

MIHAELA BURAC, VALENTIN FRIPTU

## CARACTERISTICA NIVELULUI CITOKINELOR ȘI STATUTUL MICROBIOMULUI ENDOMETRIAL LA PACIENTELE CU INFERTILITATE PRIMARĂ

*Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”  
Catedra de obstetrică, ginecologie și reproducere umană*

### SUMMARY

#### CHARACTERISTICS OF CYTOKINE LEVEL AND ENDOMETRIAL MICROBIOME IN PRIMARY INFERTILITY PATIENTS

**Introduction.** The process of reproduction inherently poses unique microbial challenges because it requires the transfer of gametes from one individual to the other, meanwhile preserving the integrity of the gametes and individuals from harmful microbes during the process. Advances in molecular biology techniques have expanded our understanding of the natural organisms living on and in our bodies, including those inhabiting the reproductive tract. Over the past two decades accumulating evidence has shown that the human microbiome is tightly related to health and disease states involving the different body systems, including the reproductive system.

**The aim of the study.** To assess the endometrial microbiom and cytokine level in primary infertility patients.

**Material and methods.** A prospective study was conducted, which included 96 patients divided into two groups. The study group (L1) included 48 primary infertility patients and control group (L0) – 48 fertile patients. In both groups, we performed the endometrial biopsy in the proliferative phase with the Pipelle endometrial aspiration curette. The study was approved by the Research Ethics Commission of the State University of Medicine and Pharmacy „Nicolae Testemitanu”, Chisinau, Republic of Moldova (No. 79/62 of 26.04.2017). The patients signed an informed consent to participate in the research. The statistical analysis was performed using SPSS 20 and Microsoft Excel 2016.

**Results.** In both groups *Lactobacillus* spp. were detected most frequently (75% vs 79.2%,  $p = 0.4$ ) followed by *Enterobacteriaceae* 18.8% vs 0%,  $p < 0.001$ ; *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp., 31.3% vs 12.5%,  $p \leq 0.05$  and *Ureaplasma* (*urealiticum* + *parvum*) 37.5% vs 6.3%,  $p \leq 0.001$ . The level of proinflammatory cytokines was higher in the endometrium of primary infertility patients.

**Conclusion.** Endometrial microbiome has broad implications both in the physiology of reproduction and in its pathology. Our study has shown the presence of a pathological microbiome in primary infertility patients and its negative influence on local immunity.

**Key words.** endometrium, primary infertility, endometrial microbiome, microbiome in reproduction.

### РЕЗЮМЕ

#### ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ И МИКРОБИОМОВ ЭНДОМЕТРИЯ У ПАЦИЕНТОК С ПЕРВИЧНЫМ БЕСПЛОДИЕМ

**Введение.** Процесс размножения по своей природе ставит уникальные микробные проблемы, потому что он требует передачи гамет от одного человека к другому, сохраняя при этом целостность гамет от вредных микробов. Достижения в области методов молекулярной биологии расширили наше понимание естественных организмов живущих на нашем теле и в нашем организме, в том числе обитающих в репродуктивном тракте. За последние два десятилетия накопленные данные показали, что микробиом человека тесно связан со здоровьем и болезненными состояниями, затрагивающими различные системы организма, включая репродуктивную систему.

**Цель исследования.** Оценить микробиом и уровень цитокинов эндометрия у пациенток с первичным бесплодием.

**Material и методы.** Было проведено проспективное когортное исследование с участием 96 пациенток, разделенных на 2 группы. В основную группу (L1) вошли 48 пациенток с установленным диагнозом первичного бесплодия, а в контрольную группу (L0) – 48 фертильных пациенток. В обеих группах мы провели биопсию эндометрия в пролиферативной фазе с помощью аспирационной кюретки эндометрия Pipelle.

Протокол этого исследования был одобрен Комитетом по этике исследований Государственного университета медицины и фармации им. Николая Тестемицану, Кишинев, Республика Молдова (№ 79/62 от 26.04.2017). Пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Статистические данные были обработаны в SPSS 20 и Microsoft Excel 2016.

**Результаты.** В обеих группах *Lactobacillus spp.* были обнаружены наиболее часто (75% против 79,2%,  $p = 0,4$ ), затем следуют *Enterobacteriaceae* 18,8% против 0%,  $p < 0,001$ ; *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas spp.*, 31,3% против 12,5%,  $p \leq 0,05$  и *Ureaplasma (urealiticum + parvum)* 37,5% против 6,3%,  $p \leq 0,001$ . Уровень провоспалительных цитокинов был выше в эндометрии пациенток с первичным бесплодием.

**Заключение.** Микробиом эндометрия имеет широкие последствия как в физиологии так и в патологии репродукции. Наше исследование показало наличие патологического микробиома у пациенток с первичным бесплодием и выявил его негативное влияние на местный иммунитет.

**Ключевые слова.** эндометрий, первичное бесплодие, микробиом эндометрия, микробиом в репродукции.

**Introducere.** Infertilitatea rămâne o problemă medico-socială actuală, în pofida ultimelor realizări în domeniul obstetricii și ginecologiei, iar infertilitatea primară în special. Unul dintre cele mai sofisticate domenii ale medicinei reproductive rămâne a fi implantarea embrionului în endometru, care este mediată de către interacțiunea dintre sistemul endocrin și sistemul imun [22].

Modificările structurale și funcționale ale stromei și ale vaselor endometriale în timpul perioadei de periimplantare rămân un domeniu vast de studiu în ultimul timp [15, 23]. Endometrul uman conține o varietate largă de leucocite, inclusiv celulele T, B și macrofagele. Citokinele sunt mesagerii hormonală responsabili de majoritatea efectelor biologice în sistemul imun, așa ca imunitatea mediată celular și cea de tipul răspunsului alergic. Citokinele joacă un rol important ca mediatori locali în endometru, în timpul fazei proliferative a ciclului menstrual [23]. Deși sunt reprezentate de un număr mare de familii și tipuri, funcțional, citokinele pot fi divizate în două grupe: cele care sunt proinflamatorii și cele care sunt antiinflamatorii. Limfocitele T sunt o sursă majoră de citokine. Aceste celule poartă receptori antigen specifici pe suprafața lor pentru a permite recunoașterea patogeneilor străini. Sunt două subseturi principale de limfocite T, care se disting prin moleculele prezentate la suprafața celulară, cunoscute ca CD4 și CD8. Limfocitele T care exprimă CD4 pe suprafața lor, sunt cunoscute ca limfocite T-helperi, iar cele din urmă sunt cunoscute ca fiind producătoare de citokine. Acest subset se subdivizează în citokine Th1 și Th2. Citokinele Th1 tind să producă răspuns imun proinflamator responsabil să ucidă bacteriile intracelulare precum și să perpetueze răspunsul autoimun. Interleukina 1 $\beta$  este principalul reprezentant al familiei Th1. Răspunsul proinflamator excesiv poate duce la deteriorarea necontrolată a țesuturilor, ceea ce impune necesitatea unui mecanism de contracarare. Citokinele Th2 includ interleukinele 4, 5, 13 care sunt

asociate cu propagarea IgE și a răspunsului eozinofilic și de asemenea IL10 care are mai mult un răspuns antiinflamator. În exces, răspunsul Th2 va contracara acțiunea mediată microbială de către Th1. Acțiunea citokinelor în endometrul uman are o importanță majoră atât în survenirea sarcinii cât și în menținerea acesteia, iar pentru aceasta este necesară o balanță între răspunsul Th1/Th2. Cercetătorii au demonstrat că la pacientele cu infertilitate, avorturi spontane recurente această balanță este înclinată spre predominanța Th1. Unii autori descriu că citokinele Th1 sunt un trigger pentru procesele inflamatorii și trombotice în vasele endometriale, prin activarea celulelor vasculare endoteliale procoagulante [9, 13, 14, 15, 19]. La aceste paciente predominanța Th1 favorizează un răspuns imun citotoxic, mediat celular, iar celulele Th2 acționează benefic la interfața materno-fetală și se consideră a fi benefice pentru păstrarea sarcinii, întrucât supresează citotoxicitatea celulară. Citokinele antiinflamatorii IL4 și IL10 inhibă funcțiile celulelor Th1 și ale macrofagelor, prevenind astfel rejecția produsului de concepție. Stimularea excesivă a răspunsului imun Th1 sau Th2 poate fi dăunătoare survenirii și menținerii sarcinii. Astfel că o balanță adecvată pentru imunitatea Th1/Th2 cu o ușoară predominanță a Th2 poate fi potrivită atât pentru survenirea cât și pentru păstrarea sarcinii [14, 19, 20, 21]. Citokinele acționează în mare parte local, iar depistarea acestora în endometru are o importanță superioară față de detecția acestora în serul sanguin. Infecția cronică sau acută poate servi ca un factor trigger în schimbarea balanței Th1/Th2 într-o anumită direcție, în special spre cea proinflamatorie. Ca răspuns la procesul inflamator, mediatorii proinflamatori sunt eliberați către focar, aceștia sunt reprezentați de către citokinele IL1 $\beta$  IL6, și TNF $\alpha$  chemokinele IL8 și prostaglandinele E2. Acești mediatori inițial coordonează răspunsul inflamator prin intermediul celulelor imune, ulterior mediatorii antiinflamatori IL-10 mediază procesele reparatorii în endometru [1, 5, 6, 18]. Este cunoscut faptul că expresia

citokinelor se poate modifica ca rezultat al interacțiunii celulelor imune cu microorganisme, produsele de degradare sau secreții ale acestora. Este un factor cunoscut deja faptul că infecțiile acute provoacă un răspuns inflamator exagerat al citokinelor proinflamatorii în tractul reproductiv feminin. Ținând cont de descoperirile ultimului deceniu referitoare la al doilea genom uman, anume cel microbial, cercetătorii urmăresc să descopere care este microbiomul uterin fiziologic și implicațiile acestuia în sistemul imun atât local, cât și la distanță [3, 5, 7, 8, 18]. Astfel că influența stărilor disbiotice ale microbiomului endometrial asupra statutului citokinic rămâne un domeniu deschis cercetărilor. În acest context, ne-am propus să studiem factorii microbiomului endometrial care acționează asupra profilului citokinic endometrial la pacientele cu infertilitate primară.

**Material și metode.** Am efectuat un studiu prospectiv de cohortă la catedra de obstetrică, ginecologie și reproducere umană la baza clinică IMSP SCM nr.1, IMSP Maternitatea nr.2, USMF „Nicolae Testemițanu”. În studiu au fost incluse 96 de paciente divizate în 2 loturi. Lotul de studiu (L1) a inclus 48 de paciente cu diagnosticul stabilit de infertilitate primară iar lotul de control (L0) – 48 de paciente fertile.

Protocolul acestui studiu a fost aprobat de către Comitetul de Etică a Cercetării al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, (nr. 79/62 din 26.04.2017). Pacienții au semnat consimțământul informat cu privire la participarea în cercetare.

Criteriile de includere pentru grupul de studiu au fost: pacientele care suferă de infertilitate primară cu indicații pentru laparoscopie și histeroscopie, vârsta pacientelor 20-40 ani, lipsa tratamentului hormonal și antibioticoterapiei în ultimele 6 luni, lipsa manipulațiilor intrauterine în anamneză, acordul de participare în cercetare. Criteriile de includere pentru lotul de control: paciente care au în anamneză o naștere cu un făt viu în ultimii 2 ani și nu alăptează, care nu au anamneza ginecologică reproductivă complicată (infertilitate, avort spontan, sarcină stag-

nată), lipsa tratamentului hormonal și antibioterapiei în ultimele 6 luni, acord de participare în cercetare.

Criteriile de excludere din cercetare au fost: pacientele cu infecție genitală acută, vârsta < 20 ani și > 40 ani, cele care prezintă malformații congenitale ale uterului, care au fost supuse anterior unor manipulații chirurgicale intrauterine, cele cu hiperplazia atipică a endometrului și femeile care au refuzat participarea benevolă în cercetare.

Pacientele din ambele loturi au fost supuse următoarelor investigații: biopsia endometrială Pipelle (chiureta endometrială Pipelle de Cornier „Cooper Surgical” SUA) în faza proliferativă a ciclului menstrual, li s-a evaluat microbiomul endometrial utilizând setul de reactivi „Femoflor – 16” („DNA – Technology”, Moscova, Federația Rusă), citokinele pro- și antiinflamatorii IL1β IL8, IL10, IL4 și studiul morfohistologic al endometrului.

Prelucrarea statistică a datelor s-a efectuat utilizând Microsoft Excel 2016 și SPSS 20. Rezultatele sunt exprimate ca valori medii ± deviație standard pentru variabilele parametrice, iar pentru cele categoricale în procente. Pentru analiza corelației a fost aplicat testul Pearson. Valorile  $p < 0,05$  au fost considerate statistic semnificative.

**Rezultate și discuții.** Ambele loturi de studiu au fost omogene conform criteriului de vârstă, statutul matrimonial, locul de trai.

Rezultatele investigațiilor microbiologice au fost pozitive în 100% cazuri. Datele referitoare la frecvența detectării microorganismelor în endometru sunt prezentate în tabelul 1. În ambele loturi *Lactobacillus* spp. au fost depistate cel mai frecvent (75% vs 79,2%,  $p < 0,05$ ) fiind urmate de către Enterobacteriaceae 18,8% vs 0%,  $p < 0,001$ ; *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. 31,3 % vs 12,5%,  $p < 0,05$  și *Ureaplasma* (urealiticum + parvum) 37,5% vs 6,3%,  $p < 0,001$ . Au fost evidențiate mai frecvent și *Staphylococcus* spp. 10,4% vs 2,1%,  $p > 0,05$ , *Eubacterium* spp. 18,8% vs 4,2%,  $p > 0,05$ , *Atopobium vaginae* 25,0% vs 14,6%,  $p > 0,05$ , dar datele nu au fost statistic semnificative.

Tabelul 1. Caracteristica microbiomului endometrial la pacientele cu infertilitate primară

Microbiomul endometrial	Grupul de studiu L <sub>1</sub>	Grupul de control L <sub>0</sub>	p
	n=48 %(n)	n=48 %(n)	
<i>Lactobacillus</i> spp.	75 (36)	79,2 (38)	0.4
<i>Enterobacteriaceae</i>	18,8 (9)	0	0.001
<i>Streptococcus</i> spp.	4,2 (2)	0	0.2
<i>Staphylococcus</i> spp.	10,4 (5)	2,1 (1)	0.1
<i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i> + <i>Porphyromonas</i> spp.	31,3 (15)	12,5 (6)	0.02
<i>Eubacterium</i> spp.	18,8 (9)	8,3 (4)	0.1
<i>Sneathia</i> spp.+ <i>Leptotrichia</i> spp.+ <i>Fusobacterium</i> spp.	10,4 (5)	4,2 (2)	0.2
<i>Megasphaera</i> spp.+ <i>Veillonella</i> spp.+ <i>Dialister</i> spp.	14,6 (7)	4,2 (2)	0.07
<i>Lachnobacterium</i> spp.+ <i>Clostridium</i> spp.	2,1 (1)	2,1 (1)	0.7
<i>Mobiluncus</i> spp.+ <i>Corynebacterium</i> spp.	6,3 (3)	6,3 (3)	0.6

<i>Peptostreptococcus</i> spp.	12,5 (6)	6,3 (3)	0.2
<i>Atopobium vaginae</i>	25,0 (12)	14,6 (7)	0.1
<i>Candida</i> spp.	0	0	>0.05
<i>Mycoplasma hominis</i>	2,1 (1)	0	0.5
<i>Ureaplasma (urealyticum+parvum)</i>	37,5 (18)	6,3 (3)	<0.001
<i>Mycoplasma genitalium</i>	2,1 (1)	0	0.5

Microbiomul uman a fost numit „al doilea genom,” iar importanța lui în reproducere urmează să fie apreciată. Majoritatea studiilor anterioare descrise în literatura de specialitate s-au focusat pe tehnologiile de detecție bazate pe medii de cultură. Însă, odată cu lansarea proiectului „Human Microbiome Project”, a început studiarea masivă a genomului bacterian prin tehnologii de secvențiere, care au permis descoperirea diversității de microorganisme existente în corpul uman, precum și implicarea acestora în fiziologie și patologie [1, 2, 7, 8, 12].

Datele studiilor internaționale referitoare la microbiomul endometrial prezintă rate diferite de detecție a acestuia, în funcție de metoda de investigare. În studiile pe medii de cultură rata de detecție a microbilor în endometru a constituit între 25% – 76% [18, 20, 21], pe când în studiile prin aplicarea tehnologiilor de secvențiere a genomului bacterian această rată a crescut mult și atinge 100% [3, 5, 10, 11, 12, 17]. Este descrisă prezența microbiomului endometrial cu implicații vaste ale acestuia atât în sănătatea tractului reproductiv feminin cât și în diferite patologii reproductivă, așa ca infertilitate, avorturi spontane, naștere prematură. Majoritatea cercetătorilor au ajuns la un consensus referitor la caracteristica microbiomului endometrial în infertilitate. Astfel că, pentru endometru, au fost descrise preponderent două tipuri de microbiom divizate după concentrația lactobacililor în endometru. După cum urmează: Lactobacillus dominant, în care concentrația de lactobacili depășește 90%, din microbi-

omul endometrial și non-Lactobacillus dominant, în care flora lactobacilară este în concentrație mai mică decât 90%, iar 10% și mai mult constituie flora condiționat patogenă. S-a demonstrat că la pacientele care suferă de infertilitate se atestă preponderent al doilea tip de microbiom în endometru [2, 3, 6, 12, 17].

Descoperirea microbiomului endometrial cu influențe funcționale asupra endometrului a dus la posibilitatea cercetării și a proceselor imune locale, complexe care au loc de-a lungul ciclului menstrual. Pe lângă importanța microbiomului endometrial care influențează sănătatea reproductivă și survenirea sarcinii, un alt factor important este mediul imun și citokinic în perioada periconcepțională. Este un lucru cunoscut faptul că un anumit număr de citokine sunt implicate atât în receptivitatea endometrială cât și în dezvoltarea embrionară, și ambele sunt influențate atât de infecție cât și de inflamație [5, 15], și astfel de microbiom. Noi ne-am propus să evaluăm această interacțiune dintre microbiomul endometrial și nivelele citokinelor proinflamatorii **IL1β** a fost considerabil mărit în grupul de studiu L<sub>1</sub>, cu media 1044,67 ± 125,79 pg/ml, iar în grupul de control L<sub>0</sub> acesta a constituit 354,32 ± 70,98 pg/ml, p<0,001, **IL8** L<sub>1</sub> 992,23 ± 121,87 pg/ml vs L<sub>0</sub> 648,32 ± 90,05 pg/ml, p<0,05. Nivelul mediu al interleukinelor antiinflamatorii **IL10** în L<sub>1</sub> a constituit 186,06 ± 30,71 pg/ml, iar în L<sub>0</sub> 186,93 ± 34,26 pg/ml, p>0,05; **IL4** L<sub>1</sub> 220,85 ± 14,45 pg/ml vs L<sub>0</sub> 197,54 ± 13,00 pg/ml, p>0,05.

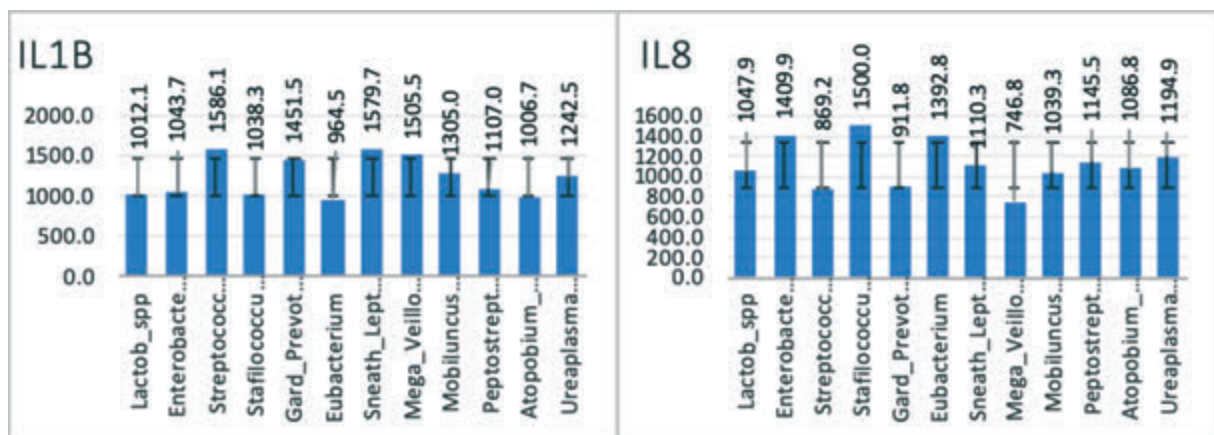


Fig. 1. Nivelele citokinelor proinflamatorii IL1β și IL8 în funcție de factorul microbial predominant în endometrul pacientelor cu infertilitate primară

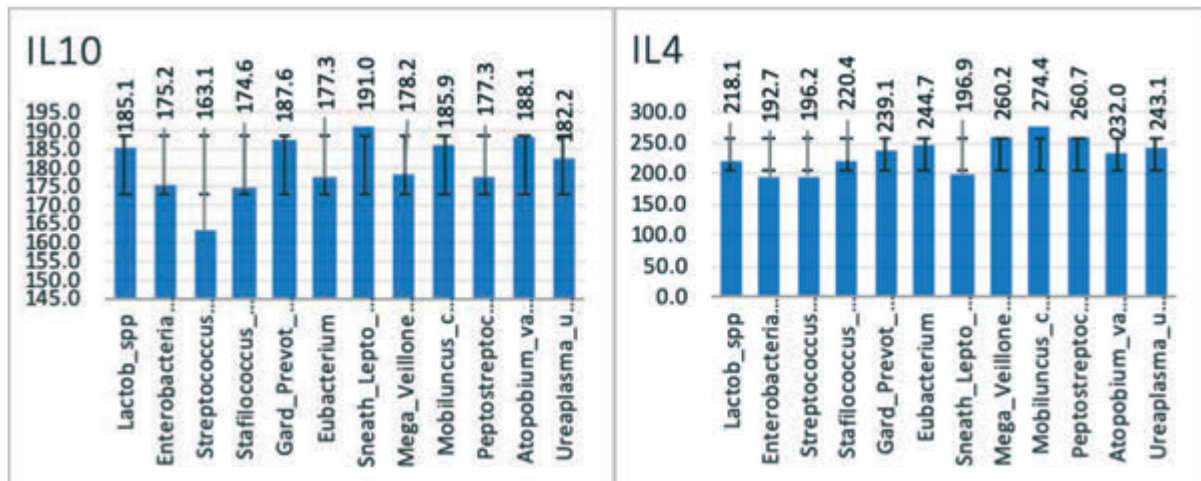


Fig. 2. Nivelele citokinelor antiinflamatorii IL10 și IL4 în funcție de factorul microbian predominant în endometrul pacienților cu infertilitate primară

### Concluzie

Implicarea imunității umorale și a inflamației în sistemul reproductiv feminin sunt domenii studiate activ la nivel molecular. Datele studiului de față demonstrează că la pacientele cu infertilitate primară endometrul necesită să fie studiat, iar rolul acestuia este unul incontestabil pentru survenirea unei sarcini. Caracteristica microbiomului endometrial la grupul de paciente investigat de noi arată că el este non-lactobacilar și că acest fapt are consecințe atât funcționale cât și structurale asupra endometrului.

### Bibliografie

1. Fox C., Eichelberger K. Maternal microbiome and pregnancy outcomes. *Fertil Steril* 2015; 104:1358–1363.
2. Franasiak J.M., Scott R. T. Endometrial microbiome. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2017, 29:146–152.
3. Franasiak J.M., Scott R.T. Reproductive tract microbiome in assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 2015; 104:1364–1371.
4. Franasiak J.M., Scott R.T. Introduction: microbiome in human reproduction. *Fertil Steril* 2015; 104:1341–1343.
5. Franasiak J.M., Werner M.D., Juneau C.R., et al. Endometrial microbiome at the time of embryo transfer: next-generation sequencing of the 16S ribosomal subunit. *J Assist Reprod Genet* 2016; 33:129–136.
6. Green K.A., Zarek S.M., Catherino W.H. Gynecologic health and disease in relation to the microbiome of the female reproductive tract. *Fertil Steril* 2015; 104:1351–1357.
7. Group NHW, Peterson J., Garges S., et al. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res* 2009; 19:2317–2323.
8. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012; 486:207–214.
9. Kofod L., Lindhard A., Bzorek M., et al. Endometrial immune markers are potential predictors of normal fertility and pregnancy after in vitro fertilization. *Am J Reprod Immunol*. 2017;78:e12684.
10. Mitchell C.M., Haick A., Nkwopara E., et al. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol*. 2015;212(5):611.e1–9.
11. Mor A., Driggers P.H., Segars J.H. Molecular characterization of the human microbiome from a reproductive perspective. *Fertil Steril* 2015; 104:1344–1350.
12. Moreno I., Codon̄er F.M., Vilella F., et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol* 2016; 215:684–703.
13. Priyanka B., Saikat Kumar J., Pallavi P., et al. Proinflammatory cytokines induced altered expression of cyclooxygenase-2 gene results in unreceptive endometrium in women with idiopathic recurrent spontaneous miscarriage. *Fertility and Sterility*, vol. 99, No. 1, January 2013, p 179 – 187.
14. Rajaei S., et al. Cytokine profile in the endometrium of normal fertile and women with repeated implantation failure. *J. Immunol.* — 2011. — Vol. 8, № 4. — P. 201–208.
15. Robertson S.A., Chin P.Y., Glynn D.J., et al. Peri-conceptual cytokines—setting the trajectory for embryo implantation, pregnancy and beyond. *Am J Reprod Immunol*. 2011;66:2–10.
16. Swidsinski A., Verstraelen H., Loening-Baucke V., et al. Presence of a polymicrobial endometrial biofilm in patients with bacterial vaginosis. *PLoS One* 2013; 8:e53997.

17. Verstraelen H., Vilchez-Vargas R., Desimpel F., et al. Characterisation of the human uterine microbiome in nonpregnant women through deep sequencing of the V1-2 region of the 16S rRNA gene. *PeerJ* 2016; 4:e1602.
18. Айламазян Э.К., Толибова Г.Х., Траль Т.Г. Новые подходы к оценке эндометриальной дисфункции. *Журнал акушерства и женских болезней*. – 2017. – Т. 66. – № 3. – С. 8–15. doi: 10.17816/JOWD6638-15
19. Бахарева И.В., Макаров О.В., Кузнецов П.А. Патогенетическая связь бактериального вагиноза и локальных иммунных изменений. *Российский вестник акушера-гинеколога* 3, 2012, С. 21 – 23.
20. Зорина Р.М., Маркина Л.А., Зорина В.Н. Некоторые острофазовые белки и цитокины в сыворотке крови у женщин с бесплодием воспалительного генеза при проведении программ экстракорпорального оплодотворения. *Российский вестник акушера-гинеколога* 4, 2010, С. 13 – 16.
21. Кремлёва Е.А., Черкасов С.В., Константинова О.Д. Характеристика уровня цитокинов и состояния микробиоценоза репродуктивного тракта у женщин с бесплодием. *Российский вестник акушера-гинеколога* 3, 2012, С. 11 – 14.
22. Толибова Г.Х., Траль Т.Г., Айламазян Э.К., Коган И.Ю. Молекулярные механизмы циклической трансформации эндометрия. *Журнал акушерства и женских болезней*, 2019, Т. 68, № 1, С. 5–12.
23. Шарфи Ю. Н. Цитокины и факторы роста как маркеры имплантационной способности эндометрия в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). *Журнал акушерства и женских болезней*. – 2013. – Т. 62. – № 4. – С. 88–96. doi: 10.17816/JOWD6638-15