

РЕЗИСТЕНТНИЙ ТОНКИЙ ЕНДОМЕТРІЙ. ЩО РОБИТИ?

ВСТУП

Резистентний тонкий ендометрій – це складний і до кінця не вивчений феномен у сучасній репродуктології. В літературі відсутній загальноприйнятий підхід як до визначення поняття «тонкий ендометрій», так і щодо шляхів вирішення цієї проблеми. Причиною даного феномену може бути ятрогена відповідь на агресію лікування (стимуляцію, в деяких випадках – на кюретаж), але у більшості випадків причини невідомі. Тонкий ендометрій – не стан, не захворювання чи синдром, а свого роду ультразвукова знахідка. Проблема тонкого ендометрію, суть якої полягає у відсутності вагітності при підсадці ембріонів хорошої якості, тісно пов'язана з імплантацією ембріона. За підрахунками спеціалістів, на відсутність імплантації припадає 70% невдач запліднення *in vitro*. Основну роль у процесі імплантації займає рецептивність ендометрію – тобто здатність останнього забезпечити необхідні етапи імплантації: орієнтацію бластоцисти в порожнині матки відносно місця майбутньої імплантації, адгезію на поверхні ендометрію та інвазію.

АНАЛІЗ ЛІТЕРАТУРНИХ ДАНИХ ТА ПОСТАНОВКА ЗАДАЧІ ДОСЛІДЖЕННЯ

За останні роки було запропоновано ряд підходів, спрямованих на збільшення товщини ендометрію у випадку тонкого ендометрію:

- Пролонгована стимуляція естрогенами [1].
- Застосування вагінально віагри – поліпшує кровопостачання та товщину ендометрію, ефективна для поліпшення кровотоку маткових артерій [2].
- Комбінація пентоксиліну з токоферолом [3].
- Травма ендометрію (біопсія, вишкрібання, гістероскопія) збільшує ефективність запліднення *in vitro* [4].
- E.G. Papanikolaou з Салонік та ін. пропонують вводити 150 Од хоріонічного гонадотропіну (ХГ) з 8-го дня прийому естрадіолу до прийому прогестерону [10].
- Група єгипетських вчених пропонує за 15 хв до переносу вводити 500 Од ХГ на 40 мл фізіологічного розчину внутрішньоматково [23].
- Є робота, де пропонують вводити трипторелін 0,1 г у день пункції, в день переносу і три дні після цього [9].
- У буденній практиці кожного репродуктолога траплялися пацієнтки, у яких всі вищеперераховані методи були не ефективні. Виникає запитання, що робити з такими пацієнтками далі?

Упродовж останніх трьох років Gleicher N. та група американських дослідників повідомили про успішне застосування препарату філграстим, що містить гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор росту (Г-КСФ), з метою збільшення частоти настання вагітностей у пацієнток з резистентним тонким ендометрієм [7]. Зокрема, група італійських вчених із Fabio Scarpellini використовують фактор росту ще з 2000 року і доводять його ефективність у пацієнток зі звичним невиношуванням [6]. Останнє дослідження, яке тривало до березня 2014 року, доводить ефективність застосування даного препарату у пацієнток з повторними невдалими спробами.

Як відомо, фактори росту це – глікопротеїни, що діють як циркулюючі гормони; так само, як і місцеві медіатори, вони регулюють гемопоез та диференціювання специфічних типів клітин (табл. 1). Фактори росту отримали свою назву через здатність стимулювати ріст колоній гемопоетичних клітин на субстраті.

У листопаді 2011 року в Європейському союзі було зареєстровано середовище для культивування ембріонів з фактором росту «EmbryoGene». Цій реєстрації передувало найбільш масштабне дослідження у сфері репродуктивних технологій.

За 20 років накопичено досвід по застосуванню філграстиму при аутоімунних захворюваннях, СНІД, захворюваннях, пов'язаних з лейкопенією, а також після променевого лікування та хіміотерапії при онкозахворюваннях. Є повідомлення про його успішне застосування під час вагітності зі сприятливим результатом.

Усі ці дані надихнули нас на проведення власного клінічного дослідження (12.10.2012 – 31.03.2014). Усі пацієнтки, які були задіяні в дослідженні, дали інформовану згоду, де були описані можливі ризики та переваги лікування.

Мета дослідження – оцінити ефективність внутрішньоматкового введення Г-КСФ у пацієнток з тонким ендометрієм (< 7 мм), що резистентний до традиційних методів лікування.

У літературі відсутнє єдине чітке визначення, при якій товщині ендометрій варто вважати тонким. Відповідно до літературних даних, товщина ендометрію менша, ніж 7 мм, асоціюється з невтішними результатами та поганим прогнозом [4, 5]. Є публікації, де повідомляється про успішне настання вагітності при товщині 4 мм, але це, скоріше, виняток, і такі публікації не дуже обнадійливі, особливо для жінок з багаторазовими невдалими спробами запліднення.

І.Я. КОЖЕМА

медичний центр «Інтерсоно»,
м. Львів

Л.О. МИХАЙЛИШИН

к. мед. н., медичний центр
«Інтерсоно», м. Львів

У.С. ДОРОФЄЄВА

медичний центр «Інтерсоно»,
м. Львів

ТАБЛИЦЯ 1. РОЛЬ КОЛОНІЄСТИМУЮЧИХ ФАКТОРІВ У РЕПРОДУКЦІЇ ЛЮДИНИ

CSF-1 (колонієстимулюючий фактор макрофагів, М-КСФ)	CSF-2 (гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор, ГМ-КСФ)	CSF-3 (гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор, Г-КСФ)
Яєчники		
Регулює стероїдогенез, посилює вплив клітин гранулози	Покращує розвиток фолікулів, бере участь у вивільненні гістаміну під час овуляції	Зберігає пул примордіальних фолікулів, продукується клітинами гранулози зрілих та овулюючих фолікулів
Ендометрій		
М-КСФ продукується матковими залозами	ГМ-КСФ експресується в ендометрії в середині менструального циклу	Г-КСФ продукується ендометрієм в лютеновій фазі менструального циклу
Клінічне використання		
М-КСФ може збільшувати число ооцитів і частоту настання вагітності у випадку слабкої відповіді	ГМ-КСФ додається в культуральне середовище (EmbryoGene)	Г-КСФ призначається при лікуванні тонкого ендометрію, звичного невиношування вагітності

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Було сформовано групу з 38 жінок з ендометрієм товщиною < 7 мм, віком від 35 до 46 років, які приймали ХГ. Жінкам цієї групи проводилися всі програми запліднення *in vitro* – свіжі цикли, донорські цикли, а також цикли з перенесенням кріоконсервованих ембріонів. Усім пацієнткам була виконана діагностична гістероскопія з метою виключення синдрому Ашермана та інших патологій порожнини матки.

ТАБЛИЦЯ 2. ТОВЩИНА ЕНДОМЕТРІЮ ДО І ПІСЛЯ ПЕРФУЗІЇ Г-КСФ (мм)

Характеристика	Всі жінки	Вагітні	Не вагітні
Товщина до введення філстиму	6,2 ± 1,2	6,5 ± 1,5	6,2 ± 1,0
Товщина після введення філстиму	9,2 ± 2,1	9,3 ± 1,5	9,1 ± 1,1
Товщина в день переносу	9,2 ± 2,2	9,6 ± 1,7	9,1 ± 1,0
Потовщення	2,8 ± 1,8	3,1 ± 1,7	2,8 ± 1,9

ТАБЛИЦЯ 3. ЧАСТОТА ВАГІТНОСТІ ТА ІМПЛАНТАЦІЇ В ДОСЛІДЖУВАНИХ ГРУПАХ

Характеристика	Група Г-КСФ	Контрольна група	p
Кількість жінок	25	13	
Частота вагітності	8 (32%)	1 (15%)	< 0,05
Частота імплантації	50/10 (20%)	2/1 (3,8)	< 0,05
Побічні ефекти	-	-	-

Пацієнток було рандомізовано на дві групи. 25 жінкам вводили синтетичний аналог Г-КСФ (препарат філстим, виробництво «Біофарма»). 13 жінок пройшли стандартну підготовку ендометрію із застосуванням етенілестрадіолу, пентоксифіліну, силденафілу цитрату. Критеріями оцінки була клінічна вагітність.

Критерії включення в дослідження:

- ☛ резистентний тонкий ендометрій;
- ☛ 2–3 невдалі спроби в анамнезі;
- ☛ ембріони хорошої якості;
- ☛ вищеперераховані методи запліднення були не ефективні.

Критерії виключення:

- ☛ хромосомні дефекти;
- ☛ захворювання обміну речовин;
- ☛ генетичні захворювання.

Препарат філстим вводили внутрішньоматково в день призначення ХГ в дозі 30 Од за допомогою катетера для переносу ембріонів wallace та інсулінового шприца. Вміст ампули відсмоктували в інсуліновий шприц. Катетер

wallace вводили так само, як і під час переносу ембріонів; вміст шприца повільно вводили в порожнину матки, рухаючи катетером вперед і назад. По звершенні ін'єкції шприц від'єднували, невелику кількість повітря відсмоктували і знову підключали до катетера та виводили залишок повітря. Якщо через 48 годин ендометрій не потовщувався, то препарат вводили повторно.

Товщина ендометрію вимірювалася:

- ☛ у день введення ХГ;
- ☛ через 48 годин;
- ☛ у день переносу ембріона.

Перенос ембріонів здійснювали на п'яту добу. Переносили 2 ембріони.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У таблиці 2 наведено дані товщини ендометрію до і після перфузії Г-КСФ. Між першим введенням та переносом минав тиждень, але потовщення спостерігалось в перші 48 годин, подальше потовщення було несуттєвим. У 5 пацієнток потовщення не відбулося, і їм було повторно введено препарат. Частоту вагітностей та імплантацій наведено у таблиці 3. У жодної пацієнтки не виникло побічних реакцій.

Виникає запитання – як працює даний метод? Ендометрій унікальний тим, що він має величезну регенеративну здатність – упродовж життя жінки відбувається в середньому 500 циклів. Ключову роль у циклічній регенерації ендометрію відіграють стовбурові клітини, які нещодавно були у ньому ідентифіковані [17]. На даний час вважають, що менструює функціональний шар ендометрію, але згодом він відновлюється з базального шару, де саме знаходиться депо стовбурових клітин. Базальний шар є пулом, з якого проліферують і диференціюють різні типи ендометріальних клітин. Чому ендометрій тонкий, можна пояснити відсутністю або нестачею функціональних стовбурових клітин. Як приклад, синдром Ашермана, при якому слизова не здатна до регенерації у зв'язку з великою площею рубцевої тканини через надмірний кюретаж матки. Вивчення стовбурових клітин

Филстим®

Филграстим

Рекомбинантный гранулоцитарный
колониестимулирующий фактор



УВЕЛИЧЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ в течение 24 часов¹

Р. С. № 789/11-30020000 от 06.04.2012.

Побочное действие

- головная боль, боль в костях и мышцах (в большинстве случаев боль устраняется приемом анальгетиков)
- диарея, расстройство мочеиспускания (главным образом, слабая или умеренная дизурия), протеинурия, гематурия
- снижение АД
- преходящее и клинически бессимптомное повышение концентрации ЛДГ, ЩФ, МК и γ -глутамилтрансферазы в крови, тромбоцитопения, анемия
- редкие случаи развития реакций аллергического типа
- увеличение размеров селезенки, печени

Противопоказания

- повышенная чувствительность к препарату
- тяжелая врожденная нейтропения (синдром Костмана) с цитогенетическими нарушениями

1. Выдержка из инструкции по медицинскому применению препарата Филстим®

Информация о лекарственном средстве для профессиональной деятельности
медицинских и фармацевтических специалистов.

Перед использованием обязательно ознакомьтесь с инструкцией
по медицинскому применению препарата.

Украина, 03680, г. Киев, ул. Николая Амосова, 9
тел./факс: (044) 277 36 00
www.biofarma.ua



Введення Г-КСФ є новим перспективним методом вирішення проблеми резистентного тонкого ендометрію

у жіночому репродуктивному тракті перебуває в зародковому стані. На разі є припущення, що фактор росту індукує ріст цих стовбурових клітин, даючи сигнал для поновлення їх запасу.

Які ж механізми лежать в основі терапевтичних ефектів?

➤ Г-КСФ може сприяти мобілізації стовбурових клітин, проліферація, міграція та диференціювання яких можуть бути залучені в процес регенерації ендометрію.

➤ Г-КСФ індукує стовбурові клітини кісткового мозку та периферичної крові, які можуть бути мобілізовані, а потім диференційовані в епітеліальні клітини ендометрію.

➤ Г-КСФ зменшує апоптоз ендотеліальних клітин, збільшує васкуляризацію в тонкому ендометрії.

У грудні 2013 року з'явилася цікава публікація китайських дослідників, які оцінювали терапевтичний ефект Г-КСФ на тонкому ендометрії у щурів [14]. Тонкий ендометрій створювали штучно шляхом перфузії 95% етанолу в матку. Одній групі тварин вводили Г-КСФ підшкірно, іншій – фізіологічний розчин. Регенерація клітин ендометрію була проаналізована за допомогою імуногістохімічного аналізу. Гістологічна оцінка показала неушкоджену структуру ендометрію, більшу

кількість ендометріальних залоз і капілярів. Там, де вводився фізіологічний розчин, спостерігався широкий некроз. Результати показали, що введення Г-КСФ покращує регенерацію клітин ендометрію, у тому числі епітеліальних, стромальних та ендотеліальних.

Слідом за цією статтею у березні 2014 р. в журналі «Fertility and Sterility» було опубліковано дослідження, де вводили Г-КСФ з нормального ендометрію. Результати даного дослідження показали, що у пацієнок з нормальним ендометрієм Г-КСФ не був ефективним [24].

ВИСНОВОК

Введення Г-КСФ являє собою новий перспективний інструмент для розв'язання проблеми резистентного тонкого ендометрію. Цей спосіб лікування є потенціалом для поліпшення імплантації, а отже для частоти настання вагітності. Для підтвердження ефективності даного методу необхідні подальші рандомізовані контрольні дослідження.

ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Снеп М.Д., Yang J.H., Peng F.H., Chen Su., Ho H.N., Yang Y.S.
«Extended estrogen administration for women with thin endometrium in frozen-thawed in – vitro fertilization.» J Assist reprod Genet (2006).
2. Sher G., Fisch J.D.
«Effect of vaginal sildenafil on the outcome of in vitro fertilization after multiple failures attributed to poor endometrial development.» Fertil Steril (2002).
3. Ledee-Bataille N., Olivennes F., Lefaix J.L., Chaouat G., Frydman R., Delanian S.
«Combined treatment by pentoxifylline and tocopherol for recipient women with a thin endometrium enrolled in an oocyte donation program.» Hum Reprod (2002).
4. Casper R.F.
«Time to pay attention to the endometrium.» Fertil Steril (2011).
5. Revel A.
«Defective endometrial receptivity.» Fertile Steril (2012).
6. Scarpellini F., Sbracia F.
«Use of colonystimulation factor for the treatment of unexplained recurrent miscarriage: a randomized controlled trial.» J Hum Reprod (2009).
7. Gleicher N., Vidali A., Barad D.H.
«Successful treatment of unresponsive thin endometrium.» Fertil Steril (2011).
8. Wurfel W., Santjohanser C., Hirv K., Buhl M., Meri O., Laubert I., von Hertwing I., Fiedler K., Krusmann J., Krusman G.
«High pregnancy rates with administration of granulocyte colony-stimulation factor in ART-patients with repetitive implantation failure and lacking killer-cell immunoglobulin -like receptors.» J Hum Reprod (2010).
9. Qublan H., Amarín Z., Al-Qudah M., Diab F., Nawasreh M., Malkawi S., Balawneh M.
«Luteal phase support with GnRH – a improves implantation and pregnancy rates in IVF cycles with thin endometrium.» Hum Fertil (Camb) (2008) Jun.
10. Papanikolaou E.G., Kyrou D., Paggou E., Humaidan P.
«Follicular HGH endometrium priming for IVF patients experiencing resisting thin endometrium.» A proof of concept study. J Assist Reprod Genet (2013).
11. Gleicher N., Kim A., Michael T., Lee H.J., Shohat-Tai A., Lazzaroni E., Barad D.H.
«A pilot cohort study of granulocyte colony -stimulating factor in the treatment of unresponsive thin endometrium resistant standard therapies.» Hum Reprod (2013).
12. Gargett C.E., Nguyen H.P., Ye L.
«Endometrial regeneration and endometrial stem /progenitor cell.» Rev Endocr Metab Disord (2012).
13. Amui J., Chek J.H., Cohen R.
«Successful twin pregnancy in donor oocyte recipient despite a maximum endometrial thickness in the late proliferative phase of 4 mm.» Clin Exp Gynecol (2014).
14. Jing Zhao, Tian Tian
«Use of Granulocyte colony-stimulating factor for the treatment of thin endometrium in experimental rats.» PLoS ONE (2013).
15. Kunicki M., Lukaszuk K., Woclawek Potocka I., Liss J., Kulwikowska P., Szczyptanska J.
«Evaluation of granulocyte colony -stimulating factor effects on treatment-resistant thin endometrium in women undergoing in vitro fertilization.» Biomed Res Int (2014).
16. Tanaka T., Umesaki N.
«Regulation of the cellular subpopulation rations of normal human endometrial stromal cells by macrophage colony-stimulating factor.» J Mol Med (2003).
17. Takasaki A., Ohba T., Okamura Y., Honda R., Seki M., Tanaka N.
«Clinical use of colony-stimulating Factor-1 in ovulation induction in poor responders.» Fertil Sterilit (2008).

18. Gargett. «Uterina stem cells: What is evidence?». Hum Reproduction (2007).
19. Gargett. «Review Article: Stem Cell in Human Reproduction.» (2007).
20. Gargett. «Adult Stem cells in the endometrium.» J Medicine &Health. (2010).
21. Ono. «Regeneration and adult stem cells in the human female.» (2008).
22. Chaitanya B. Nagori, Sonal Y. Panchal
«Endometrial regeneration using autologous adult stem cells followed by conception by in vitro fertilization in a patient of severe Ashermans syndrome,» journal of Human Reproductive Sciences.
23. Gamal Serour. «Intrauterine injection of human chorionic gonadotropin before embryo transfer significantly improves the implantation and pregnancy rates in vitro fertilization.» Fertility and Sterility (2011).
24. Barad D.H., Kushnir V.A., Shohat T., Lee H.J., Gleicher N.
«A randomized clinical trial of endometrial perfusion with granulocyte colony-stimulating factor in vitro fertilization cycles: impact on endometrial thickness and clinical pregnancy rates.» Fertility and Sterility.» (2014).

□

РЕЗИСТЕНТНЫЙ ТОНКИЙ ЭНДОМЕТРИЙ. ЧТО ДЕЛАТЬ?

И.Я. Кожема, медицинский центр «Интерсоно», г. Львов

Л.А. Михайлышин, к. мед. н., медицинский центр «Интерсоно», г. Львов

У.С. Дорофеева, медицинский центр «Интерсоно», г. Львов

Выполнено клиническое исследование с целью оценки эффективности внутриматочного введения гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ, препарат филстим) у пациенток с тонким эндометрием (< 7 мм), который резистентен к традиционным методам лечения.

В исследование вошли 38 женщин с эндометрием толщиной < 7 мм, в возрасте от 35 до 46 лет, принимающие хорионический гонадотропин. Женщинам этой группы проводились все программы оплодотворения *in vitro*. Пациенток рандомизировали на две группы. 25 женщинам вводили филстим, 13 прошли стандартную подготовку эндометрия с применением этинилэстрадиола, пентоксифиллина, силденафила цитрата. Критериями оценки была клиническая беременность. Результаты исследования показали, что Г-КСФ способствует утолщению эндометрия. Беременность в группе применения филстима наступила у 8 (32%) женщин, в группе контроля – только у одной (15%).

Авторы делают вывод, что введение Г-КСФ является новым перспективным методом решения проблемы резистентного тонкого эндометрия. Однако для подтверждения эффективности данного метода необходимы дальнейшие рандомизированные контрольные исследования.

Ключевые слова: резистентный тонкий эндометрий, оплодотворение *in vitro*, факторы роста, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, филстим.

RESISTANT THIN ENDOMETRIUM. WHAT TO DO?

I.Y. Kozhema, Medical Center «Intersono», Lviv

L.A. Mykhailyshyn, PhD, Medical Center «Intersono», Lviv

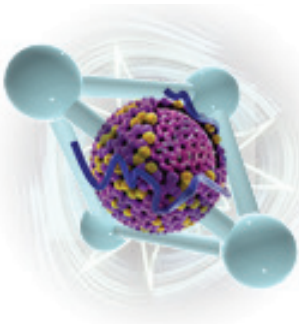
U.S. Dorofeeva, Medical Center «Intersono», Lviv

Clinical study to assess the efficacy of intrauterine administration of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF, a drug Filstim) in patients with a thin endometrium (< 7 mm), resistant to traditional treatments was performed.

The study included 38 women with endometrium thickness < 7 mm, aged 35 to 46 years who received human chorionic gonadotropin. Women in this group were held all programs fertilization *in vitro*. Patients were randomized into two groups. 25 women was administrated Filstim, 13 women the standard endometrial preparation was performed using etenilestradiol, pentoxifylline, sildenafil citrate. Clinical pregnancy was evaluation criteria. The results showed that G-CSF promotes thickening of the endometrium. Pregnancy in the group of Filstim occurred in 8 (32%) women. In the control group only in one (15%) women.

The authors concluded that G-CSF use is a promising new method for solving the problem of resistant thin endometrium. However, further randomized control studies are needed to confirm the effectiveness of this method.

Key words: resistant thin endometrium, fertilization *in vitro*, growth factors, granulocyte colony stimulating factor, Filstim.



THE 2ND WORLD CONGRESS OF
CLINICAL LIPIDOLOGY
5 - 7 DECEMBER 2014, VIENNA, AUSTRIA