

# ПЕРШИЙ ДОСВІД ВІДНОВЛЕННЯ РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ ПАЦІЄНТОК ІЗ СИНДРОМОМ АШЕРМАНА З ЗАСТОСУВАННЯМ АУТОЛОГІЧНИХ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН

## КЛІНІЧНИЙ ВИПАДОК

### ВСТУП

Внутрішньоматкові спайки були вперше виявлені у 1894 р. Г. Фрітчем. Повний опис цієї патології зробив Й. Ашерман. Синдром Ашермана (СА) – це наявність спайок у порожнині матки, які призводять до часткової або повної облітерації матки та/або цервікального каналу з порушенням менструального циклу й репродуктивної функції. Частота виявлення внутрішньоматкових синехій у жінок із порушеннями менструального циклу становить від 2,8 до 45,5%. Патологічні зміни в порожнині матки спостерігаються у 54% пацієнток, які мають безпліддя.

СА розвивається в жінок після розширення та вишкрібання порожнини матки, що виконується з метою переривання вагітності, видалення залишків плідного яйця, після вишкрібання порожнини матки в післяпологовий період за наявності залишків плаценти або післяпологової кровотечі. СА розвивається після 1–2 випадків вишкрібання у 14–20% жінок, а після 3 випадків вишкрібання – у 30–32%, після балонної абляції в гінекологічній практиці – у 36,4%. Доведено формування внутрішньоматкових синехій після лапароскопічної або лапаротомічної міомектомії з проникненням у порожнину матки, гістероскопічної резекції міоматозних вузлів, видалення внутрішньоматкової перетинки, лапаротомічної метропластики та кесаревого розтину [8, 27]. Крім того, СА може розвинути у жінок на тлі гострого чи хронічного ендометриту, генітального туберкульозу і шистосомозної інфекції [9].

Зміни в клітинах ендометрію при СА проявляються у вигляді втрати рибосом, набряку мітохондрій і гіпоксичних процесів [4]. У формуванні внутрішньоматкових спайок головна роль належить макрофагам, β-фактору росту фібробластів, тромбоцитарному та трансформувальному чинникам росту [26]. Запальний шлях має важливе значення в патогенезі виникнення фіброзної тканини в порожнині матки після травмування ендометрію [8, 13].

Діагностика СА можлива за допомогою гістеросальпінгографії, чутливість якої сягає 75–81%, специфічність – 80%, позитивна прогностична цінність – 50%, а також 3D-сонографії з 3D-доплерометрією, чутливість і специфічність яких відповідно становлять 91,1 і 98,8%. Останніми роками для діагностики широко використовують офісну гістероскопію, визначення біологічних маркерів синехій порожнини матки ADAM-15, ADAM-17. МРТ застосовують як додатковий метод обстеження за неможливості проведення гістероскопії через синехії цервікального каналу [1, 19, 25, 31].

Клінічно СА виявляється повторними випадками втрати вагітності, гіпоменореєю, аменореєю, циклічним тазовим болем і безпліддям [22].

Лікування СА залежить від локалізації, виразності, глибини змін в ендометрії та репродуктивних намірів пацієнтки. Основна мета терапії – відновлення об'єму і форми порожнини матки, структурної повноцінності та рецептивності ендометрію, репродуктивної функції пацієнтки. Лікування можна розділити на такі етапи.

Перший етап – гістероскопічне розсічення синехій порожнини матки, яке можна проводити самостійно або під контролем ультразвуку чи рентгеноскопії. Для зниження ризику операційних ускладнень (як-от перфорація матки, кровотеча з судин матки) одночасно з гістероскопічним втручанням, особливо в ділянці дна матки, виконують лапароскопію з відеосупроводом на двох окремих моніторах, при цьому джерело світла для лапароскопа тимчасово вимикають [2, 3, 7, 12, 23]. Застосування офісної гістероскопії знижує частоту перфорацій матки до 2–7%. Однак у 3,1–23,5% пацієнток у післяопераційний період спостерігається рецидив СА.

Другий етап – профілактика виникнення повторної адгезії ендометрію, для чого застосовують введення в порожнину матки внутрішньоматкового контрацептива (ВМК), катетера Фолея, протиспайкових бар'єрів, трансплантата свіжого амніона, внутрішньо-

### М.І. КОЗУБ

д. мед. н., професор, завідувач кафедри акушерства і гінекології № 2 Харківської медичної академії післядипломної освіти, м. Харків  
ORCID: 0000-0002-7527-6437

### М.М. КОЗУБ

д. мед. н., професор кафедри акушерства і гінекології та онкологічної гінекології ХМАПО, м. Харків  
ORCID: 0000-0002-2420-3545

### С.М. ГРАМАТЮК

к. мед. н., професор кафедри порівняльних біомедичних наук Університету штату Луїзіана, президент Асоціації біобанків України, директор ТОВ «Інститут клітинної біореабілітації», м. Харків  
ORCID: 0000-0003-4238-7031

### М.П. СОКОЛ

к. мед. н., доцент кафедри акушерства і гінекології № 2 ХМАПО, м. Харків  
ORCID: 0000-0001-5077-1485

### Л.І. ГИРМАН

к. мед. н., доцент кафедри акушерства і гінекології № 2 ХМАПО, м. Харків  
ORCID: 0000-0002-5226-3131

### О.В. КНИГAVКО

д. мед. н., професор кафедри урології, нефрології та андрології імені А.Г. Подреза Харківського національного медичного університету, м. Харків  
ORCID: 0000-0002-8870-3450

### Л.М. САВЕЛЬЄВА

лікар-інтерн КНП Харківської обласної ради «Обласний клінічний перинатальний центр», м. Харків  
ORCID: 0000-0002-8825-8561

Контакти:

Козуб Максим Миколайович  
ХМАПО, кафедра акушерства, гінекології та онкологічної гінекології  
61176, Харків, Амосова, 58  
Email: kozub061979@gmail.com

маткового балона. Для оцінювання ефективності виконують повторну гістероскопію за 3–4 тижні [14, 15, 21, 29]. Найпопулярніший метод – використання ВМК, однак він має істотні недоліки: мідьвмісні ВМК провокують запальну реакцію в порожнині матки, а левоноргестрелвмісні внутрішньоматкові системи пригнічують зростання ендометрію [14, 28].

Третій у край важливий етап у післяопераційний період – проведення лікування, спрямованого на відновлення морфологічного стану ендометрію з активацією його рецептивності. Різні автори застосовують:

а) ад'ювантну терапію високими дозами естрогенів протягом 3–4 тижнів;

б) мезенхімальні стовбурові клітини (mesenchymal stem cells, MSCs), одержані з кісткового мозку, пуповинної крові, жирової тканини, навколоплідних вод або аутологічного ендометрію в проліферативній фазі його розвитку [2, 12, 13, 23].

У низці досліджень MSCs показали великий потенціал для відновлення пошкоджених тканин, зокрема ендометрію. MSCs містять спектр цитокінів, пов'язаних із регенерацією та проліферацією ендометрію, які включають епідермальний чинник росту, білок, що зв'язує інсуліноподібний фактор росту, інсуліноподібний фактор росту-1 (IGF-1) та фактор росту фібробластів. Метод їх уведення залежить від гостроти фази запалення: при гострій фазі – внутрішньоматково, при хронічній – внутрішньоочеревинно чи внутрішньовенно [16, 18, 20, 22, 24]. Ефект лікування стовбуровими клітинами у вигляді потовщення ендометрію стає найбільш вираженим за 6–9 місяців після їх застосування, а поєднання MSCs та естрогенів є нешкідливим та ефективним методом для покращення тривалості менструацій, збільшення товщини ендометрію та підвищення частоти настання вагітності [17, 30]. Ефект сумісного застосування MSCs та естрогенів реалізується за допомогою IGF-1 [11].

На сьогодні існують підтверджені експериментальні дані, що ендометріальні мезенхімальні стовбурові клітини (eMSCs) демонструють схожі терапевтичні властивості з MSCs. Однак наявність специфічних маркерів CD-146, PDGFβ (β-рецептор чинника росту тромбоцитів) і SUSD2 (суші-домен-2) дозволяє eMSCs розташовуватися периваскулярно, а їхня специфічна ідентичність до перицитів базального шару ендометрію дає їм змогу перетворюватися на функціональні судини ендометрію. Встановлено, що eMSCs зберігають хромосомну стабільність і не виявляють онкогенності. При стимуляції eMSCs набувають протизапального фенотипу з підвищеною секрецією імуномодулювальних факторів. Стимульовані eMSCs не експресували HLA класу, пригнічували проліферацію та активацію CD4+ Т-клітин. Отже, eMSCs можуть бути ідеальним кандидатом на клітинну терапію при захворюваннях ендометрію [16].

Враховуючи вищезазначені дані, автори статті використали саме eMSCs. Вважаємо за доцільне рекомендувати одночасне застосування медикаментозних засобів, фізіотерапії та біологічно активних речовин, що вводяться в акупунктурні точки, для покращення мікроциркуляції і стимуляції процесів регенерації в ендометрії: L-аргініну або сілденафілу цитрату (стимулюють продукцію оксиду азоту), дистрептази, ультразвукової терапії, внутрішньоматкового

електрофорезу ферментів, лазерного випромінювання, а також акупунктури з кріоекстрактом плаценти [5, 6, 13].

Четвертий етап – післяопераційна діагностична гістероскопія, ультразвуковий контроль товщини ендометрію, вивчення рівня чинника росту ендотелію судин та IGF-1 у пайпель-біоптаті ендометрію [10].

Нами запропонований новий спосіб лікування СА, що включає виконання гістероскопічного роз'єднання синехій у порожнині матки, за потреби – під контролем УЗД, субендометріальне введення аутологічних MSCs за допомогою офісного гістероскопа, введення в порожнину матки після вищевказаних маніпуляцій ВМК зі сріблом на 1 місяць та подальше призначення ад'ювантної терапії естрогенами на 3 тижні, що сприяє повноцінному відновленню структури й рецептивності ендометрію.

Точка ефективності первинного результату: товщина ендометрію не менш ніж 7 мм за даними УЗД, інтервал вимірювання – 3, 6 та 9 місяців після втручання.

Точка ефективності вторинного результату: регулярні менструації протягом 9–12 місяців і/або вагітність.

## КЛІНІЧНИЙ ВИПАДОК

Пацієнтка Б., 22 років. Менструації з 13 років, нерегулярні. Статеве життя з 16 років. З огляду на порушення менструального циклу та планування сім'ї, із 2015 р. приймала комбіновані оральні контрацептиви, після їх скасування вагітність на тлі застосування препарату проталіс не настала. У 2017 р. пацієнтці з приводу синдрому полікістозних яєчників виконано лапароскопічне втручання, під час якого за допомогою біполярного коагулятора проведено дрингінг у семи точках на поверхні обох яєчників завглибшки 3–5 мм. Менструальний цикл після втручання регулярний.

У червні 2019 р. виконано вакуум-аспірацію порожнини матки через викидень, який стався на терміні вагітності 5 тижнів.

Для виключення жіночих чинників, що могли призвести до переривання вагітності на ранньому терміні, пацієнтку було обстежено на наявність антифосфоліпідного синдрому, TORCH-інфекції, проведено аналіз сумісності пацієнтки та її чоловіка за HLA-комплексом у ТОВ «Інститут клітинної біореабілітації».

Для виключення чоловічого фактора переривання вагітності на ранньому терміні чоловік пацієнтки також був обстежений у КНП «Харківський урологічний центр» відповідно до локального протоколу КНП «Обласний клінічний центр урології та нефрології ім. В.І. Шаповала» (м. Харків) щодо вищевказаних чинників.

Після проведеного втручання в пацієнтки розвинулася аменорея, що не коригувалася замісною гормональною терапією впродовж 6 місяців. Після обстеження жінці поставлено діагноз «внутрішньоматкові синехії». У листопаді 2019 р. в багатопрофільній клініці м. Харкова здійснено спробу виконання гістероскопії, яка не вдалася через вираженість спайкового процесу в порожнині матки, що був виявлений на рівні середньої третини цервікального каналу.

Надалі пацієнтка звернулася по допомогу до КНП «Міський клінічний пологовий будинок № 2 ім. М.Х. Гельферіха»

м. Харкова (клінічна база кафедри акушерства і гінекології № 2 Харківської медичної академії післядипломної освіти). Під час УЗД виявлено гіпоплазію ендометрію, М-ехо 5–6 мм, у структурі останнього визначалися множинні ехопозитивні вclusions, будова ендометрію не мала типової для проліферативної фази циклу тришарової структури. При цьому було збережено овуляторний цикл; розміри яєчників та матки в межах норми.

Лікування пацієнтки проведено в межах клінічного дослідження ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04675970. Обстеження та лікування виконані із залученням на амбулаторному етапі фахівців кафедри акушерства і гінекології № 2 ХМАПО та ТОВ «Інститут клітинної біореабілітації» (м. Харків). Після лабораторного обстеження в ТОВ «Інститут клітинної біореабілітації» виключено інфікування ВІЛ, вірусами гепатиту В і С, сифілісом та не знайдено відхилень в інших лабораторних показниках. Надалі пацієнтка обстежена спеціалістами кафедри акушерства і гінекології № 2 ХМАПО на клінічній базі КНП «МКПБ № 2 ім. М.Х. Гельферіха» м. Харкова.

Згідно з результатами УЗД, розміри матки та придатків були в межах норми, кількість антральних фолікулів – по 12 в обох яєчниках, М-ехо становив 2–3 мм, однак контур його чітко не визначався вздовж порожнини матки, у зоні маткового перешийка візуалізувалися множинні дрібні ехопозитивні ділянки, вільна рідина в позаматковому просторі не визначалася. За результатами клінічного обстеження поставлено діагноз «синдром Ашермана, безпліддя вторинне маткового походження».

Пацієнтку скеровано до лабораторії ТОВ «Інститут клітинної біореабілітації», ліцензованого МОЗ України (наказами № 1813 від 04.10.2018 та № 877 від 18.04.2019), сертифікованого відповідно до міжнародного стандарту ISO 20387:2018, ISO 9001:2015 (сертифікат № UA 229157 – біобанкінг і біотехнології). У пацієнтки проведено забір 20,0 мл венозної крові з виділенням, культивуванням та консервацією MSCs. Виділення MSCs із периферичної крові здійснено за допомогою методу магнітного розділення автоматичної системи AutoMACS Pro Separator (Miltenyi Biotec), після чого останні були посіяні по 50 000 мононуклеотидних клітин/см<sup>2</sup> у середовищі RPMI (1x) + GlutaMAX medium (GibcoLife Technologies, Канада), доповнених 10% бичачою фетальною сироваткою (Thermo Fisher Scientific, США) на системі CELLdisc™ із діапазоном поверхні культур клітин від 1000 см<sup>2</sup> до 1 м<sup>2</sup>. Культури інкубувалися при 37 °С, 20% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> з використанням автоматичної системи FibraStage (New Brunswick Scientific, США). Заміну середовища здійснювали двічі на тиждень. За 2 тижні після початкового посіву первинні колонії MSCs відокремлювали за допомогою 10-хвилинної інкубації з 0,05% трипсин-ЕДТА (GibcoLife Technologies, Канада) та розміщували по 4200 клітин/см<sup>2</sup> у тому самому середовищі. Для клінічного застосування використовували MSCs шостого пасажу, які було додатково диференційовано до ендометріальних клітин, що підтверджено маркерами відповідності ендометрію в поколіннях P0-P3, до яких належать CD-146, PDGFB і SUSD2, з використанням набору MicroBead Kit (США).

На схемі показано процедуру ізоляції та культивування епітеліальних клітин ендометрію людини (hEECs).

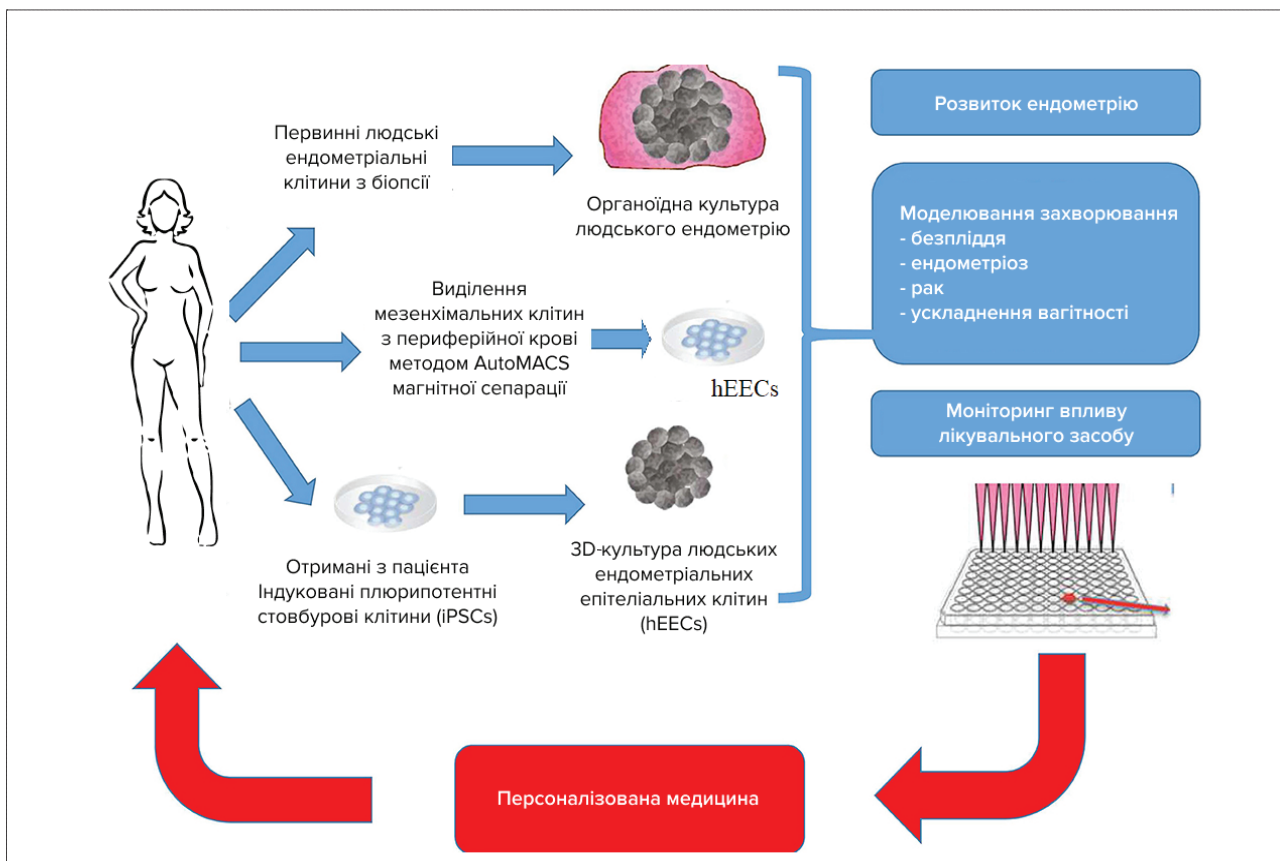


Схема. Культивування та характеристика людських ендометріальних епітеліальних клітин

# ЛІКУВАННЯ НЕПЛІДНОСТІ ТА ВАГІТНІСТЬ

На рисунках 1 і 2 послідовно представлена серія пасажів eMSCs людини без активації інтерлейкінами та середовищами диференціації (шкала 100 мкм); на рисунку 2 вказані терміни і стадії культивування та диференціювання культури клітин ендометрію при різному збільшенні на 7-й та 13-й день 0-го пасажу, на 6-й день 2-го пасажу та 7-й день 3-го пасажу відповідно (масштабні смужки 100 та 50 мкм).

Контроль відповідності hEECs за допомогою аналізу вес-терн-блотинг, що демонструє рівень протеїнів епітеліальних маркерів ендометрію в поколіннях P0-P3, до яких належать anti-CK8, молекула адгезії епітеліальних клітин (EPCAM), анти-E кадгерин (anti-E Cadherin), anti-CK7 та anti-lamin A/C імунофарбування колоній hEECs із контрастним фарбуванням ядер.

## Стаціонарний етап лікування

Пацієнтка Б., 22 років, госпіталізована до гінекологічного відділення КНП «МКПБ № 2 ім. М.Х. Гельферіха» 18.12.2019 р. з діагнозом «синдром Ашермана, безпліддя II».

Письмову інформовану згоду на лікування отримано.

Пацієнтці виконано офісну гістероскопію, під час якої підтверджено СА (рис. 3 – синехії ендометрію, рис. 4 – синехії ендометрію). Наступним етапом було безпосереднє роз'єднання синехій цервікального каналу (рис. 5) та порожнини матки (рис. 6). Для запобігання формуванню синехій *de novo* у відповідь на саме втручання, всі маніпуляції проводили механічним способом із використанням ножиць 5 Fr, що були введені в інструментальний канал офісного гістероскопа 16 Fr. Критерієм успішного проведення синехіолізу в пацієнтки, яка планує спонтанне зачаття в майбутньому, є можливість вивільнення від синехій вічок обох маткових труб (рис. 7 і 8). Остаточний вигляд порожнини матки та ендометрію, вільних від синехій, представлено на рисунках 9 і 10.

Наприкінці втручання після завершення синехіолізу в інструментальний канал гістероскопа було введено голку для проведення пункції ооцитів, яка має відповідний діаметр та довжину, через її просвіт можна було субендометріально ввести культивовані в біологічному реакторі аутологічні ендометріальні клітини в дозі 4 млн, розподілені рівномірно в 4 точки – по 1 мл у передню, задню та бокові стінки матки (рис. 11 і 12). Деякою незручністю цього етапу є необхідність зниження внутрішньоматкового тиску до нульового рівня перед уведенням клітин для запобігання їх змиванню розчином, що циркулює в порожнині матки, та наступна хвилинна пауза для всмоктування розчину з культивованими аутологічними клітинами ендометрію. Цей етап повторювали в кожній точці введення клітин

ендометрію. Зважаючи на очікувані больові відчуття під час пункції субендометріального шару, пацієнтці запропоновано та за її згоди проведено внутрішньовенну седацію дипрофолом.

Для запобігання повторному спайковому процесу в порожнину матки введено срібловмісну ВМК, контроль її розташування проведено за допомогою УЗД трансвагінальним датчиком – коректне встановлення підтверджено. У післяопераційний період пацієнтці призначено естрогени строком на 3 тижні.

20.01.2020 р. пацієнтці видалено ВМК та проведено повторну офісну гістероскопію, виконано завершальний синехіолізу, повторне субендометріальне введення аутологічних ендометріальних клітин у дозі 2 млн.

27.08.2020 р. пацієнтка повторно госпіталізована до гінекологічного відділення КНП «МКПБ № 2 ім. М.Х. Гельферіха» з діагнозом «вагітність малого терміну, загроза переривання вагітності».

Згідно з катamnестичними даними на 12.04.2021 р., пацієнтка перебувала на обліку в жіночій консультації КНП «Міська поліклініка № 6» Харківської міської ради з діагнозом «вагітність 36 тижнів, вегето-судинна дистонія за гіпертонічним типом».

04.05.2021 р. пацієнтка самостійно народила живу доношену дівчинку масою 3750 г, зростом 51 см. Пологи відбулися в КНП «Харківський міський перинатальний центр» ХМР. Післяпологовий період минув без ускладнень.

## ВИСНОВКИ

Представлений випадок лікування СА свідчить про можливість відновлення репродуктивної функції в пацієнток із безпліддям, спричиненим СА, за умов наявності в медичному закладі гістероскопічного обладнання та біобанку. Результати клінічного випадку свідчать про перспективність застосування аутологічних стовбурових клітин крові, перетворених на ендометріальні клітини, у лікуванні безпліддя пацієнток із СА за відсутності ефекту від попередніх спроб відновлення фертильності традиційними методами терапії.

Оснащення клінічних закладів України біобанками та сучасною ендоскопічною апаратурою, підготовка висококваліфікованих фахівців у закладах післядипломної освіти МОН та МОЗ України дозволять поліпшити ефективність лікування безпліддя, зумовленого частковою або повною відсутністю функціонально активного ендометрію. Широке впровадження нашого досвіду в клінічну практику сприятиме поліпшенню демографічної ситуації в Україні.

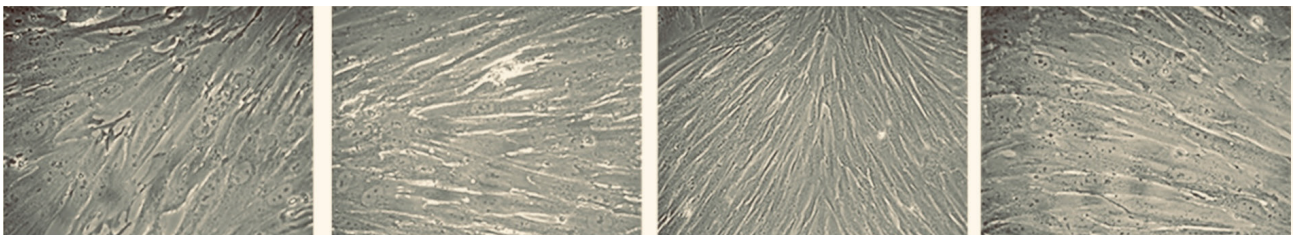
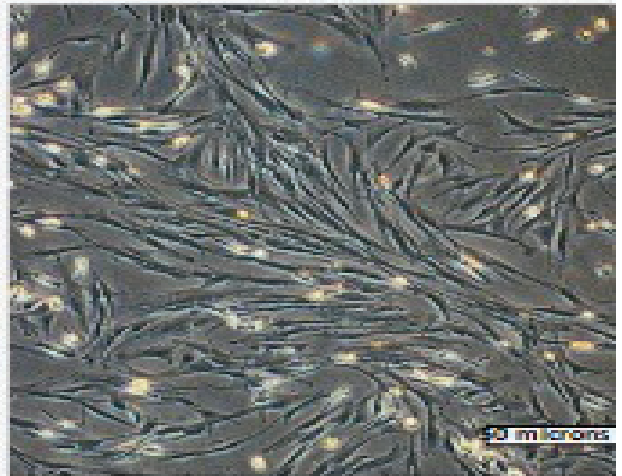
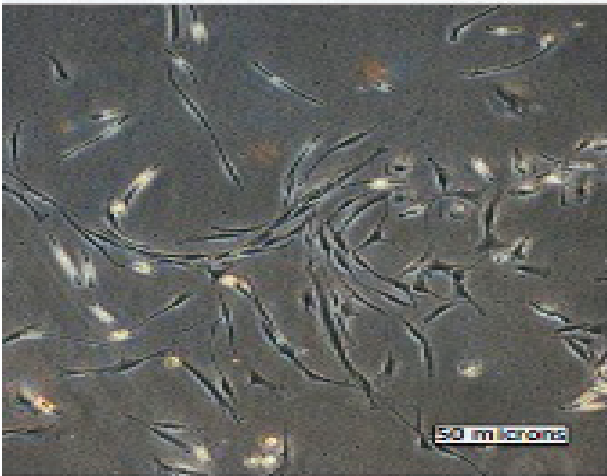
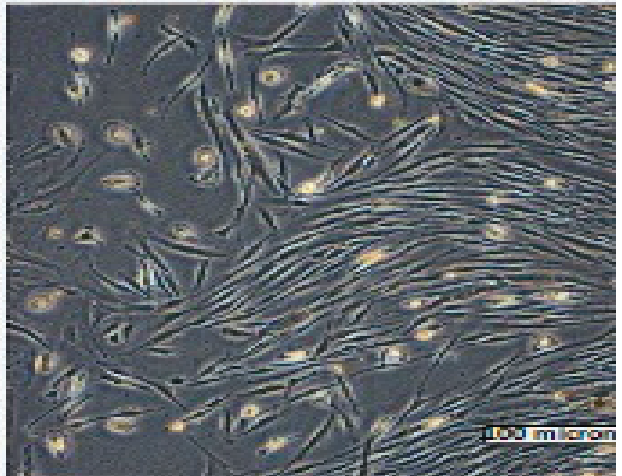
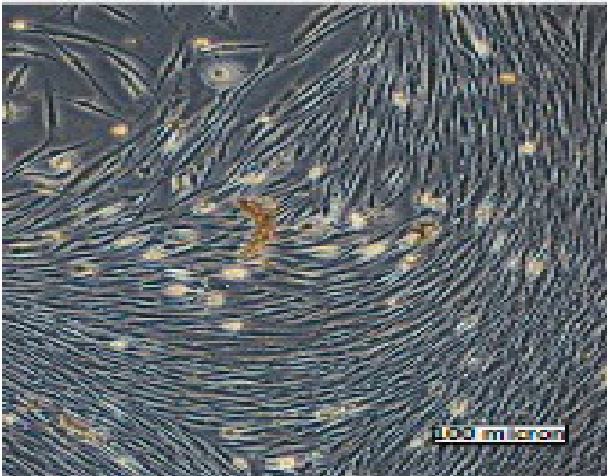


Рисунок 1. Серія пасажів hEECs без активації інтерлейкінами та середовищами диференціації

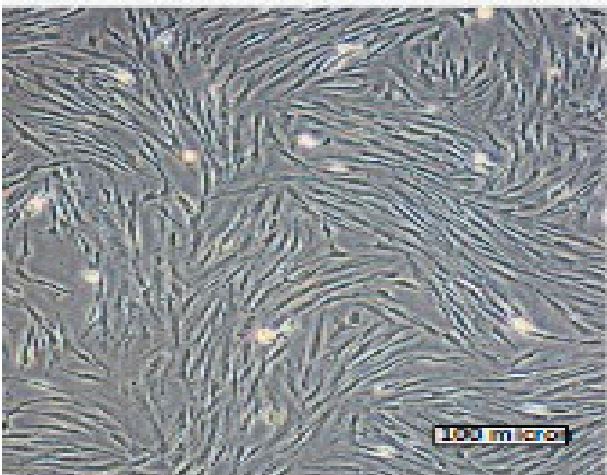
Пасаж 0, день 7



Пасаж 0, день 13



Пасаж 2, день 6



Пасаж 3, день 7

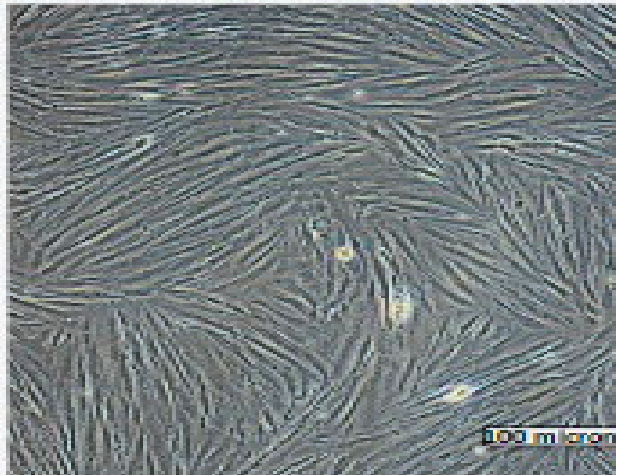


Рисунок 2. Епітеліальні клітини ендометрію людини (hEECs)

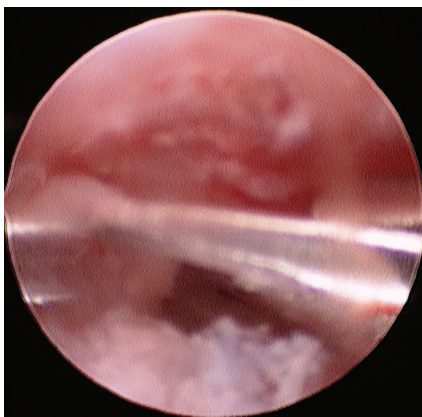


Рисунок 3. Синехії ендочервіксу

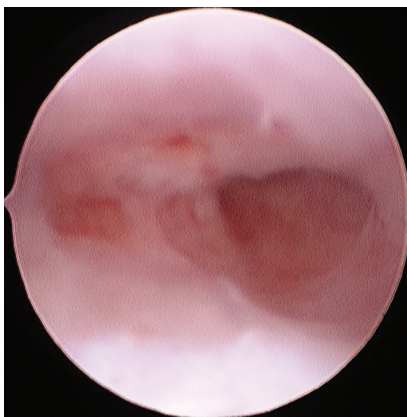


Рисунок 4. Синехії ендометрію

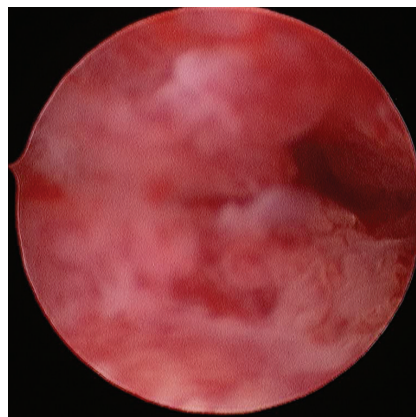


Рисунок 5. Синехіолізис у цервікальному каналі

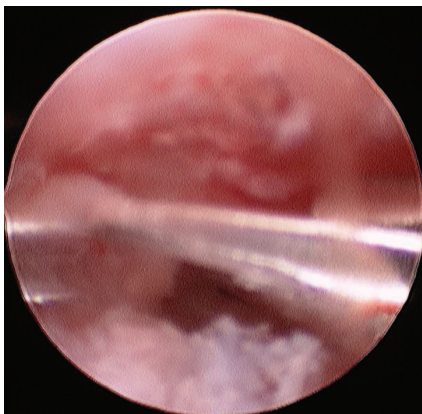


Рисунок 6. Синехіолізис у порожнині матки

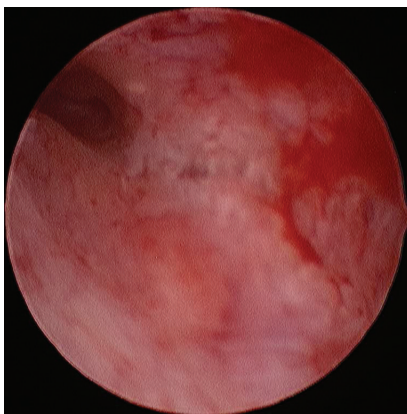


Рисунок 7. Вільне вічко правої маткової труби

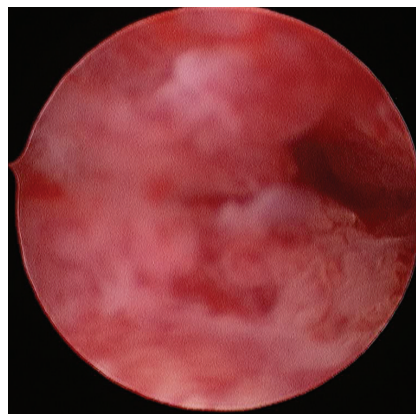


Рисунок 8. Вільне вічко лівої маткової труби

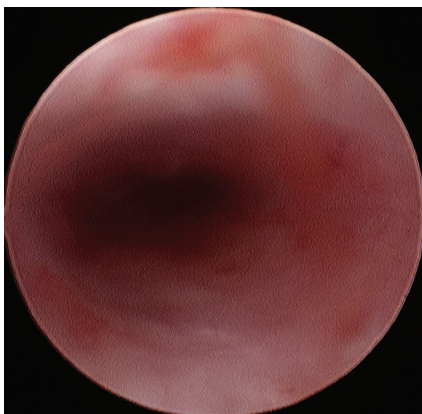


Рисунок 9. Остаточний вигляд ендочервіксу порожнини матки

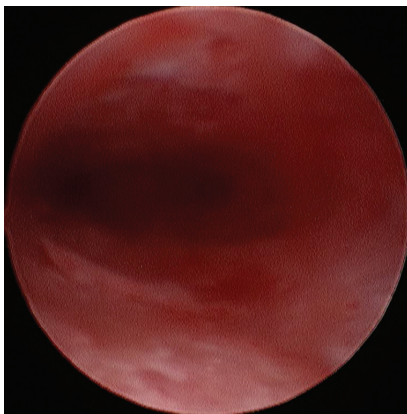


Рисунок 10. Остаточний вигляд матки

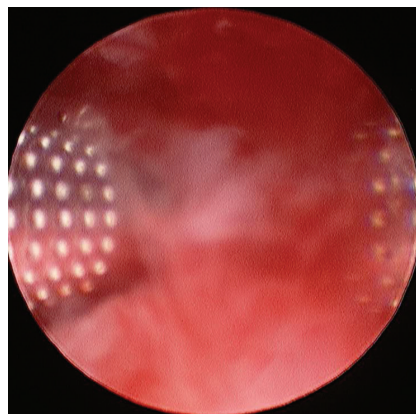


Рисунок 11. Введення hEECs у ліву бокову стінку

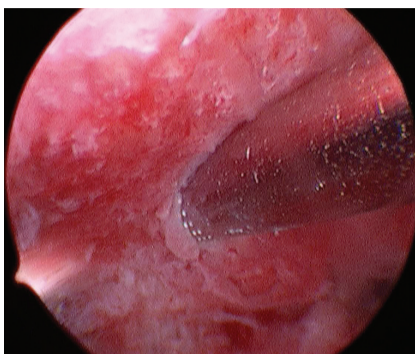


Рисунок 12. Введення hEECs у передню стінку

## ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

- Воронкова, Н.М.  
Лікування хронічного ендометриу на етапі прегравідарної підготовки // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. — 2018. — № 4 (64). — С. 81.
- Voronkova, N.M.  
“Treatment of chronic endometritis at the stage of pre-pregnancy training.” *Clinical endocrinology and endocrine surgery* 4.64 (2018): 81.
- Гирман, Л.І.  
Можливості ультразвукової діагностики в акушерстві та гінекології / Л.І. Гирман, М.М. Козуб, М.П. Сокол // Навч. посібник для самостійної роботи лікарів акушерів-гінекологів. — Харків: ХМАПО, 2017. — 51 с.
- Hurman, L.I., Kozub, M.M., Sokol, M.P.  
Possibilities of ultrasound diagnostics in obstetrics and gynecology: A textbook for independent work of obstetricians and gynecologists. Kharkiv. KhMAPO (2017): 51 p.
- Кишакевич, І.Т.  
Ендометрій у фокусі уваги гінеколога: роль гістероскопії та імуногістохімії в діагностиці хронічного ендометриу, вибір лікування / І.Т. Кишакевич, Н.В. Коцабин, В.В. Радченко // Репродуктивна ендокринологія. — 2017. — № 2. — С. 24–27.
- Kyshakevych, I.T., Kotsabyn, N.V., Radchenko, V.V.  
“Endometrium in the focus of gynecologist: the role of hysteroscopy and immunohistochemistry in the diagnosis of chronic endometritis, the choice of treatment.” *Reproductive Endocrinology* 2 (2017): 24–7.
- Ключаров, І.В.  
Хирургическая микрогистероскопия при внутриматочных синехиях / И.В. Ключаров, А.А. Хасанов // Практическая медицина. Актуальные проблемы медицины. — 2012. — Т. 1. — С. 94–95.
- Klyucharov, I.V., Hasanov, A.A.  
“Surgical microhysteroscopy for intrauterine synechiae.” *Practical Medicine. Actual problems of medicine* 1 (2012): 94–5.
- Козуб, М.І.  
Оптимізація методики лікування та реабілітації хворих з безпліддям, зумовленим запальними захворюваннями додатків матки / М.І. Козуб, О.В. Риженко // Український журнал медицини, біології та спорту. — 2018. — Т. 3, № 1 (10). — С. 183–189.
- Kozub, M.I., Ryzhenko, O.V.  
“Optimization of methods of treatment and rehabilitation of patients with infertility caused by inflammatory diseases of the uterine appendages.” *Ukr J Med Biol Sport* 3.1.10 (2018): С. 183–9.
- Козуб, М.І., Козуб, М.М., Ладна, І.Д.  
Спосіб відновлення рецепторів ендометрія у пацієнток, що перенесли запальні захворювання матки. Патент України на корисну модель № 109874 від 12.09.2016. Бюл. № 17.
- Kozub, M.I., Kozub, M.M., Ladna, I.D.  
Method of restoring endometrial receptors in patients with inflammatory diseases of the uterus. Patent of Ukraine for utility model № 109874 dated 12.09.2016. *Bulletin* № 17.
- Лисица, В.  
Ведение пациенток с воспалительными заболеваниями органов малого таза. Обзор рекомендаций Британской ассоциации сексуального здоровья и ВИЧ // Медицинские аспекты здоровья женщины. — 2018. — № 3. — С. 17–23.
- Lysytsia, V.  
“Management of patients with inflammatory diseases of the pelvic organs. Review of the British Association for Sexual Health and HIV recommendations.” *Medical aspects of women’s health* 3 (2018): 17–23.
- Онлас, А.Р.  
Взгляд доказательной медицины на проблему внутриматочных синехий / А.Р. Онлас, Д.В. Джакупов, З.Е. Бармашева // Вестник КазНМУ. — 2016. — № 3. — С. 265–275.
- Onlas, A.R., Dzhakupov, D.V., Barmasheva, Z.E.  
“Evidence-based medicine perspective on the problem of ectopic blueness.” *Bulletin of KazNMU* 3 (2016): 265–75.
- Снопкова, Л.В.  
Сучасні можливості діагностики хронічного ендометриу / Л.В. Снопкова, В.І. Черепова, Л.І. Кандиба, І.М. Сикал // Проблеми безперервної медичної освіти та науки. — 2019. — № 3 (35). — С. 68–72.
- Snopkova, L.V., Cherepova, V.I., Kandyba, L.I., Sykal, I.M.  
“Modern possibilities of diagnosis of chronic endometritis.” *Problems of uninterrupted medical training and science* 3.35 (2019): 68–72.
- Снопкова, Л.В.  
Сучасні особливості лікування хронічного ендометриу у жінок репродуктивного віку / Л.В. Снопкова, Л.І. Кандиба, І.М. Сикал, В.М. Ольховська // Проблеми безперервної медичної освіти та науки. — 2020. — № 3 (39). — С. 55–59.
- Snopkova, L.V., Kandyba, L.I., Sykal, I.M., Olhovska, V.M.  
“Modern features of treatment of chronic endometritis in women of reproductive age.” *Problems of uninterrupted medical training and science* 3.39 (2020): 55–9.
- Сил, Н., Яка, М., Унал, М.С., et al.  
“Adipose derived mesenchymal stem cell treatment in experimental Asherman syndrome induced rats.” *Mol Biol Rep* 47.6 (2020): 4541–52.  
DOI: 10.1007/s11033-020-05505-4
- Cocchia, M.E., Becattini, C., Bracco, G.L., et al.  
“Intraoperative ultrasound guidance for operative hysteroscopy. A prospective study.” *J Reprod Med* 45 (2000): 413–8.
- Conforti, A., Alviggi, C., Mollo, A., et al.  
“The management of Asherman syndrome are view of literature.” *Reprod Biol Endocrinol* 11.118 (2013).  
DOI: 10.1186/1477-7827-11-118
- Deans, R., Abbott, J.  
“Review of intrauterine adhesions.” *J Minim Invasive Gynecol* 17 (2010): 555–69.
- Di Spiezo Sardo, A., Spinelli, M., Bramante, S., et al.  
“Efficacy of a polyethyleneoxide-sodiumcarboxymethylcellulose gel in prevention of intrauterine adhesions after hysteroscopic surgery.” *J Minim Invasive Gynecol* 18.4 (2011): 462–9.
- Domnina, A., Novikova, P., Obidina, J., et al.  
“Human mesenchymal stemcells in spheroids improve fertility in model animals with damaged endometrium.” *Stem Cell Res Ther* 9.1 (2018): 50.  
DOI: 10.1186/s13287-018-0801-9
- Hou, X., Liu, Y., Streuli, I., et al.  
“Endometrial Regeneration in Asherman’s Syndrome: Clinical and Translational evidence of Stem Cell Therapies.” *Curr Stem Cell Res Ther* 14.6 (2019): 454–9.  
DOI: 10.2174/1574888X14666190213100528
- Kilic, S., Yuksel, B., Pinarli, F., et al.  
“Effect of stemcell application on Asherman syndrome, an experimental rat model.” *J Assist Reprod Genet* 31 (2014): 975–82.  
DOI: 10.1007/s10815-014-0268-2
- Kitaya, K., Takeuchi, T., Mizuta, S.  
“Endometritis: new time, new concepts.” *Fertil Steril* 110.3 (2018): 344–50.  
DOI: 10.1016/j.fertstert.2018.04.012
- Kozub, M.I., Skybina, K.P., Musatova, I.B.  
“Comparison of therapeutic effects of different methods of administration of mezenchimal stem cells to mice with premature ovarian insufficiency.” *Problems of Endocrine Pathology* 76.2 (2021): 35–40.
- Lee, W.-L., et al.  
“Focus on the Primary Prevention of Intrauterine Adhesions: Current Concept and Vision.” *Int J Mol Sci* 22.10 (2021): 5175.  
DOI: 10.3390/ijms22105175
- Liu, F., Hu, S., Yang, H., et al.  
“Hyaluronic Acid Hydrogel integrated with Mesenchymal Stem Cell-Secretome to Treat Endometrial Injury in a rat model of Asherman’s syndrome.” *Adv Healthc Mater* 8.14 (2019): e1900411.  
DOI: 10.1002/adhm.201900411
- Park, H.I., Kim, Y.S., Yoon, T.K., Lee, W.S.  
“Cronic endometritis and fertility.” *Clin Exp Reprod Med* 45.4 (2016): 185–192.
- Queckbörner, S., et al.  
“Endometrial stromal cells exhibit a distinct phenotypic and immunomodulatory profile.” *Stem Cell Res Ther* 11.1 (2020): 15.  
DOI: 10.1186/s13287-019-1496-2
- Roy, K.K., Baruah, J., Sharma, J.B., et al.  
“Reproductive outcome following hysteroscopic adhesiolysis in patients within fertility due to Asherman’s syndrome.” *Arch Gynecol Obstet* 281 (2010): 355–61.
- Tao, Z., Duan, H.  
“Expression of adhesion-related cytokines in the uterine fluid after transcervical resection of adhesion.” *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 47 (2012): 734–7.
- Tersoglio, A.E., Tersoglio, S., Salatino, D.R., et al.  
“Regenerative therapy by endometrial mesenchymal stem cells in thin endometrium repeated implantation failure. A novel strategy.” *JBRA Assist Reprod* 24.2 (2020): 118–27.  
DOI: 10.5935/1518-0557.20190061
- Vesce, F., Jorizzo, G., Bianciotto, A., Gotti, G.  
“Use of intrauterine device in the management of secondary amenorrhea.” *Fertil Steril* 73 (2000): 162–5.
- Yu, D., Wong, Y.M., Cheong, Y., et al.  
“Asherman syndrome – one century later.” *Fertil Steril* 89 (2008): 759–79.
- Zhao, Y., Luo, Q., Zhang, X., et al.  
“Clinical Efficacy and Safety of Stem Cell-Based Therapy in Treating Asherman Syndrome: A System Review and Meta-Analysis.” *Stem Cells Int* 2020 (2020): 8820538.  
DOI: 10.1155/2020/8820538
- Zikopoulos, K.A., Kolibianakis, E.M., Platteau, P., et al.  
“Live delivery rates in subfertile women with Asherman’s syndrome after hysteroscopic adhesiolysis using the resectoscope or the Versapoint system.” *Reprod Biomed Online* 8 (2004): 720–5.

## ПЕРШИЙ ДОСВІД ВІДНОВЛЕННЯ РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ ПАЦІЄНТОК ІЗ СИНДРОМОМ АШЕРМАНА З ЗАСТОСУВАННЯМ АУТОЛОГІЧНИХ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН

### Клінічний випадок

**М.І. Козуб**, д. мед. н., професор, завідувач кафедри акушерства і гінекології № 2 ХМАПО, м. Харків

**С.М. Граматюк**, к. мед. н., професор кафедри порівняльних біомедичних наук Університету штату Луїзіана, президент Асоціації біобанків України, директор ТОВ «Інститут клітинної біореабілітації», м. Харків

**М.М. Козуб**, д. мед. н., професор кафедри акушерства і гінекології та онкологічної гінекології ХМАПО, м. Харків

**М.П. Сокол**, к. мед. н., доцент кафедри акушерства і гінекології № 2 ХМАПО, м. Харків

**Л.І. Гирман**, к. мед. н., доцент кафедри акушерства і гінекології № 2 ХМАПО, м. Харків

**О.В. Книгавко**, д. мед. н., професор кафедри урології, нефрології та андрології ім. А.Г. Подреза ХНМУ, м. Харків

**Л.М. Савельєва**, лікар-інтерн КНП ХОР «Обласний клінічний перинатальний центр», м. Харків

Основна мета при лікуванні синдрому Ашермана – відновлення об'єму та форми порожнини матки, регенерація ендометрію, рецепторів і репродуктивної функції пацієнтки. Останніми роками окрім УЗД для діагностики внутрішньоматкових синехій широко використовують офісну гістероскопію. Найбільш стандартизованими етапами лікування синдрому Ашермана є гістероскопічне розсічення синехій порожнини матки та профілактика виникнення повторної адгезії ендометрію в післяопераційний період, що досягається введенням внутрішньоматкового контрацептива, протиспайкових засобів або внутрішньоматкових балонних катетерів.

Основні труднощі полягають у пошуку ефективних способів профілактики адгезії, яка виникає після видалення внутрішньоматкового контрацептива чи катетера Фолея з порожнини матки, та способів відновлення морфологічного стану ендометрію в жінок, які бажають реалізувати репродуктивну функцію. Найбільш перспективним у цьому напрямі є використання аутологічних ендометріальних стовбурових клітин.

Наводимо клінічний випадок пацієнтки репродуктивного віку з безпліддям та синдромом Ашермана. Лікування жінки проводили в межах клінічного дослідження Clinical Trials.gov Identifier: NCT04675970. Напередодні гістероскопічного етапу терапії з роз'єднання синехій у порожнині матки пацієнтці проведено забір 20,0 мл венозної крові, методом магнітного розділення системи autoMACS Pro Separator (Miltenyi Biotec) були виділені мезенхімальні стовбурові клітини (MSCs). Згідно з міжнародними рекомендаціями для клінічного застосування використали MSCs 6-го пасажу. Підтвердження належності виділених клітин до MSCs-групи виконували за допомогою набору Bio-Techne FMC-020 (Велика Британія). Додатково MSCs було диференційовано до ендометріальних клітин, що підтверджено за допомогою маркерів відповідності клітин ендометрію в поколіннях P0-P3 (пасаж 0 – пасаж 3) з використанням набору MicroBead Kit (США). Оперативний етап лікування включав проведення офісної гістероскопії з виконанням синехіолізу зрощень ендодерміксу та ендометрію за допомогою ножиць. Для відновлення структури ендометрію наприкінці гістероскопії проведено субендометріальне введення аутологічних ендометріальних MSCs із подальшим уведенням у порожнину матки срібловмісної внутрішньоматкової системи та призначенням високодозової ад'ювантної терапії естрогенами на 3 тижні в післяопераційний період. Вагітність у пацієнтки настала спонтанно за 2 роки після втручання. Народилася доношена дівчинка.

Результати клінічного випадку свідчать про перспективність застосування аутологічних стовбурових клітин крові, перетворених на ендометріальні клітини, у лікуванні безпліддя пацієнток із СА за відсутності ефекту від попередніх спроб відновлення фертильності традиційними методами терапії.

**Ключові слова:** синдром Ашермана, гістероскопія, аутологічні стовбурові клітини ендометрію, профілактика внутрішньоматкових синехій, відновлення менструації, відновлення фертильності.

## THE FIRST EXPERIENCE OF REPRODUCTIVE FUNCTION RESTORATION IN PATIENTS WITH ASHERMAN'S SYNDROME USING AUTOLOGOUS MESENCHYMAL STEM CELLS

### Clinical case

**M.I. Kozub**, MD, professor, chief of the Obstetrics and Gynecology Department No. 2, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv

**S.M. Hramatiuk**, PhD, professor, Department of Comparative Biomedical Sciences, Louisiana State University, president of the Ukrainian Association of Biobanks, director of the Institute of Cellular Biorehabilitation, Kharkiv

**M.M. Kozub**, MD, associate professor, Obstetrics and Gynecology and Oncogynecology Department, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv

**M.P. Sokol**, PhD, associate professor, Obstetrics and Gynecology Department No. 2, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv

**L.I. Hyrman**, PhD, associate professor, Obstetrics and Gynecology Department No. 2, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv

**O.V. Knihavko**, MD, professor, A.G. Podreza Department of Urology, Nephrology and Andrology, Kharkiv National Medical University, Kharkiv

**L.M. Savelieva**, intern, Municipal Non-Profit Enterprise of the Kharkiv Regional Council "Regional Clinical Perinatal Center", Kharkiv

The main goal of Asherman's syndrome treatment is to restore the volume and shape of the uterine cavity, regenerate the endometrium and reproductive function. Recently, in addition to ultrasound diagnostics of intrauterine synechiae, office hysteroscopy is widely used. The most standardized stages of Asherman's syndrome treatment are hysteroscopic dissection of the uterine cavity synechiae and endometrium re-adhesion prevention in the postoperative period, which is achieved by the introduction of the intrauterine device, anti-adhesive drugs or balloon catheters inserted intrauterinely.

The main difficulties are to find effective ways to prevent adhesion that occurs after removal of mechanical means from the uterine cavity and ways to restore the endometrium morphology in patients wishing to achieve pregnancy. The most promising technique in this area is the use of autologous endometrial stem cells.

Here is a case of treatment of a reproductive age patient with infertility and Asherman's syndrome. The clinical case was a part of a clinical trial Clinical Trials.gov Identifier: NCT04675970. On the eve of the operative stage for uterine cavity synechiae separation 20.0 ml of venous blood was taken. Mesenchymal stem cells (MSCs) were isolated from the patient's peripheral blood using the magnetic separation method of the autoMACS Pro Separator (Miltenyi Biotec). According to the international instructions, 6th passage MSCs were clinically used. Confirmation of belonging the derived cells to the MSCs group was performed using the set Bio-Techne FMC-020 (Great Britain). In addition, MSCs were differentiated to endometrial cells, which was confirmed using endometrial cell matching markers in generations P0-P3 (passage 0 – passage 3) with the MicroBead Kit (USA).

The operative stage of treatment included office hysteroscopy, mechanical synechiolysis in the endocervix and endometrium and introduction of a silver-containing intrauterine device. Subendometrial injection of autologous endometrial MSCs was performed to restore the endometrium structure at the end of hysteroscopy. High dose adjuvant estrogen therapy followed for 3 weeks. Pregnancy was achieved spontaneously 2 years after the intervention. The patient gave birth to a full-term baby girl.

The results of the clinical case indicate the prospects for the use of autologous blood stem cells converted into endometrial cells in the treatment of infertility in patients with CA in the absence of effect from previous attempts to restore fertility by traditional therapies.

**Keywords:** Asherman's syndrome, hysteroscopy, autologous endometrial stem cells, prevention of intrauterine synechiae, restoration of menstruation, fertility restoration.