

УДК 618.177-089.888.11: 618.14.145-007.61  
DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1434394>

## **ЗМІНИ МОЛЕКУЛЯРНОГО ПРОФІЛЮ ІМПЛАНТАЦІЇ У ЖІНОК В ЦИКЛАХ ЗАПЛІДНЕННЯ *IN VITRO* У РАЗІ РОЗВИТКУ СИНДРОМУ ГІПЕРСТИМУЛЯЦІЇ ЯЄЧНИКІВ**

**Носенко<sup>1</sup> О.М., Айзятупова<sup>2</sup> Д.Р.**

<sup>1</sup>Одеський національний медичний університет;

<sup>2</sup>Донецький національний медичний університет, м. Лиман

## **ИЗМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ПРОФИЛЯ ИМПЛАНТАЦИИ У ЖЕНЩИН В ЦИКЛАХ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ *IN VITRO* ПРИ РАЗВИТИИ СИНДРОМА ГИПЕРСТИМУЛЯЦИИ ЯИЧНИКОВ**

**Носенко<sup>1</sup> Е.Н., Айзятупова<sup>2</sup> Д.Р.**

<sup>1</sup> Одесский национальный медицинский университет;

<sup>2</sup> Донецкий национальный медицинский университет, г. Лиман

## **CHANGES OF THE MOLECULAR PROFILE OF IMPLANTATION IN WOMEN IN THE CYCLES OF *IN VITRO* FERTILIZATION IN THE DEVELOPMENT OF OVARIAN HYPERSTEMULATION SYNDROME**

**Nosenko<sup>1</sup> O.M., Aizyatulova<sup>2</sup> D.R.**

<sup>1</sup> Odessa National Medical University;

<sup>2</sup> Donetsk National Medical University, Lyman city

### **Резюме (Summary)**

У статті приведені дані визначення молекулярного профілю факторів імплантації в ендометрії жінок із заплідненням *in vitro*, ускладненим синдромом гіперстимуляції яєчників (СГСЯ). Встановлено, що морфофункціональний стан ендометрія у разі СГСЯ супроводжується статистично значимими змінами експресії НОХА-10, гр130, інтерлейкіну-6 (IL-6), його рецептору sIL-6R, судинно-ендотеліального фактору росту (VEGF), лейкоїї інгібуючого фактору (LIF) та його рецептору LIFR на тлі відсутності різниці експресії  $\alpha V\beta 3$ -інтегринів. Виявлені зміни молекулярного профілю факторів імплантації у разі СГСЯ свідчать за доцільність сегментації циклу запліднення *in vitro* та проведення підготовки ендометрія до переносу вітрифікованих/відігрітих ембріонів у наступних менструальних циклах.

**Ключові слова:** запліднення *in vitro*, синдром гіперстимуляції яєчників, імплантація, фактори імплантації, імуногістохімія.

В статье приведены данные определения молекулярного профиля факторов имплантации в эндометрии женщин с оплодотворением *in vitro*, осложненным синдромом гиперстимуляции яичников (СГЯ). Установлено, что морфофункциональное состояние эндометрия при СГЯ сопровождается статистически значимыми изменениями экспрессии НОХА-10, гр130, интерлейкина-6 (IL-6), его рецептора sIL-6R, сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF), лейкоїї ингибирующего фактора (LIF) и его рецептора LIFR на фоне отсутствия разницы в экспрессии  $\alpha V\beta 3$ -интегринов. Выявленные изменения молекулярного профиля факторов импланта-

ции в случае развития СГЯ свидетельствуют о целесообразности сегментации циклов оплодотворения *in vitro* и проведения подготовки эндометрия к переносу витрифицированных/отогретых эмбрионов в последующих менструальных циклах.

**Ключевые слова:** оплодотворение *in vitro*, синдром гиперстимуляции яичников, имплантация, факторы имплантации, иммуногистохимия.

The data of the determination of the molecular profile of the factors of implantation in the endometrium of women with *in vitro* fertilization complicated by the ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) are presented. It has been established that the morphofunctional state of the endometrium in OHSS is accompanied by statistically significant changes in the expression of HOXA-10, gp130, interleukin-6 (IL-6), its receptor — sIL-6R, vascular endothelial growth factor (VEGF), induction leukemia factor (LIF) and its receptor LIFR on the background of no difference in the expression of  $\alpha\text{V}\beta\text{3}$  integrins. The revealed changes in the molecular profile of the implantation factors in the case of the development of the OHSS testify to the advisability of segmentation of the *in vitro* fertilization cycles and the preparation of the endometrium for the transfer of vitrified / warmed embryos in subsequent menstrual cycles.

**Key words:** *in vitro* fertilization, ovarian hyperstimulation syndrome, implantation, implantation factors, immunohistochemistry.

Синдром гіперстимуляції яєчників (СГСЯ) є найважливішим потенційно небезпечним для життя жінок ятрогенним ускладненням контрольованої оваріальної стимуляції (КОС) при заплідненні *in vitro* [2, 11]. Для повної профілактики СГСЯ у групах ризику рекомендується вітрифікація всіх ембріонів, сегментація циклу запліднення *in vitro* і трансфер вітрифікованих/розморожених ембріонів у наступних циклах [7, 13, 16].

Більшість дослідників сходяться на тому, що при перенесенні морфологічно якісних вітрифікованих/розморожених ембріонів однією зі значних причин невдач циклів запліднення *in vitro* є порушення рецептивності ендометрія [18]. Показано, що КОС змінює профілі експресії генів в ендометрії при дослідженні як моделей тварин, так і людей. Була виявлена різниця в експресії понад 200 генів, включаючи гени, що регулюють ангиогенез і ранню імплантацію [19]. У доступній літературі є поодинокі роботи, присвячені оцінці стану морфофункціонального ендометрія у жінок з СГСЯ, що потребує проведення подальших досліджень.

**Метою дослідження** стало визначення молекулярного профілю факторів імплантації в ендометрії жінок із заплідненням *in vitro*, ускладненим синдромом гіперстимуляції яєчників.

#### Матеріал і методи

Вивчено морфофункціональний стан ендометрія у період передбачуваного вікна імплантації у жінок з раннім СГСЯ (n = 78) в циклі штучного запліднення *in vitro* порівняно із жінками групи КІ без СГСЯ в циклі штучного запліднення *in vitro* (n = 30) і здоровим фертильним контролем групи КІІ (n = 30).

Гістологічне та імуногістохімічне (ІГХ) дослідження біоптатів ендометрія у жінок групи СГСЯ, КІ і КІІ проводили після отримання інформованої згоди на забір ендометрія в день передбачуваного переносу ембріонів у свіжому циклі КОС. Біопсію ендометрія проводили під ультразвуковим контролем з області дна матки за допомогою аспіраційної пайпель-кюретки Pipelle de Cornier Laboratoire S.C.D., Франція). Вивчали експресію HOXA-10, VEGF, LIF, IL-6R і LIFR, gp130,  $\alpha\text{V}\beta\text{3}$ -інтегринів на депара-

фінізованих | і дегідратованих | зрізах авідин-біотин-пероксидазним методом за стандартною методикою.

Імунозабарвлення НОХА-10 виконували за допомогою моноклональних антитіл (МАТ) проти НОХА10 (sc-17159, Santa Cruz Biotechnology, США); VEGF — з МАТ проти людського VEGF (Clone VG1, code No. M727329, DakoCytomation, Данія); LIF — мишачих МАТ проти LIF (J-14F. SC-80159, Santa Cruz Biotechnology Inc., США); IL-6 — кролячих антитіл проти IL-6 (code No CXH1-066LS, Cambridge Bioscience, Великобританія); IL-6R — кролячих антитіл проти IL-6R (catalog No sc-661; Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, США); LIFR — кролячих поліклональних антитіл (ПАТ) проти IL-6R (catalog No sc-661, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, США); gp130 — козячих ПАТ проти gp130 (BAF 228, R&D Systems);  $\alpha\text{V}\beta\text{3}$ -інтегринів — мишачих МАТ проти людських  $\alpha\text{V}\beta\text{3}$ -інтегринів (clone LM609, Chemicon®, США, розведення 1: 200). У кожному випадку негативний контроль проводився за відсутності інкубації з основним специфічним антитілом.

При оцінці ендометріальної експресії досліджуваних цитокінів підраховували позитивно забарвлені клітини у трьох полях зору і розраховували відсоток позитивних клітин по відношенню не менше, ніж у 1000 клітинних елементів строми або залоз. При кількісній оцінці використовували формулу  $H\text{-SCORE} = \sum P_i (i + 1)$ , де інтенсивність імунозабарвлення мала значення 0, 1, 2 або 3 (жоден, слабкий, помірний, сильний), і  $P_i$  — відсоток забарвлених ядер для кожної інтенсивності.

Мікроскопію препаратів і усі морфометричні дослідження проводили на дослідницькому мікроскопі Olympus AX70 Provis (Olympus, Японія) за допомогою програми аналізу зображення Analysis 3.2 Pro (Soft Imaging, Німеччина) згідно з рекомендаціями виробника програм-

ного забезпечення.

Обробку та аналіз даних статистичної інформації проводили з використанням програмного комплексу IBM SPSS Statistics 22 (Statistical Package for the Social Science).

### Результати та їх обговорення

Представник сімейства гомеобоксних генів НОХА-10 експресується в ядрах епітелію залоз і строми ендометрія; саме в період «вікна імплантації» його експресія значно зростає і залишається підвищеною до кінця менструального циклу. Він кодує транскрипційні фактори, істотні для рецептивності ендометрія та імплантації ембріона. Описано близько 40 генів, регульованих НОХА-10 [6]. Оцінка молекулярного імплантаційного профілю ендометрія показала, що стромальна експресія НОХА-10 у нашому дослідженні була значимо більш виражена, ніж залозиста, як при заплідненні *in vitro*, ускладненому СГСЯ (в 2,53 раза), так і при заплідненні *in vitro* без СГСЯ (в 2,01), так і в групі умовно здорових фертильних жінок (в 2,66). Відмічали значиме зниження НОХА-10 в групі з СГСЯ в залозах і стромі порівняно з групою КІ в 1,32 і в 1,05 раза ( $171,15 \pm 4,53$  проти  $226,44 \pm 8,83$  % ( $p < 0,01$ ) і  $431,47 \pm 10,16$  проти  $452,71 \pm 16,55$  % ( $p > 0,05$ )) і з групою КІІ — в 1,49 і в 1,57 раза ( $171,15 \pm 4,53$  проти  $254,25 \pm 6,39$  % ( $p < 0,01$ ) і  $431,47 \pm 10,16$  проти  $679,00 \pm 11,77$  % ( $p < 0,01$ )).

LIF, за даними більшості дослідників, один з ключових паракринних маркерів, що регулює безліч процесів до і під час імплантації бластоцисти. LIF активує децидуалізацію строми за рахунок підвищення продукції цитокінів і простагландинів, збільшує експресію генів, залучених в трансформацію ендометрія в рецептивний стан, регулює ріст і розвиток ембріона, стимулює диференціацію трофобласта, бере участь у залученні імунних клітин до місця імплантації,

забезпечує взаємодію клітин трофобласта з ендометрієм за допомогою піноподій і молекул адгезії, грає важливу роль в інвазії ембріона [14]. LIF має властивості прозапального та гемопоетичного цитокіна і частково дублює біологічні властивості IL-6, IL-11, онкостатина M внаслідок наявності з даними цитокінами загального мембранного рецептора gp130. Експресується LIF в залозистому епітелії і стромі протягом усього менструального циклу, досягаючи максимуму в середню фазу секреції і залишається відносно високим майже до кінця менструального циклу [8]. Виявлено зниження експресії LIF в ендометрії у пацієнок з безпліддям неясного генезу і звичною недостатністю імплантації в порівнянні з помірною експресією в проліферативну фазу і високою в секреторну у фертильних жінок [20]. Повідомляється, що у жінок з безпліддям з вираженою експресією LIF в середині лютеїнової фази шанси на досягнення вагітності були в 6 разів вище, ніж у пацієнок зі зниженою експресією LIF [15].

У досліджуваних нами біоптатах ендометрія епітеліальні клітини були основним джерелом іммуноактивності LIF у пацієнок досліджуваних груп, іммунозабарвлення варіювало від слабкого до помірного. Іммуноактивність LIF також був виявлений в стромі ендометрія, зокрема в децидуалізованих стромальних клітинах, розташованих поблизу спіральних артеріол та ендотеліальних клітин. Відмічалось зниження експресії LIF у групі жінок з СГСЯ порівняно із здоровим контролем в 1,14 раза ( $248,06 \pm 4,46$  проти  $282,67 \pm 3,26$  % ( $p < 0,01$ )) і відсутність статистичної різниці з жінками групи KI ( $248,06 \pm 4,46$  проти  $261,66 \pm 7,17$  %).

LIFR також був локалізований в залозистому епітелії і в децидуалізованих клітинах строми, інтенсивність його іммунозабарвлення була низька. Експресія LIFR була аналогічною з експресією LIF і

зниженою у осіб з СГСЯ порівняно із здоровим контролем в 1,14 раза ( $228,09 \pm 3,94$  проти  $256,97 \pm 2,96$  % ( $p < 0,01$ )) і не мала значимо статистичної різниці з особами групи KI ( $228,09 \pm 3,94$  проти  $235,73 \pm 6,46$  %).

Спостерігалось інтенсивне забарвлення gp130 в ендометрії у всіх досліджуваних жінок. Воно було інтенсивним як у поверхневому, так і у залозистому епітелії. Ендотеліальні клітини на кровеносних судинах також були чітко забарвлені. Під час очікуваного вікна імплантації в стромальних клітинах спостерігалось дуже слабке забарвлення gp130. Експресія gp130 в ендометрії в період очікуваного вікна імплантації в лікувальному циклі у пацієнок з СГСЯ ( $309,26 \pm 5,27$  %) була зниженою порівняно з такою у пацієнок циклів запліднення *in vitro* без СГСЯ в 1,27 раза ( $393,16 \pm 10,78$  %,  $p < 0,01$ ) і фертильного контролю — у 2,52 ( $780,30 \pm 13,92$  %,  $p < 0,01$ ).

IL-6 являє собою багатофункціональний цитокін, який грає важливу роль в імунній відповіді, реакції гострої фази, кровотворенні і може проявляти як про-, так і протизапальні властивості [4]. Даний цитокін виконує важливу роль в регуляції процесів диференціювання та інвазії трофобласта і ремоделюванні маткових спіральних артерій. Дослідження останніх років показують, що зміна рівня IL-6 або його біологічної активності асоційована з ризиком спонтанного переривання вагітності [12]. Своєю дією IL-6 здійснює шляхом зв'язування з комплексом рецепторів, що складаються з двох мембранних білків IL-6R і gp130. У проведеному дослідженні іммунозабарвлення IL-6 та sIL-6R від слабкої до вираженої інтенсивності виявлено як у залозистому епітелії, так і в ізольованих клітинах строми. Ендотеліальні судини кровеносних судин також забарвлювалися IL-6R. Експресія IL-6 в ендометрії у жінок з СГСЯ в період передбачувано-

го вікна імплантації була статистично значимо підвищеною порівняно з групою KI в 1,09 ( $243,37 \pm 4,00$  проти  $223,45 \pm 6,13$  %,  $p < 0,01$ ) і з групою KII в 1,07 рази ( $243,37 \pm 4,00$  проти  $226,48 \pm 3,20$  %,  $p < 0,01$ ). У протилежність цьому експресія sIL-6R була вірогідно зниженою відповідно в 1,33 і 2,00 рази ( $148,20 \pm 2,52$  проти  $197,36 \pm 5,19$  і  $296,80 \pm 3,42$  %).

Безпосередній вплив на процес імплантації надають інтегрини –молекули сімейства трансмембранних глікопротеїнів, що складаються з нековалентно пов'язаних б- і в-субодиниць [1]. Оцінка експресії бV<sub>3</sub>-інтегринів в досліджуваних зразках ендометрія в період очікуваного вікна імплантації не виявила різниці між їх H-SCORE в досліджуваних групах: у групі з СГСЯ H-SCORE бV<sub>3</sub>-інтегринів дорівнював  $278,78 \pm 3,28$  %, у групі K —  $285,07 \pm 5,02$  і у групі KII —  $287,83 \pm 3,53$  %.

Одним з ключових ангіогенних факторів, що відіграють важливу роль в розвитку фізіологічного та патологічного ангіогенезу в ендометрії є судинно-ендотеліальний фактор росту-A (VEGF-A). На ранніх стадіях імплантації VEGF-A бере участь в координації процесів диференціювання, міграції та інвазії трофобласта. У досліджуваних пацієнток групи СГСЯ на тлі набряку строми і розширення судин зареєстровано зниження продукції VEGF в стромальному компартменті ( $45,90 \pm 0,61$  на 1 мм<sup>2</sup> площі зрізу) порівняно з групою KI і KII (відповідно —  $48,95 \pm 0,74$  і  $53,62 \pm 0,93$  на 1 мм<sup>2</sup> площі зрізу).

Іншими авторами також встановлено, що у пацієнток з недостатністю імплантації без органічної патології ендометрія виявлено зниження експресії VEGF-A в середню фазу секреції [9]. Виявлено достовірне зниження рівня VEGF-A в ендометрії у жінок з невдалими спробами запліднення *in vitro* [5]. Порушення ангіогенезу може бути при-

чиною порушення імплантації, циклічної трансформації ендометрія і мимовільних викиднів після штучного запліднення.

Таким чином, імплантація є багатоетапним процесом міжмолекулярних і міжклітинних взаємодій, які визначаються синхронністю розвитку ембріона та ендометрія [3]. Успішну імплантацію визначає комплекс структурно-функціональних характеристик ендометрія (генетичних, протеомних і морфологічних), що забезпечує рецептивність ендометрія [10, 17]. Різні молекули адгезії, цитокіни та фактори росту відіграють вирішальну роль в процесі імплантації бластоцисти. Проведене дослідження показало зміни молекулярного профілю факторів імплантації у разі СГСЯ, що свідчить на користь сегментації циклу у цьому випадку та потребує проведення підготовки ендометрія до переносу вітрифікованих/відігрітих ембріонів у наступних циклах.

### Висновки

Зміни молекулярного профілю факторів імплантації у разі СГСЯ свідчать за доцільність сегментації циклу запліднення *in vitro* та проведення підготовки ендометрія до переносу вітрифікованих/відігрітих ембріонів у наступних циклах.

### Література

1. Аганезов СС, Аганезова НВ, Мороцкая АВ, Пономаренко КЮ. Рецептивность эндометрия у женщин с нарушениями репродуктивной функции. Журнал акушерства и женских болезней. 2017; 66 (3): 135–142. doi: 10.17816/JOWD663135-142.
2. Вітюк АД. Синдром гіперстимуляції яєчників: прогнозування та профілактика. Здоровье жнщины. 2016. 7 (113): 162–166.
3. Крылова ЮС, Кветной ИМ, Айламазян ЭК. Рецептивность эндометрия: молекулярные механизмы регуляции имплантации. Журнал акушерства и женских болезней. 2013; (2): 63-74.
4. Носенко ОМ, Айзятупова ЕМ, Айзятупова ДР. Интерлейкин (IL)-6 як прогностич-

- ний маркер синдрому гіперстимуляції яєчників (СГСЯ) при проведенні допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ). Імунологія та алергологія: наука і практика. 2015; 2 (Додаток 1): 13–14.
5. Ольховская МА. Комплексная оценка состояния эндометрия в программе ЭКО: автореф. дис.... канд. мед. наук: 14.01.01. Москва, 2007. 28 с.
  6. Шуршалина АВ, Демуря ТА. Морфо-функциональные перестройки эндометрия в «окно имплантации». Акушерство и гинекология. 2011; 7-2: 9-13.
  7. Devroey P, Polyzos NP, Bockell C. An OHSS-free clinic by segmentation of IVF treatment. *Hum. Reprod.* 2011; 10: 2593–2597.
  8. Franasiak JM, Holoch KJ, Yuan L, Schammel DP, Young SL, Lessey BA. Prospective assessment of midsecretory endometrial leukemia inhibitor factor expression versus бнв3 testing in women with unexplained infertility. *Fertil Steril.* 2014 Jun; 101 (6): 1724-31. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.02.027.
  9. Irani M, Seifer DB, Grazi RV, Irani S, Rosenwaks Z, Tal R. Vitamin D Decreases Serum VEGF Correlating with Clinical Improvement in Vitamin D-Deficient Women with PCOS: A Randomized Placebo-Controlled Trial. *Nutrients.* 2017 Mar 28; 9 (4). pii: E334. doi: 10.3390/nu9040334.
  10. Miravet-Valenciano JA, Rincon-Bertolin A, Vilella F, Simon C. Understanding and improving endometrial receptivity. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2015; 27 (3): 187-92.
  11. Namavar Jahromi B, Parsanezhad ME, Shomali Z, Bakhshai P, Alborzi M, Moin Vaziri N, Anvar Z. Ovarian Hyperstimulation Syndrome: A Narrative Review of Its Pathophysiology, Risk Factors, Prevention, Classification, and Management. *Iran J Med Sci.* 2018 May; 43 (3): 248-260.
  12. Pitman H, Innes BA, Robson SC, Bulmer JN, Lash GE. Altered expression of interleukin-6, interleukin-8 and their receptors in decidua of women with sporadic miscarriage. *Hum Reprod.* 2013 Aug; 28 (8): 2075-86. doi: 10.1093/humrep/det233.
  13. Roque M, Valle M, Kostolias A, Sampaio M, Geber S. Freeze-all cycle in reproductive medicine: current perspectives. *JBRA Assist Reprod.* 2017; 21 (1): 49-53. doi: 10.5935/1518-0557.20170012.
  14. Salleh N, Giribabu N. Leukemia inhibitory factor: roles in embryo implantation and in nonhormonal contraception. *ScientificWorldJournal.* 2014; 2014: 201514. doi: 10.1155/2014/201514.
  15. Serafini P, Rocha AM, Osyrio CT, da Silva I, Motta EL, Baracat EC. Endometrial leukemia inhibitory factor as a predictor of pregnancy after in vitro fertilization. *Int J Gynaecol Obstet.* 2008 Jul; 102 (1): 23-7. doi: 10.1016/j.ijgo.2007.12.005.
  16. Seyhan A, Ata B, Polat M, Son WY, Yarali H, Dahan MH. Severe early ovarian hyperstimulation syndrome following GnRH agonist trigger with the addition of 1500 IU hCG. *Hum. Reprod.* 2013; 28: 2522–2528.
  17. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Current clinical irrelevance of luteal phase deficiency: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2015; 103 (4): 27-32. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.12.128.
  18. Timeva T, Shterev A, Kyurkchiev S. Recurrent implantation failure: the role of the endometrium. *J Reprod Infertil.* 2014 Oct; 15 (4): 173-83.
  19. Weinerman R, Mainigi M. Why we should transfer frozen instead of fresh embryos: the translational rationale. *Fertil Steril.* 2014 Jul; 102 (1): 10–18. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.05.019.
  20. Wu M, Yin Y, Zhao M, Hu L, Chen Q. The low expression of leukemia inhibitory factor in endometrium: possible relevant to unexplained infertility with multiple implantation failures. *Cytokine.* 2013 May; 62 (2): 334-9. doi: 10.1016/j.cyto.2013.03.002.

#### References

1. Aganezov SS, Aganezova NV, Morotskaya AV, Ponomarenko CY. Receptivity of the endometrium in women with impaired reproductive function. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases.* 2017; 66 (3): 135-142. doi: 10.17816 / JOWD663135-142.
2. Vityuk AD. Ovarian hyperstimulation syndrome: prognosis and prophylaxis. *The health of the woman.* 2016 7 (113): 162-166.
3. Krylova YUS, Kvetnoy IM, Ailamazyan EC. Receptivity of the endometrium: molecular

- mechanisms of regulation of implantation. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2013; (2): 63-74.
4. Nosenko OM, Azyyatulova EM, Azyyatulova DR. Interleukin (IL) -6 as a prognostic marker for ovarian hyperstimulation syndrome (GHSА) in assisted reproductive technologies (ART). *Immunology and Allergy: Science and Practice*. 2015; 2 (Annex 1): 13-14.
  5. Olkhovsky MA Complex assessment of the state of the endometrium in the IVF program: Thesis for degree of medical sciences candidate after specialty 14.01.01 — obstetrics and gynaecology. Moscow, 2007. 28 p.
  6. Shurshalina AV, Demura TA Morpho-functional rearrangements of the endometrium in the "implantation window". *Obstetrics and gynecology*. 2011; 7-2: 9-13.
  7. Devroey P, Polyzos NP, Bockell C. An OHSS-free clinic by segmentation of IVF treatment. *Hum. Reprod*. 2011; 10: 2593–2597.
  8. Franasiak JM, Holoch KJ, Yuan L, Schammel DP, Young SL, Lessey BA Prospective assessment of midsecretory endometrial-leukemia inhibitor factor expression versus бнв3 testing in women with unexplained infertility. *Fertil Steril*. 2014 Jun; 101 (6): 1724-31. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.02.027.
  9. Irani M, Seifer DB, Grazi RV, Irani S, Rosenwaks Z, Tal R. Vitamin D Decreases Serum VEGF Correlating with Clinical Improvement in Vitamin D-Deficient Women with PCOS: A Randomized Placebo-Controlled Trial. *Nutrients*. 2017 Mar 28; 9 (4). pii: E334. doi: 10.3390/nu9040334.
  10. Miravet-Valenciano JA, Rincon-Bertolin A, Vilella F, Simon C. Understanding and improving endometrial receptivity. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2015; 27 (3): 187-92.
  11. Namavar Jahromi B, Parsanezhad ME, Shomali Z, Bakhshai P, Alborzi M, Moin Vaziri N, Anvar Z. Ovarian Hyperstimulation Syndrome: A Narrative Review of Its Pathophysiology, Risk Factors, Prevention, Classification, and Management. *Iran J Med Sci*. 2018 May; 43 (3): 248-260.
  12. Pitman H, Innes BA, Robson SC, Bulmer JN, Lash GE. Altered expression of interleukin-6, interleukin-8 and their receptors in decidua of women with sporadic miscarriage. *Hum Reprod*. 2013 Aug; 28 (8): 2075-86. doi: 10.1093/humrep/det233.
  13. Roque M, Valle M, Kostolias A, Sampaio M, Geber S. Freeze-all cycle in reproductive medicine: current perspectives. *JBRA Assist Reprod*. 2017; 21 (1): 49-53. doi: 10.5935/1518-0557.20170012.
  14. Salleh N, Giribabu N. Leukemia inhibitory factor: roles in embryo implantation and in nonhormonal contraception. *Scientific-WorldJournal*. 2014; 2014: 201514. doi: 10.1155/2014/201514.
  15. Serafini P, Rocha AM, Osyrio CT, da Silva I, Motta EL, Baracat EC. Endometrial leukemia inhibitory factor as a predictor of pregnancy after in vitro fertilization. *Int J Gynaecol Obstet*. 2008 Jul; 102 (1): 23-7. doi: 10.1016/j.ijgo.2007.12.005.
  16. Seyhan A, Ata B, Polat M, Son WY, Yarali H, Dahan MH. Severe early ovarian hyperstimulation syndrome following GnRH agonist trigger with the addition of 1500 IU hCG. *Hum. Reprod*. 2013; 28: 2522–2528.
  17. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Current clinical irrelevance of luteal phase deficiency: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2015; 103 (4): 27-32. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.12.128.
  18. Timeva T, Shterev A, Kyurkchiev S. Recurrent implantation failure: the role of the endometrium. *J Reprod Infertil*. 2014 Oct; 15 (4): 173-83.
  19. Weinerman R, Mainigi M. Why we should transfer frozen instead of fresh embryos: the translational rationale. *Fertil Steril*. 2014 Jul; 102 (1): 10–18. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.05.019.
  20. Wu M, Yin Y, Zhao M, Hu L, Chen Q. The low expression of leukemia inhibitory factor in endometrium: possible relevant to unexplained infertility with multiple implantation failures. *Cytokine*. 2013 May; 62 (2): 334-9. doi: 10.1016/j.cyto.2013.03.002.

*Впервые поступила в редакцию 06.09.2018 г.  
Рекомендована к печати на заседании  
редакционной коллегии после рецензирования*