Ретроспективный анализ 279 женщин, которым были проведены процедуры ЭКО-ИКСИ в свежем цикле в НЦАГП г. Алматы, Казахстан в период с 1 января 2021 года по 30 июня 2023 года. Пациентки были набраны в рамках расширения

государственной программы обязательного социального медицинского страхования «Ансаган саби». Критерии отбора на амбулаторном этапе включали строгую оценку возраста, истории болезни, овариального резерва и других факторов риска (таблица 2).

Таблица 2 - Критерии включения в программу

Факторы	Критерии отбора
Возраст (лет)	18-42
АМГ, нг/мл	>1.0
ФСГ, на 2-5 день цикла, мМЕ/мл	<12
Количество антральных фолликулов в каждом яичнике (на 2-5 день цикла)	$\geq 3$
Количество антральных фолликулов в яичниках, если есть только один (на 2-5 день цикла)	5-6
Отсутствие следующих факторов риска, снижающих наступление беременности	<ul style="list-style-type: none"> <li>- аномалии развития внутренних репродуктивных органов, препятствующие имплантации или развитию беременности</li> <li>- Гидросальпинкс</li> <li>- развитые спайки в полости матки</li> <li>- кисты яичников</li> <li>- необструктивная азооспермия</li> </ul>
Бесплодие, вызванное мужскими факторами	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Олигозооспермия</li> <li>- Астенозооспермия</li> <li>- Тератозооспермия</li> <li>- сочетанная патология сперматозоидов</li> <li>- наличие антиспермальных антител в эякуляте</li> </ul>
Сокращения: АМГ: антимюллеров гормон; ФСГ: фолликулостимулирующий гормон.	

По второй задаче:

Все пациентки были отобраны для участия в программе на основании оценки всех критериев отбора для обеспечения единообразия. Для этого анализа были собраны демографические данные и характеристики пациенток, включая возраст, индекс массы тела (ИМТ), длительность и тип бесплодия, исходы предыдущих беременностей, историю репродуктивных потерь, гинекологические заболевания, толщину эндометрия и уровни фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ) и антимюллера гормона (АМГ). Исходной переменной данного исследования является наступление клинической беременности, которая определялась как беременность с положительным результатом, подтвержденным с помощью УЗИ с использованием ультразвуковых аппаратов Voluson E10. Толщина и структура эндометрия оценивались в средне-сагиттальной плоскости тела матки в день введения хорионического гонадотропина человека (ХГЧ). Максимальная толщина измерялась от одной границы соединения эндометрия и миометрия до другой. Для настоящего анализа пациентки были разделены на три группы в

зависимости от толщины эндометрия: Группа 1 ( $>5$  мм), Группа 2 ( $\geq 5$  и  $<7$  мм) и Группа 3 ( $<7$  мм).

По третьей задаче:

Проспективное исследование транскрипционного анализа эндометрия отобраны 53 образца эндометрия (20 – у пациенток с РНИ, 19 – с РПБ и тонким эндометрием, 14 – у фертильных женщин) в период с сентября по декабрь 2023 года. Контрольная группа – 14 фертильные женщины.

После завершения сбора образцов их отправляли в Институт молекулярной биологии и биохимии им. М. Айтхожина (Алматы, Казахстан).

По четвертой задаче:

На основании данных предыдущих этапов разработан прогностический алгоритм прогнозирования исходов программ ВРТ с применением информационного-аналитического метода.

## 2.1 Характеристика пациентов

Для каждой женщины была составлена индивидуальная карта наблюдения, включающая данные физикального осмотра, жалобы, данные акушерско-гинекологического анамнеза, лабораторные исследования, а также диагностические исследования по показаниям: УЗИ органов малого таза, определение уровня гормонов в крови, генетическое консультирование и кариотипирование.

*Критерии включения:*

- женщины фертильного возраста (от 20 до 45 лет); наличие тонкого эндометрия (менее 7 мм в период имплантационного окна по данным ультразвукового исследования) и наличие в анамнезе - невынашивания беременности и неудачных попыток ВРТ (2 и более).

*Критерии исключения:*

- онкологические заболевания, состояния после химиотерапии, наличие соматических и эндокринных заболеваний в стадии декомпенсации на момент взятия в программу, пациенты после пересадки органов, ВИЧ-инфицированные, пациенты с системными заболеваниями (сердца, почки, печени и суставов)

Эндометрий классифицировался как тонкий в тех случаях, когда его толщина на 20-24 день менструального цикла составляла менее 7 мм. В индивидуальной медицинской карте вносились результаты осмотра с жалобами; соматический и акушерско-гинекологический анамнез; данные общего и гинекологического статуса; данные ультразвуковой диагностики органов малого таза; результаты гистероскопии эндометрия (с биопсией и гистологией) (Karl Storz, Germany), кариотипирование, тест на тромбофилию; иммуноферментный анализ на генитальные инфекции; определение волчаночного антикоагулянта. Критериями нормы ультразвуковой диагностики принята однородная структура эндометрия, ее соответствие дню менструального цикла, а также отсутствие гипо- и гиперэхогенных включений.

Рецидив потери беременности (РПБ, RPL) или невынашивание беременности определялся на основе рекомендаций ESHRE при наличии 2 или более

выкидышей, подтвержденных положительным тестом на хорионический гонадотропин человека [72, с. 75].

Рецидив неудач имплантации (РНИ, RIF) определялся при наличии по крайней мере 2 неудачных переносов качественных эмбрионов после экстракорпорального оплодотворения – переноса эмбрионов [73]. Возраст женщин был < 40 лет, без аномалий кариотипа. Диагноз РНИ подтвержден методом определения b-хорионного гонадотропина. В РНБ группу (RPL) вошли пациентки с «положительным» тестом на беременность и подтверждением беременности методом ультразвуковой диагностики матки на 3-й день после задержки менструации, у которых случались повторные случаи потери беременности (2-3 случая).

*Одобрение Этическим комитетом*

Исследование было одобрено Этическим комитетом КМУ ВШОЗ от 08.11.2023г. (Код: IRB-A289\1). Все участники предоставили письменное информированное согласие на использование биоматериалов.

## **2.2 Методы исследования**

### **2.2.1. Инструментальные исследования**

Всем пациенткам, основной и сравнительной групп проводилась трансвагинальная эхография на аппарате VOLUSONE-10 (Австрия) с использованием мультисекторного трансвагинального датчика с частотой 5-10 МГц, с программным обеспечением для реализации триплексного режима сканирования (серошкальный В-режим в сочетании цветового и импульсного доплера в масштабе реального времени). Проводилось динамическое ультразвуковое исследование во II фазу (в период «окна имплантации»). Исследование начинали с трансабдоминального ультразвукового сканирования (с наполненным мочевым пузырем) для исключения объемных образований малого таза. Продолжали исследование после опорожнения мочевого пузыря: определяли положение матки в полости малого таза. Особое внимание уделялось изучению М-эха: толщине, эхоструктуре и наличию включений. За нормальное значение М-эха принималась: однородная структура эндометрия, отсутствие гипо- или гиперэхогенных включений, соответствие его структуры дню менструального цикла. Критерием «тонкого» эндометрия считалась толщина эндометрия менее 7 мм на 20-24 день менструального цикла.

У пациенток основной группы проводилась оценка гемодинамики сосудов матки во вторую фазу менструального цикла в период «окна имплантации», включала в себя цветовое доплеровское картирование (ЦДК) и спектральную доплерометрию. При доплерометрическом исследовании обращали внимание на степень васкуляризации миометрия; проводили визуализацию всех ветвей сосудистой сети матки (маточных, аркуатных, радиальных, базальных, спиральных артерий) с оценкой систолических и диастолических показателей кровотока в исследуемых сосудах; величину углонезависимых индексов кривых скоростей кровотока (КСК): пульсационного индекса (PI) и индекса резистентности (RI), систоло/диастолического соотношения (S/D).

Уголнезависимые индексы рассчитывали автоматически по предустановленным формулам.

### 2.2.2 Транскрипционный анализ эндометрия

Для транскрипционного анализа эндометрия отобраны 53 образца эндометрия (20 – у пациенток с РНИ, 19 – с РПБ и тонким эндометрием, 14 – у фертильных женщин).

*Обработка образцов.* Образцы эндометрия собирали в дни имплантационного окна (LH+7 – LH+10) естественного менструального цикла у пациенток с РНИ с тонким эндометрием (n=20), РПБ (n=19), фертильных женщин (n=14). Ткань эндометрия собирали с помощью пайпель-биопсии с помощью катетера Goldstein (SonoBiopsy™ J-GSBX-072026 размер (Fr) 7.2 Cook Incorporated, США). Образцы ткани переносили из катетера в криопробирку с 1 мл раствора RNA-later Stabilization (Thermo Fisher Scientific) для хранения в холодильнике при температуре 4°C в течение 12 ч. На следующий день образцы переносили в морозильную камеру при температуре –20°C. После завершения сбора образцов их отправляли в Институт молекулярной биологии и биохимии им. М. Айтхожина (Алматы, Казахстан).

*Выделение РНК из образцов эндометрия.* Выделение общей РНК из образцов эндометрия проводилось с использованием набора Dynabeads™ mRNA DIRECT™ Purification Kit (Thermo Fisher Scientific) согласно протоколу производителя. Выделенная РНК немедленно подвергалась дальнейшему анализу.

*Синтез кДНК и количественная полимеразная цепная реакция (ПЦР).* Обратная транскрипция и количественная ПЦР проводились с использованием праймеров и зондов из TaqMan™ Gene Expression Assay (Applied Biosystems, США): 1. Assay ID- Hs00426339\_m1- complement component 4 binding protein alpha (C4BPA); 2. Assay ID- Hs00173634\_m1- vascular endothelial growth factor B(VEGFB); 3. Assay ID- Hs00236937\_m1- C-X-C motif chemokine ligand 1(CXCL1); 4. Assay ID- Hs01003716\_m1- interleukin 15 (IL15); 5. Assay ID- Hs00232769\_m1- heart and neural crest derivatives expressed 2(HAND2). Сомплементарная ДНК (кДНК) была получена с использованием набора High-capacity complementary DNA (cDNA) Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems) в соответствии с протоколом производителя. Количественная ПЦР была проведена в дубликатах с использованием TaqMan Fast Advanced Master Mix (Applied Biosystems) в условиях, рекомендованных производителем, на системе StepOnePlus Real-Time PCR System (Applied Biosystems). Первичная обработка была проведена с использованием программ StepOnePlus 2.2.2 и ExpressionSuite v1.3. Относительная количественная оценка экспрессии генов проводилась с использованием сравнительного метода Ct ( $\Delta\Delta Ct$ ) с модификациями, описанными Königshoff M. et al. (2009) [111]. Относительное содержание транскриптов выражается в значениях  $\Delta Ct$  ( $\Delta Ct = Ct_{reference} - Ct_{target}$ ). В качестве эталона использовались гены: Assay ID-Hs02786624\_g1 *глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH)*

Assay ID-Hs01122445\_g1 белка активации тирозин-3-монооксигеназы/триптофан-5-монооксигеназы дзета (YWHAZ) в соответствии с предыдущим исследованием [65, с. 58]. Значение  $\Delta\Delta Ct$  ( $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{case} - \Delta Ct_{control}$ ) рассматривалось как изменение в  $\log_2$  по логарифму.

Наиболее перспективными генами для изучения рецептивности эндометрия являются гены иммунного ответа, отвечающие за каскад провоспалительных сигналов - СХС мотив хемокиновый лиганд 1 (CXCL1), альфа белок, связывающий 4 компонент комплемента (C4BPA), интерлейкин 15 (IL-15), транскрипт 2, экспрессируемый в сердце и производных нервного гребня (HAND2) и сосудистую пролиферацию - сосудистый эндотелиальный фактор роста В (VEGF-B).

### 2.3 Статистические методы

Полученные результаты мониторинга результативности ЭКО были обработаны с помощью программы Microsoft Office Excel 2016. Различия между относительными величинами сравниваемых групп оценивали с помощью критерия  $\chi^2$  при уровне значимости  $p\text{-value} < 0,05$ .

Статистический анализ проводился с помощью пакета программ SPSS, версия 21. Непрерывные данные представлены в виде средних и стандартных отклонений, категориальные - в виде частот и процентов. Порог статистической значимости был установлен на уровне  $p\text{-value} < 0,05$ . Для изучения различий между группами по толщине эндометрия использовался критерия  $\chi^2$ . Кроме того, для оценки прогностической ценности толщины эндометрия в отношении наступления беременности проведен одномерный бинарный логистический регрессионный анализ.

Для оценки прогностической ценности толщины эндометрия в отношении наступления беременности проведен одномерный бинарный логистический регрессионный анализ.

Статистический анализ *результатов транскрипционного анализа*. Большая часть статистики была выполнена в программе Jamovi (<https://www.jamovi.org>). Статистическая значимость различий в  $\Delta Ct$  между группами была рассчитана с использованием двухстороннего U-критерия Манна-Уитни. Метод ранговой корреляции Спирмена использовался для изучения взаимосвязи между количественными переменными.  $P < 0,05$  считалось статистически значимым.

Для множественных сравнений использовался онлайн-калькулятор коррекции FDR для корректировки p-значений (<https://www.sdmproject.com/utilities/?show=FDR>). Для сравнительной визуализации уровней экспрессии генов были построены диаграммы размаха с помощью веб-инструмента BoxPlotR (<http://shiny.chemgrid.org/boxplotr>). Характеристики маркеров были оценены с помощью ROC-анализа с использованием веб-инструмента easy ROC [112] и Jamovi. Для расчета оптимальных точек отсечения использовался метод индекса Юдена. Оценка классификаторов путем интерпретации площади под ROC-кривой (AUC) проводилась, как описано в [113].

### 3 ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 3.1 Анализ факторов риска репродуктивных потерь

3.1.2 Прогностическое значение толщины эндометрия в прогнозировании наступления беременности в циклах ЭКО

*Систематический обзор* включил 20 исследований с 14 804 пациентами (средний размер выборки = 306 пациентов, диапазон = от 24 до 3350 пациентов). Средний возраст пациентов варьировал от 28,86 до 41,03 года. Средний ИМТ пациентов варьировал от  $20,93 \pm 0,97$  до  $26,2 \pm 2,7$ . Показатели толщины эндометрия варьировали от  $<4$  мм до  $>15$  мм. Клиническая частота наступления беременности варьировала от 9,1 до 79,3 %, а частота живорождения - от 4,8 до 48,99 %.

В разных исследованиях толщину эндометрия измеряли в разные временные точки, чаще всего в день введения хорионического гонадотропина человека (ХГЧ), независимо от способа переноса эмбрионов (свежий или замороженный).

Частота рождения живых детей (LBR) в циклах переноса свежих и замороженных эмбрионов и связанные с этим факторы риска.

Показатели живорождения варьировались от 4,80% до 48,99% в циклах переноса свежих эмбрионов и от 6,06% до 39,19% в замороженных циклах. Клинические показатели беременности варьировались от 9,09% до 61,49% в циклах переноса свежих эмбрионов и от 13,3% до 79,31% в замороженных циклах. В пяти из девяти исследований, в которых сообщалось о циклах с переносом свежих эмбрионов, показатель живорождения детей составил менее 20%. Во всех этих пяти исследованиях число клинических беременностей (CPR) составлял менее 30%. В шести из четырнадцати исследований, в которых сообщалось о замороженных циклах, показатель живорождаемости составлял менее 20%. Только в одном исследовании показатель клинической наступления беременности выше 30%. В исследовании с самым низким процентом живорождений в свежих циклах средний возраст пациенток составил  $29,5 + 3,2$  года, а средняя продолжительность бесплодия была относительно небольшой - 3 года. В исследовании с наименьшим процентом живорождений в замороженных циклах возраст большинства пациенток составил в среднем  $20,93 \pm 0,97$  года.

В таблице 3 приведены характеристики пациенток.

Таблица 3 - Демографический и клинический профиль.

Показатель	Mean $\pm$ SD, or number (%)
1	2
Протокол лечения	222 (79.6%)
короткий	57 (20.4%)
Длинный	
Возраст, год	32.94 (4.9) Range (19-42)
ВМІ	24.18 $\pm$ 4.4

Продолжение таблицы 3

1	2
Место жительства:	133 (47.7)
город	146 (52.3)
Село	
Социальный статус:	101 (36.2)
Работает	175 (62.7)
Не работает	2 (0.7)
Частный предприниматель	
Длительность бесплодия, год	6.54±3.9 Range (1-20)
Бесплодие	да 119 (42.7) нет 160 (57.3)
Выкидыш в 1 триместре	да 66 (23.7) нет 213 (76.3)
Эктопическая беременность	да 64 (22.9) нет 215 (77.1)
Безэффективность ЭКО	да 23 (8.2) нет 256 (91.8)
Мужской фактор	да 145 (52.0) нет 134 (48.0)
Трубный фактор	да 207 (74.2) нет 72 (25.8)
Эндометриоз	да 33 (11.8) нет 246 (88.2)
Хронический эндометрит	да 51 (18.3) нет 228 (81.7)
Эндокринные факторы <sup>1</sup>	да 22 (7.9) нет 254 (91.0)
Неуточненный фактор <sup>1</sup>	да 9 (3.2) нет 268 (96.1)
Тонкий эндометрий, мм	>5 70 (25.1) 5-7 120 (43.0) <7 89 (31.9) Mean (SD) 6.21 ± 2.5
АМГ ng/mL	3.20±3.0
ЛГ IU/L	6.36±4.3
ФСГ (on 2-5 day of cycle) mIU/mL	7.14±5.6
Сокращения: АМН: антимюллеров гормон; ВМІ: индекс массы тела; ФСГ: фолликулостимулирующий гормон; ЛГ: лютеинизирующий гормон; SD: стандартное отклонение.	

В результате всестороннего поиска в Pubmed, Web of Science, ScienceDirect, Scopus и Google Scholar было найдено 1939 недублирующих названий. Дальнейший отбор соответствующих статей на основе названия и аннотации дал 837 записей. 81 полнотекстовая статья была отобрана на предмет соответствия требованиям, и 20 статей были включены в систематический обзор, которые представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Характеристика включенных исследований

№	Первый автор, год, страна	N	Возраст, лет mean±SD или mediana	ИМТ (кг/м2) mean±SD или mediana	Установка и время измерения толщины эндометрия	Толщина эндометрия	Показатель клинической беременности	Показатель живорождаемости
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Xu et al., [114] 2015, China	82	31.4 ± 4.0	21.8 ± 2.5	FET: G-CSF группа: ежедневно или через день после перфузии G-CSF	<7	48.2%	33.3%
			32.0 ± 3.9	21.5 ± 3.0	FET: Группа без лечения: прием прогестерона или ХГЧ	<7	25.0%	17.3%
2	Bu et al., [55, с. 524] 2016, United Kingdom	2997	31.8±4.8	22.6±3.3	FET: утро в день переноса эмбрионов.	<7	33.4%	23.8%
3	Yuan et al. [4], 2016, China	521	29.5 + 3.2	21.5 + 3.7	Fresh: введение ХГЧ	<8	23.00%	15.0%
4	Kunicki et al., [54, с.49] 2017, China	134	N/A	23.5±3.9	FET: G-CSF группа: Тонкий невосприимчивый эндометрий в предыдущих циклах	<7	17.2%	6.9%

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9
			N/A	20.9±0.9	FET: Нет группы лечения: Тонкий нереагирующий эндометрий в предыдущих циклах		15.2%	6.1%
5	Zheng et al., [115]2017, China	571	31.5±3.9	21.5±2.7	FET: введение ХГЧ	<10	48.2%	39.2%
			31.6± 4.2	21.9±2.6	FET: Группа с двукратной криоконсервацией: введение ХГЧ		44.1%	29.1%
6	Ke et al., [116]20 18, China	226	32.0 (28.8-36.0)	22.9 (20.7-25.9)	FET: Измерения повторяли не менее 3 раз и фиксировали среднее значение.	<7	33.3%	12.8%
7	Ribeiro et al., [106,с.416] 2018, Portugal	3350	33 (31–36)	22.5 (20.4–26.4)	FET: введение ХГЧ	<7	28.9%	21.8%
8	Von Wolff et al, [108,с.776] 2018, Switzerland	106	29.5 + 3.2	21.5 + 3.7	Fresh: извлечение ооцитов	<7	9.5%	4.8%
9	Zhang et al., [9]2018,	1512	30.3±4.2	21.5±5.8	Fresh: извлечение ооцитов	<6	50.0%	33.3%
					FET: добавка прогестерона		34.8%	26.1%

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	China Kim et al., [47,с.1] 2019, South Korea	24	22.5 (20.4–26.4)	23.3±3.1	FET: Через три дня после окончательного введения аутологичной PRP	<7	20.0%	20.0%
11	Song et al., [52, с.1409] 2019, China	624	28.9 ±3.2	21.3 ± 3.5	Fresh: короткий GnRH-а группа: введение ХГЧ.	<7	9.1%	9.1%
			29.5 ± 3.2	21.5 ±3.7	Fresh: прлонгированный GnRH-а группа: введение ХГЧ.		36.0%	28.0%
12	Bu et al., [117]2 020, China	309	36.8 ±3.8		FET: введение ХГЧ.	<7	n/a	35.5%
13	Guo et al., [118] 2020, China	1110	34.8±5.5	23.8±3.6	Fresh: введение ХГЧ.	<7	26.4%	18.4%
			33.6±5.4	23.3±3.5	FET: прием прогестерона		40.0%	31.0%
14	Mao et al., [119] 2020, China	302	37.8 ± 5.4	22.0±2.8	FET: GM-CSF группа: прием прогестерона	<7	28.6%	19.5%
			37.0 ± 4.9	21.7 ± 2.8	FET: Группа без лечения: прием прогестерона		13.3%	9.5%
15	Simeonov et al., [120]	2114	37.1 ± 4.5		Fresh: введение ХГЧ	<6	19.9%	11.2%

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9
	2020, Israel	-	-	-	-	-	-	-
16	Song et al., [121] 2020, China	302	31.3±4.0	22.0±3.0	Fresh: прлонгированный GnRH-а группа: введение ХГЧ.	<8	43.9%	36.5%
			31.1±4.8	22.2±2.9	Fresh: короткий GnRH-а группа: введение ХГЧ.		28.6%	20.8%
17	Tersoglio et al., [122]2020, Argentina	29	41.7±5.2	24.8±5.1	FET: День лютеинизирующего гормона	<7	79.3%	34.5%
18	Yurci et al., [105,c.94] 2021, Turkey	380	28.9±4.8	26.2±2.7	Fresh: введение ХГЧ	<15	61.5%	49.0%
19	Dogra et al., [110,c.13] 2022, India	26	32.4±3.9	25.6±4.1	Fresh: 8 день	<7	25.0%	33.3%
					FET: 8 день		25.0%	9.1%
20	Russell et al., [123]2022, Canada	85	38.0 ± 5.3	23.5 ± 4.3	FET: Каждые 3-4 дня перед каждой инфузией PRP, пока толщина не достигнет целевой толщины.	<7	21.8%	14.6%

Сокращения: ИМТ - индекс массы тела; CPR – частота наступления беременности; ТЭ – толщина эндометрия; FET – перенос замороженных эмбрионов; ХГЧ - хорионический гонадотропин человека; LBR – показатель живорождаемости; N – количество; PRP – плазма богатый тромбоцитами ТЕ – тонкий эндометрий.

Коэффициент живорождения при циклах переноса свежих и замороженных эмбрионов и связанные факторы риска представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Факторы риска, связанные с тонким эндометрием

Fresh циклы					
Уровень живорождаемости	Клинический показатель беременности	Причина бесплодия	Продолжительность бесплодия, лет, mean±SD или median (range)	Вторичное бесплодие	Первый автор
1	2	3	4	5	6
LBR>20%	CPR >30%	Трубный фактор 31,5% Мужской фактор 21,4% Эндометриоз 5,8% ПГД - хромосомные аномалии 1,7% ПГД - талассемия у обоих партнеров 1,3% Множественные факторы 35,2% Бесплодие неясного генеза 3,1% Трубный фактор 31,5%	4.0 (1.0–20.0)		Yuan et al.,[4]2016
		Тяжелый мужской фактор 25,9% Умеренный/легкий мужской фактор 22.2% Трубный фактор, эндометриоз rAFS I-II. и смешанные факторы 18.5% Идиопатический 33,3%	3.0 (2.0-4.0)		V.Wolff et al.,[108] 2018
		Уровень прогестерона в день триггера <1,5 нг/мл Уровень прогестерона в день триггера	3.9 + 2.1	34.9%	Song et al., [124] 2019  (Fresh Short GnRH-a group)
		СПКЯ, n (%) 9,5%	4.1±3.2		Guo et al., [118]2020
		Мужчина 27,88%		61.9%	Simeonov et al., [120] 2020

Продолжение таблицы 4

<i>FET циклы</i>					
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
		Другие 72,12%			
LBR< 20%	CPR <30%	Хирургический аборт/эвакуация 1.1 ± 1.6	5.5 ± 3.8	67.3%	Xu et al., [114]2015 (control)
		Трубный фактор 10,34% Мужской фактор 27,59% СПКЯ 6,90% Другие 6,90% Неуточненного генеза 37,93% Смешанные 10,34%		41.4%	Kunicki et al., [54]2017 (G-CSF group)
		Трубный фактор 9,09% Мужской фактор 24,24% Эндометриоз 6,06% СПКЯ 0% Другие 6,06% Неуточненного генеза 39,39% Смешанный 15,5%		39.4%	Kunicki et al.,[54] 2017 (control group)
		Трубный фактор 31,68% Другие женские факторы 11,18% мужские факторы 6,83% Смешанные факторы 49,69% Неизвестные факторы 0,62%	5.0 ± 3.3	79.5%	Mao et al., [119]2020 (GM-CSF group)
		Трубный фактор 30,07% Другие женские факторы 5,59% Мужской фактор 4,90% Смешанные факторы 59,44% Неизвестные факторы 0%	3.9 ± 2.6	69.9%	Mao et al., [119]2020 (control group)
		Бесплодие, не связанное с эндометриальными изменениями при гистероскопии 100%	7.9±4.6		Dogra et al.,[110]2022
		Плохой овариальный резерв 51,35% Повторные потери беременности 21,62% Преклонный репродуктивный возраст 29,73% Болезнь Ашермана 10,81% Фиброиды 10,81% Другие диагнозы 27,03%	2.0 ± 2.0		Russell et al., [123]2022

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4	5	6
	CPR >30%	Тазовый/трубный фактор 78,65% Эндометриоз 9,74% Мужской фактор 4,42% СПКЯ 24,78% Необъяснимый 1,32% Внутриматочная спайка 15,04% Кюретаж матки 62,39%	3.0 (2.0- 5.0)		Ke et al., [116]2018
Сокращения: CPR – клиническая частота наступления беременности; ET – толщина эндометрия; FET – перенос замороженных эмбрионов; FSH - фолликулостимулирующий гормон; G-CSF - гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; GnRH-a - агонист гонадотропин-рилизинг-гормона; ХГЧ – хорионический гонадотропин человека; LBR – коэффициент живорождения; N - число; СПКЯ - синдром поликистозных яичников; PGD – предимплантационный генетический диагноз; SD - стандартное отклонение.					

Процент живорождения колебался от 4,80% до 48,99% в циклах свежих эмбрионов и от 6,06% до 39,19% в циклах внутриутробного развития в целом. Клинической беременности варьировалась от 9,09% до 61,49% в циклах переноса свежих эмбрионов и от 13,3% до 79,31% в FET циклах. В пяти из девяти исследований, в которых сообщалось о новых циклах, показатель живорождения составлял менее 20%. Во всех этих пяти исследованиях частота сердечных сокращений составляла менее 30%. В шести из четырнадцати исследований, в которых сообщалось о циклах FET, живорожденность был менее 20%. Было проведено только одно исследование с СЛР выше 30%. В исследовании с самым низким процентом живорождений во время новых циклов средний возраст пациенток составил  $29,5 \pm 3,2$  года, тогда как средняя продолжительность бесплодия была относительно короткой – 3 года. В исследовании с самым низким процентом живорождений во время внутриутробных циклов большинству пациенток в среднем было  $20,93 \pm 0,97$  года. Факторы риска и живорождения, о которых сообщили исследования, приведены в таблице 2. Полная таблица с факторами риска представлена в Дополнительной таблице 1. Недостаточная восприимчивость эндометрия является причиной двух третей неудачных имплантаций, в то время как только одна треть неудач зависит от качества эмбриона(39). В метаанализе, проведенном Касиусом и соавт. [7, с. 530] было обнаружено, что частота клинической беременности была ниже, когда толщина эндометрия составлял  $<7,0$  мм, в то же время это не было связано с частотой беременностей и живорождений. Метаанализ, проведенный Gao et al. [39, с. 124 ], изучал значительную роль толщины эндометрия в исходах беременности после ЭКО. Результаты этого исследования показали, что у женщин с более низким толщины эндометрия показатели беременности и живорождения были ниже, чем у женщин с более высокой толщиной, независимо от того, проводился свежий или замороженный цикл. В

исследовании, проведенном Mahutte и соавт. [46] увеличение числа живорождений также наблюдалось в циклах переноса свежих эмбрионов с увеличением толщины эндометрия до 10-12 мм, а в циклах замораживания живорождения увеличивается после 7-10 мм. Согласно исследованию Liu et al. [38, с. 1883] показатели клинической беременности и живорождения снижаются с каждым миллиметром толщины эндометрия для новых циклов ЭКО ниже 8 мм и для циклов ЭКО ниже 7 мм. Однако в этом обзоре мы видим, что существуют исследования, в которых показатели клинических беременностей и живорождений остаются весьма актуальными у пациенток с толщиной эндометрия от 4 до 6 мм.

Анализ исследования показал, что взаимосвязь между толщиной эндометрия и живорождения у пациенток, перенесших новый цикл или внутриутробный, зависела от дизайна исследования, пороговых значений толщины эндометрия, значимых факторов риска, таких как возраст, ИМТ, тип бесплодия, история репродуктивных потерь, хирургические вмешательства в полости малого таза, неэффективность программ ЭКО, гормональный профиль, включая начальный уровень фолликулостимулирующего гормона и возможные причины и ограничений настоящего исследования: только английского языка были включены; большинство исследований были из Китая, по дизайну ретроспективные исследования был использован в большинстве исследований; различные пороговые значения толщины эндометрия, что в свою очередь может существенно изменить соотношение со исходы беременности; различные процедуры ЭКО протоколов в свежем или замороженных циклов.

В базах данных имеется множество исследований, и много противоречивых результатов, но различные факторы риска показали, что толщина эндометрия можно использовать в качестве предиктора беременности и живорождения в свежем или замороженном циклах. Среди факторов риска для тонкого эндометрия внимание привлекли история повторяющихся репродуктивных потерь, связанных с хирургическими абортами, эндометриоз у женщин с вторичным бесплодием, а также трубные факторы бесплодия.

Результаты ЭКО у пациенток с нарушенной рецептивностью эндометрия зависят не только от состояния эндометрия. Факторы риска и толщина эндометрия существенно влияют на частоту рождения живых детей в свежих и замороженных циклах. Согласно результатам систематического обзора, у женщин с нарушенной рецептивностью эндометрия важно применять персонализированный подход с эффективными методами лечения для достижения адекватной толщины с улучшенной рецептивностью эндометрия. В последние годы среди многочисленных причин невынашивания беременности большой интерес привлекает концепция эндометриопатий и нарушений имплантации, связанных с «тонким» эндометрием. Основными признаками зрелости эндометрия и критериями прогноза успешного течения беременности, на которые ориентируются в клинической практике, являются толщина, морфологическая структура и рецептивность эндометрия. Качественную оценку состояния эндометрия и точное измерение его толщины осуществляют с помощью

трансвагинальной эхографии, которая позволяет четко видеть границу между слизистой оболочкой и миометрием. Толщина М-эхо в естественных циклах под влиянием гормональной регуляции достигает наибольших численных значений в середине секреторной фазы и к моменту овуляции в норме по данным УЗИ достигает 8–12 мм.

Существует множество факторов, влияющих на успех программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), включая возраст матери, характеристики эндометрия, такие как структура эндометрия, толщина эндометрия (ЭТ), субэндометриальный кровоток и количество эмбрионов, доступных для переноса [55, с. 524]. Хотя рутинный мониторинг толщины эндометрия во время стимуляции яичников не рекомендуется, его можно измерить с помощью ультразвукового исследования во время аспирации яйцеклеток или в день запуска, чтобы обнаружить очень тонкий эндометрий, который может повлиять на исход процедур ВРТ [56, с. 1].

За прошедшие годы появилось множество публикаций о потенциальных сонографических маркерах восприимчивости эндометрия [57, с. 57]. Хотя это остается спорным, что толщина эндометрия является наиболее часто используемым предиктором восприимчивости эндометрия и коэффициента живорождения (LBR) при вспомогательных репродуктивных программах таких как экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) или *intracytoplasmic sperm injection (ICSI)*. Снижение восприимчивости эндометрия связано со снижением вероятности беременности, самопроизвольного выкидыша, внематочной беременности, низкой массой тела при рождении и низким весом при рождении по сравнению с гестационным возрастом [58, с. 1707].

Данные об исходах беременности были схожими в свежих и замороженных циклах, включая показатели клинической беременности, имплантации и фертильности [61, с. 1]. Тем не менее, толщины эндометрия был лучшим предиктором восприимчивости эндометрия в циклах свежего экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), чем ЭТ в циклах переноса замороженных эмбрионов (FET) [63, с. 1].

Наиболее распространенными факторами для тонкого эндометрия (до 60%) были связаны с внутриутробной хирургии, которые могут повредить базальный слой эндометрия [64, с. 395]. В некоторых женщин, эндометрия также может быть тонкие по природе [66, с. 1289] или под влиянием стероидных гормонов [67]. Транскриптомный анализ может предсказать тонкий эндометрий путем идентификации генов с повышенной активностью [15, с. 50].

Результаты ЭКО у пациенток с нарушенной восприимчивостью эндометрия зависят не только от состояния эндометрия. Факторы риска и толщина эндометрия значительно влияют на живорождения в циклах Fresh и FET. Согласно результатам систематического обзора, у женщин с нарушенной восприимчивостью эндометрия важно применять индивидуальный подход с высококачественной диагностикой и эффективными методами лечения для достижения адекватной толщины с улучшенной восприимчивостью эндометрия. Из-за методологических недостатков включенных исследований необходимы

дальнейшие исследования для оценки независимой значимости толщины эндометрия, структуры, протоколов лечения и других факторов.

### 3.1.2 Мониторинг результативности экстракорпорального оплодотворения

С целью выявления факторов риска неудач имплантации проведена комплексная оценка результативности вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) до (2020 год) и после внедрения Государственной программы «Аңсаған сәби» (2021-2022 гг.). Мониторинг качества программы ЭКО проведен у 401 пациентки в 2020-2022 гг., в том числе в 2020 г – у 58 (1), 2021 г. - у 133 (2), 2022 г. – у 210 (3) пациенток на базе Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии г. Алматы.

Частота наступления беременности после процедуры ВРТ, выполненных за счет ОСМС в 2020-2022 гг. представлена в таблице 6.

Таблица 6 – Частота наступления беременности после процедуры ВРТ

Годы	Количество ВРТ, абс	УЗИ-беременность, абс	Беременность, %
2020	58	18	31,0
2021	133	40	30,1
2022	210	61	29,0
Всего	401	119	29,6

Как видно из таблицы 6, внедрение Государственной программы «Аңсаған сәби» (далее – госпрограмма) позволило увеличить количество процедур ВРТ в 2,2 раза в 2021 году и 1,6 раз в 2022 году, при этом средний показатель эффективности процедуры (наступление беременности) составил 29,6%.

Сравнительная характеристика демографических и клинических данных пациенток, вступивших в процедуру ВРТ до (2020 г.) и после внедрения программы «Аңсаған сәби» (2021-2022 гг.) представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Демографическая и клиническая характеристики пациенток

Показатели	Группы пациенток, абс. (%)		
	2020, n=58	2021, n=133	2022, n=210
1	2	3	4
Возраст: -до 34 лет	14 (24,1)	72 (54,5)*	126 (60,0)#
- 35-39 лет	41 (70,7)	56 (42,4)*	68 (32,4)#
- старше 40 лет	3 (5,2)	4 (3,0)	16 (7,6) &
Бесплодие: -первичное	20 (34,5)	65 (49,2)	98 (46,7)
- вторичное	38 (65,5)	68 (51,5)	112 (53,3)

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4
Причина бесплодия:			
- трубный фактор	32 (55,2)	98 (74,2)*	160 (76,2)#
- мужской фактор	14 (24,1)	28 (21,2)	28 (13,3)
- эндокринный фактор	2 (3,4)	3 (2,3)	12 (5,7)
- неясного генеза	10 (17,2)	4 (3,0)*	10 (4,8)#
Анамнез невынашивания:			
- до 12 недель	8 (13,8)	10 (7,6)	68 (32,4)#&
- свыше 12 недель	-	-	2 (1,0)
- неразвивающаяся беременность	4 (6,9)	2 (1,5)	12 (5,7)
- эндометриоз	12 (20,7)	10 (7,6)*	28 (13,3)
- кисты яичников	2 (3,4)	1 (0,8)	2 (1,0)
- поликистозные яичники	3 (5,2)*	-	10 (4,8)
Патология спермограммы	35 (60,3)	75 (56,4)	110 (52,4)
Примечания: * - различия статистически значимы при $p < 0,05$ между (1) и (2) группами; # - между (1) и (3) группами; & - между (2) и (3) группами.			

В структуре пациенток в период реализации госпрограммы преобладали пациентки в возрасте до 34 лет (54,5-60% в 2021-2022 гг. и 24,1% в 2020 г. соответственно), с трубным фактором бесплодия (74,2-76,2% и 55,2% соответственно), при этом бесплодие неясного генеза наблюдалось достоверно реже (3,0-4,8%), чем до внедрения госпрограммы (17,2%). В 2022 г. увеличилась доля пациенток с наличием невынашивания беременности в анамнезе (32,4%), и уменьшилось доля пациенток с эндометриозом.

Следует отметить, что в прегравидарной подготовке у пациенток проводилось обследование на наличие антихламидийных антител методом ИФА, оценка овариального резерва по уровню антимюллера гормона, ультразвуковое исследование органов малого таза и гистеросальпингография.

Результаты лабораторно-инструментального обследования пациенток, вступивших в процедуру ЭКО до и после внедрения госпрограммы, представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Результаты лабораторно-инструментального обследования пациенток, вступивших в процедуру ЭКО до и после внедрения «Аңсаған сәби»

Показатели	Группы пациенток, абс. (%)		
	2020 (1)	2021 (2)	2022 (3)
1	2	3	4
ИФА на хламидиоз (положительный)	2 (3,4)	5 (3,8)	15 (7,1)

Продолжение таблицы 8

1	2	3	4
Снижение уровня антимюллерова гормона (менее 1,0 нг/мл)	8 (13,8)	14 (10,5)	12 (5,7)
Выявлена патология при ГСГ	15 (30,0)	39 (33,9)	6 (3,2) #&
Примечания: ИФА – иммуноферментный анализ, ГСГ – гистеросальпингография. # - различия статистически значимы при $p < 0,05$ между (1) и (3) группами; & - между (2) и (3) группами.			

Было выявлено, что в структуре пациенток, вступивших в госпрограмму в 2022 году, выявление патологии при гистеросальпингографии было значимо ниже (3,2%), чем до реализации программы (30%) и в первый год реализации (33,9%).

Мониторинг эффективности процедур ВРТ представлен в таблице 9.

Таблица 9 – Мониторинг эффективности процедур ВРТ пациенток, вступивших в процедуру ЭКО до и после внедрения «Аңсаған сәби»

Показатели	Группы пациенток, абс. (%)		
	2020 (1)	2021 (2)	2022 (3)
Количество полученных ооцитов на 1 пациентку	6,6 (11,3)	7,4 (5,6)	7,0 (3,3)
Количество полученных эмбрионов на 1 пациентку	2,9 (5,1)	2,8 (2,1)	3,7 (1,8)
Перенос 1 эмбриона	28 (48,3)	41 (31,1)*	180 (85,7)# &
Перенос 2 эмбрионов	30 (51,7)	89 (67,4)*	30 (14,3)# &
Результаты ЭКО:			
- визуализация плодного яйца по УЗИ	18 (31,0)	40 (30,1)	61 (29,0)
- пролонгированная беременность	13 (72,2)	34 (85,0)	43 (70,5)
- роды одним плодом	10 (55,6)	7 (17,5)*	Нд
- роды двойней	3 (5,2)	1 (2,5)*	1 (1,6) #
- преждевременные роды	-	3 (7,5)*	1 (1,6)
- выкидыш:			18 (29,5) &
- неразвивающаяся беременность	5 (27,8)	6 (15,0)	12 (19,7) &
- выкидыш до 12 недель	2 (11,1)	3 (7,5)	6 (9,8)
- выкидыш в 13-22 недель	3 (16,7)	2 (5,0)	0
	0	1 (2,5)	
Примечания: УЗИ – ультразвуковое исследование. * - различия статистически значимы при $p < 0,05$ между (1) и (2) группами; # - между (1) и (3) группами; & - между (2) и (3) группами. Нд – нет данных.			

Таким образом, внедрение Государственной программы «Аңсаған сәби» Гормональная стимуляция фолликулогенеза, пункция фолликулов яичников посттрансферная гормональная поддержка проводилась у всех пациенток, находящихся в программе ЭКО. Количество полученных ооцитов и эмбрионов на 1 пациентку во всех трех группах статистически не отличалось. Были выявлены статистически значимые различия по количеству перенесенных эмбрионов – в первый год реализации госпрограммы несколько чаще был осуществлен перенос 2 эмбрионов (67,4%) в сравнении с 2020 и 2022 годами. Во второй год (2022) реализации статистически чаще производился перенос 1 эмбриона (85,7%) по сравнению с 2020 и 2021 годами.

Результативность ЭКО оценивалась по частоте наступления беременности (визуализации плодного яйца по УЗИ), пролонгированной беременности/родов, потери беременности. Частота наступления беременности во всех группах статистически не отличалась и составила 31,0-30,1-29,0%. В 2021-2022 гг. наблюдается значимый тренд снижения доли родов двойней (2,5% и 1,6%). Однако, в 2022 г. наблюдалось значимое увеличение доли потерь беременности (29,5%), за счет неразвивающейся (19,7%).

Внедрение программы «Аңсаған сәби» позволило увеличить количество процедур ВРТ в 2,2 раза в 2021 году и 1,6 раз в 2022 году, при этом средний показатель эффективности процедуры (наступление беременности) составил 29,6%. В 2021-2022 гг. увеличилась обращаемость пациенток с более благоприятным анамнезом, позволяющим увеличить шансы на успешность процедуры ЭКО (возраст до 34 лет, наличие трубного фактора), однако, в системе ОСМС сохраняется проблема недообследования пациенток перед ЭКО, и как следствие, значимое увеличение доли потерь беременности (29,5%), недооценки других фактора риска неудач имплантации. Для повышения эффективности программ ЭКО по ОСМС необходимо разработать рекомендации по предимплантационной подготовке супружеских пар на уровне первичной медико-социальной помощи (ПМСП).

### 3.1.2 Изучения толщины эндометрия в прогнозировании результатов ЭКО

На следующем этапе проанализированы ретроспективно проанализированы 279 медицинских карт пациенток, которым было проведено ЭКО с переносом свежих эмбрионов. Всем пациентам также была проведена процедура интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ). Среди них 222 (79,6%) пациентки придерживались коротких протоколов лечения, а 57 (20,4%) - длинных. Возраст участников варьировался от 19 до 42 лет, средний возраст составил  $32,94 \pm 4,9$  года (среднее  $\pm$  SD). Средний ИМТ составил  $24,18 \pm 4,4$ . Длительность бесплодия варьировала от 1 до 20 лет, средняя продолжительность составила  $6,54 \pm 3,9$  года. В анамнезе были отмечены такие репродуктивные потери, как самопроизвольные аборты (66 случаев, 23,7 %), внематочная беременность (64 случая, 22,9 %), а также неэффективность программ ЭКО (23 случая, 8,2 %). Гормональные профили выявили средний уровень АМГ в сыворотке крови -  $3,2 \pm 3$  нг/мл, ЛГ -  $6,36 \pm 4,3$  МЕ/л и ФСГ -  $7,14 \pm 5,6$  мМЕ/мл.

В день введения ХГЧ толщина эндометрия варьировалась от 3 до 18 мм. Среди всех участниц средняя толщина эндометрия ( $\pm SD$ ) составила  $6,2 \pm 2,5$ . Анализ групп по толщине эндометрия показал: 25,1% пациенток вошли в группу 1, 43,0% - в группу 2 и 31,9% - в группу 3. Общее распределение частот толщины эндометрия представлено на рисунке 4.

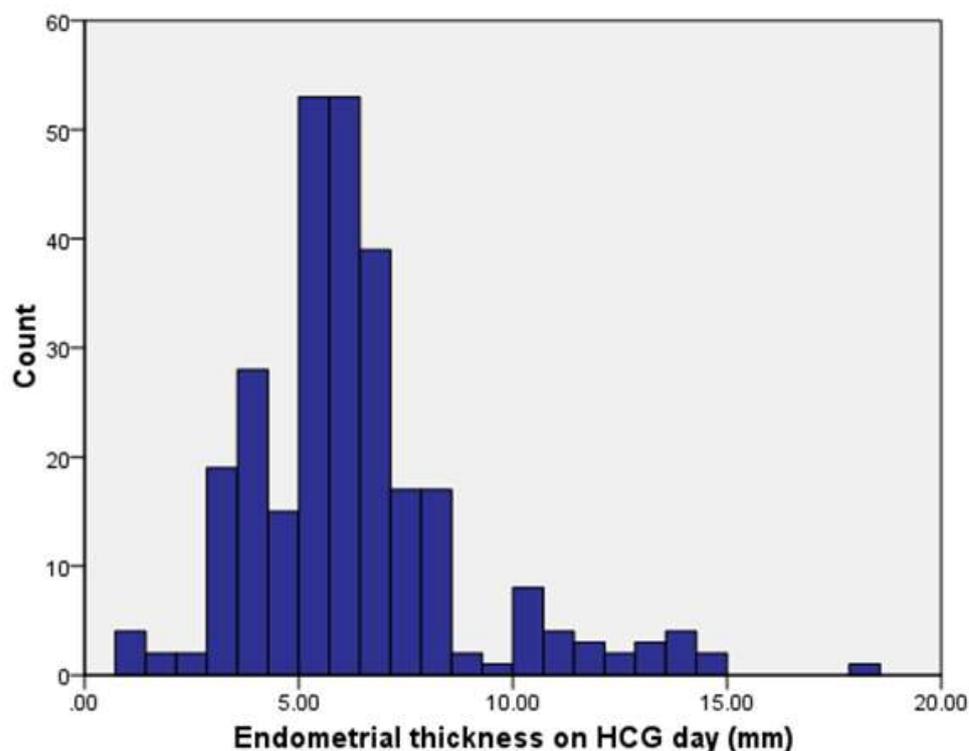


Рисунок 4 - Распределение частот толщины эндометрия в день введения ХГЧ: 25-й перцентиль: 4,9 мм; 50-й перцентиль: 6,0 мм; 75-й перцентиль: 7,0 мм

В таблице 5 представлены коэффициенты вероятности (OR), полученные в результате логистического регрессионного анализа, оценивающего влияние групп по толщине эндометрия на наступление беременности.

Таблица 5 - Отношение шансов для влияния толщины эндометрия на наступление беременности по данным логистического регрессионного анализа

Показатель	OR	95% CI	p-value
Толщина эндометрия (референс: группа 3)			
Группа 1	0.595	0.524-0.676	<0.001
Группа 2	0.670	0.591-0.761	<0.001
Сокращения: ДИ: доверительный интервал; ОР: отношение шансов.			

Принадлежность к группе 1 ассоциировалась с более низкой вероятностью наступления беременности (OR=0,595, 95% ДИ [0,524-0,676]) по сравнению с группой 3. Принадлежность к группе 2 ассоциировалась с более низкой

вероятностью наступления беременности (OR=0,670, 95% ДИ [0,591-0,761]). Результаты унивариантного логистического регрессионного анализа, в котором изучалось прогностическое значение дополнительных демографических и клинических переменных в отношении наступления беременности, представлены в приложении. Эти ассоциации не были значимыми.

### **3.2 Показатели ультразвукового исследования и доплерометрии сосудов тонкого эндометрия**

В исследование были включены 53 пациенток с невынашиванием беременности и синдромом «тонкого» эндометрия (основная группа). Группу сравнения составили 14 пациенток без репродуктивных потерь и наличием нормальной толщины эндометрия на 20-24 дни цикла. На каждую женщину составлялась индивидуальная карта наблюдения, включающая результаты обследования с изучением жалоб, соматического и акушерско-гинекологического анамнеза, данных общего и гинекологического статуса, лабораторных, а также специальных методы исследования: УЗИ органов малого таза и доплерометрии.

Средний возраст пациенток основной группы составил  $34,1 \pm 4,3$  года, в группе сравнения -  $32,8 \pm 3,6$  года, существенных различий по возрасту в исследуемых группах не выявлено. Всем пациенткам, основной и сравнительной групп проводилась трансвагинальная эхография на аппарате VOLUSONE-10 (Австрия) с использованием мультисекторного трансвагинального датчика с частотой 5-10 МГц, с программным обеспечением для реализации триплексного режима сканирования (серошкальный В-режим в сочетании цветового и импульсного доплера в масштабе реального времени). Проводилось динамическое ультразвуковое исследование во II фазу (в период «окна имплантации»). Исследование начинали с трансабдоминального ультразвукового сканирования (с наполненным мочевым пузырем) для исключения объемных образований малого таза. Продолжали исследование после опорожнения мочевого пузыря: определяли положение матки в полости малого таза. Особое внимание уделялось изучению М-эха: толщине, эхоструктуре и наличию включений. За нормальное значение М-эха принималась: однородная структура эндометрия, отсутствие гипо- или гиперэхогенных включений, соответствие его структуры дню менструального цикла. Критерием «тонкого» эндометрия считалась толщина эндометрия менее 7 мм на 20-24 день менструального цикла.

У пациенток основной группы проводилась оценка гемодинамики сосудов матки во вторую фазу менструального цикла в период «окна имплантации», включала в себя цветовое доплеровское картирование (ЦДК) и спектральную доплерометрию. При доплерометрическом исследовании обращали внимание на степень васкуляризации миометрия; проводили визуализацию всех ветвей сосудистой сети матки (маточных, аркуатных, радиальных, базальных, спиральных артерий) с оценкой систолических и диастолических показателей кровотока в исследуемых сосудах; величину углонезависимых индексов кривых

скоростей кровотока (КСК): пульсационного индекса (PI) и индекса резистентности (RI), систоло/диастолического соотношения (S/D). Уголнезависимые индексы рассчитывали автоматически по предустановленным формулам.

Данные ультразвукового исследования, цветового доплеровского картирования (ЦДК) и спектральной доплерометрии представлены в таблицах 10.

Таблица 10 - Данные толщины М-эхо

Параметры	Основная группа	Сравнительная группа
М-эхо	$5,4 \pm 0,6$	$8,6 \pm 2,7$

При ультразвуковом обследовании у большинства пациенток основной группы помимо истончения эндометрия (критерий отбора для настоящего исследования – толщина М-эхо в день предполагаемого окна имплантации менее 7 мм) отмечены и изменения его эхо-структуры. У 59,2% пациенток эндометрий был эхо-неоднородным, у 40,8% эхоструктура эндометрия не соответствовала дню менструального цикла (рисунок 5).



Рисунок 5 – Типичная ультразвуковая картина тонкого эндометрия.  
Толщина эндометрия 6,2 мм

Помимо ультразвукового исследования пациенткам проводили изучение кровотока в сосудах матки методом цветового доплеровского картирования (таблица 11-12).

Таблица 11 - Допплерометрические показатели ЦДК в «окно имплантации»

Исследуемые параметры	абс (%)
визуализация аркуатных артерий, %	31 (80%)
визуализация радиальных артерий, %	32 (83,3%)
визуализация базальных артерий, %	23 (60%)
визуализация спиральных артерий, %	8(20%)

Таблица 12- Допплерометрические показатели ЦДК в «окно имплантации»

Исследуемая артерия	Параметры гемодинамики		
	PI	RI	S/D
маточные артерии	1,78±0,06	0,99±0,05	4,5±0,04
аркуатные артерии	1,31±0,05	0,73±0,02	3,67±0,04
радиальные артерии	1,12±0,06	0,59±0,05	2,6±0,01
базальные артерии	0,92±0,03	0,79±0,06	1,76±0,05
спиральные артерии	1,43±0,04	0,96±0,05	1,12±0,03

Изучение кровотока в сосудах матки при ЦДК показало, что у пациенток основной группы визуализация аркуатных и радиальных артерий оказалась возможной в  $80\pm 7,4\%$  и в  $83,3\pm 6,9\%$  случаев (в группе сравнения –  $95\pm 5,0\%$  и  $95\pm 5,0\%$  соответственно), при этом достоверно реже регистрировалась визуализация базальных ( $60\pm 9,1\%$  против  $90,0\pm 6,9\%$ ,  $p < 0,01$ ). Было выявлено, что во II фазе менструального цикла у пациенток с «тонким» эндометрием визуализация аркуатных и радиальных артерий оказалась возможной у 31(80%) и у 32(83,3%) обследованных пациенток соответственно. Базальные артерии определялись у 23(60%), спиральные – у 8(20%) женщин соответственно (рисунок 6).



Рисунок 6 – Допплерометрия маточных сосудов

Наиболее значимыми для прогноза имплантационной способности эндометрия являются показатели гемодинамики базальных и спиральных артерий. В то же время для определения потенциала эндометрия необходимо учитывать не один критерий, а несколько ультразвуковых параметров, и более того, проводить комплексную оценку рецептивности эндометрия с применением иммунологических маркеров имплантации.

Для определения состояния эндометрия у пациенток с потерями беременности в анамнезе (основная группа исследования, n=39), нами была проведена гистероскопия с биопсией и гистологическим исследованием эндометрия. При этом в 100% случаев была выявлена та или иная патология эндометрия. Наиболее часто встречалась гистероскопическая картина, характерная для хронического эндометрита с гиперплазией и полипами эндометрия - у 23 женщин (59%). Гистероскопически это проявлялось неравномерной толщиной эндометрия, неравномерной его окраской и гиперемией слизистой оболочки, точечными кровоизлияниями, усилением сосудистого рисунка. При морфологическом исследовании биоптатов эндометрия у данных пациенток отмечалась диффузная либо очаговая лимфоидная инфильтрация стромы, ее отек, а также наличие плазматических клеток. Нами отмечены эндоскопические различия между железистыми и фиброзными полипами, которые проявлялись различной формой, размерами, локализацией полипов. Фиброзные полипы при гистероскопии чаще определялись в виде единичных образований бледного цвета, округлой формы, небольших размеров (до 0,5 см). Чаще такие полипы располагались в области дна матки и устьев маточных труб. Железистые полипы также были преимущественно одиночные, отличались чуть большими размерами (от 0,5 до 1,0 см). Цвет полипов был бледно-розовый, серо-розовый с синюшно-багровой верхушкой.

Еще одной часто встречающейся патологией при гистероскопии была гипоплазия эндометрия - у 15 пациенток (40%). При этой патологии во время гистероскопического исследования была выявлена бледная, тусклого белесоватого цвета слизистая, неравномерной толщины с преобладанием истонченного эндометрия.

У пациенток с рецидивами невынашивания беременности, ассоциированными с синдромом «тонкого эндометрия», помимо истончения эндометрия (М-эхо  $5,4 \pm 0,6$  мм против  $8,6 \pm 2,7$  мм в группе сравнения) отмечены в 59,2% случаев эхо-неоднородные изменения и в 40,8% - эхо-структура эндометрия не соответствовала дню менструального цикла. Изучение кровотока в сосудах матки при ЦДК показало, что у пациенток основной группы визуализация аркуатных и радиальных артерий оказалась возможной в  $80 \pm 7,4\%$  и в  $83,3 \pm 6,9\%$  случаев (в группе сравнения -  $95 \pm 5,0\%$  и  $95 \pm 5,0\%$  соответственно), при этом достоверно реже регистрировалась визуализация базальных ( $60 \pm 9,1\%$  против  $90,0 \pm 6,9\%$ ,  $p < 0,05$ ) и спиральных артерий ( $20 \pm 7,4\%$  против  $90,0 \pm 6,9\%$ ,  $p < 0,01$ ). У пациенток с «тонким эндометрием» отмечались высокие значения сосудистого сопротивления в спиральных артериях - пульсационный индекс PI

( $1,43 \pm 0,04$  против  $2,0 \pm 0,09$ ,  $p < 0,05$ ). При этом индекс резистентности RI ( $0,96 \pm 0,05$  против  $1,0 \pm 0,05$ ) и систоло/диастолическое соотношение - S/D в маточных ( $4,5 \pm 0,04$  против  $4,6 \pm 0,05$ ) и аркуатных артериях ( $3,67 \pm 0,04$  против  $3,8 \pm 0,05$ ) не имели различий с группой сравнения. Это указывает на необходимость поиска дополнительных критериев рецептивности эндометрия.

### 3.3 Экспрессия генов иммунного ответа при репродуктивных нарушениях

Демографические и клинические характеристики исследуемых групп представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Демографические и клинические характеристики групп

Характеристики	РНИ	РПБ	Фертильные
1	2	3	4
Возраст (лет): Среднее значение $\pm$ SD	$34,65 \pm 5,29$	$33,37 \pm 5,22$	$32,71 \pm 5,47$
ИМТ (кг/м <sup>2</sup> ): среднее значение $\pm$ SD	$23,36 \pm 4,24$	$25,69 \pm 4,79$	$23,98 \pm 3,81$
Толщина эндометрия (мм): среднее значение $\pm$ SD	$6,51 \pm 1,27$	$6,13 \pm 1,86$	$7,74 \pm 0,88$
Фибриноген, г/л: среднее значение $\pm$ SD	$3,05 \pm 0,51$	$3,10 \pm 0,23$	$2,71 \pm 0,17$
Протромбиновый индекс, %: среднее значение $\pm$ SD	$99,16 \pm 8,22$	$97,57 \pm 6,49$	$97,62 \pm 7,81$
Протромбиновое время, сек: Среднее $\pm$ SD	$13,04 \pm 2,35$	$14,69 \pm 1,78$	$12,47 \pm 3,27$
Активированное частичное тромбопластиновое время, сек: среднее значение $\pm$ SD	$34,04 \pm 3,61$	$32,10 \pm 2,20$	$25,15 \pm 13,87$
Международное нормализованное отношение: среднее значение $\pm$ SD	$1,04 \pm 0,12$	$1,21 \pm 0,14$	$1,06 \pm 0,03$
ЛГ, МЕ/л: среднее значение $\pm$ SD (нормальный уровень 0,61–16,3)	$8,34 \pm 2,13$	$11,24 \pm 3,26$	-
ФСГ, МЕ/л: среднее значение $\pm$ SD (нормальный уровень 4,7–21,5)	$6,19 \pm 1,43$	$6,00 \pm 1,07$	-
Пролактин*, нг/мл: среднее значение $\pm$ SD (нормальный уровень - менее 25)	$325,0 \pm 152,4$	$333,6 \pm 61,6$	-
ТТГ, мМЕ /л: среднее значение $\pm$ SD (норма 0,4-4,0)	$2,84 \pm 0,74$	-	-
Хронический эндометрит, да/нет	20/0	-	0/14

Продолжение таблицы 13

1	2	3	4
Хронический сальпингоофорит, да/нет	10/10	16/3	0/14
Операции на органах малого таза, да/нет	10/10	10/9	0/14
Внематочная беременность, да/нет	2/18	6/13	0/14
Эндометриоз, да/нет	5/15	4/15	1/13
Миома матки, да/нет	1/19	3/16	0/14
Полипы, да/нет	1/19	4/15	6/8
Примечание: ИМТ – индекс массы тела, ЛГ – лютеинизирующий гормон; ФСГ – фолликулостимулирующий гормон; ТТГ – тиреотропный гормон.			

При сравнении клинических характеристик между РНИ, РПБ и фертильными группами статистических различий по возрасту и ИМТ не выявлено. Все участницы были моложе 40 лет. В гинекологическом анамнезе наличие хронического сальпингоофорита и операций на органах малого таза чаще отмечалось у пациенток группы РНИ по сравнению с фертильной группой. Не было выявлено значимых различий между группами по показателям гемостаза, уровню гормонов в крови.

Для транскрипционного анализа эндометрия отобраны 53 образца эндометрия (20 – у пациенток с РНИ, 19 – с РПБ и тонким эндометрием, 14 – у фертильных женщин). В этом исследовании мы сосредоточились на генах, которые также были идентифицированы и продемонстрировали повышенную регуляцию в рецептивной фазе у здоровых женщин - 5 генов иммунного ответа (C4BPA, IL15, HAND2, VEGFB, CXCL1).

*Уровень мРНК в образцах эндометрия пациенток с РИФ в сравнении с фертильной группой*

Сравнительная статистика экспрессии генов между RIF и фертильными женщинами представлена в Таблице 14.

Таблица 14 – Сравнительная статистика экспрессии генов между РНИ и фертильными женщинами

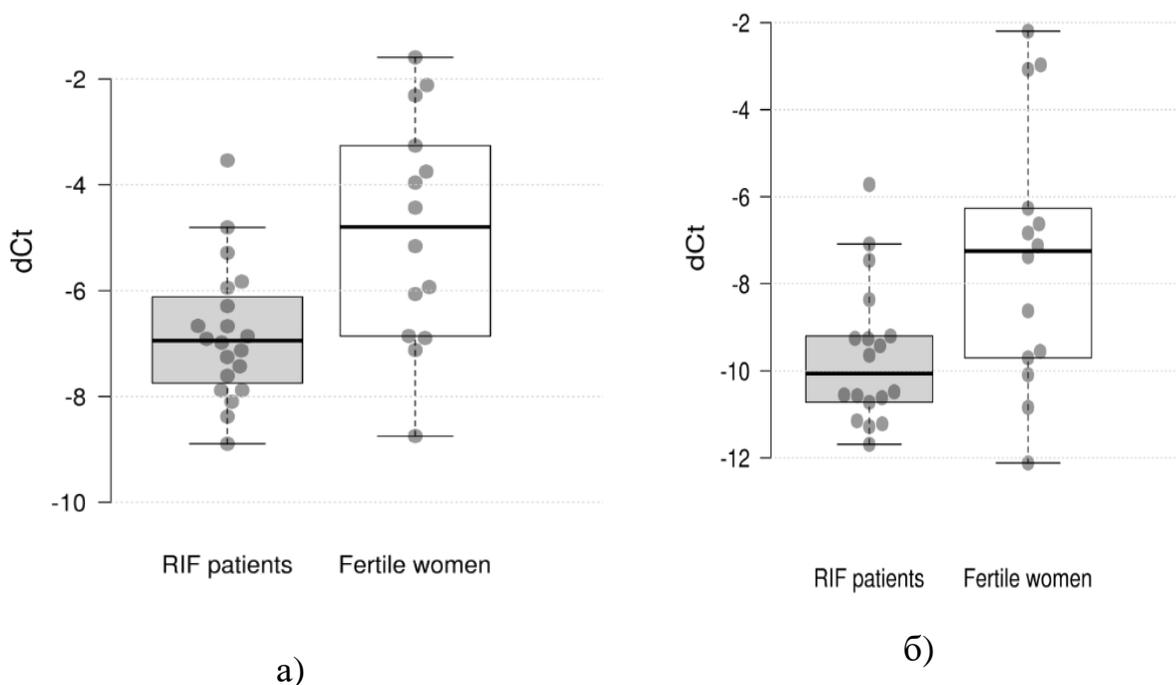
Ген	Ct среднее ± SD		ΔCt среднее ± SE		ΔΔCt (95% ДИ) изменение в 2 раза	P-значение
	РНИ	Фертильные	РНИ	Фертильные		
1	2	3	4	5	6	7
C4BPA	29,69 ± 3,29	30,28 ± 4,21	-9,65 ± 0,38	-7,39 ± 0,81	-2,09 (-3,99; -0,38)	0,030*

Продолжение таблицы 14

1	2	3	4	5	6	7
IL15	25,89 ± 3,89	26,86 ± 2,94	-4,87 ± 0,22	-3,97 ± 0,32	-0,73 (-1,65; 0,00)	0,051
HAND2	22,90 ± 3,52	24,48 ± 2,73	-1,88 ± 0,17	-1,59 ± 0,31	-0,31 (-0,87; 0,23)	0,231
VEGFB	24,20 ± 3,41	25,60 ± 2,50	-3,18 ± 0,21	-2,71 ± 0,27	-0,45 (-1,06; 0,18)	0,148
CXCL1	27,84 ± 4,27	27,76 ± 3,84	-6,82 ± 0,29	-4,87 ± 0,58	-1,95 (-3,45; - 0,60)	0,005**

Исследование показало, что экспрессия 2 из 5 генов значительно различается между исследуемыми группами.

Было обнаружено, что экспрессия CXCL1 и C4BPA была значительно снижена у пациенток с RIF и тонким эндометрием по сравнению с фертильными женщинами (логарифмическое изменение в 2 раза = -1,95 и -2,09, p = 0,005 и 0,030 соответственно) (Рисунок 7).



а) ген CXCL1; б) ген C4BPA.

Рисунок 7- Различия в уровнях экспрессии генов ( Δзначения Ct) в ткани эндометрия между пациентками с РИФ и фертильными женщинами

Однако после корректировки для множественных сравнений только разница в экспрессии CXCL1 осталась значительной (pFDR = 0,050 и 0,150

соответственно). Не было значительных различий в экспрессии генов VEGFB, HAND2 и IL15 между группами.

*Ассоциации с клиническими и лабораторными характеристиками*

Далее мы проанализировали различия в экспрессии генов среди групп с различными клиническими характеристиками. Среди фертильных женщин экспрессия C4BPA была значительно повышена ( $p=0,020$ ). Среди женщин с RIF не было выявлено существенных различий в уровнях экспрессии генов между пациентками с эндометриозом и без него.

Метод ранговой корреляции Спирмена использовался для изучения взаимосвязи между экспрессией изучаемых генов и количественными лабораторными характеристиками в двух группах. Корреляции представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Выявленные корреляции между уровнями экспрессии генов и клиническими и лабораторными параметрами

Группа	Параметр 1	Параметр 2	Спирман Rho	P-значение
Группа РНИ	VEGFB	Пролактин	-0. 446	0,049
	VEGFB	Тиреотропный гормон	-0. 526	0,017
	HAND2	Тиреотропный гормон	-0. 671	0,001
	HAND2	Фибриноген	-0. 465	0,038
Группа фертильная	HAND2	Индекс массы тела	-0. 688	0,008

В группе пациенток с РИФ и тонким эндометрием были установлены значимые обратные умеренные корреляции: между уровнями VEGFB и пролактина ( $\rho = -0,446$ ,  $p = 0,049$ ), VEGFB и ТТГ ( $\rho = -0,526$ ,  $p = 0,017$ ). В фертильной группе обратная умеренная связь между HAND2 и ИМТ ( $\rho = -0,688$ ,  $p = 0,008$ ). Однако следует отметить, что после корректировки для множественных сравнений ни одна корреляция не осталась значимой.

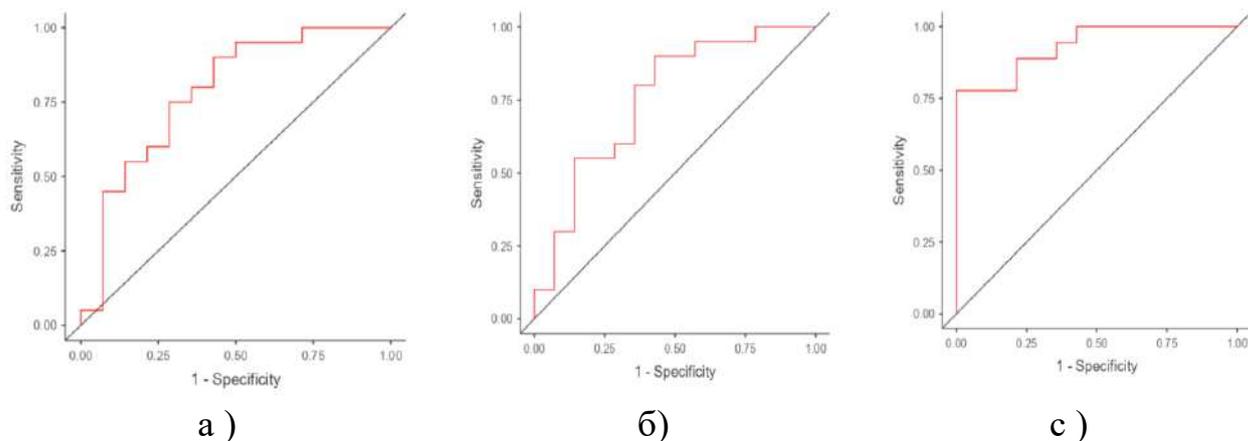
*ROC-анализ*

Мы провели ROC-анализ для оценки потенциала использования мРНК генов, дифференциально экспрессируемых в эндометрии пациентов с RIF, в качестве маркеров для прогнозирования RIF. Результаты представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Результаты ROC-анализа

Возможные маркеры и комбинации	AUC (95% ДИ)	Оптимальная точка отсечения	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)
CXCL1	0,782 (0,613-0,951)	-5.286	0,900 (0,683-0,988)	0,571 (0,289-0,823)
C4BPA	0,726 (0,535–0,918)	-7.462	0,889 (0,653–0,986)	0,571 (0,289–0,823)
C4BPA + CXCL1	0,806	-	0,833	0,643

Площади под ROC-кривой (AUC) были получены для CXCL1 (0,782) и C4BPA (0,726) (Рисунок 8). Использование комбинации C4BPA и CXCL1 привело к увеличению AUC до 0,806 (со специфичностью 64,3% и чувствительностью 83,3%).



а) CXCL1; б) C4BPA; в) комбинация CXCL1 и C4BPA.

Рисунок 8 - ROC-кривые для потенциальных маркеров и комбинаций маркеров при различении пациентов с РИФ и фертильных женщин

Уровни мРНК в образцах эндометрия пациентов с РИФ по сравнению с пациентами с РПЛ

Сравнительная статистика экспрессии генов у пациентов с РПБ и РНИ представлена в таблице 17.

Таблица 17 - Сравнительная статистика экспрессии генов между RIF и RPL у женщин

Ген	Ct (среднее значение $\pm$ SD)		$\Delta$ Ct (среднее значение $\pm$ SE)		$\Delta\Delta$ Ct (95% ДИ) Изменение кратности логарифма в 2 раза	p
	РИФ	РЛП	РИФ	РЛП		
<i>C4BPA</i>	30,51 $\pm$ 3,75	29,69 $\pm$ 3,29	-8,20 $\pm$ 0,61	-9,65 $\pm$ 0,38	0,99 (-0,06; 2,13)	0,059
<i>CXCL1</i>	28,19 $\pm$ 4,85	27,84 $\pm$ 4,27	-5,53 $\pm$ 0,65	-6,82 $\pm$ 0,29	0,83 (-0,33; 1,97)	0,175
<i>HAND2</i>	24,36 $\pm$ 4,29	22,90 $\pm$ 3,52	-1,69 $\pm$ 0,44	-1,88 $\pm$ 0,17	0,35 (-0,24; 1,00)	0,235
<i>IL15</i>	26,54 $\pm$ 3,63	25,89 $\pm$ 3,89	-3,88 $\pm$ 0,28	-4,87 $\pm$ 0,22	0,92 (0,10; 1,65)	0,023
<i>VEGFB</i>	25,64 $\pm$ 3,46	24,20 $\pm$ 3,41	-2,97 $\pm$ 0,19	-3,18 $\pm$ 0,21	0,34 (-0,23; 0,77)	0,214

Примечание: значимые различия ( $p < 0,05$ ) выделены жирным шрифтом.

Это исследование показало, что экспрессия 1 из 5 генов значительно различалась между исследуемыми группами. Было обнаружено, что экспрессия генов *IL-15* была значительно снижена в группе RIF у пациенток с тонким эндометрием по сравнению с пациентками с RPL (логарифмическое изменение в 2 раза = 0,92,  $p = 0,023$  для *ИЛ-15*) (Рисунок 9).

Не было выявлено существенных различий в экспрессии генов *CXCL8*, *CXCL1*, *MMP10*, *C4BPA*, *TNC*, *VEGFB* и *HAND2* между группами.

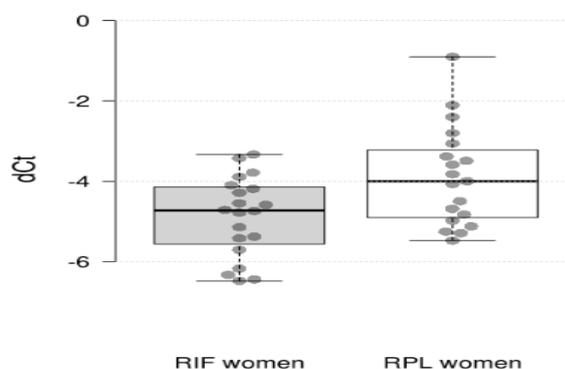


Рисунок 9- Различия в уровнях экспрессии гена *IL15* (значения  $\Delta$ Ct) в тканях эндометрия между пациентками с РПБ и РНИ

#### Ассоциации с клиническими и лабораторными характеристиками

Метод ранговой корреляции Спирмена использовался для изучения взаимосвязей между экспрессией изучаемых генов и количественными лабораторными характеристиками в двух группах. Корреляции представлены в таблице 18.

Таблица 18 - Обнаруженные корреляции между уровнями экспрессии генов и клиническими и лабораторными параметрами

Группа	Параметр 1	Параметр 2	Значение Rho Спирмена	<i>p</i>
РПБ	<i>CXCL1</i>	Протромбиновое время	-0,456	0,04959
	<i>CXCL1</i>	Активированное частичное тромбопластиновое время	0,587	0,0083
РИФ	<i>HAND2</i>	Тиреотропный гормон	-0,671	0,001
-	<i>HAND2</i>	Фибриноген	-0,465	0,038

У пациентов с РИФ значимые обратные умеренные корреляции наблюдались между *HAND2* и *TTT* ( $\rho = -0,671$ ,  $p = 0,001$ ), *HAND2* и фибриногеном ( $\rho = -0,465$ ,  $p = 0,038$ ), *VEGFB* и пролактином ( $\rho = -0,446$ ,  $p = 0,049$ ), а также *VEGFB* и *TTT* ( $\rho = -0,526$ ,  $p = 0,017$ ). У пациентов с РПБ были установлены значимые обратные умеренные корреляции между *CXCL1* и протромбиновым временем ( $\rho = -0,456$ ,  $p = 0,04959$ ) и между *MMP10* и активированным частичным тромбопластиновым временем ( $\rho = -0,494$ ,  $p = 0,0317$ ) и прямая умеренная корреляция между *CXCL1* и активированным частичным тромбопластиновым временем ( $\rho = 0,587$ ,  $p = 0,0083$ ). Следует отметить, что после корректировки для множественных сравнений ни одна из корреляций не осталась значимой.

У пациентов с РПБ были установлены значимые обратные умеренные корреляции между *CXCL1* и протромбиновым временем ( $\rho = -0,456$ ,  $p = 0,04959$ ) и прямая умеренная корреляция между *CXCL1* и активированным частичным тромбопластиновым временем ( $\rho = 0,587$ ,  $p = 0,0083$ ). Следует отметить, что после корректировки для множественных сравнений ни одна из корреляций не осталась значимой.

#### Анализ ROC

Проведен ROC-анализ для оценки потенциала использования мРНК генов, дифференциально экспрессируемых в эндометрии пациенток с РНИ, в качестве маркеров для прогнозирования РНИ. Результаты представлены в Таблице 19.

Таблица 19 - Результаты ROC-анализа

Потенциальные маркеры и комбинации	AUC (95% ДИ)	Оптимальная точка отсечения	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)
<i>IL15</i>	0,713 (0,550–0,876)	-4.091	0,800 (0,563–0,943)	0,579 (0,335–0,797)

Площади под ROC-кривыми (AUC) были получены для *IL-15* (0,713), (Рисунок 10). ROC-кривые (красные линии) позволяют оценить качество бинарных классификаций, отображая взаимосвязь между чувствительностью и специфичностью при изменении порога принятия решения: *IL15*

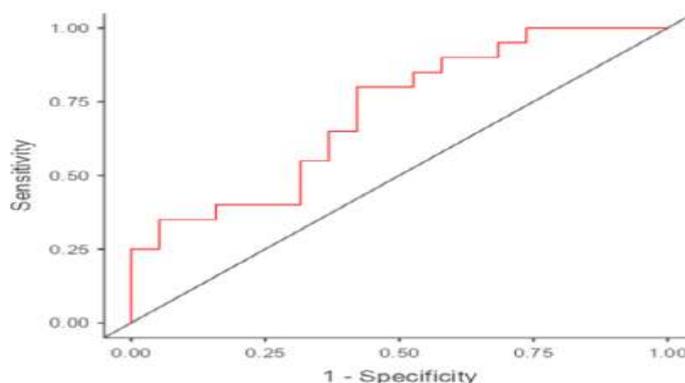


Рисунок 10. ROC-кривые *IL-15* для потенциальных маркеров и комбинаций маркеров при различии RIF и RPL у женщин.

В рамках данного исследования была проанализирована экспрессия генов у пациенток с РНИ и тонким эндометрием, а также у фертильных женщин, и выявлена аномальная активация воспалительного процесса в тонком эндометрии. Мы обнаружили, что уровни экспрессии генов *C4BPA* и *CXCL1* значительно снижены у пациенток с рецидивами неудач имплантации и тонким эндометрием по сравнению с фертильными женщинами ( $p=0,030$  и  $p=0,005$  соответственно). В этом исследовании снижение экспрессии гена *CXC motif chemokine ligand 1 (CXCL1)* свидетельствует об активации провоспалительного каскада у пациенток с РНИ и тонким эндометрием. В то же время не было выявлено значимых различий в уровнях экспрессии генов *VEGFB*, *HAND2* и *IL15* между группами. Наши результаты косвенно указывают на наличие "молчаливого эндометрия" в тонком эндометрии. Патологии, которые напрямую затрагивают слизистую оболочку матки, включая тонкий эндометрий, могут приводить к развитию рефрактерного эндометрия, характеризующегося отсутствием пролиферации и аномальной толщиной.

У пациенток с РНИ и тонким эндометрием были обнаружены значимые ( $p<0,05$ ) обратные умеренные корреляции. Установлено, что снижение экспрессии гена *HAND2* связано с повышением уровней ТТГ и фибриногена, в то время как у фертильных женщин снижение уровня этого гена коррелировало с увеличением ИМТ. Транскрипт 2, который кодируется геном *HAND2*, регулирует интерлейкин 15 (*IL-15*) — важный иммунный фактор, необходимый для активации и выживания естественных киллерных клеток матки, а также кратковременно индуцирует иммунотолерантность.

Наши исследования продемонстрировали прогностический потенциал комбинации генов *C4BPA* и *CXCL1* для предсказания РНИ. Мы обнаружили дифференциальную экспрессию этих генов у пациенток с рецидивами неудач имплантации и тонким эндометрием по сравнению с эндометрием фертильных женщин. Эти данные позволили нам оценить прогностическую значимость комбинированной модели для предсказания неудач имплантации в зависимости от толщины эндометрия.

Нами были изучены экспрессии генов у пациенток с РНИ и тонким эндометрием, а также соответствующие эндометриальные ткани от пациенток с РПБ. Мы выявили аномальную активацию воспалительной среды в тонком эндометрии. Изменения иммунного ответа на уровне эндометрия были статистически значимо нарушены в группе РНИ. Экспрессия гена *IL-15* была значительно снижена у пациенток с РНИ и тонким эндометрием по сравнению с пациентками с RPL ( $p = 0,023$ ).

Это исследование показало, что у пациентов с РНИ и РПБ наблюдаются значительные ( $p < 0,05$ ) обратные умеренные корреляции. У пациентов с РНИ были выявлены значимые обратные корреляции между *HAND2* и ТТГ, *HAND2* и фибриногеном, *VEGFB* и пролактином, а также *VEGFB* и ТТГ. У пациентов с РПБ обнаружены значимые обратные корреляции между *CXCL1* и протромбиновым временем, а также между *CXCL1* и активированным частичным тромбопластиновым временем была выявлена прямая умеренная корреляция. Таким образом, снижение уровней этих генов связано с повышением уровней гормонов гипофиза и активацией системы гемостаза.

Данное исследование также подтвердило, что популяции РНИ и РПБ отличаются высокой неоднородностью. Несмотря на схожесть факторов риска, экспрессия генов у этих групп различается. В то же время, были показаны прогностические возможности гена *IL-15* для разработки терапевтических подходов у женщин с РНИ и тонким эндометрием. Основным ограничением исследования является небольшой размер выборки, что следует учитывать в будущем. Также рекомендуется стратификация по клиническим формам. Для подтверждения наблюдаемых изменений в экспрессии генов необходимо провести дальнейшие исследования на уровнях протеома и метаболома.

В заключение, можно сказать, что патофизиология невосприимчивого эндометрия у женщин с РНИ и РПБ представляет собой сложное взаимодействие нарушений цитокинового баланса, дефектной децидуализации, расстройств ангиогенеза и дисфункции иммунной системы. Понимание этих механизмов важно для разработки целевых терапевтических стратегий, направленных на улучшение репродуктивных результатов. Это исследование показало снижение экспрессии гена *IL-15* в тонком эндометрии пациенток с РНИ по сравнению с женщинами с РПБ. Эти результаты помогают понять процессы, происходящие в тонком эндометрии, которые приводят к неудачам имплантации в ходе ЭКО, и имеют практическое значение для врачей при назначении индивидуализированной иммуномодулирующей терапии пациенткам, проходящим программы ВРТ.

## 4 МЕТОДОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ

### 4.1 Разработка алгоритма ведения пациентов в прогнозировании успешности имплантации

При планировании программ ВРТ следует индивидуально подходить к выбору метода прегравидарной подготовки, взвешивая все факторы риска. Рекомендации различных международных сообществ по вопросам диагностики и лечения женщин с репродуктивными потерями в анамнезе, связанных с нарушениями рецептивности эндометрия реализацией репродуктивной функции женщины, не тождественны в своих утверждениях.

По нашим результатам исследования принадлежность к группе 1 с толщиной эндометрия  $< 5$  мм ассоциировалась с более низкой вероятностью наступления беременности (OR=0,595, 95% ДИ [0,524-0,676]) по сравнению с группой 3 с толщиной эндометрия  $> 7$  мм. Принадлежность к группе 2 с толщиной  $\geq 5$  и  $\leq 7$  мм эндометрия ассоциировалась с более низкой вероятностью наступления беременности (OR=0,670, 95% ДИ [0,591-0,761]) по сравнению с группой 3 с толщиной эндометрия  $> 7$  мм. На основании клинических и анамнестических данных, инструментальных данных, которые были выявлены как статистически значимые при применении логистического регрессионного анализа, был создан алгоритм прогнозирования успешности имплантации на основании анализа факторов риска рецидивов репродуктивные потерь для прогнозирования успешной имплантации в программе ЭКО. После учета других предикторов и применения метода пошагового отбора с были выявлены несколько факторов: 1) внутриматочные вмешательства, 2) хронический эндометрит в анамнезе, 3) внематочная беременность в анамнезе, 4) толщина эндометрия  $\leq 7$  мм, 5) безэффективность программ ЭКО в анамнезе.

В таблице 20 указаны степени риска неудач имплантации в зависимости от факторов рецидивов репродуктивных потерь. При создании алгоритма прогнозирования рисков неудач имплантации были учтены все факторы, среди них были выбраны которые были статистически значимыми.

Таблица 20 – Алгоритм прогнозирования успешности имплантации на основании анализа факторов риска рецидивов репродуктивные потерь

Степень риска	Факторы риска	Тактика ведения
1	2	3
1 балла Низкий риск неудачи имплантации	- Толщина эндометрия $> 7$ мм - ИМТ не более 25 - Возраст $>40$ лет	В дополнительном обследовании не нуждается

Продолжение таблицы 20

1	2	3
<p>2 балла Средний риск неудачи имплантации</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Толщина эндометрия <math>\geq 5</math> и <math>\leq 7</math> мм</li> <li>- Снижение резистентности базальных и спиральных артерии</li> <li>- и спиральных артерии х</li> <li>- Безэффективность программ ЭКО в анамнезе не более 1 раза</li> <li>- Самопроизвольный выкидыш не более 1 раза в анамнезе</li> <li>- в анамнезе</li> <li>- внутриматочные вмешательства не более 1 раза в анамнезе</li> <li>-</li> </ul>	<p>Пайпель-биопсия эндометрия на 20-24 день менструального цикла с последующим иммуногенетическим исследованием</p>
<p>3 балла Высокий риск неудачи имплантации</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Толщина эндометрия <math>&lt; 5</math> мм</li> <li>- Отсутствие визуализации базальных и спиральных артерии</li> <li>- Безэффективность программ ЭКО в анамнезе 2 раза и более</li> <li>- Хронический эндометрит в анамнезе</li> <li>- Самопроизвольный выкидыш более 1 раза в анамнезе</li> <li>- Внутриматочные вмешательства более 1 раза в анамнезе</li> <li>- Внематочная беременность в анамнезе</li> </ul>	<p>Пайпель-биопсия эндометрия на 20-24 день менструального цикла с последующим иммуногенетическим исследованием Отложить\не рекомендовать ПЭ в следующем месяце</p>
<p>Примечание: ИМТ — индекс массы тела; ЭКО — экстракорпоральное оплодотворение; ПЭ-подсадка эмбриона.</p>		

Представленный алгоритм прогнозирования успешности имплантации на основании анализа факторов риска рецидивов репродуктивные потери демонстрирует высокую статистическую значимость ( $p < 0,01$ ). Основываясь на результаты проведенного логистического регрессионного анализа, позволяет интерпретировать по толщине эндометрия и клиничко-анамнестических данных прогнозирование вероятности наступления беременности и возможный исход беременности. Это, в свою очередь, практическом здравоохранении повышает эффективность персонализированного подхода при подготовке программ ВРТ.

Алгоритм прогнозирования успешности имплантации на основании транскриптомного анализа экспрессии генов C4BPA, IL15, HAND2, VEGFB, CXCL1 анализа биоптата эндометрия.

В рамках предварительно выполненного сравнительного статистического анализа данных, полученных в результате иммуногенетических исследований в период «окна имплантации» (глава 3), был идентифицирован ряд прогностически значимых маркеров, демонстрирующих ассоциацию с повторными неудачами имплантации. В перечень данных маркеров вошли следующие параметры:

- экспрессии выбранных генов C4BPA, IL15, HAND2, VEGFB, CXCL1 отражающие снижение рецептивности эндометрия.

- определено, что у женщин с репродуктивными неудачами в анамнезе при различных вариантах нарушения фертильности (бесплодии, невышанивании беременности ранних сроков, неудачах экстракорпорального оплодотворения) экспрессия маркеров двух генов (C4BPA+CXCL1) имеют достоверные различия от фертильных женщин.

Таблица 21 - Алгоритм прогнозирования успешности имплантации на основании транскриптомного анализа экспрессии генов C4BPA, IL15, HAND2, VEGFB, CXCL1 анализа биоптата эндометрия

Риск	Клинически данные	Иммуногенетический анализ	Тактика
Высокий	Женщины с РПБ с нарушениями рецептивности эндометрия	Снижения экспрессия маркеров двух генов (C4BPA + CXCL1) IL-15 значительно снижена	Отложить\не рекомендовать ПЭ в следующем месяце Обследование на тромбофилию
Средний	Женщины с РНИ	Снижения экспрессия маркеров двух генов (C4BPA + CXCL1) IL-15 в норме или несколько снижена	Отложить\не рекомендовать ПЭ в следующем месяце Индивидуальный подход
Низкий	Женщины фертильного возраста	Отсутствие отклонений иммуногенетического анализа	В обследовании не нуждается
Примечание РПБ – рецидив потери беременности (RPL – recurrent pregnancy loss), РНИ – рецидив неудач имплантации (RIF – recurrent implantation failure).			

- При рецидивах неудач имплантации и тонком эндометрии экспрессия генов IL-15 была значительно снижена по сравнению с пациентками с

рецидивами потери беременности ( $\log_2$ -кратное изменение = 0,92,  $p = 0,023$  для IL-15,  $\log_2$ -кратное изменение = 1,24,  $p = 0,046$  для).

Основываясь на совокупности статистически значимых маркеров, был разработан алгоритм, позволяющая прогнозировать вероятность успешной имплантации в циклах экстракорпорального оплодотворения с переносом эмбрионов, посредством применения данного метода. С целью построения оптимального прогностического алгоритма, характеризующейся максимальной эффективностью в отношении предсказания успешности имплантации, был задействован метод пошагового отбора предикторных переменных с последующим расчетом скорректированного отношения шансов и учетом потенциального влияния других факторов, включенных в алгоритм. По итогам реализации данного методологического подхода в финальную версию прогностического алгоритма были включены 2 маркера: «снижении экспрессия CXCL1 ( $p=0,005$ ) и C4BPA ( $p=0,03$ ) генов эндометрия», «уровень экспрессии IL-15». Суммарное количество клинических наблюдений, вошедших в анализ, составило 53 случая.

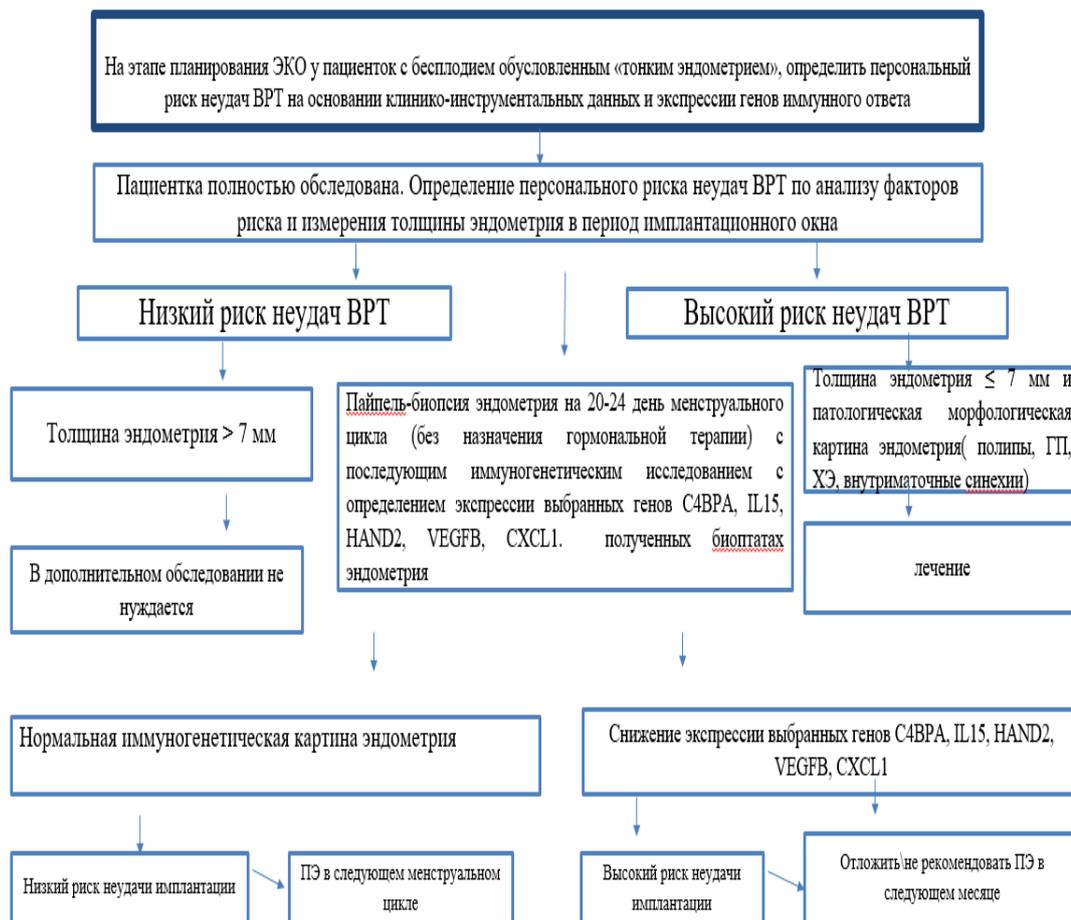


Рисунок 10 – Алгоритм ведения пациенток с бесплодием, обусловленным тонким эндометрием и неудачными попытками переноса эмбрионов в анамнезе

## 4.2 Обсуждение результатов исследования

Анализ факторов риска развития рецидивов потери беременности и неудач имплантации показал, что нарушения рецептивности существенно влияют на частоту наступления беременности и рождения живых детей в программах ВРТ.

Внедрение Государственной программы «Ансаған сэби» с повышением квот на процедуру ЭКО позволило расширить доступ к медицинской помощи супружеским парам. В 2021 году увеличилась обращаемость пациенток с более благоприятным анамнезом, позволяющим увеличить шансы на успешность процедуры ЭКО, к таким факторам относятся - более молодой возраст, наличие трубного фактора как причины бесплодия. Однако, несмотря на вышеперечисленные благоприятные факторы, результативность ЭКО колеблется на уровне 29-30%, что на 19,5% ниже среднереспубликанского уровня (48,5%)[18, с. 7]. Это связано с проблемой недообследования пациенток перед вступлением в процедуру ЭКО. Среди причин потерь беременности после ЭКО особое значение имеют тромбофилии, в первую очередь, приобретенные, связанные с носительством антител к ХГЧ, антифосфолипидным синдромом или же транзиторным носительством антифосфолипидных антител [125,126].

Согласно результатам систематического обзора, у женщин с более низкой толщиной эндометрия частота наступления беременности и рождения живых детей была ниже, чем у женщин с более высокой толщиной, независимо от того, был ли проведен свежий или замороженный цикл.

В ходе ретроспективного анализа 279 женщин, прошедших процедуру ЭКО-ИКСИ, мы отметили, что толщина эндометрия значительно влияет на вероятность наступления беременности. Результаты логистического регрессионного анализа показали, что среди множества факторов, влияющих на наступление беременности, толщина эндометрия неизменно оказывается одним из наиболее значимых. У пациенток 1-й и 2-й групп вероятность наступления беременности была ниже, чем у пациенток 3-й группы, у которых толщина эндометрия на день сдачи ХГЧ была равна или превышала 7 мм. Полученные данные свидетельствуют о том, что оптимальная толщина эндометрия, как показано в группе 3, может быть связана с улучшением исходов беременности при процедуре ЭКО-ИКСИ.

Адекватная толщина эндометрия имеет решающее значение для успешной имплантации и развития эмбриона. Наблюдаемая связь между толщиной эндометрия и наступлением беременности подчеркивает необходимость тщательного мониторинга и оптимизации состояния эндометрия во время циклов ЭКО-ИКСИ. Несмотря на то, что это выходит за рамки настоящего исследования, стратегии сохранения фертильности, такие как витрификация ооцитов, становятся все более важными для женщин, которые ищут щадящие методы лечения, чтобы сохранить свой репродуктивный потенциал [127]. Витрификация ооцитов дает женщинам возможность гарантировать будущие репродуктивные возможности, особенно если они проходят процедуру ЭКО-ИКСИ в пожилом возрасте или имеют ранее существовавшие проблемы с фертильностью, а также позволяет проводить неинвазивную пренатальную

диагностику и отслеживать неонатальные исходы [128]. Включение витрификации ооцитов в финансируемые государством программы, такие как «Аңсаған сәби», которые облегчают доступ к ВРТ, потенциально может повысить показатели успешности ЭКО. Учет толщины эндометрия в качестве ключевого предиктора исхода беременности у предварительно отобранных пациенток, проходящих процедуру ЭКО-ИКСИ, может повысить эффективность программы в плане минимизации факторов риска наступления и потери беременности. В частности, программа может использовать наши результаты для оптимизации критериев отбора пациентов, уточнения протоколов лечения и улучшения стратегий мониторинга для обеспечения оптимального состояния эндометрия во время циклов ЭКО-ИКСИ. Наше исследование показало, что толщина эндометрия является значимым предиктором наступления беременности у женщин, проходящих процедуру ЭКО-ИКСИ. Оптимальная толщина эндометрия, составляющая <7 мм, ассоциируется с улучшением исхода беременности. Клиницистам следует рассмотреть возможность мониторинга и оптимизации состояния эндометрия для повышения успешности циклов ЭКО-ИКСИ. Необходимы дальнейшие исследования для подтверждения наших выводов и изучения дополнительных факторов, влияющих на результаты ЭКО-ИКСИ.

При проведении ультразвукового исследования у большинства пациенток основной группы, помимо истончения эндометрия (что является критерием отбора для исследования — толщина М-эхо в день предполагаемого окна имплантации менее 7 мм), были выявлены также изменения его эхо-структуры. У 59,2% пациенток эндометрий оказался эхо-неоднородным, а у 40,8% структура эндометрия не соответствовала фазе менструального цикла.

Для прогноза имплантационной способности эндометрия наиболее важными являются показатели гемодинамики базальных и спиральных артерий. Однако для точной оценки потенциала эндометрия необходимо учитывать несколько ультразвуковых параметров, а также проводить комплексную оценку его рецептивности с использованием иммуногенетических маркеров имплантации[8, с. 378].

В рамках исследования состояния эндометрия у пациенток с потерями беременности в анамнезе (основная группа, n=39) была проведена гистероскопия с биопсией и гистологическим анализом эндометрия. Во всех случаях была выявлена та или иная патология эндометрия. Наиболее часто встречалась картина хронического эндометрита с гиперплазией и полипами — у 23 женщин (60%). Это проявлялось неравномерной толщиной эндометрия, изменениями его окраски, гиперемией слизистой оболочки, точечными кровоизлияниями и усилением сосудистого рисунка. Гистологическое исследование показало диффузную или очаговую лимфоидную инфильтрацию стромы, её отек и присутствие плазматических клеток. Были зафиксированы эндоскопические различия между железистыми и фиброзными полипами, которые различались по форме, размерам и локализации. Фиброзные полипы чаще встречались в виде единичных образований бледного цвета, округлой формы, небольших размеров

(до 0,5 см) и располагались в области дна матки и устьев маточных труб. Железистые полипы, как правило, также были одиночными, но несколько большего размера (от 0,5 до 1,0 см), с бледно-розовым или серо-розовым цветом и синюшно-багровой верхушкой[42, с.999].

Часто выявлявшейся патологией была гипоплазия эндометрия, обнаруженная у 15 пациенток (40%), где слизистая оболочка имела бледный, белесоватый оттенок, была неравномерной толщины, с преобладанием истонченного эндометрия.

У пациенток с рецидивами невынашивания беременности и синдромом «тонкого эндометрия» помимо истончения эндометрия (М-эхо  $5,4 \pm 0,6$  мм против  $8,6 \pm 2,7$  мм в группе сравнения) наблюдались эхографические изменения, такие как неоднородная эхогенность в 53,3% случаев и несоответствие эхоструктуры дню менструального цикла в 36,7% случаев. Исследование кровотока в сосудах матки методом ЦДК показало, что у пациенток основной группы аркуатные и радиальные артерии визуализировались в  $80 \pm 7,4\%$  и  $83,3 \pm 6,9\%$  случаев (в группе сравнения —  $95 \pm 5,0\%$  и  $95 \pm 5,0\%$  соответственно), при этом значительно реже визуализировались базальные ( $60 \pm 9,1\%$  против  $90,0 \pm 6,9\%$ ,  $p < 0,05$ ) и спиральные артерии ( $20 \pm 7,4\%$  против  $90,0 \pm 6,9\%$ ,  $p < 0,01$ ). У пациенток с «тонким эндометрием» отмечены высокие значения сосудистого сопротивления в спиральных артериях: пульсационный индекс PI ( $1,43 \pm 0,04$  против  $2,0 \pm 0,09$ ,  $p < 0,05$ ). Однако индекс резистентности RI ( $0,96 \pm 0,05$  против  $1,0 \pm 0,05$ ) и систоло-диастолическое соотношение S/D в маточных ( $4,5 \pm 0,04$  против  $4,6 \pm 0,05$ ) и аркуатных артериях ( $3,67 \pm 0,04$  против  $3,8 \pm 0,05$ ) не имели различий с группой сравнения. Эти данные подчеркивают необходимость поиска дополнительных критериев для оценки рецептивности эндометрия.

Пациенты, страдающие тонким эндометрием, более подвержены нарушениям фертильности [129]. РНИ, вызванный тонким эндометрием, может быть связан с аномальной активацией воспалительной среды вместе с аномально сниженной реакцией на окислительный стресс [130]. В этом исследовании была изучена экспрессия генов у пациенток с РНИ и тонким эндометрием, а также у соответствующих эндометриальных тканей фертильных женщин, и мы выявили аномальную активацию воспалительной среды в тонком эндометрии. Было обнаружено, что экспрессия генов C4BPA и CXCL1 была значительно снижена у пациенток с РНИ и тонким эндометрием по сравнению с фертильными женщинами ( $p = 0,030$  и  $p = 0,005$  соответственно).

В нашем исследовании снижение экспрессии гена CXCL1 указывает на активацию каскада провоспалительных сигналов у пациенток с РНИ и тонким эндометрием. В то же время не было выявлено значимых различий в концентрациях экспрессии генов C4BPA, IL15, HAND2, VEGFB, CXCL1 между группами. Наши результаты косвенно указывают на то, что в тонком эндометрии наблюдается «молчаливый эндометрий». Патологии, которые напрямую затрагивают слизистую оболочку матки, включая тонкий эндометрий, могут провоцировать рефрактерный эндометрий, характеризующийся отсутствием пролиферации и аномальной толщиной. При

исследовании межклеточной коммуникации в тонком эндометрии с помощью CellChat было показано, что количество и сила взаимодействий между стромальными клетками и пролиферирующими стромальными клетками были снижены [130]. В поздней пролиферативной фазе у женщин с тонким эндометрием и сниженной экспрессией PDZ-связывающей киназы в стромальных клетках эндометрия была выявлена подавленная пролиферация клеток, чему способствовало наличие аберрантно провоспалительной среды [131].

Изучение клеточных и молекулярно-генетических механизмов регуляции генов иммунного ответа у пациентов с нарушениями рецептивности эндометрия позволят улучшить исходы программ ВРТ.

В нашем исследовании у пациенток с РНИ и тонким эндометрием были показаны значимые ( $p < 0,05$ ) обратные умеренные корреляции. Было отмечено, что снижение уровня гена HAND2 было связано с повышением уровней ТТГ и фибриногена, а у фертильных женщин снижение уровня гена HAND2 было связано с повышением ИМТ. Транскрипт 2, экспрессируемый производными сердца и нервного гребня (HAND2), регулирует интерлейкин 15 (IL-15), ключевой иммунный фактор, необходимый для активации и выживания естественных киллеров матки, кратковременно индуцирует иммунотолерантность. Во время секреторной фазы уровни HAND2 и IL-15 значительно повышаются в здоровом человеческом эндометрии [97]. Те же тенденции наблюдались в VEGFB с уровнями ТТГ и пролактина. Было показано, что VEGF-B является фактором выживания для эндотелиальных клеток сосудов [98]. Эти данные подтвердили, что популяция РНИ крайне неоднородна, и были выявлены многочисленные факторы риска РНИ, факторы образа жизни, включая ИМТ, факторы матки и яичников (эндометриоз, полипы, аденомиоз, поликистозный синдром), тромбофилию [132]. Следующие исследования должны быть выполнены с учетом этих факторов в зависимости от клинических форм. Рецептивность эндометрия характеризуется сложной динамикой интерактивных сетей и регуляторных функций в различных аспектах процесса имплантации, а высокая изменчивость фенотипа между людьми подразумевает их как центральных привратников восприимчивости для имплантации эмбриона [133]. Однако наши исследования показали прогностический потенциал комбинации генов C4BPA + CXCL1 для прогнозирования РНИ. Наше исследование выявило дифференциальную экспрессию генов C4BPA и CXCL1 у пациенток с РИФ и тонким эндометрием по сравнению с эндометрием фертильных женщин. Эти данные позволили нам оценить прогностическую ценность комбинированной модели для прогнозирования неудач имплантации в зависимости от толщины эндометрия. Данные также предоставляют потенциальные терапевтические цели для лечения тонкого эндометрия у пациенток, проходящих программы ВРТ.

В этом исследовании были изучены экспрессии генов у пациенток с РНИ и тонким эндометрием, а также соответствующие эндометриальные ткани от пациенток с РПБ. Мы выявили аномальную активацию воспалительной среды в

тонком эндометрии. Изменения иммунного ответа на уровне эндометрия были статистически значимо нарушены в группе РНИ. Экспрессия генов *IL-15*, *INFG* и *HPRT1* была значительно снижена у пациенток с РНИ и тонким эндометрием по сравнению с пациентками с RPL ( $p = 0,023$ ,  $p = 0,046$  и  $p = 0,046$  соответственно).

*IL-15* является ключевым иммунным фактором, необходимым для активации и выживания естественных клеток-киллеров матки (uNK). Активированные клетки uNK могут способствовать ремоделированию спиральной артерии и секретировать цитокины для индукции иммунотолерантности. Экспрессия *IL-15* отличается у пациенток с РНИ по сравнению с фертильными контрольными группами и коррелирует с локальным набором uNK (CD56+) и ангиогенезом. Более того, уровни мРНК *IL-15* в эндометрии средней лютеиновой фазы положительно коррелировали с клетками uNK CD56+ ( $r = 0,392$ ;  $p = 0,008$ ).

История рецидивирующих инфекций у женщин с РНИ и РПБ может привести к кумулятивным иммунным изменениям. Кроме того, повторные инфекции могут способствовать развитию аутоиммунитета, что приводит к неадекватным реакциям как на эмбриональные, так и на материнские ткани. Устранение инфекций и восстановление сбалансированного иммунного ответа могут иметь решающее значение для улучшения результатов у женщин с РНИ и РПБ. Это указывает на значимый патогенетический механизм неудач имплантации, связанный с инфекцией, что необходимо учитывать при реабилитации больных с РНИ.

Это исследование показало, что у пациентов с РНИ и РПБ наблюдались значительные ( $p < 0,05$ ) обратные умеренные корреляции. У пациентов с РНИ значимые обратные умеренные корреляции наблюдались между *HAND2* и ТТГ, *HAND2* и фибриногеном, *VEGFB* и пролактином, а также *VEGFB* и ТТГ. У пациентов с РПБ значимые обратные умеренные корреляции были обнаружены между *CXCL1* и протромбиновым временем и между *MMP10* и активированным частичным тромбопластиновым временем, а также прямая умеренная корреляция была обнаружена между *CXCL1* и активированным частичным тромбопластиновым временем. Таким образом, снижение уровней вышеуказанных генов было связано с повышением уровней гормонов гипофиза и активацией системы гемостаза.

Это исследование подтвердило, что популяции РНИ и РПБ крайне неоднородны. Несмотря на сходство факторов риска, экспрессия генов различается. Однако были показаны прогностические потенциалы генов *IL-15* и их комбинаций для разработки терапевтических подходов у женщин с РНИ и тонким эндометрием. Мы оценили способность предикции неудачи ЭКО, отслеживая уровни транскриптов трех генов. Транскрипты сами по себе показали скромные результаты в области порога между «удовлетворительно» и «плохо» (с AUC приблизительно 0,7); однако комбинация *IL15+ HPRT1* достигла порога «хорошего» классификатора (AUC = 0,8).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ факторов риска рецидивов потери беременности и неудачных имплантаций показал, что оптимальная толщина эндометрия имеет ключевое значение для успешной имплантации и дальнейшего развития эмбриона. Обнаруженная связь между толщиной эндометрия и наступлением беременности подчеркивает важность тщательного мониторинга и коррекции состояния эндометрия в процессе циклов ЭКО-ИКСИ. Хотя это не является основной темой данного исследования, стратегии сохранения фертильности, такие как витрификация ооцитов, приобретают всё большее значение для женщин, желающих использовать менее инвазивные методы лечения для сохранения репродуктивного потенциала [127, с. 1065]. Витрификация ооцитов предоставляет женщинам шанс сохранить свои репродуктивные возможности на будущее, особенно если они проходят процедуру ЭКО-ИКСИ в зрелом возрасте или имеют проблемы с фертильностью. Эта методика также позволяет проводить неинвазивную пренатальную диагностику и следить за результатами на неонатальном этапе. [128, с. 4]. Включение витрификации ооцитов в финансируемые государством программы, такие как «Аңсаған сәби», которые облегчают доступ к ВРТ, потенциально может повысить показатели успешности ЭКО. Учет толщины эндометрия в качестве ключевого предиктора исхода беременности у предварительно отобранных пациенток, проходящих процедуру ЭКО-ИКСИ, может повысить эффективность программы в плане минимизации факторов риска наступления и потери беременности. В частности, программа может использовать наши результаты для оптимизации критериев отбора пациентов, уточнения протоколов лечения и улучшения стратегий мониторинга для обеспечения оптимального состояния эндометрия во время циклов ЭКО-ИКСИ. Наше исследование показало, что толщина эндометрия является значимым предиктором наступления беременности у женщин, проходящих процедуру ЭКО-ИКСИ. Оптимальная толщина эндометрия, составляющая <7 мм, ассоциируется с улучшением исхода беременности. Клиницистам следует рассмотреть возможность мониторинга и оптимизации состояния эндометрия для повышения успешности циклов ЭКО-ИКСИ. Необходимы дальнейшие исследования для подтверждения наших выводов и изучения дополнительных факторов, влияющих на результаты ЭКО-ИКСИ.

При проведении ультразвукового исследования у большинства пациенток основной группы, помимо истончения эндометрия (что является критерием отбора для исследования - толщина М-эхо в день предполагаемого окна имплантации менее 7 мм), были выявлены также изменения его эхо-структуры. У 59,2% пациенток эндометрий оказался эхо-неоднородным, а у 40,8% структура эндометрия не соответствовала фазе менструального цикла.

Полученные результаты позволяют прогнозировать риск отторжения в силу изменения количества исследованных соединений и рецепторов. С целью предотвращения таких рисков в перспективе целесообразно провести ряд клинических исследований эффективности стволовых клеток различной

этиологии в регулировании процессов имплантации при синдроме тонкого эндометрия.

Изучение клеточных и молекулярно-генетических механизмов регуляции генов иммунного ответа у пациентов с нарушениями рецептивности эндометрия позволят улучшить исходы программ ВРТ.

В нашем исследовании у пациенток с РНИ и тонким эндометрием были показаны значимые ( $p < 0,05$ ) обратные умеренные корреляции. Было отмечено, что снижение уровня гена *HAND2* было связано с повышением уровней ТТГ и фибриногена, а у фертильных женщин снижение уровня гена *HAND2* было связано с повышением ИМТ. Транскрипт 2, экспрессируемый производными сердца и нервного гребня (*HAND2*), регулирует интерлейкин 15 (*IL-15*), ключевой иммунный фактор, необходимый для активации и выживания естественных киллеров матки, кратковременно индуцирует иммунотолерантность. Во время секреторной фазы уровни *HAND2* и *IL-15* значительно повышаются в здоровом человеческом эндометрии [97, с. 9596]. Те же тенденции наблюдались в *VEGFB* с уровнями ТТГ и пролактина. Было показано, что *VEGF-B* является фактором выживания для эндотелиальных клеток сосудов [98, с. 119]. Эти данные подтвердили, что популяция РНИ крайне неоднородна, и были выявлены многочисленные факторы риска РНИ, факторы образа жизни, включая ИМТ, факторы матки и яичников (эндометриоз, полипы, аденомиоз, поликистозный синдром), тромбофилию [132, с. 5]. Следующие исследования должны быть выполнены с учетом этих факторов в зависимости от клинических форм. Рецептивность эндометрия характеризуется сложной динамикой интерактивных сетей и регуляторных функций в различных аспектах процесса имплантации, а высокая изменчивость фенотипа между людьми подразумевает их как центральных привратников восприимчивости для имплантации эмбриона [133, с. 1107]. Однако наши исследования показали прогностический потенциал комбинации генов *C4BPA* + *CXCL1* для прогнозирования РНИ. Наше исследование выявило дифференциальную экспрессию генов *C4BPA* и *CXCL1* у пациенток с РИФ и тонким эндометрием по сравнению с эндометрием фертильных женщин. Эти данные позволили нам оценить прогностическую ценность комбинированной модели для прогнозирования неудач имплантации в зависимости от толщины эндометрия. Данные также предоставляют потенциальные терапевтические цели для лечения тонкого эндометрия у пациенток, проходящих программы ВРТ.

В этом исследовании были изучены экспрессии генов у пациенток с РНИ и тонким эндометрием, а также соответствующие эндометриальные ткани от пациенток с РПБ. Мы выявили аномальную активацию воспалительной среды в тонком эндометрии. Изменения иммунного ответа на уровне эндометрия были статистически значимо нарушены в группе РНИ. Экспрессия генов *IL-15*, *INFG* и *HPRT1* была значительно снижена у пациенток с РНИ и тонким эндометрием по сравнению с пациентками с RPL ( $p = 0,023$ ,  $p = 0,046$ , и  $p = 0,046$  соответственно).

IL-15 является важным иммунным фактором, необходимым для активации и поддержания жизнеспособности естественных клеток-киллеров матки (uNK). Активированные клетки uNK играют роль в ремоделировании спиральных артерий и секреции цитокинов, что способствует индукции иммунотолерантности. Экспрессия IL-15 отличается у пациенток с РНИ по сравнению с фертильными контрольными группами и имеет связь с локальным набором клеток uNK (CD56+) и процессами ангиогенеза. История рецидивирующих инфекций у женщин с РНИ и РПБ может привести к кумулятивным иммунным изменениям. Повторные инфекции могут способствовать развитию аутоиммунных заболеваний, что приводит к ненормальным реакциям на эмбриональные и материнские ткани. Лечение инфекций и восстановление нормального иммунного ответа играют ключевую роль в улучшении исходов у женщин с РНИ и РПБ. Это указывает на важный патогенетический механизм неудач имплантации, связанный с инфекцией, который следует учитывать при реабилитации пациенток с РНИ.

Подводя итог, можно сказать, что патофизиология невосприимчивого эндометрия у женщин с РНИ и РПБ включает сложное взаимодействие дисбаланса цитокинов, дефектной децидуализации, нарушенного ангиогенеза и дисфункции иммунной системы. Понимание этих механизмов имеет решающее значение для разработки целевых терапевтических стратегий для улучшения репродуктивных результатов. Это исследование выявило снижение экспрессии гена *IL-15* в тонком эндометрии пациенток с РНИ по сравнению с женщинами с РПБ. Эти данные способствуют пониманию процессов в тонком эндометрии, приводящих к неудачам имплантации во время ЭКО, и имеют практическое значение для врачей для дифференцированного назначения иммуномодулирующей терапии у пациенток, проходящих программы ВРТ.

Полученные данные позволяют предсказать риск отторжения из-за изменения количества исследованных соединений и рецепторов. Для минимизации подобных рисков в будущем рекомендуется провести серию клинических исследований, направленных на оценку эффективности стволовых клеток разной этиологии в регулировании процессов имплантации при синдроме тонкого эндометрия.

## Выводы

1. Шансы на успешность процедуры ЭКО зависят от факторов: длительность бесплодия до 10 лет (88%), более молодой возраст до 34 лет (54%), наличие трубного фактора до 74,2%. Результаты логистического регрессионного анализа показали, что толщина эндометрия ниже 7 мм снижает вероятность наступления беременности и повышает вероятность самопроизвольного аборта и внематочной беременности. У пациенток с толщиной эндометрия менее 5 мм и от 5 до 7 мм вероятность наступления беременности была ниже по сравнению с пациентками с толщиной эндометрия 7 мм и более.

2. У пациенток с рецидивами невынашивания беременности, на фоне истончения эндометрия (М-эхо  $5,4 \pm 0,6$  мм против  $8,6 \pm 2,7$  мм в группе сравнения) отмечены эхо-неоднородные изменения (59,2%), несоответствие структуры эндометрия дню менструального цикла (40,8%). Изучение кровотока в сосудах матки при цветной доплерографии показало снижение визуализации аркуатных и радиальных артерий, базальных - в 1,5 раза ( $60 \pm 9,1\%$  против  $90,0 \pm 6,9\%$ ,  $p < 0,05$ ) и спиральных артерий в 4,5 раза ( $20 \pm 7,4\%$  против  $90,0 \pm 6,9\%$ ,  $p < 0,01$ ); отмечались высокие значения сосудистого сопротивления в спиральных артериях - пульсационный индекс PI ( $1,43 \pm 0,04$  против  $2,0 \pm 0,09$ ,  $p < 0,05$ ).

3. Транскрипционный анализ эндометрия показал, что при рецидивах неудач имплантации и «тонком» эндометрии экспрессия CXCL1 ( $p = 0,005$ ) и C4BPA ( $p = 0,03$ ) генов эндометрия значительно снижена, использование комбинации двух маркеров (C4BPA + CXCL1) позволяет хорошо различать пациенток с рецидивами неудач имплантации и фертильных женщин (AUC=0,806). У пациентов с рецидивами потери беременности были установлены значимые обратные умеренные корреляции между CXCL1 и протромбиновым временем ( $\rho = -0,456$ ,  $p = 0,04959$ ) и прямая умеренная корреляция между CXCL1 и активированным частичным тромбопластиновым временем ( $\rho = 0,587$ ,  $p = 0,0083$ ). При рецидивах неудач имплантации и «тонким» эндометрием экспрессия генов IL-15 была значительно снижена по сравнению с пациентками с рецидивами потери беременности ( $\log_2$ -кратное изменение = 0,92,  $p = 0,023$  для IL-15).

4. По нашим результатам исследования принадлежность к группе с толщиной эндометрия  $< 5$  мм ассоциировалась с более низкой вероятностью наступления беременности (OR=0,595, 95% ДИ [0,524-0,676]) по сравнению с группой 3 с толщиной эндометрия  $> 7$  мм. Принадлежность к группе с толщиной  $\geq 5$  и  $\leq 7$  мм эндометрия ассоциировалась с более низкой вероятностью наступления беременности (OR=0,670, 95% ДИ [0,591-0,761]) по сравнению с группой 3 с толщиной эндометрия  $> 7$  мм. По итогам реализации данного методологического подхода в финальную версию прогностического алгоритма были включены 2 маркера: «снижении экспрессия CXCL1 ( $p = 0,005$ ) и C4BPA ( $p = 0,03$ ) генов эндометрия», «уровень экспрессии IL-15». Суммарное количество клинических наблюдений, вошедших в анализ, составило 53 случаев. Основываясь на совокупности статистически значимых маркеров факторов риска репродуктивных потерь и экспрессии выбранных генов биоптата

эндометрия в период «имплантационного окна», был разработан алгоритм, позволяющий прогнозировать вероятность успешной имплантации в циклах экстракорпорального оплодотворения с переносом эмбрионов.

### Практические рекомендации

- Современная тактика ведения пациенток с бесплодием, ассоциированным с тонким эндометрием и неудачами имплантации в анамнезе, должна быть персонифицирована на основании их пошаговой стратификации в отношении риска неудач имплантации.

- Оптимизировать прегравидарную подготовку женщин с репродуктивными потерями в анамнезе, являющихся группой риска по развитию невынашивания, плацентарной дисфункции и гипоксии плода путем введения обязательного перечня обследования супружеских пар.

- Классифицировать женщин с «тонким» эндометрием по рискам с целью информирования о более низких шансах на зачатие, а в случае зачатия - о повышенном риске спонтанного аборта и внематочной беременности.

- У пациенток с неудачами имплантации полученного биоптата при гистероскопическом исследовании параллельно с гистологическим исследованием, необходимо проводить анализ молекулярных маркеров, что является основой для персонализированного подхода к определению тактики ведения пациента.

- Для уточнения степени риска неудач имплантации пациенткам с бесплодием, ассоциированным с тонким эндометрием, и неудачами имплантации в анамнезе в период «имплантационного окна» целесообразно выполнять пайпель-биопсию эндометрия с целью оценки экспрессии выбранных генов C4BPA, IL15, CXCL1.

- Для повышения эффективности программ ЭКО разработанный алгоритм ведения пациенток с репродуктивными потерями в анамнезе на основании клинико-инструментальных данных и транскриптомного анализа биоптата эндометрия может быть применен в на уровне ПМСП и специализированных ЭКО клиниках, и используется в Научном центре акушерстве гинекологии и перинатологии в качестве инструмента на этапе прегравидарной подготовки.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Ferraretti A. P., La Marca A., Fauser B. C. J. M., Tarlatzis B., Nargund G., Gianaroli L. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria // *Hum. Reprod.* - 2011. - Vol. 26, № 7.- P. 1616–1624. doi: 10.1093/humrep/der092.
- 2 Gellersen B., Brosens J. J. Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure // *Endocr. Rev.* - 2014. - Vol. 35, № 6.- P. 851–905. doi: 10.1210/er.2014-1045.
- 3 Mahajan N., Sharma S. The endometrium in assisted reproductive technology: How thin is thin? // *Hum. Reprod. Sci.* - 2016. - Vol. 9, №1.- P. 3–8. doi: 10.4103/0974-1208.178632.
- 4 Yuan X., Saravelos S. H., Wang Q., Xu Y., Li T. C., Zhou C. Endometrial thickness as a predictor of pregnancy outcomes in 10787 fresh IVF–ICSI cycles // *Reprod. Biomed. Online.*- 2016. - Vol. 33, № 2. doi: 10.1016/j.rbmo.2016.05.002.
- 5 Edwards R. G. Human implantation: The last barrier in assisted reproduction technologies? // *Reprod. Biomed. Online.* - 2006. - Vol.13, №6.-P. 887–904. doi: 10.1016/S1472-6483(10)61039-5.
- 6 Краснопольская К.В., Назаренко Т.А., Ершова И.Ю. Современные подходы к оценке рецептивности эндометрия (обзор литературы) // *Проблемы репродукции.* - 2016. - Vol. 22, № 5.- P. 61. doi: 10.17116/repro201622561-69.
- 7 Kasius A. Endometrial thickness , pregnancy rates after IVF: A systematic review , meta-analysis // *Hum. Reprod. Update.* - 2014. - Vol. 20, № 4.- P.530–541. doi: 10.1093/humupd/dmu011.
- 8 Khan M.S., Shaikh A., Ratnani R. Ultrasonography , Doppler Study to Predict Uterine Receptivity in Infertile Patients Undergoing Embryo Transfer // *J. Obstet. Gynecol. India.* - 2016. - Vol. 66, №1.- P.377–382. doi: 10.1007/s13224-015-0742-5.
- 9 Zhang T. Endometrial thickness as a predictor of the reproductive outcomes in fresh , frozen embryo transfer cycles: A retrospective cohort study of 1512 IVF cycles with morphologically good-quality blastocyst // *Medicine (Baltimore).* - 2018. - Vol. 97, № 4. doi: 10.1097/MD.00000000000009689.
- 10 Ribeiro V.C. Should we continue to measure endometrial thickness in modern-day medicine? The effect on live birth rates and birth weight // *Reprod. Biomed. Online.* - 2018. - Vol. 36, № 4.- P.416–426. doi: 10.1016/j.rbmo.2017.12.016.
- 11 Danhof N. A. Endometrial thickness as a biomarker for ongoing pregnancy in IUI for unexplained subfertility: a secondary analysis // *Hum. Reprod. Open.* - 2020. - Vol. 2020. № 1. -P. 1–6. doi: 10.1093/hropen/hoz024.
- 12 Albayrak İ. G. Endometrial gene expression profiling of recurrent implantation failure after in vitro fertilization // *Mol. Biol. Rep.* - 2021. -Vol. 48, №6. - P.5075–5082. doi: 10.1007/s11033-021-06502-x.
- 13 Seshadri S., K. S. Sunkara Natural killer cells in female infertility , recurrent miscarriage: A systematic review , meta-analysis // *Hum. Reprod. Update.* -

2014. - Vol. 20, № 3- P.429–438. doi: 10.1093/humupd/dmt056.

14 Goodman C., Jeyendran R. S., Coulam C. B. Vascular endothelial growth factor gene polymorphism and implantation failure // *Reprod. Biomed. Online*, - 2008. - Vol. 16, №5.- P. 720–723. doi: 10.1016/S1472-6483(10)60487-7.

15 Díaz-Gimeno P. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature // *Fertil. Steril.* - 2011. - Vol. 95, №1.- P.50–60.

16 Оплодотворения П.Э. Факторы риска и профилактика ранних потерь беременности.- 2016. - С. 88–94.

17 Bushmeleva N.N., Vakhrusheva Y.N. Etiopathogenetic Aspect of Early Reproductive Loss Within the Framework of Improving Organization of Care Delivery To Women (Analytical Review) // *Soc. Asp. Popul. Heal.* - 2020. - Vol. 66, №5. - 6 p. doi: 10.21045/2071-5021-2020-66-5-6.

18 Локшин В.Н. Вспомогательные репродуктивные технологии в Казахстане за 2019 год // *Reprod.*- 2022. - Т.3, №3(52). - P.7–14. doi: 10.37800/rm.3.2022.7-14.

19 Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан. Об утверждении правил и условий проведения вспомогательных репродуктивных методов и технологий: утв. 15 декабря 2020 года, № ҚР ДСМ-272/2020. <https://adilet.zan.kz/rus/docs/V2100023144>

20 Курманова А.М., Мамедалиева Н.М., Мошкалова Г.Н., Салимбаева Д.Н., Арипова Р.С., Анартаева Г.Ж. Мониторинг качества вспомогательных репродуктивных технологий в системе обязательного социального медицинского страхования // *Научно — Практический Журнал Фтизиопульмонология.* - 2024. - № 2 - С.74–81. doi: 10.26212/2227-1937.2024.72.69.010.

21 Самойлович Я.А. Особенности ВРТ при бесплодии, ассоциированном с патологией матки и эндометрия // *Репродуктивная медицина.* - 2018. - Т. 3, № 36. - С.27–37.

22 Lessey B.A., Young S. L. What exactly is endometrial receptivity? // *Fertil. Steril.* - 2019. - Vol. 111, №4. - P.611–617. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.02.009.

23 Milki A.A., Lathi R.B. Karyotype of miscarriages in relation to maternal weight // *Hum. Reprod.* - 2010. - Vol. 25, № 5- P.1123–1126. doi:10.1093/humrep/deq025.

24 Боровкова Е.И., Мартынова И.В. Самопроизвольный выкидыш: состояние изучение вопроса. - 2014. - С. 52–56.

25 Волков В.Г., Ахильгова З.С. Факторы риска ранних потерь беременности. - 2020. - Vol. 5- P.66–72. doi: 10.24411/2075-4094-2020-16597.

26 Vitzthum V. J., Spielvogel H., Thornburg J., West B. A prospective study of early pregnancy loss in humans // *Fertil. Steril.* - 2006. - Vol. 86, №2.- P.373–379. doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.01.021.

27 Zargar M., Razmkhah N., Nikbakht R. Evaluating the factors associated with pregnancy loss in pregnant women undergoing assisted reproductive techniques

// Middle East Fertil. Soc. J. - 2018. - Vol. 23, №4.- P.342–345. doi: 10.1016/j.mefs.2018.04.009.

28 Farquharson R.G., Jauniaux E., Exalto N. Updated, revised nomenclature for description of early pregnancy events // *Hum. Reprod.*, Vol. 20, № 11- P.3008–3011, 2005, doi: 10.1093/humrep/dei167.

29 Magnus M. C., Wilcox A. J., Morken N. H., Weinberg C. R., Håberg S.E. Role of maternal age , pregnancy history in risk of miscarriage: Prospective register based study // *BMJ.* - 2019. - Vol. 364. - P.1–8. doi: 10.1136/bmj.l869.

30 Nagaoka S.I., Hassold T.J., Hunt P.A. Human aneuploidy: Mechanisms, new insights into an age-old problem // *Nat. Rev. Genet.* - 2012. - Vol. 13, № 7.- P.493–504. doi: 10.1038/nrg3245.

31 Tersoglio A.E. Regenerative therapy by endometrial mesenchymal stem cells in thin endometrium with repeated implantation failure. A novel strategy // *J. Bras. Reprod. Assist.* - 2020. - Vol. 24, № 2. - P.118–127. doi: 10.5935/1518-0557.20190061.

32 Li Y. Evaluation of peripheral, uterine immune status of chronic endometritis in patients with recurrent reproductive failure // *Fertil. Steril.* - 2020. - Vol. 113, № 1.- P.187-196. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.09.001.

33 Coomarasamy A. Micronized vaginal progesterone to prevent miscarriage: a critical evaluation of randomized evidence // *Am. J. Obstet. Gynecol.* - 2020. - Vol. 223, № 2.- P.167–176. doi: 10.1016/j.ajog.2019.12.006.

34 Ruiz-Alonso M., Valbuena D., Gomez C., Cuzzi J., Simon C. Endometrial Receptivity Analysis (ERA): data versus opinions // *Hum. Reprod. Open.* - 2021. - Vol. 2021, № 2.- P.1–11. doi: 10.1093/hropen/hoab011.

35 Ticconi C., Pietropolli A., Di Simone N., Piccione E., Fazleabas A., Endometrial immune dysfunction in recurrent pregnancy loss // *Int. J. Mol. Sci.* - 2019. - Vol. 20, № 21. - 15 p. doi: 10.3390/ijms20215332.

36 Larsen E. C., Christiansen O. B., Kolte A. M., Macklon N. New insights into mechanisms behind miscarriage // *BMC Med.* - 2013. - Vol. 11, № 1. doi: 10.1186/1741-7015-11-154.

37 Радзинский В. Е., Маклецова С. А., Алеев И. А., Руднева О. Д., Рябинкина Т.С. Неразвивающаяся беременность. методические рекомендации марс (Междисциплинарной ассоциации специалистов репродуктивной медицины). - 2015.

38 Liu K. E., Hartman M., Hartman A., Luo Z.-C., Mahutte N. The impact of a thin endometrial lining on fresh , frozen–thaw IVF outcomes: an analysis of over 40 000 embryo transfers // *Hum. Reprod.* - 2018. - Vol. 33, № 10- P.1883–1888.

39 Gao G., Cui X., Li S., Ding P., Zhang S., Zhang Y. Endometrial thickness, IVF cycle outcomes: a meta-analysis // *Reprod. Biomed. Online.* - 2020. - Vol. 40, № 1- P.124–133. doi: 10.1016/j.rbmo.2019.09.005.

40 Homminga I., Hoek A. Thin endometrial lining : is it more prevalent in patients utilizing preimplantation genetic testing for monogenic disease ( PGT-M ) , related to prior hormonal contraceptive use ?. - 2022. - P. 1–10.

41 Zhao J., Zhang Q., Wang Y., Li Y. Endometrial pattern, thickness ,

growth in predicting pregnancy outcome following 3319 IVF cycle // *Reprod. Biomed. Online.* - 2014. - Vol. 29, № 3. - P.291–298. doi:10.1016/j.rbmo.2014.05.011.

42 Miwa I., Tamura H., Takasaki A., Yamagata Y., Shimamura K., Sugino N. Pathophysiologic features of ‘thin’ endometrium // *Fertil. Steril.* - 2009. - Vol. 91, № 4. - P.998–1004. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.01.029.

43 Gao M. Abnormal expression of estrogen receptor is associated with thin endometrium // *Gynecol. Endocrinol.* - 2019. - Vol. 35, №6. - P.544–547. doi: 10.1080/09513590.2018.1554035.

44 Shang Y., Wu M., He R., Ye Y., Sun X. Administration of growth hormone improves endometrial function in women undergoing in vitro fertilization: a systematic review , meta-analysis // *Hum. Reprod. Update.* - 2022. - Vol. 28, № 6. - P.838–857. doi: 10.1093/humupd/dmac028.

45 Lédée N. Endometrial vascularity by three-dimensional power Doppler ultrasound , cytokines: a complementary approach to assess uterine receptivity // *J. Reprod. Immunol.* - 2008. - Vol. 77, №1. - P.57–68. doi: 10.1016/j.jri.2007.07.006.

46 Mahutte N., Hartman M., Meng L., Lanes A., Luo Z.C., Liu K.E. Optimal endometrial thickness in fresh , frozen-thaw in vitro fertilization cycles: an analysis of live birth rates from 96,000 autologous embryo transfers // *Fertil. Steril.* - 2022. - Vol. 117, № 4. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.12.025.

47 Kim H., Shin J.E., Koo H.S., Kwon H., Choi D.H., Kim J.H., Effect of autologous platelet-rich plasma treatment on refractory thin endometrium during the frozen embryo transfer cycle: A pilot study // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* - 2019. - Vol. 10, № 2. - P.1–9. doi: 10.3389/fendo.2019.00061.

48 Мошкалова Г.Н., Анартаева Г.Ж., Курманова А.М., Мамедалиева Н.М., Салкенова А.А., Сейітқазы Д.Е. Оценка рецептивности эндометрия // *Современные подходы (обзор).* - 2019. - С. 43–49. doi:10.53065/kaznmu.2022.48.53.006

49 Paulson R.J. Introduction: Endometrial receptivity: evaluation, induction , inhibition // *Fertil. Steril.* - 2019. - Vol. 111, №4. - P.609–610. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.02.029.

50 Zhang T. Endometrial thickness as a predictor of the reproductive outcomes in fresh , frozen embryo transfer cycles: A retrospective cohort study of 1512 IVF cycles with morphologically good-quality blastocyst // *Medicine (Baltimore).* - 2018. - Vol. 97, № 4. doi: 10.1097/MD.00000000000009689.

51 Sharma S., Rani G., Bose G., Saha I., Bathwal S., Chakravarty B. Tamoxifen is better than low-dose clomiphene or gonadotropins in women with thin endometrium (<7 mm) after clomiphene in intrauterine insemination cycles: A prospective study // *J. Hum. Reprod. Sci.* - 2018. - Vol. 11, №1. - P.34–39. doi: 10.4103/jhrs.JHRS\_9\_17.

52 Song J., Sun X., Qian K. Endometrial but not Ovarian Response is Associated With Clinical Outcomes , can be Improved by Prolonged Pituitary Downregulation in Patients With Thin , Medium Endometrium // *Reprod. Sci.* - 2019. -

Vol. 26, № 11.- P.1409–1416.doi: 10.1177/1933719118816835.

53 Dimitriadis E., Menkhorst E., Saito S., Kutteh W. H., Brosens J.J., “Recurrent pregnancy loss // *Nat. Rev. Dis. Prim.* - 2020. - Vol. 6, № 1. doi: 10.1038/s41572-020-00228-z.

54 Kunicki M., Łukaszuk K., Liss J., Skowrońska P., Szczyptańska J., Granulocyte colony stimulating factor treatment of resistant thin endometrium in women with frozen-thawed blastocyst transfer // *Syst. Biol. Reprod. Med.*- 2017.- Vol. 63, №1.- P.49–57. doi: 10.1080/19396368.2016.1251505.

55 Bu Z., Wang K., Dai W., Sun Y. Endometrial thickness significantly affects clinical pregnancy , live birth rates in frozen-thawed embryo transfer cycles // *Gynecol. Endocrinol.* - 2016. - Vol. 32, №7. - P.524–528. doi: 10.3109/09513590.2015.1136616.

56 Bosch E. ESHRE guideline: ovarian stimulation for IVF/ICSI† // *Hum. Reprod. Open.* - 2020. - Vol. 2020, № 2- P.1–13. doi: 10.1093/hropen/hoaa009.

57 Lédée N. Endometrial vascularity by three-dimensional power Doppler ultrasound , cytokines: a complementary approach to assess uterine receptivity // *J. Reprod. Immunol.* - 2008. -Vol. 77, № 1.- P.57–62.

58 Zhang J. Effect of endometrial thickness on birthweight in frozen embryo transfer cycles: an analysis including 6181 singleton newborns // *Hum. Reprod.* - 2019. - Vol. 34, № 9.- P.1707–1715.

59 Ke H., Jiang J., Xia M., Tang R., Qin Y., Chen Z.-J. The Effect of Tamoxifen on Thin Endometrium in Patients Undergoing Frozen—Thawed Embryo Transfer // *Reprod. Sci.* - 2018. - Vol. 25- P.861–866.

60 Yuan X., Saravelos S. H., Wang Q., Xu Y., Li T.-C., Zhou C. Endometrial thickness as a predictor of pregnancy outcomes in 10787 fresh IVF–ICSI cycles // *Reprod. Biomed. Online.* - 2016. - Vol. 33, № 2.- P.197–205.

61 Balassiano E., Malik S., Vaid P., Knochenhauer E. S., Traub M.L. The presence of multiple gestational sacs confers a higher live birth rate in women with infertility who achieve a positive pregnancy test after fresh , frozen embryo transfer: a retrospective local cohort // *Reprod. Biol. Endocrinol.*- 2014. - Vol.12.- P.1–6.

62 Fang R., Cai L., Xiong F., Chen J., Yang W., Zhao X. The effect of endometrial thickness on the day of hCG administration on pregnancy outcome in the first fresh IVF/ICSI cycle // *Gynecol. Endocrinol.* - 2016. - Vol. 32, №6.- P.473–476. doi: 10.3109/09513590.2015.1132304.

63 Jimenez P. T., Schon S. B., Odem R. R., Ratts V. S., Jungheim E.S., A retrospective cross-sectional study: fresh cycle endometrial thickness is a sensitive predictor of inadequate endometrial thickness in frozen embryo transfer cycles // *Reprod. Biol. Endocrinol.* - 2013. - Vol. 11, №1.- P.1–5.

64 Tulandi T., Al-Shahrani A. Adhesion prevention in gynecologic surgery // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* - 2005. - Vol. 17, № 4.- P.395–398.

65 Dastgiri S., Yoosefian M., Garjani M., Kalankesh L. Induced Abortion: a Systematic Review , Meta-analysis // *Mater. Socio Medica.* - 2017. - Vol. 29, № 1. - 58 p. doi: 10.5455/msm.2017.29.58-67.

66 Dain L., Bider D., Levron J., Zinchenko V., Westler S., Dirnfeld M. Thin

- endometrium in donor oocyte recipients: enigma or obstacle for implantation? // *Fertil. Steril.* - 2013. - Vol. 100, № 5. - P.1289–1295. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.07.1966.
- 67 Achache H., Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation // *Hum. Reprod. Update.* - 2006. - Vol. 12, №6. - P.731–746. doi: 10.1093/humupd/dml004.
- 68 Moshkalova G. Endometrial thickness , live birth rates after IVF: a systematic review // *Acta Biomed.* - 2023. - Vol. 94, №3. doi: 10.23750/abm.v94i3.14437.
- 69 Zhang X. Single-cell transcriptome analysis uncovers the molecular , cellular characteristics of thin endometrium // *FASEB J.* - 2022. - Vol. 36, №3.- P.1–16. doi: 10.1096/fj.202101579R.
- 70 Massimiani M., Lacconi V., La Civita F., Ticconi C., Rago R., Campagnolo L. Molecular signaling regulating endometrium–blastocyst crosstalk // *Int. J. Mol. Sci.* - 2020. - Vol. 21, № 1. doi: 10.3390/ijms21010023.
- 71 Kelleher A.M., Demayo F.J., Spencer T.E. Uterine Gl,s: Developmental Biology , Functional Roles in Pregnancy // *Endocr. Rev.* - 2019. -Vol. 40, №5.- P.1424–1445. doi: 10.1210/er.2018-00281.
- 72 Gnainsky Y. Biopsy-induced inflammatory conditions improve endometrial receptivity: The mechanism of action // *Reproduction.* - 2015. - Vol. 149, № 1.- P.75–85. doi: 10.1530/REP-14-0395.
- 73 Melkozerova O. A., Bashmakova N. V., Malgina G.B., Bragina E. E., Michelson A.A., Chistyakova G.N. Ultrastructural markers of tissue endometrial receptivity in patients with recurrent implantation failure // *Gynecol. Endocrinol.* - 2019. - Vol. 35, № 1.- P.45–48. doi: 10.1080/09513590.2019.1653562.
- 74 Demiral Keleş I. Comparison of endometrial prostanoid profiles in three infertile subgroups: the missing part of receptivity? // *Fertil. Steril.* - 2020.- Vol. 113, № 3- P.670-678. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.10.017.
- 75 Kibanov M. V., Makhmudova G. M., Gokhberg Y.A. In search for an ideal marker of endometrial receptivity: from histology to comprehensive molecular genetics-based approaches // *Alm. Clin. Med.* - 2019. - Vol. 47, №1.- P.12–25. doi: 10.18786/2072-0505-2019-47-005.
- 76 Achache H., Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation // *Hum. Reprod. Update.* - 2006. - Vol. 12, №6.- P.731–746.
- 77 S Bhagwat S.R. Endometrial Receptivity: A Revisit to Functional Genomics Studies on Human Endometrium and Creation of HGEx-ERdb // *PLoS One.* - 2013. - Vol. 8, № 3. doi: 10.1371/journal.pone.0058419.
- 78 Bi Zhang W. Transcriptomic analysis of endometrial receptivity for a genomic diagnostics model of Chinese women // *Fertil. Steril.* - 2021. - Vol. 116, № 1- P.157–164. doi: 10.1016/j.fertnstert.2020.11.010.
- 79 Maekawa R. Thin endometrium transcriptome analysis reveals a potential mechanism of implantation failure // *Reprod. Med. Biol.*- 2017. - Vol. 16, № 2- P.206–227. doi: 10.1002/rmb2.12030.

- 80 Jiang N. X., Li X.L. The Disorders of Endometrial Receptivity in PCOS , Its Mechanisms // *Reprod. Sci.* - 2022.- Vol. 29, № 9- P.2465–2476. doi: 10.1007/s43032-021-00629-9.
- 81 Boeing S. Multiomic Analysis of the UV-Induced DNA Damage Response // *Cell Rep.*- 2016. - Vol. 15, №7. - P.1597–1610. doi: 10.1016/j.celrep.2016.04.047.
- 82 Mair F. A Targeted Multi-omic Analysis Approach Measures Protein Expression , Low-Abundance Transcripts on the Single-Cell Level // *Cell Rep.*, Vol. 31, № 1. - 107499 p. doi: 10.1016/j.celrep.2020.03.063.
- 83 Saha S., Matthews D. A., Bessant C. High throughput discovery of protein variants using proteomics informed by transcriptomics // *Nucleic Acids Res.* - 2018. - Vol. 46, № 10. - P.4893–4902. doi: 10.1093/nar/gky295.
- 84 Cervantes-Gracia K., Chahwan R., Husi H., Integrative OMICS Data-Driven Procedure Using a Derivatized Meta-Analysis Approach // *Front. Genet.*- 2022. - Vol. 13, №2- P.1–17. doi: 10.3389/fgene.2022.828786.
- 85 Stepanjuk A. MUC20 expression marks the receptive phase of the human endometrium // *Reprod. Biomed. Online.* - 2019. - Vol. 39, №5.- P.725–736. doi: 10.1016/j.rbmo.2019.05.004.
- 86 Hu S. Transcriptomic changes during the pre-receptive to receptive transition in human endometrium detected by RNA-Seq // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*- 2014.- Vol. 99, № 12- P.2744–2753. doi: 10.1210/jc.2014-2155.
- 87 Title: An update on the progress of transcriptomic profiles of human endometrial receptivity Running title // *Transcriptomics and endometrial receptivity.* - 2018. - №1. doi: 10.1093/biolre/iy018/4819284.
- 88 Carson D. D. Changes in gene expression during the early to mid-luteal (receptive phase) transition in human endometrium detected by high-density microarray screening // *Mol. Hum. Reprod.* - 2002. - Vol. 8, №9.- P.871–879. doi: 10.1093/molehr/8.9.871.
- 89 Messaoudi S. 15 Years of Transcriptomic Analysis on Endometrial Receptivity: What Have We Learnt? // *Fertil. Res. Pract.*- 2019.- Vol. 5, №1.- P.1–9. doi: 10.1186/s40738-019-0059-7.
- 90 Enciso M. Development of a new comprehensive , reliable endometrial receptivity map (ER Map/ER Grade) based on RT-qPCR gene expression analysis // *Hum. Reprod.* - 2018.- Vol. 33, № 2.- P.220–228. doi: 10.1093/humrep/dex370.
- 91 Maziotis E. Commercially Available Molecular Approaches to Evaluate Endometrial Receptivity: A Systematic Review and Critical Analysis of the Literature // *Diagnostics.* - 2022. - Vol. 12, №11. doi: 10.3390/diagnostics12112611.
- 92 Sigurgeirsson B. Comprehensive RNA sequencing of healthy human endometrium at two time points of the menstrual cycle // *Biol. Reprod.* - 2017. - Vol. 96, №1. - P.24–33. doi: 10.1095/biolreprod.116.142547.
- 93 Tapia A. Differences in the endometrial transcript profile during the receptive period between women who were refractory to implantation , those who achieved pregnancy // *Hum. Reprod.* - 2008. - Vol. 23, № 2.- P.340–351. doi: 10.1093/humrep/dem319.

- 94 Li F., Gao W., Li Y., Wang Y., Liu L., Zhang X. Potential Biomarkers, Endometrial Immune Microenvironment in Recurrent Implantation Failure // *Biomolecules*. - 2023.- Vol. 13, № 3. doi: 10.3390/biom13030406.
- 95 Altmäe S. Meta-signature of human endometrial receptivity: A meta-analysis , validation study of transcriptomic biomarkers // *Sci. Rep.*- 2017. -Vol. 7, №1.- P.1–15. doi: 10.1038/s41598-017-10098-3.
- 96 Herington J. L., Guo Y., Reese J., Paria B.C. Gene profiling the window of implantation: Microarray analyses from human , rodent models // *J. Reprod. Heal. Med.* - 2016. - Vol. 2 - P.19–25. doi: 10.1016/j.jrh.2016.11.006.
- 97 Murata H. The transcription factor H,2 up-regulates transcription of the IL15 gene in human endometrial stromal cells // *J. Biol. Chem.*- 2020. - Vol. 295, №28. - P.9596–9605. doi: 10.1074/jbc.ra120.012753.
- 98 Li X., Kumar A., Zhang F., Lee C., Tang Z. Complicated life, complicated VEGF-B // *Trends Mol. Med.* - 2012. - Vol. 18, №2. - P.119–127. doi: 10.1016/j.molmed.2011.11.006.
- 99 Lv H. Deciphering the endometrial niche of human thin endometrium at single-cell resolution // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* - 2022. - Vol. 119, №8.- P.1–11. doi: 10.1073/pnas.2115912119.
- 100 Harrity C., Shkrobot L., Walsh D., Marron K. ART implantation failure , miscarriage in patients with elevated intracellular cytokine ratios: response to immune support therapy // *Fertil. Res. Pract.* - 2018. - Vol. 4, №1.- P.1–9. doi: 10.1186/s40738-018-0052-6.
- 101 Azizi R., Aghebati-Maleki L., Nouri M., Marofi F., Negargar S., Yousefi M. Stem cell therapy in Asherman syndrome and thin endometrium: Stem cell- based therapy // *Biomed. Pharmacother.*- 2018. - Vol. 102, №3. - P.333–343. doi: 10.1016/j.biopha.2018.03.091.
- 102 Xu L., Fan Y., Wang J., Shi R. Dysfunctional intercellular communication , metabolic signaling pathways in thin endometrium // *Front. Physiol.* - 2022. - Vol. 13, №11.- P.1–12. doi: 10.3389/fphys.2022.1050690.
- 103 Lédée N. New pre-conception immune biomarkers for clinical practice: Interleukin-18, interleukin-15 , TWEAK on the endometrial side, G-CSF on the follicular side // *J. Reprod. Immunol.* - 2011. - Vol. 88, № 2.- P.118–123. doi: 10.1016/j.jri.2011.01.007.
- 104 Kurmanova G. Altered Expression of C4BPA , CXCL1 Genes in the Endometrium of Patients with Recurrent Implantation Failure after In Vitro Fertilization , Thin Endometrium // *Diagnostics*. - 2024. - Vol. 14, № 17. - 1967 p. 2024. doi: 10.3390/diagnostics14171967.
- 105 Yurci A., Dokuzeylül N.G., Gurbuz T. High Endometrial Thickness Does not Affect IVF/ICSI Outcomes // *Eur. J. Ther.* - 2021. - Vol. 27, № 1.- P.94–98. doi: 10.5152/eurjther.2021.20102.
- 106 V Ribeiro V.C. Should we continue to measure endometrial thickness in modern-day medicine? The effect on live birth rates and birth weight // *Reprod. Biomed. Online*. - 2018. - Vol. 36, № 4.- P.416–426.
- 107 Simeonov M. The entire range of trigger-day endometrial thickness in

fresh IVF cycles is independently correlated with live birth rate // *Reprod. Biomed. Online.* - 2020. - Vol. 41, № 2.- P.239–24.

108 Von Wolff M. Thin endometrium is also associated with lower clinical pregnancy rate in unstimulated menstrual cycles: a study based on natural cycle IVF // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* - 2018. - Vol. 9. - 776 p.

109 Russell S.J., Kwok Y.S.S., Nguyen T.T.-T.N., Librach C. Autologous platelet-rich plasma improves the endometrial thickness , live birth rate in patients with recurrent implantation failure and thin endometrium // *J. Assist. Reprod. Genet.* - 2022. - Vol. 39, №6. - P.1305–1312.

110 Dogra Y., Singh N., Vanamail P. Autologous platelet-rich plasma optimizes endometrial thickness , pregnancy outcomes in women with refractory thin endometrium of varied aetiology during fresh , frozen-thawed embryo transfer cycles // *JBRA Assist. Reprod.* - 2022. - Vol. 26, №1. - 13 p.

111 Königshoff M. WNT1-inducible signaling protein-1 mediates pulmonary fibrosis in mice , is upregulated in humans with idiopathic pulmonary fibrosis // *J. Clin. Invest.* - 2009. - Vol. 119, №4. - P.772–787. doi: 10.1172/JCI33950.

112 Goksuluk D., Korkmaz S., Zararsiz G., Karaagaoglu A.E. EasyROC: An interactive web-tool for roc curve analysis using r language environment // *R J.* - 2016. - Vol. 8, №2. - P.213–230. doi: 10.32614/rj-2016-042.

113 Muller M. P. Can routine laboratory tests discriminate between severe acute respiratory syndrome , other causes of community-acquired pneumonia?,” *Clin. Infect. Dis.* - 2005. - Vol. 40, №8. - P.1079–1086. doi: 10.1086/428577.

114 Xu B., Zhang Q., Hao J., Xu D., Li Y. Two protocols to treat thin endometrium with granulocyte colony-stimulating factor during frozen embryo transfer cycles // *Reprod. Biomed. Online.* - 2015.- Vol. 30, №4.- P.349–358. doi: 10.1016/j.rbmo.2014.12.006.

115 Zheng X. Effect of repeated cryopreservation on human embryo developmental potential // *Reprod. Biomed. Online.* - 2017. - Vol. 35, №6.- P.627–632. doi: 10.1016/j.rbmo.2017.08.016.

116 Ke H., Jiang J., Xia M., Tang R., Qin Y., Chen Z. J. The Effect of Tamoxifen on Thin Endometrium in Patients Undergoing Frozen–Thawed Embryo Transfer // *Reprod. Sci.* - 2018. - Vol. 25, №6. - P.861–866. doi: 10.1177/1933719117698580.

117 Bu Z., Hu L., Yang X., Sun Y. Cumulative live birth rate in patients with thin endometrium: a real-world single-center experience // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* - 2020. - Vol. 11. - 469 p.

118 Guo Z., Chu R., Zhang L., Yu Q., Yan L., Ma J. Fresh versus frozen embryo transfer in women with thin endometrium: a retrospective cohort study // *Ann. Transl. Med.* - 2020. - Vol. 8, № 21.

119 Mao X. Therapeutic role of granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) in patients with persistent thin endometrium: A prospective , romized study // *Int. J. Gynecol. Obstet.* - 2020. - Vol. 150, №2.- P.194–199.

120 Simeonov M. The entire range of trigger-day endometrial thickness in

- fresh IVF cycles is independently correlated with live birth rate // *Reprod. Biomed. Online.* - 2020. - Vol.41, № 2- P.239–247. doi: 10.1016/j.rbmo.2020.04.008.
- 121 Song J., Duan C., Cai W., Wu W., Lv H., Xu J. Comparison of gnrh-a prolonged protocol and short gnrh-a long protocol in patients with thin endometrium for assisted reproduction: A retrospective cohort study // *Drug Des. Devel. Ther.* 2020. - Vol. 14. - P.3673–3682. doi: 10.2147/DDDT.S270519.
- 122 Tersoglio A. E. Regenerative therapy by endometrial mesenchymal stem cells in thin endometrium with repeated implantation failure. A novel strategy // *JBRA Assist. Reprod.* - 2020. -Vol. 24, № 2. - 118 p.
- 123 Russell S.J., Kwok Y.S.S., Nguyen T.T.T.N., Librach C. Autologous platelet-rich plasma improves the endometrial thickness , live birth rate in patients with recurrent implantation failure , thin endometrium // *J. Assist. Reprod. Genet.* - 2022. - Vol. 39, № 6.- P.1305–1312. doi: 10.1007/s10815-022-02505-0.
- 124 Song J., Sun X., Qian K. Endometrial but not ovarian response is associated with clinical outcomes , can be improved by prolonged pituitary downregulation in patients with thin , medium endometrium // *Reprod. Sci.* - 2019. - Vol. 26. - P.1409–1416.
- 125 Ambati A., Zuo Y., Knight J.S. An update on inflammation in antiphospholipid syndrome // *Curr. Opin. Rheumatol.* - 2023. - Vol. 35, №2.- P.89–97. doi: 10.1097/BOR.0000000000000926.
- 126 Poppe K. Thyroid disorders , in vitro outcomes of assisted reproductive technology: An unfortunate combination? // *Thyroid.* - 2020. - Vol. 30, №8. - P.1177–1185. doi: 10.1089/thy.2019.0567.
- 127 Gullo G., Perino A., Cucinella G. Open vs. closed vitrification system: Which one is safer? // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* - 2022. - Vol.26, №4- P.1065–1067. doi: 10.26355/eurrev\_202202\_28092.
- 128 Gullo G. Cell-Free Fetal DNA , Non-Invasive Prenatal Diagnosis of Chromosomopathies , Pediatric Monogenic Diseases: A Critical Appraisal , Medicolegal Remarks // *J. Pers. Med.* - 2023. - Vol. 13, №1- P.1–18. doi: 10.3390/jpm13010001.
- 129 Du J. The effect of icariin for infertile women with thin endometrium: A protocol for systematic review // *Med. (United States).* - 2020. - Vol. 99, №12. 12, 2020, doi: 10.1097/MD.00000000000019111.
- 130 Zong L. Integrated Transcriptomic Analysis of the miRNA–mRNA Interaction Network in Thin Endometrium // *Front. Genet.* - 2021. - Vol. 12, №3.- P.1–13. doi: 10.3389/fgene.2021.589408.
- 131 Zhu Q. Down-regulation of PBK inhibits proliferation of human endometrial stromal cells in thin endometrium // *Reprod. Biol. Endocrinol.* - 2022. - Vol. 20, №1.- P.1–13. doi: 10.1186/s12958-022-00903-8.
- 132 Bashiri A., Halper K. I., Orvieto R. Recurrent Implantation Failure- update overview on etiology, diagnosis, treatment , future directions // *Reprod. Biol. Endocrinol.* - 2018. - Vol. 16, №1.- P.1–18. doi: 10.1186/s12958-018-0414-2.
- 133 Robertson S. A., Moldenhauer L. M., Green E. S., Care A. S., Hull M. L. Immune determinants of endometrial receptivity: a biological perspective // *Fertil.*



## ПРИЛОЖЕНИЕ А

### Информированное согласие на участие в исследовании

Участник \_\_\_\_\_  
(Ф. и. о.)

Номер протокола исследования: \_\_\_\_\_

Исследовательский центр: Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии (НЦАГиП)

Название исследования: «Патогенетические аспекты нарушения рецептивности эндометрия у пациенток с репродуктивными потерями»

Дата последней экспертизы, проведенной ЛЭК: \_\_\_\_\_

Дата одобрения последних поправок к протоколу исследования: \_\_\_\_\_

#### ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ УЧАСТНИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Мы приглашаем Вас к участию в научном исследовании, проводимому в НЦАГиП

Данное исследование проводится у пациентов, страдающих невынашиванием беременности. Вы имеете возможность принять участие в научном исследовании, посвященном изучению внутренней слизистой оболочки матки при невынашивании беременности, которое позволит определить критерии неправильного функционирования слизистой оболочки матки, тем самым позволит понять причины самопроизвольных выкидышей.

- Участие в этом исследовании является добровольным.
- Вы можете отказаться от участия в исследовании или выйти из него в любое время. В любом случае вам не будет отказано в том, на что Вы имеете право, не будучи участником исследования.
- Возможно, Ваше участие в исследовании не принесёт Вам дополнительной пользы. Однако в результате исследования мы можем получить знания, которые в будущем принесут пользу другим людям.
- У некоторых людей могут быть личные, религиозные или другие взгляды, которые затрудняют участие в исследовании. Если у Вас есть такие взгляды, пожалуйста, обсудите их со своим врачом или другими специалистами до того, как согласиться на участие.

Прежде чем Вы дадите согласие на участие в исследовании, не спеша, обсудите всё с любым сотрудником данной клиники или со своими друзьями, родственниками, лечащим врачом или другими специалистами.

**1. НАЗВАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ:** «Патогенетические аспекты нарушения рецептивности эндометрия у пациенток с репродуктивными потерями»

**2. ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ:** разработать предикторы нарушения рецептивности эндометрия у женщин с репродуктивными потерями на основании изучения иммунологических и эхографических показателей и разработать методические рекомендации по ведению пациенток с репродуктивными потерями.

#### **3. ОПИСАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ:**

- 1) методы исследования – бактериоскопический анализ мазка из влагалища; взятие ткани внутренней оболочки матки с помощью катетера, введенного в матку через шейку матки; исследования лимфоцитов внутреннего слоя матки;
- 2) в зависимости от результата иммунологического исследования будет назначена дифференцированная иммунотерапия;
- 3) процедура исследования: взятие материала проводится методом пайпель-биопсии без обезболивания: через шейку матки в полость матки вставляется катетер, вливается солевой раствор в объеме 10 мл, остаточный солевой раствор отсасывают с помощью шприца, образцы ткани из шприца переносят в пробирку для дальнейшего исследования (продолжительность – 5-10 мин);
- 4) данные и образцы тканей организма будут сохраняться для будущих целей;
- 5) Вы должны дать согласие на использование Ваших данных в будущем;
- 6) Ваши обязанности: поставить в известность врача обо всех проблемах, связанных со здоровьем, наследственностью, аллергии, непереносимости лекарственных препаратов и продуктов питания, а также о курении табака, употреблении алкоголя или наркотическими препаратами. Перед исследованием: за 1 неделю до обследования не проводите спринцеваний и откажитесь от использования любых средств интимной гигиены; прекратите использование любых лекарств в виде вагинальных свечей, таблеток или спреев.
- 8) УЗИ идоплерометрия сосудов матки на 20-24 день цикла.

9) Продолжительность участия в исследовании – 1 день;

10) Планируемое количество испытуемых в исследовании – 100 (60 – основная группа, 40 – контрольная);

11) участие в исследовании является препятствием для участия в других исследованиях.

**4. УСЛОВИЯ ОПЛАТЫ/ВОЗМОЖНЫЕ РАСХОДЫ:** с Вашей стороны расходы и оплата за участие не предусмотрены.

**5.ПРЕДСКАЗУЕМЫЕ РИСКИ И НЕУДОБСТВА:** В течение нескольких дней после осмотра внутреннего слоя матки возможно появление скудных, кровянистых или слизистых выделений из влагалища. Также возможны незначительные боли в области промежности или внизу живота. Как правило, эти симптомы быстро проходят и не требуют никакого специального лечения. При сильных болях можно принять обезболивающее (например, 1 таблетку ибупрофена).

**6. ОЖИДАЕМАЯ ПОЛЬЗА:** Будут уточнены дополнительные причины невынашивания беременности и, на основании которых будут разработаны рекомендации по дифференцированной иммунокоррекции в комплексе подготовки к беременности у пациенток с невынашиванием беременности.

**7. АЛЬТЕРНАТИВЫ К УЧАСТИЮ В ИССЛЕДОВАНИИ:** Вы имеете право не участвовать в исследовании

**8.ПОЛОЖЕНИЕ О ПРАВАХ УЧАСТНИКОВ:** Участие в данном исследовании является добровольным. Вы можете отказаться от участия в исследовании или прекратить участие в любое время. В любом случае Вам не будет отказано в том, на что Вы имеете право, не будучи участником исследования.

**9.КОНФИДЕНЦИАЛЬНОСТЬ:** Информация о Вашем участии в исследовании является конфиденциальной. Мы гарантируем, что Ваше имя не будет указано при публикации результатов исследования. Информация, полученная в результате этого исследования (материалы исследования), считается конфиденциальной и будет храниться в надлежащих условиях, предусмотренных законом. Однако, эти материалы исследования и Ваша личная медицинская документация могут быть доступны для проверок официальными инстанциями (Министерство здравоохранения), агентством или компанией, спонсирующей это исследование, людьми, которые уполномочены контролировать исследование или этической комиссии НЦАГиПв рамках действующих законов или инструкций.

**10.КОМПЕНСАЦИЯ/ЛЕЧЕНИЕ:** Если Вы полагаете, что получили вред здоровью, связанный с этим исследованием, как участник этого исследования, то Вам следует связаться с Мошкаловой Гаухар Надирбековны, по номеру телефона 87013550107

**11.ДОБРОВОЛЬНОЕ УЧАСТИЕ:** Участие в данном исследовании является добровольным. Вы можете отказаться от участия в исследовании или прекратить участие в любое время. В любом случае Вам не будет отказано в том, на что Вы имеете право, не будучи участником исследования.

**12.ЗАВЕРШЕНИЕ УЧАСТИЯ:** Вы можете прекратить участие в исследовании в любое время без каких-либо отрицательных последствий для Вас. Отказ от участия не отразится никоим образом на отношениях к Вам Вашего врача и медицинских работников и Вам не будет отказано в медицинских услугах, на которые Вы имеете право.

**13.КОНТАКТНЫЕ ЛИЦА:** Если у Вас возникают проблемы или вопросы, касающиеся данного исследования, Ваших прав как участника исследования или вреда от исследования, обратитесь к *Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии, Достык125,*

Вы можете также позвонить тому (той), кто будет представлять Ваши интересы в том, что касается исследования.

#### **СОГЛАСИЕ СОВЕРШЕННОЛЕТНЕГО УЧАСТНИКА**

Я прочла описание данного исследования.

Мне была представлена возможность, обсудить его и задать вопросы.

Настоящим я выражаю свое согласие на участие в данном исследовании.

ФИО совершеннолетнего участника/Законного представителя \_\_\_\_\_

Подпись совершеннолетнего участника/Законного представителя \_\_\_\_\_

Дата \_\_\_\_\_

ФИО свидетеля \_\_\_\_\_

Подпись свидетеля\* \_\_\_\_\_

Дата \_\_\_\_\_

ФИО исследователя \_\_\_\_\_

Подпись исследователя \_\_\_\_\_

Дата \_\_\_\_\_

\*Подпись свидетеля требуется только в случаях, если участник исследования по каким-либо причинам не может прочитать информацию и ему читает другой человек.

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

### Акты внедрения

Утверждаю  
Зам. Председателя Правления  
по клинической деятельности НЦАГП  
Аннбетова Д.Р.  
№ 19 октября 2023 г.

#### Акт внедрения результатов научно-исследовательских, научно-технических работ, (или) результатов научной и (или) научно- технической деятельности

1. Авторы (соавторы) внедрения (ФИО) Курманова А.М. (проф КазНУ им. Аль-Фараби), Мошколова Г.Н., Аваргаева Г.Ж., Халмирзаева М.М. (PhD-докторанты)
2. Наименование научно-исследовательских, научно-технических работ и (или) результатов научной и (или) научно-технической деятельности:

#### Техника забора биоматериала для последующего транскрипционного анализа или CD-фенотипирования

3. **Краткая аннотация:** Работа включена из результатов научно-исследовательской работы Р14870089 «Разработка молекулярной диагностики нарушений репродуктивного здоровья женщин»
4. **Эффект от внедрения** –медико-социальный (обеспечение качества)  
В целях повышения качества результатов лабораторных исследований необходимо соблюдать технику забора и транспортирования биологических материалов в лабораторию для последующего транскрипционного анализа или CD-фенотипирования.
5. **Место и время внедрения:** НЦАГП, 2023 г.
6. **Форма внедрения:** проведение семинара, мастер-класс, методические рекомендации  
В системе менеджмента качества важное значение имеет обеспечение качества лабораторной диагностики. На мастер-классе представлена стандартная операционная процедура (СОП) техники забора эндометрия с помощью катетера Гольдштейна (или зонда аспирационного). Документированная процедура предназначена для использования в организациях, направляющих на исследование локального иммунного статуса (для репродуктологов и кабинетов невынашивания беременности).

Представитель организации,  
в которую внедрена разработка:

Зав. отделением



Айпеисова А.Ж.

Представитель организации,  
из которой исходит внедрение



Мошколова Г.Н.



**Акт внедрения результатов научно-исследовательских,  
научно-технических работ, (или) результатов научной и (или) научно-  
технической деятельности**

1. Авторы (соавторы) внедрения (ФИО) Курманова А.М.(проф КазНУ им. Аль-Фараби), Мошколова Г.Н., Анартаева Г.Ж., Халмирзаева М.М. (PhD-докторанты)
2. Наименование научно-исследовательских, научно-технических работ и (или) результатов научной и (или) научно-технической деятельности:

**Выявление антифосфолипидных антител  
методом мультиплексного лайн-блоттинг Anti-Phospholipid Dot**

3. **Краткая аннотация:** Работа включена из результатов научно-исследовательской работы AP14870089 «Разработка молекулярной диагностики нарушений репродуктивного здоровья женщины»

4. **Эффект от внедрения** – медико-социальный (обеспечение качества)  
Мультиплексный лайн-блоттинг Anti-Phospholipid 10 Dot определяет до 10 антител к фосфолипидам и сывороточным белкам в одном тесте. Результаты измерений оцениваются как слабopоложительный (+), положительный (++) и высокоположительный (+++). Особенностью Лайн-дот метода является высокое сродство фосфолипидов к PVDF-мембране, что обеспечивает взаимодействие гидрофильных участков молекул с белковыми кофакторами, что позволяет одновременно обнаруживать 10 специфических антител и доступно проводить профильную серологическую диагностику АФС.

5. **Место и время внедрения:** ГЦРЧ (стационар) г. Алматы, 2023 г.

6. **Форма внедрения:** проведение семинара, мастер класса, методические рекомендации

Некритериальные антифосфолипидные антитела позволят проводить диагностику АФС, в дальнейшем способствовать разработке прогностических критериев аушерского АФС.

Представитель организации,  
в которую внедрена разработка:

Кошкимбаева Г.Д.

Зав. отделением

Мухаева Г.А.

Представитель организации,  
из которой исходит внедрение

Халмирзаева М.М.  
Мошколова Г.Н.  
Анартаева Г.Ж.



**Акт внедрения результатов научно-исследовательских,  
научно-технических работ, (или) результатов научной и (или) научно-  
технической деятельности**

1. Авторы (соавторы) внедрения (ФИО) Курманова А.М.(проф КазНУ им. Аль-Фараби), Мошколова Г.Н., Апартаева Г.Ж., Халмирзаева М.М. (PhD-докторанты)
2. Наименование научно-исследовательских, научно-технических работ и (или) результатов научной и (или) научно-технической деятельности:

**Выявление антифосфолипидных антител  
методом мультиплексного лайн-блоттинг Anti-Phospholipid Dot**

3. **Краткая аннотация:** Работа включена из результатов научно-исследовательской работы AP14870089 «Разработка молекулярной диагностики нарушений репродуктивного здоровья женщин»

4. **Эффект от внедрения** – медико-социальный (обеспечение качества)  
Мультиплексный лайн-блоттинг Anti-Phospholipid 10 Dot определяет до 10 антител к фосфолипидам и сывороточным белкам в одном тесте. Результаты измерений оцениваются как слабopоложительный (+), положительный (++) и высокоположительный (+++). Особенностью Лайн-дот метода является высокое сродство фосфолипидов к PVDF-мембране, что обеспечивает взаимодействие гидрофильных участков молекул с белковыми кофакторами, что позволяет одновременно обнаруживать 10 специфических антител и доступно проводить профильную серологическую диагностику АФС.

5. **Место и время внедрения:** ЦПЧ (стационар) г. Алматы, 2023 г.

6. **Форма внедрения:** проведение семинара, мастер класса, методические рекомендации

Некритериальные антифосфолипидные антитела позволят проводить диагностику АФС, в дальнейшем способствовать разработке прогностических критериев акушерского АФС.

Представитель организации,  
в которую внедрена разработка:

Кошкимбаева Г.Д.

Зав. отделением

Мухаева Г.А.

Представитель организации,  
из которой исходит внедрение

Халмирзаева М.М.  
Мошколова Г.Н.  
Апартаева Г.Ж.



Утверждаю  
Председатель Правления  
НЦАГП  
Уразбаева Г.Г.

» января 2025г.

**Акт внедрения результатов научно-исследовательских,  
научно-технических работ, (или) результатов научной и (или) научно-  
технической деятельности**

1. Авторы (соавторы) внедрения (ФИО) Курманова А.М.(проф. КазНУ им. Аль-Фараби), Мошколова Г.Н. (PhD-докторант)
2. Наименование научно-исследовательских, научно-технических работ и (или) результатов научной и (или) научно-технической деятельности:

**Алгоритм ведения пациенток с репродуктивными потерями в анамнезе на основании клиничко-инструментальных данных и транскриптомного анализа биоптата эндометрия**

3. **Краткая аннотация:** Алгоритм является фрагментом диссертационной работы «Патогенетические аспекты нарушения рецептивности эндометрия у пациенток с репродуктивными потерями» в рамках НТП Р14870089 «Разработка молекулярной диагностики нарушений репродуктивного здоровья женщин»
4. **Эффект от внедрения** – медико-социальный (обеспечение качества)  
В целях повышения результативность программ ЭКО у женщин с рецидивами неудач имплантации на основании клиничко-инструментальных данных и транскрипционного анализа биоптата эндометрия.
5. **Место и время внедрения:** НЦАГП, 2025 г.
6. **Форма внедрения:** проведение семинара, мастер класса, методические рекомендации
7. Данный алгоритм ведения пациенток с репродуктивными потерями позволяет оптимизировать план ведения пациенток на основании клиничко-инструментальных данных и транскриптомного анализа биоптата эндометрия, что дает возможность повысить эффективность программ ЭКО (для репродуктологов и кабинетов невынашивания беременности).

Представитель организации,  
в которую внедрена разработка:

Зав. отделением  
ЭКО лаборатории

Сарманова Э.Т.

Представитель организации,  
из которой исходит внедрение

Мошколова Г.Н.

# ПРИЛОЖЕНИЕ В

## Авторское свидетельство

КАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ

РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН



**СВИДЕТЕЛЬСТВО**  
О ВНЕСЕНИИ СВЕДЕНИЙ В ГОСУДАРСТВЕННЫЙ РЕЕСТР  
ПРАВ НА ОБЪЕКТЫ, ОХРАНЯЕМЫЕ АВТОРСКИМ ПРАВОМ

№ 52487 от «11» декабря 2024 года

Фамилия, имя, отчество, (если оно указано в документе, удостоверяющем личность) автора (ов):  
МОШКА ЛОВА ГАУХАР НАЛИРБЕКОВНА, Курманова Алмагуль Метесбаевна, Мамельтаски Назгима Мусралиевна, Димбистова Алия Робертовна

Вид объекта авторского права: проектирование литературы

Название объекта: Алгоритм ведения патентов с репродуктивными потерями в анализе на основании кинематографических данных и транскрипционного анализа биометрии

Дата создания объекта: 09.12.2024



Адрес сайта: <http://www.kazpatent.kz>  
"Авторские права" в разделе реестра: <http://copyright.kazpatent.kz>  
Полнота документа возможно проверить на сайте [copyright.kazpatent.kz](http://copyright.kazpatent.kz)  
в разделе «Авторские права» <http://copyright.kazpatent.kz>

Подписано ЭЦП

Г. Амреев