



Сафарова А.Ф.

Азербайджанский медицинский университет, Баку, Азербайджан

Маркеры рецептивности эндометрия у женщин, прошедших процедуру экстракорпорального оплодотворения

Конфликт интересов: не заявлен.

Подана: 26.04.2024

Принята: 26.08.2024

Контакты: mic_amu@mail.ru

Резюме

Цель исследования. Определить маркеры рецептивности эндометрия у женщин, перенесших процедуру экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

Материалы и методы. Всего под наблюдением находилась 191 пациентка, обратившаяся в репродуктивное отделение Caspian International Hospital в период с 2020 по 2022 год для обследования по поводу бесплодия. Пациенткам было проведено ЭКО по стандартным клиническим процедурам. Биопсия эндометрия была выполнена 70 пациенткам (основная группа, $n=50$; контрольная группа, $n=20$) в имплантационном окне (7–9-й день после овуляции в цикле, предшествующем этапу ЭКО). Измеряли уровни экспрессии следующих рецепторов: рецепторы половых стероидов (эстрогена – ER и прогестерона – PR), фактор ингибирования лейкемии (LIF); фактор роста эндотелия сосудов (VEGF); трансформирующий фактор роста β -1 (TGF β 1).

Результаты. При анализе исходов ЭКО у женщин основной группы, обследованных иммуногистохимически, данные были следующими: отсутствие переноса – 5 случаев (10%), отсутствие беременности – 27 случаев (54%), наличие беременности – 23 случая (46%), нарушение цикла – 3 случая (6%). Эндометриальная экспрессия ER, PR у женщин основной группы характеризовалась низкими значениями ER, PR в эпителии и строме эндометрия по сравнению с контрольной группой. Изменения экспрессии стероидных рецепторов были статистически значимыми с различной степенью выраженности. В основной группе по сравнению с контрольной также выявлено достоверное снижение ($p<0,001$) экспрессии LIF в гистологических структурах (строме) эндометрия. Наиболее выраженные различия выявлены по уровню экспрессии TGF β 1 в строме ($p<0,001$).

Заключение. Таким образом, у женщин с бесплодием, перенесших процедуру ЭКО, наблюдаются разнонаправленные изменения маркеров рецептивности эндометрия. Эти изменения свидетельствуют об аномальном функциональном состоянии эндометрия и выражаются у части пациенток в исходах ЭКО, таких как отсутствие переноса ооцитов и отсутствие беременности.

Ключевые слова: рецептивность эндометрия, экстракорпоральное оплодотворение, фактор ингибирования лейкемии, фактор роста эндотелия сосудов, трансформирующий фактор роста β -1

Ayten F. Safarova
Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

The Markers of Endometrial Receptivity in Women Underwent In Vitro Fertilization Procedure

Conflict of interest: nothing to declare.

Submitted: 26.04.2024
Accepted: 26.08.2024
Contacts: mic_amu@mail.ru

Abstract

Purpose of the study. To determine the endometrial receptivity markers in women underwent in vitro fertilization (IVF) procedure.

Materials and methods. In total 191 patients who applied to the reproductive department of Caspian International Hospital between 2020 and 2022 for examination for infertility were observed. The patients underwent IVF according to standard clinical procedures. Endometrium biopsy was performed in 70 (main group, n=50; control group, n=20) of patients within implantation window (7th–9th day after ovulation in the cycle preceding the IVF stage). Following expression levels were measured: sex steroid receptors (estrogen – ER and progesterone – PR), leukemia inhibiting factor (LIF); vascular endothelial growth factor (VEGF); transforming growth factor β -1 (TGF β 1).

Results. When analyzing the outcomes in women of main group who were studied immunohistochemically the data were as following: no transfer – 5 cases (10%), absence of pregnancy – 27 cases (54%), presence of pregnancy – 23 cases (46%), cycle disruption – 3 cases (6%). Endometrial expression of ER, PR in women of the main group had the following characteristics: low expression of ER, PR in the epithelium and stroma of the endometrium in comparison with the control group. Changes in the expression of steroid receptors were statistically significant with varying degrees of severity. A significant decrease ($p < 0.001$) in LIF expression was detected in the histological structures (stroma) of the endometrium in the main study group compared to control group. The most pronounced differences were found out in the level of TGF β 1 expression in stroma ($p < 0.001$).

Conclusions. Thus, women with infertility who underwent IVF procedure has multidirectional changes of endometrial receptivity markers. These changes demonstrate abnormal functional condition of endometrium and expressed in the outcomes of IVF in a part of patients, such as absence of oocytes transfer and absence of pregnancy.

Keywords: endometrial receptivity, in vitro fertilization, leukemia inhibiting factor, vascular endothelial growth factor, transforming growth factor β -1

■ ВВЕДЕНИЕ

Бесплодие, являясь актуальной проблемой медицины, затрагивает около 15–18% пар, в связи с чем решение данной проблемы выделяется в качестве приоритетной задачи общественного здравоохранения во многих регионах мира [1, 2].

Около половины бесплодных пар, согласно статистике, вынуждены прибегать к использованию вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [3]. Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) является наиболее распространенным из применяемых методов ВРТ, тем не менее ЭКО не гарантирует беременности: по имеющимся данным, более половины пар, обратившихся в специализированные учреждения, бывают вынуждены пойти на вторую попытку, а некоторым требуется три и более процедуры ЭКО [4–6].

Своевременное выявление и коррекция нарушений женской репродуктивной функции является стратегически важной задачей современной медицины.

Определенные виды бесплодия или невынашивания беременности являются следствием дефектов эндометриальной рецептивности, что приводит к потере синхронности развития эмбриона, эндометрия и яичника. Эмбриональные факторы составляют примерно треть причин неудач ЭКО, в то время как остальная часть связана с проблемами имплантации [7, 8].

Процесс имплантации состоит из 3 стадий: аппозиции, адгезии, инвазии. Во время стадии аппозиции эмбрион некоторое время находится во взвешенном состоянии у места вероятного прикрепления. В фазу адгезии происходит непосредственный контакт эмбриона с эпителием и его фиксация на поверхности эндометрия. Третья стадия заключается в инвазии клеток трофобласта в эпителий и прорастании в строму, сопровождающихся ремоделированием сосудов эндометрия, активным процессом неоангиогенеза, что обеспечивает адекватное кровоснабжение развивающегося эмбриона и в дальнейшем – установление толерантности иммунной системы матери к плоду [9].

Одним из важных факторов неудачи ЭКО является отсутствие синхронности между созреванием эндометрия и развитием эмбриона, поскольку это может привести к снижению рецептивности эндометрия и отсутствию имплантации. Рецептивность эндометрия (РЭ) – это сложный процесс, который предоставляет эмбриону возможность прикрепляться и развиваться. Период времени, когда эндометрий восприимчив к имплантации бластоцисты, называют имплантационным окном (ИО), что соответствует 6–10-му дням после пика лютеинизирующего гормона в крови или 20–24-му дням 28-дневного менструального цикла. В этот период плазматическая мембрана эпителия эндометрия теряет микроворсинки, а апикальные поверхности клеток формируют куполообразные выпячивания, называемые пиноподиями [10].

Формирование пиноподий во время лютеиновой фазы является основным индикатором готовности эндометрия к имплантации эмбриона, и оценка этого состояния предложена в качестве одного из маркеров РЭ. Появление пиноподий связано с увеличением секреции прогестерона и экспрессией фактора ингибирования лейкемии, интегрина V β 3, эпидермального фактора роста, глутаредоксина, который предполагает их непосредственное участие в процессе имплантации [11].

Был проведен ряд исследований для оценки РЭ на основе анализа биопсии эндометрия, гистероскопии и результатов ультразвукового исследования [12–14]. Наиболее полная оценка состояния эндометрия и его рецептивности возможна с использованием современных иммуногистохимических методов исследования, которые позволяют определить экспрессию факторов роста, цитокинов и компонентов межклеточного вещества. Интерес исследователей сосредоточен на изучении широкого спектра потенциальных маркеров РЭ [8, 12]. Было предложено множество

маркеров-кандидатов, включая интегрины, гликоделины, гены HOXA, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), колониестимулирующий фактор (CSF), интерлейкин-15 и др. [11, 16]. Однако ни один из них не является универсальным маркером РЭ, и этот вопрос еще требует изучения.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить маркеры рецептивности эндометрия у женщин, перенесших процедуру ЭКО.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего под наблюдением находилась 191 пациентка в возрасте 20–50 лет, обратившаяся в репродуктивное отделение Caspian International Hospital в период с 2020 по 2022 год для обследования по поводу бесплодия. Среди факторов бесплодия мы отметили несколько причин: мужской фактор, овариальный фактор, трубный фактор. Кроме того, в некоторых случаях причина бесплодия не была определена. В ряде пар бесплодие было обусловлено причинами с обеих сторон. Для оценки рецептивности эндометрия были сформированы две группы: в основную вошли 50 женщин с различными формами бесплодия (кроме мужского фактора), в контрольную группу вошли 20 женщин, перенесших лечение по причине мужского бесплодия с положительным результатом программы.

Пациенткам было проведено ЭКО согласно стандартным клиническим процедурам. Индукцию овуляции осуществляли введением рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (225 МЕ ежедневно), начиная с третьего дня менструального цикла. После обнаружения двух фолликулов, достигших минимального среднего диаметра 17 мм, вводили хорионический гонадотропин человека (3300–10 000 МЕ). Сбор ооцитов проводили через 36 часов после введения хорионического гонадотропина человека с введением прогестерона в день забора ооцитов. Беременность подтверждали с помощью ультразвукового исследования (УЗИ) через 4–5 недель после переноса эмбрионов.

Овуляцию подтверждали с помощью УЗИ с определением пика лютеинизирующего гормона в моче. Биопсия эндометрия была проведена у 70 пациенток (50 – в основной группе и 20 – в контрольной) в имплантационном окне (7–9-й день после овуляции в цикле, предшествующем этапу ЭКО). Образцы эндометрия, полученные путем биопсии, стандартно обрабатывали для получения парафиновых блоков. Гистологический анализ проводили в соответствии с критериями Мазура и Курмана [17].

Из образцов эндометрия с помощью гистопроцессора (Leica ASP200, Германия) формировали парафиновые блоки, затем изготавливали срезы толщиной 3–5 мкм с помощью микротомы Microm HM340E (Thermo Scientific, США). Срезы окрашивали эозином и гематоксилином для гистологического исследования. Иммуногистохимический метод окраски биоматериала применяли для оценки экспрессии рецепторов половых стероидов (эстрогена – ER и прогестерона – PR) в железах и строме эндометрия полимерным методом EnVision с использованием системы визуализации (Dako Cytomation, Дания). Использовали моноклональные мышиные антитела к ER – клон 1D5, RTU, моноклональные антитела к PR – клон PgR 636, RTU (Dako Cytomation, Дания). Экспрессию LIF, VEGF, TGFβ1 на мембранах поверхностных эпителиальных

клеток желез эндометрия с помощью поликлональных антител (Dako Cytomation, Дания) определяли путем подсчета количества окрашенных клеток в поле зрения при увеличении 400, при этом не менее 10 полей зрения были изучены. Определение экспрессии рецепторов в эпителии и строме эндометрия проводили методом Histochemical Score (в модификации McCartey, 1986) по формуле: $Hscore = \sum P(i) \times i$, где $P(i)$ – процент ядер клеток (от 0 до 100%), имеющих окраску разной интенсивности, i – интенсивность окрашивания ядер, определяемая в баллах (от 0 до 3): 0 – нет окрашивания, 1 – слабое окрашивание, 2 – умеренное окрашивание, 3 – выраженное окрашивание клеток.

Для статистической оценки данных использовалась программа Number Cruncher Statistical System. Определяли среднее значение, стандартную ошибку (m) и частоту признака (абсолютное число и процент). Соответствие количественных данных нормальному распределению проверяли с помощью критерия Шапиро – Уилка и графических исследований. Сравнение групп с нормальным распределением проводилось с помощью t -критерия Стьюдента, группы без нормального распределения оценивались с помощью U -критерия Манна – Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Менструальная функция была регулярной у 70 женщин (36,6%), нерегулярной – у 121 (63,4%) из 191 пациентки. 180 (94,2%) женщин охарактеризовали интенсивность менструаций как нормальную, у 6 (3,1%) женщин зарегистрирована гипоменорея, у 5 (2,6%) – гиперменорея. У 6 пациенток (3,1%) из 191 в анамнезе имелось привычное невынашивание беременности. Кроме того, нами выявлено, что 7 (3,7%) пациенток имели опыт медикаментозного аборта, 9 (4,7%) прерывали беременность ранее по причине внематочной беременности.

По результатам экстракорпорального оплодотворения среди 191 пациентки получены следующие исходы: отсутствие переноса – 8 случаев (4,2%), отсутствие беременности – 91 случай (47,6%), наличие беременности – 82 случая (42,9%), нарушение цикла – 10 случаев (5,2%).

При анализе исходов у женщин основной группы, обследованных иммуногистохимически ($n=50$), данные были следующими: отсутствие переноса – 5 случаев (10%), отсутствие беременности – 27 случаев (54%), наличие беременности – 23 случая (46%), нарушение цикла – 3 случая (6%).

По результатам гистологического исследования образцов эндометрия, полученных на 7–9-е сутки после овуляции, у женщин контрольной группы в 95% случаев определялась полная секреторная трансформация эндометрия. В основной группе полноценная секреторная трансформация эндометрия выявлена у 48%, неполноценная секреторная трансформация эндометрия – у 42%, морфологические признаки изменений эндометрия, соответствующие средней секреторной фазе цикла, – у 10% женщин.

По итогам иммуногистохимических исследований было установлено, что по всем показателям были выявлены различия основной и контрольной групп (см. таблицу).

Эндометриальная экспрессия ER, PR у женщин основной группы имела следующие характеристики: отмечена низкая экспрессия ER, PR в эпителии и строме эндометрия в сравнении с контрольной группой. Изменения экспрессии стероидных



Показатели эндометриальной рецептивности у женщин, прошедших процедуру экстракорпорального оплодотворения
Indicators of endometrial receptivity in women who underwent in vitro fertilization procedure

Показатель (РАЕ, %)	Основная группа (n=50)	Контрольная группа (n=20)	p
ER / строма	15,8±2,8	78,2±4,42	<0,001
ER / эпителий	41,5±4,0	72,4±5,8	<0,001
PR / строма	66,6±3,0	81,2±9,1	<0,01
PR / эпителий	66,1±4,2	83,3±10,2	<0,01
LIF / строма	13,0±1,4	23,6±1,2	<0,001
LIF / эпителий	14,4±1,5	18,4±1,3	<0,05
VEGF / строма	9,1±1,2	7,9±1,6	<0,05
VEGF / эпителий	3,6±1,3	3,9±1,3	>0,05
TGFβ1 / строма	55,7±4,5	4,8±0,5	<0,001
TGFβ1 / эпителий	16,3±2,1	10,6±1,38	<0,01

Примечания: РАЕ – процентное выражение счета рецепторов (%); p – коэффициент статистической значимости.

рецепторов были статистически достоверными с различной степенью выраженности. При этом у пациенток основной группы, имеющих полноценную эндометриальную морфологию, показатели счета рецепторов половых стероидов не имели различий с таковыми в контрольной группе, что свидетельствует о «неоднородности» состояния РЭ в зависимости от гормон-рецепторного «ответа».

В гистологических структурах (строме) эндометрия в основной группе исследования выявлено достоверное снижение ($p<0,001$) экспрессии LIF по сравнению с контрольной группой. Экспрессия LIF в эпителии также снижалась, но в меньшей степени.

В отличие от LIF, экспрессия VEGF/str была выше контроля ($p<0,05$). Однако существенных различий в экспрессии VEGF/ep между основной и контрольной группами не было ($p>0,05$).

Наиболее выраженные различия выявлены по уровню экспрессии TGFβ1 в стро­ме (приблизительно в 10 раз, $p<0,001$). Экспрессия TGFβ1 в эпителии была выше, чем в контрольной группе, различия также были достоверными ($<0,01$).

Таким образом, по нашим данным, у женщин с бесплодием, не связанным с мужским фактором, наблюдаются разнонаправленные изменения маркеров рецептивности эндометрия. Эти изменения свидетельствуют об аномальном функциональном состоянии эндометрия и отражаются на результатах ЭКО у наших пациенток. Так, женщины с наиболее выраженными отличиями от данных контрольной группы имели отрицательные исходы в виде отсутствия переноса и отсутствия беременности.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Клиническое значение достоверной диагностики рецептивности эндометрия невозможно переоценить. Считается, что биопсия эндометрия до сих пор остается наиболее распространенным методом диагностики отклонений, приводящих к серьезному снижению или даже полной утрате имплантационной способности эндометрия [10, 17].

В различных исследованиях оценивалась роль маркеров рецептивности эндометрия [13, 18]. Но, несмотря на большое количество предложенных маркеров, в настоящее время не существует единого общепринятого универсального маркера для оценки способности эндометрия обеспечивать имплантацию эмбриона [19].

Известно, что эстрогены обуславливают пролиферацию эндометриальной ткани. На ультраструктурном уровне эстрогены потенцируют синтез и экспрессию ER и PR. Прогестерон называют «гормоном беременности» в связи с его способностью поддерживать имплантацию и развитие беременности на ранних стадиях. Считается, что существенная экспрессия PR в строме сохраняется на высоком уровне у всех женщин, включая здоровых, и этот показатель не является ведущим в оценке гормонорецепторного статуса эндометрия [20, 21]. В нашем исследовании уровень экспрессии PR в основной группе был ниже, чем у женщин с положительным исходом ЭКО.

Экспрессия LIF наиболее выражена в клетках поверхностного эпителия эндометрия; железистые эпителиальные клетки менее активно синтезируют LIF; в небольших количествах этот маркер отмечается в строме эндометрия на протяжении всего менструального цикла. Уровень LIF меняется на протяжении всего цикла, при этом максимальная выраженность отмечается в «окне имплантации» [18].

В одной из работ (Dimitriadis E. и др.) было показано, что концентрация LIF в срезах матки и образцах ткани эндометрия ниже у пациенток с необъяснимым бесплодием, а также у пациенток с неудачными попытками ЭКО по сравнению с фертильными женщинами [22]. В свою очередь, Serafini P.C. и др. выявили, что у бесплодных женщин с сильной экспрессией LIF в середине лютеиновой фазы вероятность наступления беременности была в 6 раз выше, чем у женщин со сниженной экспрессией LIF [23]. Полученные нами данные имели сходную направленность: несмотря на то что средние показатели экспрессии LIF в основной группе имели более низкие значения в сравнении с показателями женщин контрольной группы с позитивными исходами ЭКО, у тех в основной группе, кто имел сопоставимый уровень экспрессии, результаты также были позитивными.

Некоторые авторы отмечают, что наиболее специфичными и значимыми маркерами рецептивности эндометрия для прогнозирования результатов течения ЭКО являются TGF β 1 и LIF [24, 25].

Известно, что TGF β 1, как одна из изоформ TGF β , имеет одинаковую интенсивность в стромальных и эпителиальных клетках. В нашем исследовании TGF β 1 был выбран в качестве одного из маркеров и показал секрецию на высоком уровне, больше в строме, что может отражать высокую активность эндометрия.

VEGF является важным регулятором ангиогенеза, митогеном для эндотелиальных клеток сосудов. На ранних стадиях имплантации VEGF участвует в координации процессов дифференцировки, миграции и инвазии трофобласта [27]. В некоторых исследованиях изучалась связь между полиморфизмом VEGF и возникновением неудачной имплантации эмбриона. Эти результаты позволяют предположить, что полиморфизм гена VEGF может влиять на скорость оплодотворения, частоту имплантации эмбрионов и частоту наступления беременности [28].

Bansal R. и соавт. (2017) сообщили о повышенном уровне VEGF в сыворотке крови у женщин с рецидивирующей неудачей имплантации по сравнению с контрольной группой с фертильностью [29], тогда как Chen X. и соавт. (2017) в других исследованиях продемонстрировали снижение экспрессии VEGF во всех регионах эндометрия



во время имплантации эмбриона [30]. В нашей работе мы выявили более высокую экспрессию VEGF в строме у женщин с женским бесплодием, при этом уровень в эпителии существенно не отличался. Пациенты с повышенной экспрессией имели более высокий процент отрицательных результатов. Наши результаты близки к данным Guo X. et al. (2021): они сообщили, что существует корреляция между изменениями экспрессии VEGF и репродуктивной недостаточностью, включая рецидивирующую неудачу имплантации и привычный выкидыш [31].

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У женщин с бесплодием, перенесших процедуру ЭКО, наблюдаются разнонаправленные изменения маркеров рецептивности эндометрия. Эти изменения свидетельствуют об аномальном функциональном состоянии эндометрия и выражаются в исходах ЭКО, таких как отсутствие переноса ооцитов и отсутствие беременности.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Duffy J.M.N., Bhattacharya S., Boffil M., Collura B., Curtis C., Evers J.L.H., Giudice L.C., Farquharson R.G., Franik S., Hickey M. Standardizing definitions and reporting guidelines for the infertility core outcome set: an international consensus development study. *Hum Reprod.* 2020;35(12):2735–2745. Available at: <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa243>
2. Ombelet W. WHO fact sheet on infertility gives hope to millions of infertile couples worldwide. *Facts Views Vis Obgyn.* 2020;12(4):249–251.
3. Inhorn M.C., Patrizio P. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Hum Reprod Update.* 2015;21(4):411–26. doi: 10.1093/humupd/dmv016
4. Chiware T.M., Vermeulen N., Blondeel K., Farquharson R., Kiarie J., Lundin K., Matsaseng T.C., Ombelet W., Toskin I. IVF and other ART in low- and middle-income countries: a systematic landscape analysis. *Hum Reprod Update.* 2021;27(2):213–228. doi: 10.1093/humupd/dmaa047
5. Fauque P., De Mouzon J., Devaux A., Epelboin S., Gervoise-Boyer M.J., Levy R. Reproductive technologies, female infertility, and the risk of imprinting-related disorders. *Clin Epigenetics.* 2020;12(1):191. doi: 10.1186/s13148-020-00986-3
6. European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), De Geyter C., Calhaz-Jorge C., Kupka M.S., Wyns C., Mocanu E. Corrigendum. ART in Europe, 2015: results generated from European registries by ESHRE. *Human Reproduction Open.* 2020;2020:h0aa038.
7. Franasiak J.M., Forman E.J., Hong K.H., Werner M.D., Upham K.M., Treff N.R. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophoblast biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertility and Sterility.* 2014;101:656–663.e1.
8. Lessey B.A., Young S.L. What exactly is endometrial receptivity? *Fertil Steril.* 2019;111(4):611–617. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.02.009
9. Okhrimenko M.A., Khachatryan D.A., Smol'nikova V.Y., Donnikov A.E. Molekulyarno-geneticheskie aspekty protsessa implantatsii u patsientok programmy ekstrakorporalnogo oplodotvoreniya (obzor literatury). *Gynecology.* 2013;15(5):51–55.
10. Noyes R.W., Hertig A.T., Rock J. Reprint of: Dating the Endometrial Biopsy. *Fertility and Sterility.* 2019;112:e93–e115.
11. Silveira C.O., Rezende C.P., Ferreira M.C., Del Puerto H.L., Reis F.M. Implantation failure is associated with increased α -Inhibin and β -Glycan gene expression in secretory phase endometrium: nested case-control study of infertile women undergoing IVF/fresh embryo transfer. *Reprod Sci.* 2017;24:720–725.
12. Santi A., Felsler R., Bersinger N.A., Wunder D.M., McKinnon B., Mueller M.D. The hysteroscopic view of infertility: the mid-secretory endometrium and treatment success towards pregnancy. *Gynecol Surg.* 2012;9(2):147–150. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10397-011-0687-3>
13. Voa M.-F., Rocha A.M., Ferreira F.P., Bonetti T.C.S., Serafini P., Motta E.L.A. Matrix metalloproteinases 2 and 9 and E-cadherin expression in the endometrium during the implantation window of infertile women before in vitro fertilization treatment. *Reprod Sci.* 2015;22(4):416–422. Available at: <https://doi.org/10.1177/1933719114529373>
14. Jin X.Y., Zhao L.J., Luo D.H., Liu L., Dai Y.D., Hu X.X., Wang Y.Y., Lin X., Hong F., Li T.C. Pinopode score around the time of implantation is predictive of successful implantation following frozen embryo transfer in hormone replacement cycles. *Hum Reprod.* 2017;32(12):2394–2403. Available at: <https://doi.org/10.1093/humrep/dex312>
15. Craciunas L., Gallos I., Chu J., Bourne T., Quenby S., Brosens J.J., Coomarasamy A. Conventional and modern markers of endometrial receptivity: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2019;25(2):202–223. Available at: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmy044>
16. Erbaş E., Gedikli S. Investigation of the endometrial receptivity status in experimental hypothyroid-induced female rats. *Iran J Basic Med Sci.* 2022;25(9):1077–1083. doi: 10.22038/IJBMS.2022.63143.13948
17. Mazur M., Kurman R.J. *Diagnosis of endometrial biopsies and curettings: a practical approach.* New York: Springer; 2005. 289 p.
18. Camargo-Díaz F., García V., Ocampo-Bárcenas A., González-Marquez H., López-Bayghen E. Colony stimulating factor-1 and leukemia inhibitor factor expression from current-cycle cannula isolated endometrial cells are associated with increased endometrial receptivity and pregnancy. *BMC Womens Health.* 2017;17(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s12905-017-0418-7>
19. Kozrya O., Medvediev M., Tinelli A. Unique Implantation Window as a Possible Reason of Embryo Transfer Failure. Retrospective Analysis. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* 2023;50(5):108. Available at: <https://doi.org/10.31083/j.ceog5005108>
20. Pan-Castillo B., Gazze S.A., Thomas S. Morphophysical dynamics of human endometrial cells during decidualization. *Nanomedicine.* 2018;14(7):2235–45. doi: 10.1016/j.nano.2018.07.004

21. DeMayo F.J., Lydon J.P. 90 years of progesterone: new insights into progesterone receptor signals in the endometrium required for embryo implantation. *J Mol Endocrinol.* 2020;65(1):T1–T14. doi: 10.1530/JME-19-0212
22. Dimitriadis E., White C.A., Jones R.L., Salamonsen L.A. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation. *Hum Reprod Update.* 2005;11(6):613–30. doi: 10.1093/humupd/dmi023
23. Serafini P.C., Silva I.D., Smith G.D., Motta E.L., Rocha A.M., Baracat E.C. Endometrial claudin-4 and leukemia inhibitory factor are associated with assisted reproduction outcome. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009;7:30. doi: 10.1186/1477-7827-7-30
24. Ruiz-Alonso M., Blesa D., Dí'az-Gimeno P. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure. *Fertil Steril.* 2013;100:818–24.8.
25. Sharfi Y., Dzhemlikhanova L.K., Niauri D.A. Endometrial receptivity evaluation in IVF cycles. *Gynecol Endocrinol.* 2015;31:74–8.
26. Gao M.Z., Zhao X.M., Lin Y., Sun Z.G., Zhang H.Q. Effects of EG-VEGF, VEGF and TGF- β 1 on pregnancy outcome in patients undergoing IVF-ET treatment. *J Assist Reprod Genet.* 2012;29(10):1091–6. doi: 10.1007/s10815-012-9833-8
27. Melincovici C.S., Boşca A.B., Şuşman S., Mărginean M., Mişu C., Istrate M., Moldovan I.M., Roman A.L., Mişu C.M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) – key factor in normal and pathological angiogenesis. *Rom J Morphol Embryol.* 2018;59(2):455–467.
28. Boudjenah R., Molina-Gomes D., Torre A., Boitrelle F., Taieb S., Dos Santos E., Wainer R., de Mazancourt P., Selva J., Vialard F. Associations between Individual and Combined Polymorphisms of the TNF and VEGF Genes and the Embryo Implantation Rate in Patients Undergoing In Vitro Fertilization (IVF) Programs. *PLoS ONE.* 2014;9:e108287. doi: 10.1371/journal.pone.0108287
29. Bansal R., Ford B., Bhaskaran S., Thum M., Bansal A. Elevated Levels of Serum Vascular Endothelial Growth Factor-A Are Not Related to NK Cell Parameters in Recurrent IVF Failure. *J. Reprod. Infertil.* 2017;18:280–287.
30. Chen X., Man G.C.W., Liu Y., Wu F., Huang J., Li T.C., Wang C.C. Physiological and pathological angiogenesis in endometrium at the time of embryo implantation. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2017;78:e12693. doi: 10.1111/aji.12693
31. Guo X., Yi H., Li T.C., Wang Y., Wang H., Chen X. Role of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in Human Embryo Implantation: Clinical Implications. *Biomolecules.* 2021;11(2):253. doi: 10.3390/biom11020253