

ГРАНУЛОЦИТАРНЫЙ КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩИЙ ФАКТОР КАК КЛЮЧЕВОЙ РЕГУЛЯТОР ИНВАЗИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЭМБРИОНА И РЕЦЕПТИВНОСТИ ЭНДОМЕТРИЯ

© Н.И. Тапильская^{1,2}, А.М. Гзгзян^{1,3}, И.Ю. Коган¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург;

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург;

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

Для цитирования: Тапильская Н.И., Гзгзян А.М., Коган И.Ю. Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор как ключевой регулятор инвазивного потенциала эмбриона и рецептивности эндометрия // Журнал акушерства и женских болезней. — 2019. — Т. 68. — № 1. — С. 83–92. <https://doi.org/10.17816/JOWD68183-92>

Поступила: 03.12.2018

Одобрена: 09.01.2019

Принята: 11.02.2019

■ Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) является гематopoэтическим цитокином, который способствует пролиферации, дифференцировке и активации клеток линии гранулоцитов. Иммуномодулирующие эффекты Г-КСФ, заключающиеся в стимулировании Тх-иммунного ответа 2-го типа, препятствуют формированию реакции «трансплантат против хозяина» и, как частный случай данного взаимодействия, отвечают за имплантацию эмбриона в эндометрий. Г-КСФ стимулирует субпопуляции нейтрофилов, обладающих противовоспалительными свойствами и участвующих в регенерации тканей. Противовоспалительные и иммуномодулирующие эффекты нейтрофилов обеспечиваются посредством повышения секреции аннексина А1 и интерлейкина 10-го типа. В данном обзоре представлены данные четырех метаанализов, которые демонстрируют повышение частоты имплантации эмбриона и наступления клинической беременности благодаря изменению рецептивности эндометрия и/или инвазивного потенциала развивающегося эмбриона.

■ **Ключевые слова:** гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; нейтрофилы; бесплодие; частота наступления беременности; повторные неудачи имплантации; экстракорпоральное оплодотворение.

GRANULOCYTE COLONY-STIMULATING FACTOR AS A CHECKPOINT OF THE EMBRYO INVASIVE POTENTIAL AND ENDOMETRIAL RECEPTIVITY

© N.I. Tapilskaya^{1,2}, A.M. Gzgzian^{1,3}, I.Yu. Kogan¹

¹ The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia;

² Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia;

³ Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

For citation: Tapilskaya NI, Gzgzian AM, Kogan IYu. Granulocyte colony-stimulating factor as a checkpoint of the embryo invasive potential and endometrial receptivity. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2019;68(1):83-92. <https://doi.org/10.17816/JOWD68183-92>

Received: December 3, 2018

Revised: January 9, 2019

Accepted: February 11, 2019

■ Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) promotes proliferation, survival, and differentiation of myeloid-lineage cells, as well as normal hematopoietic cells. The immunomodulating effects of G-CSF, which consist in stimulating the Th2 biased type immune response, prevent the development of graft-versus-host disease (GvHD) and, as a special case of GvHD, are responsible for the embryo implantation into the endometrium after the embryo transfer. G-CSF stimulates subpopulations of neutrophils, which display anti-inflammatory properties and are involved in tissue regeneration. The increased secretion of annexin A1 and IL-10 ensures the anti-inflammatory and immunomodulating effects of neutrophils. This review article presents data from four meta-analyzes aimed to explore the efficiency of G-CSF on infertile women undergoing in vitro fertilization. These data demonstrate an increase in the embryo implantation rate and clinical pregnancy rate, which is provided by the change in the endometrial receptivity and/or the invasive potential of the developing embryo.

■ **Keywords:** granulocyte colony-stimulating factor; neutrophils; infertility; pregnancy rate; repetitive implantation failure; in vitro fertilization.

Биологическая роль G-CSF

Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF) представляет собой хорошо известный гематопоетический цитокин, который способствует пролиферации, дифференцировке и активации клеток линии гранулоцитов путем связывания со своим рецептором на поверхности клетки. Биологические эффекты, инициируемые G-CSF, не ограничиваются исключительно гематопоетическими тканями: G-CSF в дозозависимой манере обладает широким спектром иммуномодулирующих эффектов — способен индуцировать миграционную активность, выживаемость и регенеративную способность различных клеточных элементов [1].

В последние два десятилетия получены дополнительные доказательства иммунорегуляторного эффекта G-CSF, в частности, его воздействия на функцию Т-клеток [2]. В экспериментах на лабораторных животных (мыши линий C57BL/6 и B6D2F1) введение G-CSF препятствовало формированию реакции «трансплантат против хозяина». В результате действия G-CSF экспрессируется транскрипционный фактор GATA-3 и супрессор цитокинового сигнала 3-го типа (SOCS3), которые осуществляют контроль над пролиферацией и дифференцировкой Т-хелперов (Тх), обеспечивая смещение баланса субпопуляций Тх1/Тх2 в сторону Тх2. Важно отметить, что G-CSF также усиливает генерацию CD4⁺ и CD25⁺ регуляторных Т-клеток (Treg) и Treg-клеток, продуцирующих интерлейкин-10 (IL-10), что способствует повышению толерантности макроорганизма к трансплантату, при этом иммунологическая толерантность коррелирует с уровнем продукции IL-10 Т-клетками [3].

Имплантация генетически полноценного, но в то же время на 50 % (при естественной беременности) или 100 % (в программах суррогатного материнства) генетически чужеродного эмбриона в отношении материнского организма в эндометрий служит ключом к началу успешной беременности [4], поэтому опыт клинической и экспериментальной трансплантологии в некоторых случаях можно экстраполировать на пациентов с многократными неудачными попытками ЭКО. Следует отметить, что нарушение рецептивности эндометрия рассматривается как основная причина нарушения процессов имплантации эмбриона [5], при этом его успешная имплантация требует сложного биологического взаимодействия между имплантирующимся эмбрионом

и эндометрием [6]. Основная часть молекулярных факторов, которые были вовлечены в этот сложный процесс, включает интегрин и другие молекулы адгезии, связанные с протеинами экстрацеллюлярного матрикса, транспортеры ионных каналов и факторы роста [7], одним из которых и является G-CSF [1]. С другой стороны, экспериментальные данные демонстрируют, что не только от рецептивности эндометрия, но и от инвазивного потенциала развивающегося эмбриона зависит благоприятный исход имплантации [8]. Введение G-CSF повышает активность матричной металлопротеиназы 2-го типа и секрецию сосудисто-эндотелиального фактора роста в культуре клеток трофобласта человека Swan 71, при этом за счет изменений в цитоскелете актина и повышения экспрессии β1-интегрин улучшается миграционная и адгезивная способность клеток трофобласта [9].

В контексте современных знаний конечные эффекты G-CSF ассоциированы с прямым действием на клеточные элементы, экспрессирующие рецепторы к данному ростовому фактору как в материнских тканях, так и в тканях эмбриона, и событиями, опосредуемыми через различные популяции нейтрофилов и/или других клеток иммунной системы.

Роль нейтрофилов в регуляции репродуктивно значимых иммунологических реакций

Вопреки примитивным представлениям о противоинфекционном иммунитете с участием нейтрофилов (Нф) данные клеточные элементы иммунной системы способны оказывать регуляторное действие на другие клетки, участвующие в регуляции иммунных процессов (рис. 1) [10]. Неспособность к прямому киллингу внутриклеточных патогенов компенсируется регуляторными свойствами Нф: киллинг происходит опосредованно через Тх 1-го типа [11]. Нф неспособны синтезировать гамма-интерферон (γ-IFN) и IL-2 — основные цитокины, стимулирующие цитотоксические Т-лимфоциты (CD8) и макрофаги, при этом, наоборот, Нф синтезируют IL-6 и G-CSF, ингибирующие активность CD8 клеток и макрофагов. В то же время с помощью IL-1 они могут стимулировать CD4 клетки к выработке γ-IFN и IL-2. Основными мишенями регулирующего действия Нф служат Тх 2-го типа, В-лимфоциты и плазмоциты, которые в большей степени отвечают на действие IL-1, IL-6 и фактора акти-

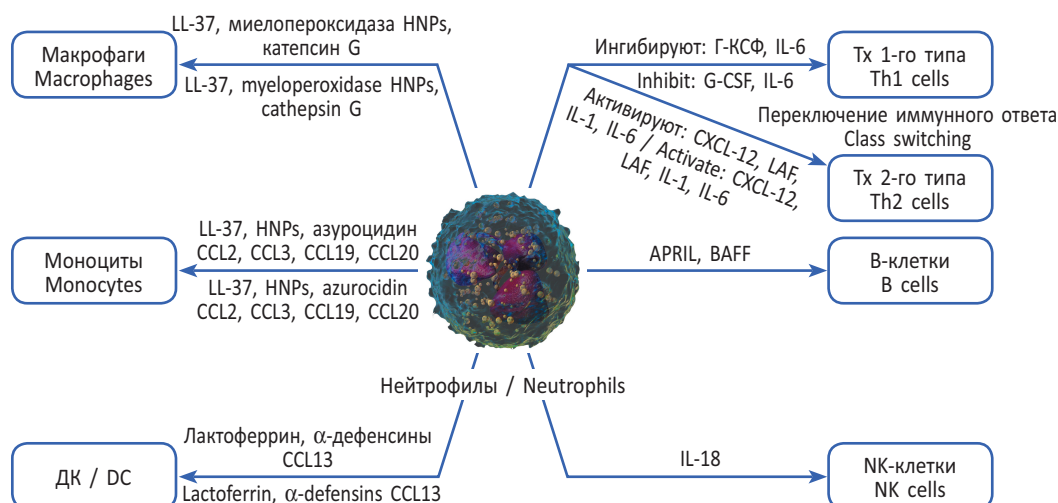


Рис. 1. Влияние нейтрофилов на другие клетки иммунной системы: APRIL — лиганд А, индуцирующий пролиферацию; BAFF — фактор активации В-клеток; CCL(x), CXCL(x), LL(x) — сигнатуры хемокинов; HNP — пептиды нейтрофилов человека; LAF — фактор активации лейкоцитов; Г-КСФ — гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; IL(x) — сигнатуры интерлейкинов, ДК — дендритные клетки, Тх — Т-хелперы

Fig. 1. Effect of neutrophils on other immune cells: APRIL — a proliferation-inducing ligand; BAFF — B cell-activating factor; CCL(x), CXCL(x), LL(x) — chemokine signatures (based on chain modeling); HNP — human neutrophil peptides; LAF — lymphocyte-activating factor; G-CSF — granulocyte colony-stimulating factor; IL(x) — interleukin signatures; DC — dendritic cells; Th — T-helper lymphocytes

вации лейкоцитов (LAF, leucocyte activating factor) [12]. Данная направленность действия медиаторов Нф сложилась эволюционно и более целесообразна: стимулируя продукцию антител, Нф усиливают опсонические свойства крови и обеспечивают формирование антителозависимых цитотоксических реакций, в том числе и против собственных клеток, экспрессирующих микробные антигены, что является одной из ступеней на этапе формирования иммунологической памяти [13].

Следует отметить, что реституция или частичная регенерация поврежденных процессами воспаления тканей, как и сами процессы регресса воспалительных реакций, не обходятся без участия Нф, которые играют важную роль в восстановлении архитектоники и функциональной активности как соматических клеток, так и клеток иммунной системы, тем самым стимулируя восстановление и регенерацию тканей. Данные явления в настоящее время объясняют различными фенотипами Нф, при этом «репаративные программы», запускаемые Нф, формируются вследствие различных вариантов взаимодействия со стромальными клетками и клетками адаптивного иммунного ответа (табл. 1) [14].

Синтезируемый некоторыми генерациями Нф противовоспалительный белок аннексин А1 опосредует эндокринные реакции,

реализующие иммуносупрессивные, противовоспалительные и/или противоаллергические эффекты глюкокортикоидов: угнетает активность фосфолипазы А2 и циклооксигеназы 1-го и 2-го типов, что в конечном счете приводит к снижению синтеза эйкозаноидов (простагландинов и лейкотриенов) [15]. Связываясь со специфическим рецептором ALX/FPR2 на мембране лейкоцитов, аннексин А1 угнетает активность лейкоцитов: подавляет способность к адгезии, миграционную способность лейкоцитов, хемотаксис, фагоцитоз, высвобождение провоспалительных медиаторов, лизосомальных ферментов из Нф, макрофагов и тучных клеток [16]. Аннексин А1 регулирует способность макрофагов к эффероцитозу, влияет на продуцирование TNF и IL-6 и снижает способность к дегрануляции тучных клеток [17]. Недавнее исследование продемонстрировало, что человеческие Нф выделяют противовоспалительный цитокин IL-10 в ответ на продукцию сывороточного амилоида А [18]. Секреция IL-10 и IL-12 Нф происходит также в ответ на наличие липополисахарида (LPS), гамма-интерферона, антигенов грибов рода *Candida* [19].

Tsuda et al. определили два подтипа Нф с различной экспрессией цитокинов и хемокинов: Нф 1-го типа (Нф1) в основном продуцируют IL-12 и CCL3 и CD49d + CD11b-антигены, в то время как Нф 2-го типа (Нф2) — IL-10

Таблица 1 / Table 1

Дифференциация по экспрессии и синтезу основных цитокинов различных фенотипов нейтрофилов
Various neutrophil phenotype main cytokine expression and synthesis differentiation

Синтез и секреция биологически активных веществ	Фенотипы нейтрофилов	
	Нф 1-го типа	Нф 2-го типа
Цитокины		
IL-1 β	+	+
IL-4	–	+
IL-10	–	+
IL-12	+	–
TNF- α	+	+
Хемокины		
CCL2	–	+
CCL3	+	–
CCL5	↓	↑
CXCL1	↑	↑
Мембранные антигены		
CD11b	–	+
CD49d	+	–
ICAM1	–	–
Эффекторные молекулы		
ROS	↑	↑
Миелопероксидаза	↑	↓
ЩФ	+	+
Аргиназа	↑	↓
Основной эффект	Провоспалительный	Противовоспалительный

Примечание. CCL(x), CXCL(x) — сигнатуры хемокинов; CD(x) — сигнатура кластера дифференциации; ICAM1 — inter-cellular adhesion molecule-1, молекула клеточной адгезии; IL(x) — сигнатура интерлейкинов; ROS — реактивные формы кислорода; TNF — фактор некроза опухоли; Нф — нейтрофил, ЩФ — щелочная фосфатаза.

и CCL2 и демонстрируют CD49d-CD11b + фенотип [20].

В настоящее время доминируют представления о наличии двух фенотипов Нф, которые лишь дополняются с появлением новых данных. Противоположные по действию генерации Нф сосуществуют одновременно на протяжении всех фаз воспаления, при этом в начале воспалительной реакции преобладают Нф 1-го типа, а в период регенеративных реакций — Нф 2-го типа.

Роль G-CSF в регуляции репродуктивной функции

Рецепторы G-CSF расположены не только в эндометрии. Молекулярный анализ тканей женской репродуктивной системы продемонстрировал их экспрессию в лютеинизированных клетках гранулезы, плацентарных тканях, клетках трофобласта и ооцитах, что указывает на возможную роль G-CSF в регуляции не только менструального цикла, но и функции плацен-

ты [1]. Присутствие G-CSF практически во всех отделах женской половой системы и органах плода свидетельствует о ключевой роли именно этого цитокина в большинстве циклических процессов эндометрия (репарации, дифференцировки, миграции, пролиферации) и в физиологическом течении беременности [21].

В начале 90-х гг. в экспериментальных исследованиях шведскими авторами было установлено, что перфузия лейкоцитов лабораторным животным (беспородные крысы) увеличивала частоту наступления овуляции [22], в то время как введение Нф-специфических цитотоксических RP-3 моноклональных антител достоверно снижало частоту наступления овуляции, косвенно оцениваемую путем подсчета количества ооцитов в ампулярной части яйцеводов через 20 часов после введения ХГЧ, на 27 % [23]. Далее в клинической практике в 1997 г. было продемонстрировано, что при стимуляции яичников мочевыми гонадотропинами параллельно росту фолликулов происходит постепенное

повышение уровней G-CSF и лейкоцитов в сыворотке крови [24].

В клиническом исследовании на относительно небольшой группе пациенток ($n = 44$) было показано, что секреция G-CSF у женщин без нарушения репродуктивной функции (получающих процедуру ВРТ исключительно по мужскому фактору) в сыворотке крови и в фолликулярной жидкости выше, чем у женщин с синдромом поликистозных яичников: $54,8 \pm 1,7$ vs. $48,1 \pm 0,9$ пг/мл и $48,8 \pm 1,4$ vs. $44,1 \pm 0,5$ пг/мл соответственно. Суммируя результаты лабораторных данных, авторы делают вывод, что секреция G-CSF постепенно увеличивается на протяжении фолликулярной фазы менструального цикла и достигает своего пика в перiovуляторный период, что приводит к накоплению лейкоцитов в фолликуле, фолликулярной стенке и ускоряет овуляцию [25]. В независимых исследованиях было установлено, что концентрация в крови и локальная экспрессия Г-КСФ изменяются в течение менструального цикла и беременности: повышение уровней Г-КСФ наблюдается не только в перiovуляторном периоде, но и в поздней лютеиновой фазе [26]. Экспрессия Г-КСФ определяется в гранулезных и лютеальных клетках (перед и после овуляции), в эндометрии (на протяжении всего менструального цикла) [27, 28]. В сыворотке крови беременных концентрация цитокина значительно увеличивается сразу после имплантации и сохраняется на высоком уровне в течение всей беременности [29]. Источник продукции фактора в случае наступления беременности — клетки децидуальной оболочки и плаценты, в которых уровень Г-КСФ после подъема от момента имплантации снижается только ко II триместру гестации, после чего опять увеличивается, достигая максимальных значений в III триместре [30].

Впервые лекарственный эффект G-CSF у пациентов с неудачными попытками ЭКО в анамнезе был исследован еще в 2000 г. Würfel et al. Авторам удалось установить, что систематическое введение G-CSF повышает частоту имплантации [31].

В итальянском исследовании было обнаружено, что добавление G-CSF пациенткам с низким ответом увеличивает результативность циклов ВРТ. При этом концентрация G-CSF в фолликулярной жидкости напрямую коррелировала с качеством ооцита, что исследователи объяснили не столько системными,

сколько паракринными эффектами G-CSF на стимулированные ооциты [32]. По данным анализа 523 образцов фолликулярной жидкости, уровень фолликулярного G-CSF был более значимым и достоверным прогностическим фактором для последующей имплантации в сравнении с морфологией эмбрионов (ОШ = 0,77, 95 % ДИ 0,69–0,83, $p < 0,001$ vs. ОШ = 0,66, 95 % ДИ 0,58–0,73, $p = 0,01$). Авторы классифицировали эмбрионов по концентрации G-CSF в фолликулярной жидкости на три класса: I класс > 30 пг/мл, II класс $\in (30; 18,4)$ пг/мл, III класс $< 18,4$ пг/мл [33].

В проспективном исследовании по влиянию G-CSF у женщин с синдромом лютеинизации неовулирующего фолликула (ЛНФ) было показано, что адъювантное применение данного ростового фактора (ленограстим 100 мкг однократно) одновременно с триггером овуляции (ХГЧ 5000 МЕ) у 68 из 112 женщин в протоколах стимуляции овуляции кломифеном ($n = 80$) или рекомбинантным ФСГ ($n = 32$) улучшало исходы лечения: ЛНФ зарегистрирован в 4,4 % (3/68 циклов) циклах при применении G-CSF и в 19,1 % (13/68 циклов) в группе сравнения ($p = 0,013$, χ^2 -тест по методу Мак-Немара) [34]. Теоретическое обоснование данному режиму применения G-CSF (вместе с триггером овуляции) было сделано исходя из того, что период полужизни Нф составляет в среднем 3,75 дня, что обеспечивает их максимальную эффективность в перiovуляторную фазу [35]. В японском проспективном клиническом исследовании ($n = 30$) введение рекомбинантного G-CSF (8 млн ЕД, через день) у пациенток с бедным ответом с началом контролируемой овариальной стимуляции приводило к улучшению развития фолликулов, снижению частоты отмены циклов ВРТ (вследствие отсутствия ответа на контролируемую овариальную стимуляцию (КОС)), увеличению частоты наступления беременности, при этом авторы отметили, что в целом для проведения КОС потребовалось меньшее количество гонадотропинов в получавшей G-CSF группе женщин [36].

Данные метаанализов по применению G-CSF в протоколах ВРТ (табл. 2)

По данным метаанализа 2017 г. с включением 682 пациенток (339 в группе G-CSF vs. 343 в группе сравнения) из 11 соответствующих критериям анализа исследований установлено, что внутриматочная перфузия G-CSF влияет на толщину эндометрия ($\Delta M = 1,79$,

Таблица 2 / Table 2

Клинические исследования эффективности адъювантного применения Г-КСФ в протоколах ВРТ, наиболее часто включаемые в метааналитические обзоры

Clinical studies of the effectiveness of the adjuvant use of G-CSF in ART protocols, most often referred to in meta-analytical reviews

Авторы	Год публикации	Вид исследования	n	Основные результаты применения G-CSF	Примечание
A. Aleyasin et al. [41]	2016	Многоцентровое рандомизированное контролируемое (системное введение)	112	Частота имплантации (18 % vs. 7,2 %, ОШ = 2,63, 95 % ДИ 1,09–6,96, $p = 0,007$), биохимической (44,6 % vs. 19,6 %, ОШ = 2,74, 95 % ДИ 1,11–7,38, $p = 0,005$) и клинической (37,5 % vs. 14,3 %, ОШ = 2,94, 95 % ДИ 1,23–8,33, $p = 0,005$) беременности	Клинический протокол ICT201503119568N11
D.H. Barad et al. [42]	2014	Рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое (системное введение)	141	Увеличение толщины эндометрия на 1,37 мм в группе G-CSF; частота наступления беременности (45,57 % vs. 39,29 %, $p > 0,05$)	Возраст пациенток 40,09 ($\pm 5,20$) в группе G-CSF и 39,68 ($\pm 3,81$) в группе плацебо (клинический протокол NCT01202656)
M. Eftekhari et al. [43]	2014	Сравнительное (внутриматочная перфузия)	68	Частота наступления биохимической (39,30 % vs. 14,30 %) и клинической (32,10 % vs. 12,00 %) беременности	Вместе с G-CSF пациентки получали АСК 80 мг в сутки (клинический протокол ICT201108116420N8)
N. Gleicher et al. [44]	2013	Проспективное когортное (внутриматочная перфузия)	21	Толщина эндометрия увеличилась с $6,4 \pm 1,4$ до $9,3 \pm 2,1$ мм ($p < 0,001$); частота наступления клинической беременности (19,1 % vs. 0)	Перфузия G-CSF выполнена в протоколе КОС
V.V. Mishra et al. [45]	2016	Проспективное когортное (внутриматочная перфузия)	35	Увеличение толщины эндометрия с $5,86 \pm 0,58$ до $6,58 \pm 0,84$ мм	Перфузия G-CSF выполнена в протоколе КОС
F. Scarpellini, M. Sbracia [46]	2009	Рандомизированное плацебо-контролируемое (системное введение 1,5 мкг/кг)	68	Частота рождения (82,8 % vs. 48,5 %, $p = 0,0061$, ОШ = 5,1; 95 % ДИ 1,5–18,4)	Длительное введение G-CSF (протокол NCT00772122)
F. Scarpellini, M. Sbracia [47]	2011	Рандомизированное плацебо-контролируемое (системное введение)	89	Частота наступления клинической беременности (35,6 % vs. 15,9 %, ОШ = 2,23; 95 % ДИ 1,02–4,28)	Длительное введение G-CSF
F. Scarpellini, M. Sbracia [48]	2013	Рандомизированное плацебо-контролируемое (системное введение 60 мкг/кг)	50	Частота наступления клинической беременности (48 % vs. 16 %, ОШ = 3,0; 95 % ДИ 1,12–8,05)	Длительное введение G-CSF (клинический протокол NCT01715974)
E. Tehrani-nejad et al. [49]	2015	Наблюдательное (внутриматочная перфузия)	15	Увеличение толщины эндометрия с $3,59 \pm 0,25$ до $7,12 \pm 0,84$ мм ($p < 0,001$); частота наступления беременности (20,0 % vs. 0)	Вместе с G-CSF пациентки получали силденафил вагинально
B. Xu et al. [50]	2015	Проспективное когортное (внутриматочная перфузия)	82	Увеличение толщины эндометрия с $5,7 \pm 0,7$ до $8,1 \pm 2,1$ мм ($p < 0,001$); частота имплантации (31,5 % vs. 13,9 %, $p < 0,01$), частота наступления беременности (48,1 % vs. 25,0 %, $p = 0,038$)	Перенос эмбрионов в криопротоколе

Примечание. Г-КСФ — гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; КОС — контролируемая овариальная стимуляция; АСК — ацетилсалициловая кислота.

95 % ДИ 0,92–2,67), достоверно увеличивает частоту наступления клинической беременности (ОШ = 2,52, 95 % ДИ 1,39–4,55) и частоту имплантации эмбрионов (ОШ = 2,35, 95 % ДИ 1,20–4,60), в то же время достоверно снижая частоту отмены цикла ВРТ (ОШ = 0,38, 95 % ДИ 0,25–0,58) [37].

В результате метаанализа 2017 г., включающего в себя данные исключительно рандомизированных исследований, не было выявлено статистически значимого увеличения толщины эндометрия после перфузии G-CSF у женщин с тонким эндометрием, при этом отмечена значительно более высокая частота наступления клинической беременности (ОШ = 2,43, 95 % ДИ 1,09–5,40), включая когорту пациенток с неудачными попытками ЭКО в анамнезе (ОШ = 2,51, 95 % ДИ 1,36–4,63) [38].

В метаанализе J. Li et al., включающем в себя 6 клинических исследований, было установлено, что перфузия эндометрия G-CSF ассоциирована с более высокой частотой клинической беременности по сравнению с плацебо (ОР = 1,563, 95 % ДИ 1,122–2,176), при этом у пациентов с синдромом тонкого эндометрия, несмотря на отсутствие статистически значимого увеличения толщины эндометрия, также увеличивалась частота имплантации эмбриона (ОР = 1,887, 95 % ДИ 1,256–2,833) и частота наступления биохимической беременности (ОР = 2,385, 95 % ДИ 1,414–4,023) [39].

Метаанализ 2018 г., включающий 10 клинических исследований общей емкостью 1016 циклов ВРТ (521 G-CSF vs. 495 в группе сравнения), продемонстрировал, что применение G-CSF достоверно увеличивает более высокий уровень частоты наступления беременности и частоту имплантации эмбриона: ОШ = 2,07 (95 % ДИ 1,64–2,61) и ОШ = 1,52 (95 % ДИ 1,08–2,14) соответственно. При этом как и внутриматочное введение (ОШ = 1,46, 95 % ДИ 1,04–2,05), так и подкожные инъекции (ОШ = 2,23, 95 % ДИ 1,68–2,95) приводят к существенному увеличению частоты наступления клинической беременности [40].

После получения данных о доказанных эффектах G-CSF встает вопрос о пути введения G-CSF: системное введение или внутриматочная перфузия? Каждый путь введения имеет свои преимущества в каждой конкретной клинической ситуации, однако сочетание данных способов введения, возможно, является верным, так как при этом G-CSF воздействует на мишени в репродуктивно значимых орга-

нах и тканях, а в эндометрии в более высоких концентрациях, что позволяет обеспечить его последующие морфо-функциональные изменения, необходимые для благоприятных условий имплантации эмбриона [51].

В рекомендациях ESHRE 2018 г., касающихся привычной потери беременности, впервые изложены данные о возможности применения G-CSF у данного контингента пациенток [52], однако необходимы дальнейшие исследования, уточняющие режим и способ введения препаратов рекомбинантного G-CSF.

Литература

1. Мюллер В.С., Коган И.Ю., Гзгзян А.М., Тапильская Н.И. Использование гранулоцитарного колониестимулирующего фактора в репродуктологии // Доктор.Ру. — 2014. — № 8-1. — С. 6–9. [Myuller VS, Kogan IY, Gzgzian AM, Tapiľ'skaya NI. Using Granulocyte-Colony Stimulating Factor in Reproductive Medicine: Literature Review. *Doktor.ru*. 2014;(8-1):6-9. (In Russ.)]
2. Morris ES, MacDonald KP, Rowe V, et al. Donor treatment with pegylated G-CSF augments the generation of IL-10-producing regulatory T cells and promotes transplantation tolerance. *Blood*. 2004;103(9):3573-3581. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-08-2864>.
3. Rutella S, Zavala F, Danese S, et al. Granulocyte colony-stimulating factor: a novel mediator of T cell tolerance. *J Immunol*. 2005;175(11):7085-7091. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.11.7085>.
4. Davidson LM, Coward K. Molecular mechanisms of membrane interaction at implantation. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2016;108(1):19-32. <https://doi.org/10.1002/bdrc.21122>.
5. Cakmak H, Taylor HS. Implantation failure: molecular mechanisms and clinical treatment. *Hum Reprod Update*. 2011;17(2):242-253. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmq037>.
6. Nimbkar-Joshi S, Rosario G, Katkam RR, et al. Embryo-induced alterations in the molecular phenotype of primate endometrium. *J Reprod Immunol*. 2009;83(1-2):65-71. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2009.08.011>.
7. Bagrov YY, Manusova NB, Frolova EV, et al. Endogenous sodium pump inhibitors, diabetes mellitus and preeclampsia Preliminary observations and a hypothesis. *Pathophysiology*. 2007;14(3-4):147-151. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2007.09.003>.
8. Knofler M. Critical growth factors and signalling pathways controlling human trophoblast invasion. *Int J Dev Biol*. 2010;54(2-3):269-280. <https://doi.org/10.1387/ijdb.082769mk>.
9. Furmento VA, Marino J, Blank VC, et al. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) upregulates beta1 integrin and increases migration of human trophoblast Swan 71 cells via

- PI3K and MAPK activation. *Exp Cell Res*. 2016;342(2):125-134. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2016.03.005>.
10. van Rees DJ, Szilagyi K, Kuijpers TW, et al. Immunoreceptors on neutrophils. *Semin Immunol*. 2016;28(2):94-108. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2016.02.004>.
 11. Villanueva E, Yalavarthi S, Berthier CC, et al. Netting neutrophils induce endothelial damage, infiltrate tissues, and expose immunostimulatory molecules in systemic lupus erythematosus. *J Immunol*. 2011;187(1):538-552. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1100450>.
 12. Teng TS, Ji AL, Ji XY, Li YZ. Neutrophils and Immunity: From Bactericidal Action to Being Conquered. *J Immunol Res*. 2017;2017:9671604. <https://doi.org/10.1155/2017/9671604>.
 13. den Broeder AA, Wanten GJ, Oyen WJ, et al. Neutrophil migration and production of reactive oxygen species during treatment with a fully human anti-tumor necrosis factor- α monoclonal antibody in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2003;30(2):232-237.
 14. Behnen M, Leschczyk C, Moller S, et al. Immobilized immune complexes induce neutrophil extracellular trap release by human neutrophil granulocytes via Fc γ RIIIB and Mac-1. *J Immunol*. 2014;193(4):1954-1965. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1400478>.
 15. Perretti M, Christian H, Wheller SK, et al. Annexin I is stored within gelatinase granules of human neutrophil and mobilized on the cell surface upon adhesion but not phagocytosis. *Cell Biol Int*. 2000;24(3):163-174. <https://doi.org/10.1006/cbir.1999.0468>.
 16. Perretti M, Croxtall JD, Wheller SK, et al. Mobilizing lipocortin 1 in adherent human leukocytes downregulates their transmigration. *Nat Med*. 1996;2(11):1259-1262.
 17. Scannell M, Maderna P. Lipoxins and annexin-1: resolution of inflammation and regulation of phagocytosis of apoptotic cells. *Scientific World Journal*. 2006;6:1555-1573. <https://doi.org/10.1100/tsw.2006.259>.
 18. De Santo C, Arscott R, Booth S, et al. Invariant NKT cells modulate the suppressive activity of IL-10-secreting neutrophils differentiated with serum amyloid A. *Nat Immunol*. 2010;11(11):1039-1046. <https://doi.org/10.1038/ni.1942>.
 19. Romani L, Mencacci A, Cenci E, et al. Neutrophil production of IL-12 and IL-10 in candidiasis and efficacy of IL-12 therapy in neutropenic mice. *J Immunol*. 1997;158(11):5349-5356.
 20. Tsuda Y, Takahashi H, Kobayashi M, et al. Three different neutrophil subsets exhibited in mice with different susceptibilities to infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Immunity*. 2004;21(2):215-226. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2004.07.006>.
 21. Eftekhari M, Naghshineh E, Khani P. Role of granulocyte colony-stimulating factor in human reproduction. *J Res Med Sci*. 2018;23:7. https://doi.org/10.4103/jrms.JRMS_628_17.
 22. Hellberg P, Thomsen P, Janson PO, Brännström M. Leukocyte supplementation increases the luteinizing hormone-induced ovulation rate in the *in vitro*-perfused rat ovary. *Biol Reprod*. 1991;44(5):791-797. <https://doi.org/10.1095/biolreprod44.5.791>.
 23. Brännström M, Bonello N, Norman RJ, Robertson SA. Reduction of ovulation rate in the rat by administration of a neutrophil-depleting monoclonal antibody. *J Reprod Immunol*. 1995;29(3):265-270. [https://doi.org/10.1016/0165-0378\(95\)00941-D](https://doi.org/10.1016/0165-0378(95)00941-D).
 24. Hock DL, Huhn RD, Kemmann E. Leukocytosis in response to exogenous gonadotrophin stimulation. *Hum Reprod*. 1997;12:2143-2146. <https://doi.org/10.1093/humrep/12.10.2143>.
 25. Kahyaoglu I, Yilmaz N, Timur H, et al. Granulocyte colony-stimulating factor: A relation between serum and follicular fluid levels and in-vitro fertilization outcome in patients with polycystic ovary syndrome. *Cytokine*. 2015;74(1):113-116. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.09.002>.
 26. Kendrick TS, Bogoyevitch MA. Activation of mitogen-activated protein kinase pathways by the granulocyte colony-stimulating factor receptor: mechanisms and functional consequence. *Front Biosci*. 2007;12:591-607. <http://dx.doi.org/10.2741/2085>.
 27. Knofler M, Pollheimer J. Human placental trophoblast invasion and differentiation: a particular focus on Wnt signaling. *Front Genet*. 2013;4:190. <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00190>.
 28. Straszewski-Chavez SL, Abrahams VM, Alvero AB, et al. The isolation and characterization of a novel telomerase immortalized first trimester trophoblast cell line, Swan 71. *Placenta*. 2009;30(11):939-948. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2009.08.007>.
 29. Pollard TD, Cooper JA. Actin, a central player in cell shape and movement. *Science*. 2009;326(5957):1208-1212. <https://doi.org/10.1126/science.1175862>.
 30. Prast J, Saleh L, Husslein H, et al. Human chorionic gonadotropin stimulates trophoblast invasion through extracellularly regulated kinase and AKT signaling. *Endocrinology*. 2008;149(3):979-987. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1282>.
 31. Würfel W. Approaches to a better implantation. *J Assist Reprod Genet*. 2000;17(8):473. <https://doi.org/10.1023/A:1017399518757>.
 32. Scarpellini F, Sbracia M, Patella A. G-CSF pharmacologic supplementation in the ART (Assisted Reproductive Technologies) treatment cycles of low responder women. *J Reprod Immunol*. 2009;81:158-159. <http://hdl.handle.net/11392/1400204>.
 33. Ledee N, Gridelet V, Ravet S, et al. Impact of follicular G-CSF quantification on subsequent embryo transfer decisions: a proof of concept study. *Hum Reprod*. 2013;28(2):406-413. <https://doi.org/10.1093/humrep/des354>.
 34. Shibata T, Makinoda S, Waseda T, et al. Granulocyte colony-stimulating factor as a potential inducer of ovulation in infertile women with luteinized unruptured follicle syndrome. *Transl Res*. 2016;171:63-70. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2015.10.003>.

35. Pillay J, den Braber I, Vrisekoop N, et al. *In vivo* labeling with $2H_2O$ reveals a human neutrophil lifespan of 5.4 days. *Blood*. 2010;116(4):625-627. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-01-259028>.
36. Takasaki A, Ohba T, Okamura Y, et al. Clinical use of colony-stimulating factor-1 in ovulation induction for poor responders. *Fertil Steril*. 2008;90(6):2287-2290. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.10.043>.
37. Xie Y, Zhang T, Tian Z, et al. Efficacy of intrauterine perfusion of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) for Infertile women with thin endometrium: A systematic review and meta-analysis. *Am J Reprod Immunol*. 2017;78(2). <https://doi.org/10.1111/aji.12701>.
38. Kamath MS, Chittawar PB, Kirubakaran R, Mascarenhas M. Use of granulocyte-colony stimulating factor in assisted reproductive technology: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2017;214:16-24. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2017.04.022>.
39. Li J, Mo S, Chen Y. The effect of G-CSF on infertile women undergoing IVF treatment: A meta-analysis. *Syst Biol Reprod Med*. 2017;63(4):239-247. <https://doi.org/10.1080/19396368.2017.1287225>.
40. Zhang L, Xu WH, Fu XH, et al. Therapeutic role of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) for infertile women under in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) treatment: a meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2018;298(5):861-871. <https://doi.org/10.1007/s00404-018-4892-4>.
41. Aleyasin A, Abediasl Z, Nazari A, Sheikh M. Granulocyte colony-stimulating factor in repeated IVF failure, a randomized trial. *Reproduction*. 2016;151(6):637-642. <https://doi.org/10.1530/REP-16-0046>.
42. Barad DH, Yu Y, Kushnir VA, et al. A randomized clinical trial of endometrial perfusion with granulocyte colony-stimulating factor in *in vitro* fertilization cycles: impact on endometrial thickness and clinical pregnancy rates. *Fertil Steril*. 2014;101(3):710-715. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.12.016>.
43. Eftekhari M, Sayadi M, Arabjahvani F. Transvaginal perfusion of G-CSF for infertile women with thin endometrium in frozen ET program: A non-randomized clinical trial. *Iran J Reprod Med*. 2014;12(10):661-666.
44. Gleicher N, Kim A, Michaeli T, et al. A pilot cohort study of granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of unresponsive thin endometrium resistant to standard therapies. *Hum Reprod*. 2013;28(1):172-177. <https://doi.org/10.1093/humrep/des370>.
45. Mishra VV, Choudhary S, Sharma U, et al. Effects of Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) on Persistent Thin Endometrium in Frozen Embryo Transfer (FET) Cycles. *J Obstet Gynaecol India*. 2016;66(Suppl 1):407-411. <https://doi.org/10.1007/s13224-015-0775-9>.
46. Scarpellini F, Sbracia M. Use of granulocyte colony-stimulating factor for the treatment of unexplained recurrent miscarriage: a randomised controlled trial. *Hum Reprod*. 2009;24(11):2703-2708. <https://doi.org/10.1093/humrep/dep240>.
47. Scarpellini F, Sbracia M. The use of G-CSF for implantation failure in IVF: a clinical trial. *Fertil Steril*. 2011;96(3):S93. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.07.359>.
48. Scarpellini F, Sbracia M. G-CSF treatment in the implantation failure with a fixed dose of 60 mcg/day: preliminary data of a controlled trial. *Hum Reprod*. 2013;28:145-146.
49. Tehraninejad E, Davari Tanha F, Asadi E, et al. G-CSF Intra-uterine for thin endometrium, and pregnancy outcome. *J Family Reprod Health*. 2015;9(3):107-112.
50. Xu B, Zhang Q, Hao J, et al. Two protocols to treat thin endometrium with granulocyte colony-stimulating factor during frozen embryo transfer cycles. *Reprod Biomed Online*. 2015;30(4):349-358. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.12.006>.
51. Патент РФ на изобретение № 2646578/ 05.03.2018. Глушаков Р.И., Тапильская Н.И. Способ повышения эффективности имплантации эмбриона в естественном цикле зачатия и в протоколах вспомогательных репродуктивных технологий. [Patent RUS No. 2646578/ 05.03.2018. Glushakov RI, Tapil'skaya NI. Sposob povysheniya effektivnosti implantatsii embriona v estestvennom tsikle zachatiya i v protokolakh vspomogatel'nykh reproduktivnykh tekhnologiy. (In Russ.)]
52. Atik RB, Christiansen OB, Elson J, et al. ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod Open*. 2018;2018(2):1-12. <https://doi.org/10.1093/hropen/hoy004>.

■ Информация об авторах (Information about the authors)

Наталья Игоревна Тапильская — д-р мед. наук, профессор, ведущий научный сотрудник отделения вспомогательных репродуктивных технологий, ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; профессор кафедры акушерства и гинекологии с курсом детской и подростковой гинекологии, ФГБОУ ВО «СПбГПМУ» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: tapnatalia@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0001-5309-0087>.

Natalya I. Tapil'skaya — MD, PhD, DSci (Medicine), Professor, Leading Researcher. The Department of Assisted Reproductive Technologies, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia; Professor. The Department of Obstetrics and Gynecology with the Course of Pediatric and Adolescent Gynecology, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: tapnatalia@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0001-5309-0087>.

Александр Мкртичевич Гзгзян — д-р мед. наук, руководитель отделения вспомогательных репродуктивных технологий. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; профессор кафедры акушерства, гинекологии и репродуктологии медицинского факультета. ФГБОУ ВО «СПбГУ», Санкт-Петербург. **E-mail:** iagmail@ott.ru. <https://orcid.org/0000-0003-3917-9493>.

Игорь Юрьевич Коган — д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, ВрИО директора. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** ikogan@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-7351-6900>.

Alexander M. Gzgzyan — MD, PhD, DSci (Medicine), the Head of the Department of Assisted Reproductive Technologies. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia; Professor. The Department of Obstetrics, Gynecology, and Reproduction, Medical Faculty, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** iagmail@ott.ru. <https://orcid.org/0000-0003-3917-9493>.

Igor Yu. Kogan — MD, PhD, DSci (Medicine), Professor, Corresponding Member of RAS, Interim Director. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** ikogan@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-7351-6900>.