



Обзор

# Поиск идеального маркера для оценки рецептивности эндометрия: от гистологии до современных молекулярно-генетических подходов

Кибанов М.В.<sup>1</sup> • Махмудова Г.М.<sup>1</sup> • Гохберг Я.А.<sup>1</sup>

**Актуальность.** Несмотря на значительный рост эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), наблюдаемый за последние 10 лет, доля безрезультатных циклов по-прежнему остается существенной и может достигать 40%. Нарушение имплантации эмбриона рассматривается как одна из возможных причин, ограничивающих результативность программ ВРТ. Отсутствие имплантации может быть связано со смещением периода «имплантационного окна» – времени, когда эндометрий обладает максимальной рецептивностью и готов к интеграции эмбриона. Для определения рецептивности эндометрия разработаны и используются различные методы. Однако точность и эффективность существующих подходов существенно разнятся. **Цель** – обзор методов, используемых для исследования рецептивности эндометрия и определения периода «имплантационного окна», а также оценка их эффективности. **Методы.** Проведен поиск источников (сентябрь 2018 г.) в базах

данных PubMed и E-library по ключевым словам: “endometrial receptivity” / «рецептивность эндометрия», “endometrial receptivity evaluation” / «определение рецептивности эндометрия», “implantation window” / «имплантационное окно», “window of implantation” / «окно имплантации», “pinopodes” / «пиноподии». Для анализа отобраны 134 публикации, в том числе 101 оригинальная исследовательская работа и 33 обзора литературы. **Результаты.** Рассмотрены методы классического гистологического анализа, сканирующей электронной микроскопии, иммуногистохимии, а также подходы, основанные на определении уровня простагландинов в эндометриальной жидкости и анализе профиля матричных РНК в образце ткани эндометрия, с целью определения рецептивности эндометрия. Обсужден вопрос поиска идеального маркера для оценки рецептивного статуса эндометрия. **Заключение.** Сегодня наиболее эффективными и точными методами диагностики периода «имплантационного окна» представляются

подходы, основанные на изучении транскрипционного профиля образца ткани эндометрия. Анализ представленности матричных РНК позволяет не только точно диагностировать уровень рецептивности эндометрия на момент биопсии, но и достоверно предсказать возможное смещение периода «имплантационного окна» на более ранний или более поздний сроки.

**Ключевые слова:** рецептивность эндометрия, имплантационное окно, окно имплантации, пиноподии

**Для цитирования:** Кибанов МВ, Махмудова ГМ, Гохберг ЯА. Поиск идеального маркера для оценки рецептивности эндометрия: от гистологии до современных молекулярно-генетических подходов. Альманах клинической медицины. 2019;47(1):12–25. doi: 10.18786/2072-0505-2019-47-005.

Поступила 30.10.2018; принята к публикации 22.01.2019; опубликована 07.02.2019

**Ч**еловек отличается крайне низкой эффективностью процессов и механизмов, ведущих к установлению прогрессирующей беременности. Частота безрезультативных циклов по причине нарушения имплантации, ранних потерь, невынашивания или самопроизвольных абортос существенно превышает количество успешных беременностей [1]. Возможные причины включают, но не ограничены таковыми, генетические дефекты в клетках развивающегося эмбриона, врожденные пороки развития матки, внутриматочные спайки, полипы, подслизистые фибромы, воспалительные процессы в эндометрии [2, 3]. Современные стандарты лечения пациенток с бесплодием с помощью вспомогательных репродуктивных технологий

(ВРТ) предполагают проведение преимплантационного генетического тестирования эмбрионов на наличие хромосомных нарушений. С внедрением генетического скрининга эффективность программ ВРТ выросла до 60–70% [4–6], однако до сих пор доля циклов, в которых перенос зуплоидных эмбрионов не приводит к имплантации, остается значительной и может достигать 40% [7]. Нарушение механизмов имплантации в результате смещения периода «имплантационного окна» – времени, когда эндометрий максимально готов к интеграции эмбриона, – считается одной из наиболее вероятных причин.

Для успешной имплантации необходимо совпадение двух факторов: готовый к имплантации эмбрион и рецептивный эндометрий. Как



показали B.S. Shapiro и соавт., более низкая эффективность программ ВРТ при переносе эмбрионов в цикле стимуляции на 6-й день развития по сравнению с переносом на 5-й день, скорее, является результатом несоответствующего состояния эндометрия, нежели обусловлена особенностями со стороны эмбриона [8]. Более низкая результативность программ ВРТ при переносе эмбрионов с задержкой бластуляции также, по всей видимости, следствие десинхронизации развития эмбриона и эндометрия и не связана с качеством переносимого эмбриона [9]. Синхронизировать эти два параметра в рамках программ ВРТ позволяет витрификация эмбрионов и последующий перенос с учетом времени наступления периода «имплантационного окна» [10]. Время имплантации влияет и на вероятность последующего выкидыша/самопроизвольного аборта: установлена положительная корреляция между поздней имплантацией и возможностью выкидыша [11, 12]. Более высокая частота встречаемости случаев десинхронизации развития эмбриона и эндометрия показана с увеличением возраста матери при пороговом возрасте в 35 лет [13]. Все эти факты, наряду со снижением качества яйцеклеток и повышенной вероятностью хромосомных нарушений у эмбрионов женщин старшего репродуктивного возраста [14, 15], подчеркивают важность точного и достоверного определения периода «имплантационного окна» для успешного завершения программ ВРТ.

Целью настоящей работы был обзор научных публикаций по заявленной тематике с последующим сравнением эффективности методов, используемых для определения периода «имплантационного окна».

## Методы

Проведен поиск источников (сентябрь 2018 г.), опубликованных в базах данных PubMed и E-library, по ключевым словам: “endometrial receptivity”/ «рецептивность эндометрия», “endometrial receptivity evaluation”/ «определение рецептивности эндометрия», “implantation window”/ «имплантационное окно», “window of implantation”/ «окно имплантации», “pinopodes”/ «пиноподии». Для обзора отбирались оригинальные исследовательские статьи, в которых использовался хотя бы один из описываемых методов (гистологический, иммуногистохимический, сканирующая электронная микроскопия, масс-спектрометрия и/или широкомасштабное профилирование матричных РНК (мРНК)) для анализа рецептивности эндометрия в группах здоровых фертильных женщин и/или пациенток с бесплодием без отягощенного

акушерско-гинекологического анамнеза (наличие воспалительных и прочих заболеваний эндометрия, оперативных вмешательств) и/или сопутствующих хронических системных заболеваний. Не рассматривались работы, в которых проводилось исследование влияния гормональных или других лекарственных препаратов на рецептивность эндометрия. По отдельным вопросам, которые выходят за рамки данной работы, приведены ссылки на соответствующие обзорные публикации. По заданным критериям поиска для обзора отобраны 134 публикации, из них 101 оригинальная исследовательская работа и 33 обзора литературы.

## Обзор методов исследования рецептивности эндометрия

Процесс имплантации эмбриона – один из наиболее важных этапов в последовательности событий, ведущих к беременности. В результате имплантации устанавливается тесная связь между бластоцистой и эндометрием, что в конечном итоге приводит к формированию плаценты – структуры, за счет которой осуществляется метаболизм будущего плода [16]. В течение менструального цикла под влиянием стероидных гормонов эндометрий матки претерпевает циклические изменения, подвергаясь регенеративным, пролиферативным, секреторным и деструктивным (во время менструации) процессам. Созревание эндометрия достигает пика в середине лютеиновой фазы, на 6–10-й дни после овуляции. На этом этапе эндометрий характеризуется максимальной рецептивностью и готов к имплантации эмбриона. К этому моменту эндометрий претерпевает существенные изменения. На уровне морфологии клеток происходит образование пиноподий – куполообразных выпячиваний апикального конца цитоплазматической мембраны [17, 18]. Трансформация наблюдается и на молекулярном уровне. Меняется экспрессия различных регуляторных и структурных белков клеточной мембраны эпителиальных клеток эндометрия, растворимых регуляторных факторов, таких как простагландины и цитокины, транскрипционных факторов, факторов роста и др. [19–24]. На выявлении и сопоставлении картины происходящих изменений и основаны различные подходы дифференциальной диагностики состояния эндометрия. Выбор метода зависит от исследуемого параметра. Однако информативность и точность используемых подходов существенно разнятся.

В настоящее время существует пять основных методов, которые могут использоваться для оценки рецептивности эндометрия: гистологический,

**Кибанов Михаил Викторович** – канд. биол. наук, биолог, лаборатория репродуктивной генетики<sup>1</sup>  
✉ 111033, г. Москва, Волочаевская ул., 15/1, Российская Федерация.  
Тел.: +7 (495) 234 42 42.  
E-mail: mkibanov@gmail.com

**Махмудова Гульнора Маратовна** – д-р мед. наук, профессор, главный врач, заведующая Центром материнства и репродуктивных технологий<sup>1</sup>

**Гохберг Яэль Александровна** – ординатор<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Клинический госпиталь на Яузе; 111033, г. Москва, Волочаевская ул., 15/1, Российская Федерация

электронная микроскопия, иммуногистохимическое окрашивание образцов, исследование простагландинов в эндометриальной жидкости с помощью масс-спектрометрии и изучение профиля мРНК в образце эндометрия.

### Гистологический метод

В течение многих лет оценку состояния эндометрия и подбор терапии осуществляли на основании гистологического изучения образцов эндометрия пациенток с бесплодием. Еще в 1949 г. G.E. Jones выявила связь между бесплодием и измененной морфологической картиной препаратов образцов эндометрия [25]. Было замечено, что эндометрий пациенток с бесплодием отличается задержкой развития и/или недостаточной трансформацией функционального слоя. Авторы впервые предложили термин «недостаточность лютеиновой фазы» (НЛФ). С тех пор в течение долгого времени изучение гистологических образцов эндометрия оставалось золотым стандартом при обследовании пациенток с бесплодием и определении НЛФ [26–29]. Согласно принятым критериям, диагноз НЛФ ставится, если гистологическая картина образца не соответствует дню цикла, в который была проведена биопсия, и разница или задержка развития эндометрия составляют 2 дня и более. При этом в качестве стандартной точки отсчета обычно используется ожидаемый день начала менструации или момент овуляции, определяемый с помощью ультразвукового исследования или по пикам лютеинизирующего гормона в плазме либо моче [29–31].

В годы активного использования гистологических исследований общепринятой была точка зрения, согласно которой, какой бы ни была природа недостаточной трансформации эндометрия – низкий уровень секреции прогестерона или патология на уровне эндометрия как такового – диагноз НЛФ является достаточным критерием для определения смещенного периода «имплантационного окна». Однако исследование гистологических препаратов с помощью светового микроскопа не отражает всей сложности и многообразия процессов, которые могут приводить к нарушению рецептивности эндометрия. Без внимания остаются возможные нарушения на молекулярном уровне: патология со стороны стероидных рецепторов, структурных белков, факторов роста, цитокинов, простагландинов и т.д. [20, 22, 32]. Клинические исследования показали, что результаты гистологического анализа не могут быть критерием для корректной оценки рецептивности эндометрия и определения смещения «имплантационного

окна». Несоответствие гистологической картины дню биопсии в диапазоне от 5 до 50% было обнаружено у здоровых, фертильных, с регулярным циклом женщин. Кроме того, была установлена плохая сходимость результатов для конкретной пациентки между циклами и наблюдался высокий уровень вариации оценки гистологической картины при изучении образцов различными исследователями [30, 33, 34]. В работе С. Coutifaris и соавт. частота встречаемости НЛФ была выше в группе фертильных женщин (49%) по сравнению с группой пациенток с бесплодием (43%) [31]. Смещение времени биопсии на позднюю лютеиновую фазу также не позволяло достоверно дискриминировать между здоровыми женщинами и пациентками с бесплодием.

Таким образом, гистологическое изучение образцов эндометрия не обладает необходимым уровнем специфичности и достоверности результатов для определения возможного смещения «имплантационного окна» или принятия решения о назначении терапии пациенткам с бесплодием. В настоящее время Американское общество репродуктивной медицины (American Society for Reproductive Medicine – ASRM) рекомендует не рассматривать НЛФ как самостоятельную нозологию, выступающую в качестве причины бесплодия. Считается, что НЛФ – следствие или один из симптомов патологических состояний, связанных с низким уровнем образования прогестерона (сбой работы гипоталамо-гипофизарной системы, нарушенная функция щитовидной железы, гиперпролактинемия и др.) [35]. Необходимо отметить, что описаны примеры нормально развитого эндометрия согласно результатам гистологии, но в сочетании с дефектом молекулярных маркеров [36–38].

### Электронная микроскопия

В отличие от микроскопии в проходящем свете сканирующая электронная микроскопия позволяет детально исследовать особенности изменения морфологической организации клеток эндометрия в течение цикла. Наиболее выразительный феномен, детектируемый в середине лютеиновой (секреторной) фазы цикла, – образование пиноподий. Пиноподии представляют собой грибовидные или куполовидные выпячивания цитоплазматической мембраны апикального конца секреторных клеток поверхностного эпителия эндометрия [17, 39–41]. Размер пиноподий может достигать 6 мкм в диаметре [18, 42–45]. Они обнаружены у крысы, мыши и человека, однако между пиноподиями человека и грызунов существуют



значительные различия в плане размера, морфологии и внутренней организации [43]. Так, пиноподии крысы и мыши больше напоминают грибоподобные структуры, вынесенные над поверхностью клеток эндометрия за счет цитоплазматической «ножки». Они не содержат органелл и заполнены одной или двумя крупными вакуолями [44, 46–50]. Пиноподии человека, напротив, богаты различными органеллами, в том числе содержат митохондрии, аппарат Гольджи, шероховатый эндоплазматический ретикулум и различные секреторные гранулы. По морфологии пиноподии человека более напоминают куполообразные выпячивания, образующиеся за счет всей площади апикальной поверхности клетки [51–53]. Динамика появления пиноподий человека и их морфология зависят от стадии лютеиновой фазы менструального цикла. Выделяют «развивающиеся», «зрелые» и «регрессирующие» пиноподии. У развивающихся пиноподий (начало лютеиновой фазы) куполообразное выпячивание только начинает образовываться, и на их поверхности еще сохраняются небольшие микроворсинки, характерные для секреторных клеток. Поверхность зрелых пиноподий (середина лютеиновой фазы) гладкая, а выпячивание апикальной мембраны достигает максимума. Объем регрессирующих пиноподий (поздняя лютеиновая фаза) начинает снижаться, на поверхности появляются складки из цитоплазматической мембраны и вновь становятся заметными микроворсинки [17, 54, 55]. Различают несколько степеней относительного количества пиноподий в зависимости от доли трансформированных секреторных клеток в образце: «0» – полное отсутствие; «1» – незначительное количество (пиноподии покрывают менее 25% площади поверхности); «2» – умеренное количество (пиноподии занимают 25–50% площади поверхности); «3» – множество (более 50% площади поверхности образца занято пиноподиями) [56].

Функциональная роль пиноподий до конца не известна. Предполагают, что бластоциста связывается с пиноподиями во время имплантации, а выпуклая поверхность эпителиальных клеток без микроворсинок увеличивает площадь взаимодействия, повышая эффективность процесса [52]. Образцы эндометрия здоровых фертильных женщин, полученные в середине лютеиновой фазы, характеризуются наличием множества зрелых пиноподий [57, 58]. В исследованиях *in vitro* было показано, что бластоцисты человека взаимодействуют с участками эпителия эндометрия, покрытыми пиноподиями [52], а зрелость и количество пиноподий коррелируют с успешной имплантацией

эмбрионов [54, 59–61]. В то же время установлена возможность прикрепления бластоцист к участкам эндометрия без пиноподий или участкам с их незначительным количеством (< 25%) [62], что ставит под сомнение необходимость наличия пиноподий для имплантации.

Другой возможной функцией пиноподий у грызунов считается «поглощение» эндометриальной жидкости за счет пиноцитоза [44, 49, 63]. Активный пиноцитоз приводит к удалению жидкости из просвета матки и «схлопыванию» ее стенок, что способствует удержанию бластоцисты в месте имплантации [64]. Крупные вакуоли, характерные для пиноподий грызунов, принимают непосредственное участие в пиноцитозе [44, 49]. Но у человека участие пиноподий в поглощении эндометриальной жидкости не установлено [65]. По этой причине С.Р. Murphy предложил для обозначения пиноподий человека использовать термин «утеродомы» (англ. *uterodomes*) [51, 65].

У крыс появление пиноподий четко коррелирует с «созреванием» эндометрия и возможностью имплантации: пиноподии начинают образовываться на 4-й день после спаривания (преимплантационный период), их количество достигает максимума на 5-й день (время возможной имплантации) и стремительно снижается на 6-й день (постимплантационный период) [39, 48]. Однако для человека вопрос возможности использования пиноподий в качестве маркера уровня рецептивности эндометрия до сих пор остается дискуссионным ввиду противоречивых результатов проведенных исследований. В работах группы G. Nikas было показано, что пиноподии образуются в середине лютеиновой (секреторной) фазы менструального цикла, существуют менее 48 часов в период «имплантационного окна» и, таким образом, могут быть маркерами рецептивного эндометрия [17, 18, 54, 66]. Согласно результатам других исследований, пиноподии могут существовать в течение большей части лютеиновой фазы, без связи с периодом «имплантационного окна». При этом количество пиноподий и степень их зрелости могут сильно варьировать [40, 43, 45, 58, 67]. Например, в работе M. Creus и соавт. с целью изучения длительности существования пиноподий биопсия ткани эндометрия проводилась в различные периоды лютеиновой фазы: первая биопсия – на 7–8-й дни после овуляции (LN+7–LN+8, предполагаемый период «имплантационного окна»), вторая – спустя 11–12 дней после овуляции (LN+11–LN+12). В 73% биопсий, проведенных на 7–8-й дни, и 56% биопсий, проведенных на 11–12-й дни, были обнаружены пиноподии, то

есть более чем в 50% случаев пиноподии существовали по крайней мере в течение 4 дней, LH+8–LH+11 [57]. В другом исследовании были получены схожие результаты: пиноподии появлялись на 20–21-й дни цикла и могли быть обнаружены до 28-го дня [45]. Пиноподии находили и на более ранних сроках: по крайней мере в одном исследовании в 50% образцов пиноподии были обнаружены на 3-й день после овуляции и в 70–90% образцов – на 4–9-й дни [68]. Более того, в работе по изучению образцов эндометрия после прерывания беременности в первом триместре или неразвивающейся беременности было показано наличие пиноподий в структуре клеток эндометрия [40]. Следует отметить, что изучение количества и морфологии пиноподий представляет собой непростую задачу, и результаты сильно зависят от исследованных участков образца. Так, продемонстрировано существование в одном образце пиноподий на различных стадиях развития [40, 43]. К тому же оценка степени зрелости и количества пиноподий сильно зависит от опыта и квалификации специалиста.

Нарушение рецептивности эндометрия рассматривают как одну из возможных причин бесплодия при эндометриозе [69, 70]. В связи с этим в ряде работ была исследована динамика появления и морфологии пиноподий как возможного маркера рецептивности эндометрия в группах фертильных здоровых женщин и пациенток с эндометриозом. Было установлено отсутствие значимой разницы по обоим параметрам между группами [41, 71, 72]. Результаты свидетельствуют: бесплодие женщин с эндометриозом не связано с изменениями в морфологии или количестве пиноподий, а является следствием нарушений на другом уровне.

Роль пиноподий в качестве показателя уровня рецептивности эндометрия предполагает, что они образуются примерно в одно и то же время каждый овуляторный цикл. Изучение образцов эндометрия на 7-й день после овуляции в течение трех последовательных циклов показало плохую сходимость результатов в случае конкретной пациентки. При этом никакой закономерности, определяющей время образования пиноподий в следующем цикле, выявлено не было [73].

### Иммуногистохимические исследования

Описано множество соединений, влияющих прямо или опосредованно на взаимодействие между клетками трофобласта эмбриона и эндометрием на молекулярном уровне. Это белки клеточной адгезии, цитокины, факторы роста и другие

регуляторные и структурные молекулы [20, 22–24, 32]. Их изучение в образцах эндометрия преимущественно основано на использовании иммуногистохимических методов и в некоторых случаях, когда необходимо исследовать экспрессию белка на уровне мРНК, флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) [74–76]. Наиболее изученным белком, экспрессию которого связывают с установлением периода «имплантационного окна», является интегрин  $\alpha\beta 3$  [77–79]. Интегрины относятся к группе белков клеточной адгезии, которые отвечают за взаимодействие клеток друг с другом и с компонентами межклеточного матрикса. Установлено отсутствие или низкий уровень экспрессии интегрин  $\alpha\beta 3$  в различных воспалительных процессах, приводящих к нарушению имплантации: эндометриоз, эндометрит, гидросальпинкс [37, 38]. Сниженный уровень экспрессии интегрин  $\alpha\beta 3$  также связывают с идиопатическим бесплодием в рамках программ ВРТ [80, 81]. В исследованиях на мышах было показано, что интегрин  $\alpha\beta 3$  появляется в эндометрии в период «имплантационного окна», а также присутствует на поверхности клеток трофобласта эмбриона. Нарушение функции белка приводило к снижению количества сайтов имплантации [82]. Прогностический потенциал интегрин  $\alpha\beta 3$  в качестве маркера рецептивного эндометрия был реализован при создании коммерческих тестов компаниями “Cytoc Diagnostic Services Laboratory” и “Innovative Reproductive Solutions” (Etegrity Plus test), США. Тесты были основаны на иммуногистохимическом определении уровня экспрессии белка, однако широкого клинического применения данные исследования не получили. В группе белков клеточной адгезии есть и другие молекулы, кроме интегрин  $\alpha\beta 3$ , которые рассматривают в качестве способных влиять на рецептивность эндометрия: CD44, trophinin, cadherin-11 [83–85]. Другие возможные маркеры, определяющие рецептивное состояние эндометрия, включают: цитокин LIF (leukemia inhibitory factor – ингибирующий фактор лейкемии), факторы роста HB-EGF (heparin-binding epidermal growth factor-like factor – гепаринсвязывающий EGF-подобный фактор роста) и IGF-II (insulin-like growth factor-II – инсулиноподобный фактор роста-II) [20, 23, 32, 86], кальцитонин [74, 75], транскрипционные факторы HOXA10 и HOXA11 [76, 87–89], L-селектин и лиганд L-селектина [90].

### Определение уровня простагландинов PGE<sub>2</sub> и PGF<sub>2α</sub>

Изучение концентрации биологических молекул в различных жидкостях организма признано



эффективной альтернативой гистологическим методам диагностики, основанным на проведении инвазивных манипуляций. Клетки эндометрия активно выделяют эндометриальную жидкость, образец которой может быть использован для анализа [91]. При этом процедуру забора образца можно проводить в цикле переноса без негативного влияния на возможность последующей имплантации эмбриона [92]. F. Vilella и соавт. с целью диагностики периода «имплантационного окна» изучали уровень простагландинов PGE<sub>2</sub> и PGF<sub>2α</sub> в эндометриальной жидкости [19].

Простагландины представляют собой физиологически активные молекулы, образующиеся из фосфолипидов клеточной мембраны в результате последовательного действия цитозольной фосфолипазы A<sub>2</sub> (cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> – cPLA<sub>2</sub>), циклооксигеназ (cyclooxygenases: COX-1, COX-2, COX-3) и простагландинсинтаз (prostaglandin synthases – PGS) [93, 94]. Семейство простагландинов включает четыре вида молекул: PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub> и PGI<sub>2</sub> (простациклин). Простагландины принимают участие в регуляции ангиогенеза, межклеточного взаимодействия, инвазивных и метастатических процессов, влияют на морфологию и подвижность клеток [95]. Исследования на мышах показали важность cPLA<sub>2</sub> и COX-2 для успешной имплантации: отсутствие ферментов приводило к нарушению процессов овуляции, оплодотворения и имплантации [96, 97]. Введение экзогенного простагландина PGE<sub>2</sub> нивелировало эти эффекты [96]. У человека экспрессия ферментов, отвечающих за биосинтез простагландинов, так же как образование самих простагландинов, происходит на протяжении всего менструального цикла. Например, PGE<sub>2</sub>-синтаза (PGES) и простагландин PGE<sub>2</sub> были обнаружены в эндометрии на всех стадиях цикла с очевидным снижением уровня экспрессии/синтеза в период поздней лютеиновой фазы [98]. Простагландины PGF<sub>2α</sub> и PGI<sub>2</sub> играют важную роль во время пролиферативной и менструальной фаз цикла соответственно [99, 100]. Сниженный уровень образования простагландинов рассматривают как одну из возможных причин систематического нарушения имплантации эмбрионов в рамках программ ВРТ [101].

С помощью масс-спектрометрии F. Vilella и соавт. установили, что из всех липидных соединений эндометриальной жидкости на 19–23-й дни естественного менструального цикла статистически достоверно увеличивается концентрация только двух простагландинов – PGE<sub>2</sub> и PGF<sub>2α</sub> [19]. Эта закономерность сохраняется и в циклах с заместительной гормональной терапией, и в циклах

с контролируемой стимуляцией яичников. Использование маточной спирали, напротив, приводит к резкому снижению количества простагландинов. Авторы провели анализ концентрации данных простагландинов в образцах эндометриальной жидкости, взятых за 24 часа до переноса эмбрионов на 3-й или 5-й дни развития. В образцах пациенток, у которых перенос привел к имплантации и началу беременности, средний уровень концентрации простагландинов был существенно выше. В случае переноса на 3-й день чувствительность и специфичность исследования для PGE<sub>2</sub> составили 80 и 86,7% соответственно, для PGF<sub>2α</sub> – 100 и 93,3%. При переносе на 5-й день чувствительность и специфичность для PGE<sub>2</sub> были 75 и 77,8% соответственно, для PGF<sub>2α</sub> – 37,5 и 100% [19]. Авторы предположили, что исследование эндометриальной жидкости на предмет концентрации простагландинов PGE<sub>2</sub> и PGF<sub>2α</sub> за 24 часа до планируемого переноса эмбрионов может служить маркером успешной имплантации, однако для точного ответа на этот вопрос необходимо проведение более масштабных исследований.

### Молекулярно-генетические методы исследования

Образование пиноподий, изменение их морфологии, появление структурных белков на апикальной поверхности эпителиальных клеток, секреция растворимых регуляторных факторов и экспрессия других молекулярных маркеров рецептивного эндометрия – все эти процессы возникают вследствие изменения транскрипционной активности генов под влиянием стероидных гормонов. Транскрипционную активность генов определяют по количеству соответствующих мРНК. Представленность единичных молекул мРНК обычно изучают с помощью нозерн-блот анализа (англ. Northern blot) или обратной транскрипции с количественной полимеразной цепной реакцией. Для анализа всего пула молекул мРНК в клетке используют микроматричный анализ или высокопроизводительное секвенирование (next generation sequencing – NGS) – современные генетические технологии, которые в рамках одного эксперимента позволяют исследовать экспрессию сотен и тысячи генов. Так, во многих работах наряду с иммуногистохимическим окрашиванием проводили исследование количества и распределения соответствующих мРНК, например, фактора LIF [36, 102, 103], интегрин αvβ3 [32, 104], кальцитонина [74] и других. В частности, было показано, что мРНК фактора LIF может быть обнаружена в клетках эндометрия на протяжении 18–28 дней

цикла, при этом пик экспрессии приходится на 20-й день [102, 103]. Однако исследования единичных молекул мРНК, так же как и отдельных гистохимических маркеров рецептивности эндометрия, не отражают всей сложности процессов, происходящих в эндометрии в период «имплантационного окна», тогда как современные технологии для полногеномного профилирования мРНК дают более точную и полную картину. Полногеномный анализ мРНК уже широко применяется в онкологии для диагностики и классификации типа опухоли и подбора лекарственной терапии [105–108]. С помощью микроматричного анализа была установлена специфическая картина экспрессии мРНК (транскрипционный профиль), характерная для эндометрия здоровых фертильных женщин [109, 110] и эндометрия на фоне различных гинекологических заболеваний [111–114], показана возможность достоверной классификации образцов эндометрия согласно этапам лютеиновой фазы цикла по профилю мРНК в клетках образца [115–117].

Возможность использования транскрипционного профиля образца эндометрия для определения уровня рецептивности и периода «имплантационного окна» была реализована при создании теста ERA (Endometrium Receptivity Assay) [115]. В рамках теста проводится анализ мРНК 238 генов, показавших статистически достоверное различие уровня экспрессии при анализе образцов прециптивного, рецептивного и пострециптивного эндометрия. Для проведения исследования пул мРНК, выделенный из клеток образца, анализируют с помощью технологий микроматричного анализа или высокопроизводительного секвенирования (NGS). Последующая математическая обработка результатов позволяет оценить представленность различных мРНК и определить состояние эндометрия в зависимости от транскрипционного профиля образца. Для исследования необходимо проведение Пайпель-биопсии в цикле заместительной гормональной терапии или естественном цикле. Тест не был валидирован для программ с контролируемой гормональной стимуляцией овуляции. Согласно рекомендациям лаборатории, биопсия эндометрия в цикле гормонзаместительной терапии проводится спустя 5 полных дней (примерно 120 часов) с момента назначения препаратов прогестерона. Биопсия эндометрия в естественном менструальном цикле проводится спустя 7 полных дней (примерно 168 часов) с момента появления пика лютеинизирующего гормона (ЛН+0), определяемого по содержанию гормона в моче или сыворотке крови. Если для контроля

овуляции используется ультразвуковое исследование (Ov+0), биопсия проводится спустя 6 полных дней (Ov+6), что соответствует примерно 144 часам. В случае естественного менструального цикла с использованием хорионического гонадотропина (hCG) биопсия эндометрия проводится спустя 7 полных дней (hCG+7) с момента назначения препаратов гормона (hCG+0) [118].

Результат теста показывает состояние эндометрия на день проведения биопсии строго в рамках выбранного типа цикла. «Рецептивный» статус эндометрия означает, что период «имплантационного окна» для конкретного типа цикла приходится на момент биопсии и данный промежуток времени является наиболее благоприятным для имплантации развивающегося эмбриона. При наличии витрифицированных эмбрионов перенос может быть осуществлен при следующем повторении выбранного для исследования рецептивности варианта цикла, при этом перенос бластоцисты происходит в тот же день цикла, когда проводилась биопсия эндометрия, тогда как в случае трехдневных эмбрионов перенос осуществляется на 2 дня раньше. «Нерецептивный» статус эндометрия свидетельствует о смещении периода «имплантационного окна». При этом анализ транскрипционного профиля образца дает возможность предсказать, в какую именно сторону относительно дня биопсии в рамках выбранного варианта цикла произошло смещение ( $\pm 1, 2$  или 3 дня). Последующая подготовка к переносу эмбрионов должна осуществляться с учетом информации о смещении «имплантационного окна» в индивидуальном порядке. Примерно у 30% женщин, сталкивающихся с проблемой нарушения имплантации эмбрионов в рамках программ ВРТ, исследования показывают смещение периода «имплантационного окна» [119]. Решение о переносе эмбрионов принимается в индивидуальном порядке с учетом знания о состоянии зрелости эндометрия (personalised embryo transfer – pET). Благодаря витрификации эмбрионов стало возможным синхронизировать развитие эмбриона и время переноса, если диагностировано смещение «имплантационного окна». Исследования показали хорошую воспроизводимость результатов теста ERA: отклонений от первоначального диагноза не было обнаружено на протяжении 29–40 месяцев проведения повторных биопсий [120]. Стабильность результатов позволяет провести исследование в рамках одного цикла, а перенос – в рамках последующего цикла с учетом результатов анализа.

Несмотря на то что с помощью микроматриц или NGS стало возможным провести



одновременный анализ сразу большого количества транскриптов, не было выявлено одного или нескольких ключевых генов, способных влиять на рецептивность эндометрия. Одна из причин заключается в том, что для исследования мРНК выделяют из всех клеток образца эндометрия. Функционально активные клетки, экспрессирующие необходимые для установления максимальной рецептивности факторы, составляют меньшую долю по сравнению со всем пулом клеток. Таким образом, даже если отдельные гены претерпевают значительные колебания уровня активности в период «имплантационного окна», эти изменения не будут обнаружены, а результаты анализа отражают среднюю картину уровня экспрессии мРНК во всех клетках образца. При этом верно и обратное утверждение: гены, показывающие существенное увеличение или снижение активности по результатам полногеномного анализа, не обязательно ключевые для успешной имплантации. Именно поэтому результаты полногеномных исследований не всегда совпадают с результатами анализа единичных транскриптов [121]. Еще одна гипотеза связана с тем, что рецептивный статус эндометрия является результатом координированной экспрессии сразу большого количества генов, без доминирующей роли какого-то одного или нескольких факторов. Тем не менее в отдельных работах встречается информация о существовании «избранного» пула генов. Так, J.A. Nogajadas и соавт. предложили список из 25 генов, определяющих рецептивность эндометрия [122]. Для определения этих генов были проанализированы результаты полногеномных исследований в трех категориях образцов, полученных в рамках естественного цикла, после контролируемой стимуляции яичников или в условиях рефрактерного эндометрия (использование маточной спирали). В рамках естественного цикла были определены 1399 генов, активность которых меняется в течение предполагаемого периода «имплантационного окна», LH+7 [117, 121, 123]. Из них транскрипционная активность 342 генов изменяется на фоне контролируемой стимуляции яичников [109, 123] и 52 генов – в условиях рефрактерного эндометрия [124]. После сравнения результатов всех трех исследований была выделена группа из 25 генов, общих для каждого случая. Список включает гены, изменение активности которых было показано ранее при изучении единичных транскриптов, например, фактора LIF, и гены, активность которых изменяется в условиях эндометриоза [125] или рака эндометрия [126]. Недавно M. Enciso и соавт. предложили скрининговый тест уровня рецептивности эндометрия на

основе анализа экспрессии 40 генов с помощью обратной транскрипции и количественной полимеразной цепной реакции [127]. Были отобраны гены, активность которых изменяется при наступлении средней лютеиновой фазы и о продуктах которых известно, что они функционально вовлечены в различные процессы, протекающие в эндометрии в период «имплантационного окна» и на этапе подготовки к нему. Предложенная выборка генов позволяет, как и в случае теста ERA, дифференцировать статус образцов эндометрия как «рецептивный», «пре-» или «пострецептивный». Сравнивая результаты анализа с помощью обоих методов, авторы получили совпадение результатов в 97,59% тестовых образцов и в 91,67% экспериментальных образцов. Интересно, что только семь генов совпадают между этими двумя вариантами анализа. Возможно, разница в выборке генов и стала причиной неточного совпадения результатов тестов.

## Обсуждение

Осознание важности проблемы успешной имплантации эмбриона для лечения бесплодия и повышения результативности программ ВРТ привело к тому, что усилия многих лабораторий по всему миру направлены на поиски специфичного маркера, который мог бы служить для выявления патологии на уровне рецептивности эндометрия. Уникальный маркер должен появляться в период «имплантационного окна» в группе здоровых фертильных женщин и присутствовать в достоверно меньшем количестве или исчезать в группе пациенток с бесплодием, а также в случае пациенток с патологией со стороны эндометрия. Уровень экспрессии такого маркера должен положительно коррелировать с вероятностью успешной имплантации. Немаловажным также представляется способ забора биологического образца для проведения исследования: чем менее инвазивной будет процедура, тем лучше. Поиски такого маркера на уровне морфологии эндометрия, биохимическом и молекулярном уровнях привели к пониманию того, что рецептивный статус эндометрия зависит скорее от взаимодействия большого количества факторов, нежели от какого-то одного параметра. При этом сложность происходящих структурных и функциональных изменений, свидетельствующих об установлении рецептивного эндометрия, лучше всего отражает изучение активности генов в масштабах всего генома. Изучение какого-то одного или нескольких параметров не отражает всех происходящих событий, кроме того, в результате такого подхода могут быть упущены важные

процессы или взаимодействия. Анализ количества мРНК является одним из подходов, который используется для изучения активности генов, а такие современные технологии, как микроматричный анализ или высокопроизводительное секвенирование (NGS), делают возможным анализ всех транскриптов в рамках одного эксперимента. Принцип одновременного анализа большого количества мРНК был реализован при создании теста ERA, при проведении которого исследуется уровень экспрессии 238 генов, влияющих на рецептивность эндометрия [115]. Тест позволяет не только дифференцировать «рецептивное», «пре-» или «пострецептивное» состояния эндометрия, но в отличие от других методов, основанных на изучении уровня простагландинов в эндометриальной жидкости, иммуногистохимическом исследовании образца ткани эндометрия или анализе пиноподий с помощью электронной микроскопии, позволяет достоверно предсказать смещение периода «имплантационного окна» на более раннее или более позднее время. В основе точности и высокой клинической эффективности теста ERA лежат статистические данные, полученные в результате анализа большой выборки образцов эндометрия на этапе разработки теста. После коммерциализации и внедрения теста в клиническую практику по всему миру ежегодно проводятся тысячи исследований, результаты которых подтверждают точность и достоверность используемого алгоритма обработки данных.

Исследование уровня рецептивности эндометрия рекомендуется проводить после нескольких неудачных программ ВРТ, в том числе по причине нарушения имплантации эмбрионов, а также в случаях привычного невынашивания и ранних потерь. Перенос эмбрионов после преимплантационного генетического скрининга/диагностики позволяет снизить вероятность неудачи программы в результате хромосомных нарушений со стороны эмбриона. При этом факт неоднократных переносов генетически полноценного эмбриона (как минимум трех попыток в случае женщин моложе 37 лет и двух попыток для женщин старшего репродуктивного возраста) при условии нормально развитой матки и эндометрия толщиной  $\geq 6$  мм, закончившихся неудачей, позволяет предположить наличие патологии со стороны эндометрия. Смещение периода «имплантационного окна» установлено примерно у 30% женщин, попадающих в данную категорию пациентов [119].

Следует отметить, что экспрессия генов на уровне мРНК специфически регулируется с помощью микроРНК, которые обеспечивают более

тонкую настройку уровня экспрессии. МикроРНК представляют собой короткие, от 20 до 24 п.о., двухцепочечные молекулы РНК, способные приводить к деградации регулируемой мРНК или блоку ее трансляции [128, 129]. МикроРНК участвуют в регуляции многих биологических процессов, включая процессы роста и развития, дифференцировки, формирования органов и тканей, поддержания плюрипотентности и пролиферативной способности клеток, апоптоза [130, 131], – событий, аналогичных тем, которые в рамках менструального цикла происходят в том числе и с эндометрием матки. Таким образом, микроРНК могут принимать активное участие в регуляции установления рецептивного статуса эндометрия. Создание генетической панели, позволяющей определять профиль микроРНК в клетках эндометрия, может стать новым, более чувствительным в отношении различных вариантов патологических состояний, инструментом для изучения рецептивности эндометрия. Так, изменения профиля микроРНК уже много лет используются в онкологии для классификации опухолей, установления стадии развития, определения природы метастазов, подбора и прогноза эффективности химиотерапии, прогноза продолжительности жизни пациентов [132–134].

## Заключение

В последние годы с целью повышения результативности программ ВРТ акцент в репродуктивной медицине был сделан на преимплантационный генетический скрининг хромосомных нарушений и определение рецептивности эндометрия. Сегодня наиболее эффективными и точными методами диагностики периода «имплантационного окна», когда эндометрий достигает максимальной рецептивности, представляются подходы, основанные на изучении транскрипционного профиля образца ткани эндометрия. Анализ представленности мРНК позволяет не только точно диагностировать уровень рецептивности эндометрия на момент биопсии, но и достоверно предсказать возможное смещение периода «имплантационного окна» на более ранний или более поздний сроки. Несмотря на все достижения, большая часть программ ВРТ по-прежнему заканчиваются неудачно. Отсутствием имплантации может закончиться и перенос эмбриона после преимплантационного генетического скрининга/диагностики в период установленного «имплантационного окна». Возможная причина неудачи отчасти связана с ограничениями существующих методов



определения анеуплоидии в эмбрионах 5–6 дней развития. Однако причина может также скрываться в системных факторах, влияющих на здоровье матери и возможность имплантации эмбриона. К таким системным факторам относятся нарушения функции щитовидной железы, дефицит витамина D, уровень пролактина, ожирение,

воспалительные заболевания кишечника, аутоиммунные процессы, курение [22]. И хотя каждый из этих факторов в отдельности вряд ли выступает причиной бесплодия, в сочетании с другими обстоятельствами может приводить к снижению шансов на успешное завершение программы ВРТ. ☺

## Дополнительная информация

### Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

### Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

### Участие авторов

М.В. Кибанов – поиск и анализ литературы, обработка исходного материала, написание текста; Г.М. Махмудова – редактирование и финальное утверждение рукописи; Я.А. Гохберг – поиск и анализ литературы, обработка исходного материала, написание текста. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

## Литература / References

- Macklon NS, Geraedts JP, Fauser BC. Conception to ongoing pregnancy: the 'black box' of early pregnancy loss. *Hum Reprod Update*. 2002;8(4):333–43. doi: 10.1093/humupd/8.4.333.
- Lavergne N, Aristizabal J, Zarka V, Erny R, Hedon B. Uterine anomalies and in vitro fertilization: what are the results? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1996;68(1–2):29–34. doi: 10.1016/0301-2115(96)02459-1.
- Coughlan C, Ledger W, Wang Q, Liu F, Demiral A, Gurgan T, Cutting R, Ong K, Sallam H, Li TC. Recurrent implantation failure: definition and management. *Reprod Biomed Online*. 2014;28(1):14–38. doi: 10.1016/j.rbmo.2013.08.011.
- Fiorentino F, Bono S, Biricik A, Nuccitelli A, Cotroneo E, Cottone G, Kokocinski F, Michel CE, Minasi MG, Greco E. Application of next-generation sequencing technology for comprehensive aneuploidy screening of blastocysts in clinical preimplantation genetic screening cycles. *Hum Reprod*. 2014;29(12):2802–13. doi: 10.1093/humrep/deu277.
- Yang Z, Lin J, Zhang J, Fong W, Li P, Zhao R, Liu X, Podevin W, Kuang Y, Liu J. Randomized comparison of next-generation sequencing and array comparative genomic hybridization for preimplantation genetic screening: a pilot study. *BMC Med Genomics*. 2015;8:30. doi: 10.1186/s12920-015-0110-4.
- Yang Z, Liu J, Collins GS, Salem SA, Liu X, Lyle SS, Peck AC, Sills ES, Salem RD. Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis IVF patients: results from a randomized pilot study. *Mol Cytogenet*. 2012;5(1):24. doi: 10.1186/1755-8166-5-24.
- Harton GL, Munné S, Surrey M, Grifo J, Kaplan B, McCulloh DH, Griffin DK, Wells D; PGD Practitioners Group. Diminished effect of maternal age on implantation after preimplantation genetic diagnosis with array comparative genomic hybridization. *Fertil Steril*. 2013;100(6):1695–703. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.07.2002.
- Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Ross R. Contrasting patterns in in vitro fertilization pregnancy rates among fresh autologous, fresh oocyte donor, and cryopreserved cycles with the use of day 5 or day 6 blastocysts may reflect differences in embryo-endometrium synchrony. *Fertil Steril*. 2008;89(1):20–6. doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.08.092.
- Franasiak J, Forman EJ, Hong KH, Werner MD, Upham KM, Scott RT Jr. Investigating the impact of the timing of blastulation on implantation: active management of embryo-endometrial synchrony increases implantation rates. *Fertil Steril*. 2013;100(3 Suppl):S97. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.07.1710.
- Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Hudson C. Freeze-all can be a superior therapy to another fresh cycle in patients with prior fresh blastocyst implantation failure. *Reprod Biomed Online*. 2014;29(3):286–90. doi: 10.1016/j.rbmo.2014.04.009.
- Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR. Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *N Engl J Med*. 1999;340(23):1796–9. doi: 10.1056/NEJM199906103402304.
- Vanrell JA, Balasch J. Luteal phase defects in repeated abortion. *Int J Gynaecol Obstet*. 1986;24(2):111–5. doi: 10.1016/0020-7292(86)90004-4.
- Shapiro BS, Daneshmand ST, Desai J, Garner FC, Aguirre M, Hudson C. The risk of embryo-endometrium asynchrony increases with maternal age after ovarian stimulation and IVF. *Reprod Biomed Online*. 2016;33(1):50–5. doi: 10.1016/j.rbmo.2016.04.008.
- Frangouli E, Alfarawati S, Spath K, Jaroudi S, Sarasa J, Enciso M, Wells D. The origin and impact of embryonic aneuploidy. *Hum Genet*. 2013;132(9):1001–13. doi: 10.1007/s00439-013-1309-0.
- Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH, Werner MD, Upham KM, Treff NR, Scott RT Jr. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophoblast biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril*. 2014;101(3):656–63.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.11.004.
- Denker HW. Implantation: a cell biological paradox. *J Exp Zool*. 1993;266(6):541–58. doi: 10.1002/jez.1402660606.
- Nikas G. Endometrial receptivity: changes in cell-surface morphology. *Semin Reprod Med*. 2000;18(3):229–35. doi: 10.1055/s-2000-12561.
- Nikas G, Makrigiannakis A, Hovatta O, Jones HW Jr. Surface morphology of the human endometrium. Basic and clinical aspects. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;900:316–24. doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06244.x.
- Vilella F, Ramirez L, Berlanga O, Martínez S, Alamá P, Meseguer M, Pellicer A, Simón C. PGE2 and PGF2α concentrations in human endometrial fluid as biomarkers for embryonic implantation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(10):4123–32. doi: 10.1210/jc.2013-2205.
- Aplin JD, Ruane PT. Embryo-epithelium interactions during implantation at a glance. *J Cell Sci*. 2017;130(1):15–22. doi: 10.1242/jcs.175943.
- Aplin JD, Kimber SJ. Trophoblast-uterine interactions at implantation. *Reprod Biol Endocrinol*. 2004;2:48. doi: 10.1186/1477-7827-2-48.
- Fox C, Morin S, Jeong JW, Scott RT Jr, Lessey BA. Local and systemic factors and implantation: what is the evidence? *Fertil Steril*. 2016;105(4):873–84. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.02.018.
- Крылова ЮС, Кветной ИМ, Айламазян ЭК. Рецептивность эндометрия: молекулярные механизмы регуляции имплантации. Журнал акушерства и женских болезней. 2013;62(2):



- 63–74. doi: 10.17816/JOWD62263-74. [Krylova YS, Kvetnoy IM, Aylamazyan EK. Endometrial receptivity: the molecular mechanisms regulation of implantation. *Journal Of Obstetrics And Women's Diseases*. 2013;62(2):63–74. Russian. doi: 10.17816/JOWD62263-74].
24. Аганезов СС, Аганезова НВ, Мороцкая АВ, Пономаренко КЮ. Рецептивность эндометрия у женщин с нарушениями репродуктивной функции. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2017;66(3):135–42. doi: 10.17816/JOWD663135-142. [Aganezov SS, Aganezova NV, Morotskaya AV, Ponomarenko KY. Endometrial receptivity in women with disorders in reproductive system. *Journal Of Obstetrics And Women's Diseases*. 2017;66(3):135–42. Russian. doi: 10.17816/JOWD663135-142].
25. Jones GE. Some newer aspects of the management of infertility. *J Am Med Assoc*. 1949;141(16):1123–9. doi: 10.1001/jama.1949.02910160013004.
26. Balasch J, Creus M, Márquez M, Burzaco I, Vanrell JA. The significance of luteal phase deficiency on fertility: a diagnostic and therapeutic approach. *Hum Reprod*. 1986;1(3):145–7. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a136370.
27. McNeely MJ, Soules MR. The diagnosis of luteal phase deficiency: a critical review. *Fertil Steril*. 1988;50(1):1–15. doi: 10.1016/S0015-0282(16)59999-3.
28. Noyes RW, Hertig AT, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril*. 1950;1(1):3–25. doi: 10.1016/S0015-0282(16)30062-0.
29. Wentz AC. Endometrial biopsy in the evaluation of infertility. *Fertil Steril*. 1980;33(2):121–4. doi: 10.1016/S0015-0282(16)44530-9.
30. Davis OK, Berkeley AS, Naus GJ, Cholst IN, Freedman KS. The incidence of luteal phase defect in normal, fertile women, determined by serial endometrial biopsies. *Fertil Steril*. 1989;51(4):582–6. doi: 10.1016/S0015-0282(16)60603-9.
31. Coutifaris C, Myers ER, Guzick DS, Diamond MP, Carson SA, Legro RS, McGovern PG, Schlaff WD, Carr BR, Steinkampf MP, Silva S, Vogel DL, Leppert PC; NICHD National Cooperative Reproductive Medicine Network. Histological dating of timed endometrial biopsy tissue is not related to fertility status. *Fertil Steril*. 2004;82(5):1264–72. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.03.069.
32. Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update*. 2006;12(6):731–46. doi: 10.1093/humupd/dml004.
33. Murray MJ, Meyer WR, Zaino RJ, Lessey BA, Novotny DB, Ireland K, Zeng D, Fritz MA. A critical analysis of the accuracy, reproducibility, and clinical utility of histologic endometrial dating in fertile women. *Fertil Steril*. 2004;81(5):1333–43. doi: 10.1016/j.fertnstert.2003.11.030.
34. Myers ER, Silva S, Barnhart K, Groben PA, Richardson MS, Robboy SJ, Leppert P, Coutifaris C; NICHD National Cooperative Reproductive Medicine Network. Interobserver and intraobserver variability in the histological dating of the endometrium in fertile and infertile women. *Fertil Steril*. 2004;82(5):1278–82. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.04.058.
35. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Current clinical irrelevance of luteal phase deficiency: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2015;103(4):e27–32. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.12.128.
36. Franiasiak JM, Holoch KJ, Yuan L, Schammel DP, Young SL, Lessey BA. Prospective assessment of midsecretory endometrial leukemia inhibitor factor expression versus  $\alpha\beta 3$  testing in women with unexplained infertility. *Fertil Steril*. 2014;101(6):1724–31. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.02.027.
37. Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Buck CA, Schinnar R, Bilker W, Strom BL. Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79(2):643–9. doi: 10.1210/jcem.79.2.7519194.
38. Meyer WR, Castelbaum AJ, Somkuti S, Sagogoskin AW, Doyle M, Harris JE, Lessey BA. Hydrosalpinges adversely affect markers of endometrial receptivity. *Hum Reprod*. 1997;12(7):1393–8. doi: 10.1093/humrep/12.7.1393.
39. Psychoyos A, Mandon P. Study of the surface of the uterine epithelium by scanning electron microscope. Observations in the rat at the 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> day of pregnancy. *C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D*. 1971;272(21):2723–5.
40. Quinn C, Ryan E, Claessens EA, Greenblatt E, Hawrylyshyn P, Cruickshank B, Hannam T, Dunk C, Casper RF. The presence of pinopodes in the human endometrium does not delineate the implantation window. *Fertil Steril*. 2007;87(5):1015–21. doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.08.101.
41. Da Broi MG, Rocha CV Jr, Carvalho FM, Martins WP, Ferriani RA, Navarro PA. Ultrastructural evaluation of eutopic endometrium of infertile women with and without endometriosis during the window of implantation: A pilot study. *Reprod Sci*. 2017;24(10):1469–75. doi: 10.1177/1933719117691142.
42. Quinn CE, Deltmar J, Casper RF. Pinopodes are present in Lif null and Hoxa10 null mice. *Fertil Steril*. 2007;88(4 Suppl):1021–8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.11.157.
43. Quinn CE, Casper RF. Pinopodes: a questionable role in endometrial receptivity. *Hum Reprod Update*. 2009;15(2):229–36. doi: 10.1093/humupd/dmn052.
44. Enders AC, Nelson DM. Pinocytotic activity of the uterus of the rat. *Am J Anat*. 1973;138(3):277–99. doi: 10.1002/aja.1001380302.
45. Acosta AA, Elberger L, Borghi M, Calamera JC, Chemes H, Doncel GF, Kliman H, Lema B, Lustig L, Papier S. Endometrial dating and determination of the window of implantation in healthy fertile women. *Fertil Steril*. 2000;73(4):788–98. doi: 10.1016/S0015-0282(99)00605-6.
46. Nilsson O. Ultrastructure of mouse uterine surface epithelium under different estrogenic influences. 1. Spayed animals and oestrous animals. *J Ultrastruct Res*. 1958;1(4):375–96. doi: 10.1016/S0022-5320(58)90009-1.
47. Johannisson E, Nilsson L. Scanning electron microscopic study of the human endometrium. *Fertil Steril*. 1972;23(9):613–25. doi: 10.1016/S0015-0282(16)39188-9.
48. Singh MM, Chauhan SC, Trivedi RN, Maitra SC, Kamboj VP. Correlation of pinopod development on uterine luminal epithelial surface with hormonal events and endometrial sensitivity in rat. *Eur J Endocrinol*. 1996;135(1):107–17. doi: 10.1530/eje.0.1350107.
49. Parr MB, Parr EL. Uterine luminal epithelium: protrusions mediate endocytosis, not apocrine secretion, in the rat. *Biol Reprod*. 1974;11(2):220–33. doi: 10.1095/biolreprod11.2.220.
50. Nilsson O. Ultrastructure of the process of secretion in the rat uterine epithelium at pre-implantation. *J Ultrastruct Res*. 1972;40(5–6):572–80. doi: 10.1016/S0022-5320(72)80044-3.
51. Murphy CR. Understanding the apical surface markers of uterine receptivity: pinopods-or uterodomos? *Hum Reprod*. 2000;15(12):2451–4. doi: 10.1093/humrep/15.12.2451.
52. Bentin-Ley U, Sjögren A, Nilsson L, Hamberger L, Larsen JF, Horn T. Presence of uterine pinopodes at the embryo-endometrial interface during human implantation in vitro. *Hum Reprod*. 1999;14(2):515–20. doi: 10.1093/humrep/14.2.515.
53. Kabir-Salmani M, Nikzad H, Shiokawa S, Akimoto Y, Iwashita M. Secretory role for human uterodomos (pinopodes): secretion of LIF. *Mol Hum Reprod*. 2005;11(8):553–9. doi: 10.1093/molehr/gah218.
54. Nikas G. Pinopodes as markers of endometrial receptivity in clinical practice. *Hum Reprod*. 1999;14 Suppl 2:99–106. doi: 10.1093/humrep/14.suppl\_2.99.
55. Nikas G, Drakakis P, Loutradis D, Mara-Skoufari C, Koumantakis E, Michalas S, Psychoyos A. Uterine pinopodes as markers of the 'nidation window' in cycling women receiving exogenous oestradiol and progesterone. *Hum Reprod*. 1995;10(5):1208–13. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a136120.
56. Chen C, Yan Q, Liu K, Zhou X, Xian Y, Liang D, Zhao X, Guo X, Quan S. Endometrial receptivity markers in mice stimulated with raloxifene versus clomiphene citrate and natural cycles. *Reprod Sci*. 2016;23(6):748–55. doi: 10.1177/1933719115616496.
57. Creus M, Ordi J, Fábregues F, Casamitjana R, Ferrer B, Coll E, Vanrell JA, Balasch J.  $\alpha\beta 3$  integrin expression and pinopod formation in normal and out-of-phase endometria of fertile and infertile women. *Hum Reprod*. 2002;17(9):2279–86. doi: 10.1093/humrep/17.9.2279.
58. Usadi RS, Murray MJ, Bagnell RC, Fritz MA, Kowalik AI, Meyer WR, Lessey BA. Temporal and morphologic characteristics of pinopod expression across the secretory phase of the endometrial cycle in normally cycling women with proven fertility. *Fertil Steril*. 2003;79(4):970–4. doi: 10.1016/S0015-0282(02)04929-4.
59. Nikas G, Psychoyos A. Uterine pinopodes in peri-implantation human endometrium. Clinical relevance. *Ann N Y Acad Sci*.



- 1997;816:129–42. doi: 10.1111/j.1749-6632.1997.tb52136.x.
60. Adams SM, Gayer N, Terry V, Murphy CR. Manipulation of the follicular phase: Uterodomes and pregnancy – is there a correlation? *BMC Pregnancy Childbirth*. 2001;1(1):2. doi: 10.1186/1471-2393-1-2.
  61. Nikas G, Makrigiannakis A. Endometrial pinopodes and uterine receptivity. *Ann NY Acad Sci*. 2003;997:120–3. doi: 10.1196/annals.1290.042.
  62. Petersen A, Bentin-Ley U, Ravn V, Qvortrup K, Sørensen S, Islin H, Sjøgren A, Mosselmann S, Hamberger L. The antiprogesterone Org 31710 inhibits human blastocyst-endometrial interactions in vitro. *Fertil Steril*. 2005;83 Suppl 1:1255–63. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.08.040.
  63. Parr MB, Parr EL. Endocytosis in the uterine epithelium of the mouse. *J Reprod Fertil*. 1977;50(1):151–3. doi: 10.1530/jrf.0.0500151.
  64. Parr MB. Relationship of uterine closure to ovarian hormones and endocytosis in the rat. *J Reprod Fertil*. 1983;68(1):185–8. doi: 10.1530/jrf.0.0680185.
  65. Adams SM, Gayer N, Hosie MJ, Murphy CR. Human uterodomes (pinopods) do not display pinocytotic function. *Hum Reprod*. 2002;17(8):1980–6. doi: 10.1093/humrep/17.8.1980.
  66. Aghajanova L, Stavreus-Evers A, Nikas Y, Hovatta O, Landgren BM. Coexpression of pinopodes and leukemia inhibitory factor, as well as its receptor, in human endometrium. *Fertil Steril*. 2003;79 Suppl 1:808–14. doi: 10.1016/S0015-0282(02)04830-6.
  67. Xu B, Sun X, Li L, Wu L, Zhang A, Feng Y. Pinopodes, leukemia inhibitory factor, integrin- $\beta$ 3, and mucin-1 expression in the peri-implantation endometrium of women with unexplained recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*. 2012;98(2):389–95. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.04.032.
  68. Creus M, Ordi J, Fábregues F, Casamitjana R, Carmona F, Cardesa A, Vanrell JA, Balasch J. The effect of different hormone therapies on integrin expression and pinopode formation in the human endometrium: a controlled study. *Hum Reprod*. 2003;18(4):683–93. doi: 10.1093/humrep/deg177.
  69. Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, Barbieri RL, Marshall LM, Hunter DJ. Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by demographic, anthropometric, and lifestyle factors. *Am J Epidemiol*. 2004;160(8):784–96. doi: 10.1093/aje/kwh275.
  70. Holoch KJ, Lessey BA. Endometriosis and infertility. *Clin Obstet Gynecol*. 2010;53(2):429–38. doi: 10.1097/GRF.0b013e3181db7d71.
  71. Garcia-Velasco JA, Nikas G, Remohí J, Pellicer A, Simón C. Endometrial receptivity in terms of pinopode expression is not impaired in women with endometriosis in artificially prepared cycles. *Fertil Steril*. 2001;75(6):1231–3. doi: 10.1016/S0015-0282(01)01774-5.
  72. Ordi J, Creus M, Casamitjana R, Cardesa A, Vanrell JA, Balasch J. Endometrial pinopode and alphavbeta3 integrin expression is not impaired in infertile patients with endometriosis. *J Assist Reprod Genet*. 2003;20(11):465–73. doi: 10.1023/B:JARG.0000006709.61216.6f.
  73. Ordi J, Creus M, Quintó L, Casamitjana R, Cardesa A, Balasch J. Within-subject between-cycle variability of histological dating, alpha v beta 3 integrin expression, and pinopod formation in the human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(5):2119–25. doi: 10.1210/jc.2002-021659.
  74. Kumar S, Zhu LJ, Polihronis M, Cameron ST, Baird DT, Schatz F, Dua A, Ying YK, Bagchi MK, Bagchi IC. Progesterone induces calcitonin gene expression in human endometrium within the putative window of implantation. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(12):4443–50. doi: 10.1210/jcem.83.12.5328.
  75. Zhu LJ, Cullinan-Bove K, Polihronis M, Bagchi MK, Bagchi IC. Calcitonin is a progesterone-regulated marker that forecasts the receptive state of endometrium during implantation. *Endocrinology*. 1998;139(9):3923–34. doi: 10.1210/endo.139.9.6178.
  76. Taylor HS, Arici A, Olive D, Igarashi P. HOXA10 is expressed in response to sex steroids at the time of implantation in the human endometrium. *J Clin Invest*. 1998;101(7):1379–84. doi: 10.1172/JCI1057.
  77. Lessey BA, Damjanovich L, Coutifaris C, Castelbaum A, Albelda SM, Buck CA. Integrin adhesion molecules in the human endometrium. Correlation with the normal and abnormal menstrual cycle. *J Clin Invest*. 1992;90(1):188–95. doi: 10.1172/JCI115835.
  78. Lessey BA, Castelbaum AJ, Buck CA, Lei Y, Yowell CW, Sun J. Further characterization of endometrial integrins during the menstrual cycle and in pregnancy. *Fertil Steril*. 1994;62(3):497–506. doi: 10.1016/S0015-0282(16)56937-4.
  79. Thomas K, Thomson A, Wood S, Kingsland C, Vince G, Lewis-Jones I. Endometrial integrin expression in women undergoing in vitro fertilization and the association with subsequent treatment outcome. *Fertil Steril*. 2003;80(3):502–7. doi: 10.1016/S0015-0282(03)00792-1.
  80. Tei C, Maruyama T, Kuji N, Miyazaki T, Mikami M, Yoshimura Y. Reduced expression of alphavbeta3 integrin in the endometrium of unexplained infertility patients with recurrent IVF-ET failures: improvement by danazol treatment. *J Assist Reprod Genet*. 2003;20(1):13–20. doi: 10.1023/A:1021254620888.
  81. Miller PB, Parnell BA, Bushnell G, Tallman N, Forstein DA, Higdon HL 3<sup>rd</sup>, Kitawaki J, Lessey BA. Endometrial receptivity defects during IVF cycles with and without letrozole. *Hum Reprod*. 2012;27(3):881–8. doi: 10.1093/humrep/der452.
  82. Illera MJ, Cullinan E, Gui Y, Yuan L, Beyler SA, Lessey BA. Blockade of the alpha(v)beta(3) integrin adversely affects implantation in the mouse. *Biol Reprod*. 2000;62(5):1285–90. doi: 10.1095/biolreprod62.5.1285.
  83. Yaegashi N, Fujita N, Yajima A, Nakamura M. Menstrual cycle dependent expression of CD44 in normal human endometrium. *Hum Pathol*. 1995;26(8):862–5. doi: 10.1016/0046-8177(95)90008-X.
  84. Fukuda MN, Sato T, Nakayama J, Klier G, Mikami M, Aoki D, Nozawa S. Trophinin and tastin, a novel cell adhesion molecule complex with potential involvement in embryo implantation. *Genes Dev*. 1995;9(10):1199–210. doi: 10.1101/gad.9.10.1199.
  85. MacCalman CD, Furth EE, Omigbodun A, Bronner M, Coutifaris C, Strauss JF 3<sup>rd</sup>. Regulated expression of cadherin-11 in human epithelial cells: a role for cadherin-11 in trophoblast-endometrium interactions? *Dev Dyn*. 1996;206(2):201–11. doi: 10.1002/(SICI)1097-0177(199606)206:2<201::AID-AJA9>3.0.CO;2-M.
  86. Rarani FZ, Borhani F, Rashidi B. Endometrial pinopode biomarkers: Molecules and microRNAs. *J Cell Physiol*. 2018;233(12):9145–58. doi: 10.1002/jcp.26852.
  87. Eun Kwon H, Taylor HS. The role of HOX genes in human implantation. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1034:1–18. doi: 10.1196/annals.1335.001.
  88. Vitiello D, Kodaman PH, Taylor HS. HOX genes in implantation. *Semin Reprod Med*. 2007;25(6):431–6. doi: 10.1055/s-2007-991040.
  89. Князева ЕА, Калинина ЕА, Быстрицкий АА, Алиева КУ, Байрамова ГР. Роль HOX-генов при заболеваниях репродуктивной системы женщины, ассоциированных с бесплодием. *Акушерство и гинекология*. 2017;(11):16–22. doi: 10.18565/aig.2017.11.16-22. [Knyazeva EA, Kalinina EA, Bystritsky AA, Alieva KU, Bairamova GR. Role of HOX genes associated with infertility in female reproductive system diseases. *Obstetrics and Gynecology*. 2017;(11):16–22. Russian. doi: 10.18565/aig.2017.11.16-22].
  90. Genbacev OD, Prakobphol A, Foulk RA, Krtolica AR, Ilic D, Singer MS, Yang ZQ, Kiessling LL, Rosen SD, Fisher SJ. Trophoblast L-selectin-mediated adhesion at the maternal-fetal interface. *Science*. 2003;299(5605):405–8. doi: 10.1126/science.1079546.
  91. Simón C, Gimeno MJ, Mercader A, O'Connor JE, Remohí J, Polan ML, Pellicer A. Embryonic regulation of integrins beta 3, alpha 4, and alpha 1 in human endometrial epithelial cells in vitro. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(8):2607–16. doi: 10.1210/jcem.82.8.4153.
  92. van der Gaast MH, Beier-Hellwig K, Fauser BC, Beier HM, Macklon NS. Endometrial secretion aspiration prior to embryo transfer does not reduce implantation rates. *Reprod Biomed Online*. 2003;7(1):105–9. doi: 10.1016/S1472-6483(10)61737-3.
  93. Smith WL, Dewitt DL. Prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2. *Adv Immunol*. 1996;62:167–215. doi: 10.1016/S0065-2776(08)60430-7.
  94. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1998;38:97–120. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.38.1.97.
  95. Jabbour HN, Sales KJ. Prostaglandin receptor signalling and function in human endometrial pathology. *Trends Endocrinol Metab*. 2004;15(8):398–404. doi: 10.1016/j.tem.2004.08.006.



96. Song H, Lim H, Paria BC, Matsumoto H, Swift LL, Morrow J, Bonventre JV, Dey SK. Cytosolic phospholipase A2alpha is crucial [correction of A2alpha deficiency is crucial] for 'on-time' embryo implantation that directs subsequent development. *Development*. 2002;129(12):2879–89.
97. Lim H, Paria BC, Das SK, Dinchuk JE, Langenbach R, Trzaskos JM, Dey SK. Multiple female reproductive failures in cyclooxygenase 2-deficient mice. *Cell*. 1997;91(2):197–208. doi: 10.1016/S0092-8674(00)80402-X.
98. Milne SA, Perchick GB, Boddy SC, Jabbour HN. Expression, localization, and signaling of PGE(2) and EP2/EP4 receptors in human non-pregnant endometrium across the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(9):4453–9. doi: 10.1210/jcem.86.9.7856.
99. Milne SA, Jabbour HN. Prostaglandin (PG) F(2alpha) receptor expression and signaling in human endometrium: role of PGF(2alpha) in epithelial cell proliferation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(4):1825–32. doi: 10.1210/jc.2002-021368.
100. Battersby S, Critchley HO, de Brum-Fernandes AJ, Jabbour HN. Temporal expression and signalling of prostacyclin receptor in the human endometrium across the menstrual cycle. *Reproduction*. 2004;127(1):79–86. doi: 10.1530/rep.1.00038.
101. Achache H, Tsafir A, Prus D, Reich R, Revel A. Defective endometrial prostaglandin synthesis identified in patients with repeated implantation failure undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2010;94(4):1271–8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.07.1668.
102. Charnock-Jones DS, Sharkey AM, Fenwick P, Smith SK. Leukaemia inhibitory factor mRNA concentration peaks in human endometrium at the time of implantation and the blastocyst contains mRNA for the receptor at this time. *J Reprod Fertil*. 1994;101(2):421–6. doi: 10.1530/jrf.0.1010421.
103. Vogjiadis D, Marsh MM, Fry RC, Salamonsen LA. Leukaemia inhibitory factor in human endometrium throughout the menstrual cycle. *J Endocrinol*. 1996;148(1):95–102.
104. Apparao KB, Murray MJ, Fritz MA, Meyer WR, Chambers AF, Truong PR, Lessey BA. Osteopontin and its receptor alphavbeta(3) integrin are coexpressed in the human endometrium during the menstrual cycle but regulated differentially. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(10):4991–5000. doi: 10.1210/jcem.86.10.7906.
105. Golub TR, Slonim DK, Tamayo P, Huard C, Gaasenbeek M, Mesirov JP, Coller H, Loh ML, Downing JR, Caligiuri MA, Bloomfield CD, Lander ES. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science*. 1999;286(5439):531–7. doi: 10.1126/science.286.5439.531.
106. Bloom G, Yang IV, Boulware D, Kwong KY, Coppola D, Eschrich S, Quackenbush J, Yeatman TJ. Multi-platform, multi-site, microarray-based human tumor classification. *Am J Pathol*. 2004;164(1):9–16. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63090-8.
107. Eschrich S, Yang I, Bloom G, Kwong KY, Boulware D, Cantor A, Coppola D, Kruhoffer M, Aaltonen L, Orntoft TF, Quackenbush J, Yeatman TJ. Molecular staging for survival prediction of colorectal cancer patients. *J Clin Oncol*. 2005;23(15):3526–35. doi: 10.1200/JCO.2005.00.695.
108. Quackenbush J. Microarray analysis and tumor classification. *N Engl J Med*. 2006;354(23):2463–72. doi: 10.1056/NEJMra042342.
109. Kao LC, Tulac S, Lobo S, Imani B, Yang JP, Germeyer A, Osteen K, Taylor RN, Lessey BA, Giudice LC. Global gene profiling in human endometrium during the window of implantation. *Endocrinology*. 2002;143(6):2119–38. doi: 10.1210/endo.143.6.8885.
110. Talbi S, Hamilton AE, Vo KC, Tulac S, Overgaard MT, Dosiou C, Le Shay N, Nezhat CN, Kempson R, Lessey BA, Nayak NR, Giudice LC. Molecular phenotyping of human endometrium distinguishes menstrual cycle phases and underlying biological processes in normo-ovulatory women. *Endocrinology*. 2006;147(3):1097–121. doi: 10.1210/en.2005-1076.
111. Savaris RF, Groll JM, Young SL, DeMayo FJ, Jeong JW, Hamilton AE, Giudice LC, Lessey BA. Progesterone resistance in PCOS endometrium: a microarray analysis in clomiphene citrate-treated and artificial menstrual cycles. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(6):1737–46. doi: 10.1210/jc.2010-2600.
112. Burney RO, Talbi S, Hamilton AE, Vo KC, Nyegaard M, Nezhat CR, Lessey BA, Giudice LC. Gene expression analysis of endometrium reveals progesterone resistance and candidate susceptibility genes in women with endometriosis. *Endocrinology*. 2007;148(8):3814–26. doi: 10.1210/en.2006-1692.
113. Kao LC, Germeyer A, Tulac S, Lobo S, Yang JP, Taylor RN, Osteen K, Lessey BA, Giudice LC. Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinology*. 2003;144(7):2870–81. doi: 10.1210/en.2003-0043.
114. Tamareis JS, Irwin JC, Goldfien GA, Rabban JT, Burney RO, Nezhat C, DePaolo LV, Giudice LC. Molecular classification of endometriosis and disease stage using high-dimensional genomic data. *Endocrinology*. 2014;155(12):4986–99. doi: 10.1210/en.2014-1490.
115. Diaz-Gimeno P, Horcajadas JA, Martínez-Conejero JA, Esteban FJ, Alamá P, Pellicer A, Simón C. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature. *Fertil Steril*. 2011;95(1):50–60. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.04.063.
116. Carson DD, Lagow E, Thathiah A, Al-Shami R, Farach-Carson MC, Vernon M, Yuan L, Fritz MA, Lessey B. Changes in gene expression during the early to mid-luteal (receptive phase) transition in human endometrium detected by high-density microarray screening. *Mol Hum Reprod*. 2002;8(9):871–9. doi: 10.1093/molehr/8.9.871.
117. Riesewijk A, Martín J, van Os R, Horcajadas JA, Polman J, Pellicer A, Mosselman S, Simón C. Gene expression profiling of human endometrial receptivity on days LH+2 versus LH+7 by microarray technology. *Mol Hum Reprod*. 2003;9(5):253–64. doi: 10.1093/molehr/gag037.
118. Blesa D, Ruiz-Alonso M, Simón C. Clinical management of endometrial receptivity. *Semin Reprod Med*. 2014;32(5):410–3. doi: 10.1055/s-0034-1376360.
119. Ruiz-Alonso M, Galindo N, Pellicer A, Simón C. What a difference two days make: "personalized" embryo transfer (pET) paradigm: a case report and pilot study. *Hum Reprod*. 2014;29(6):1244–7. doi: 10.1093/humrep/deu070.
120. Diaz-Gimeno P, Ruiz-Alonso M, Blesa D, Bosch N, Martínez-Conejero JA, Alamá P, Garrido N, Pellicer A, Simón C. The accuracy and reproducibility of the endometrial receptivity array is superior to histology as a diagnostic method for endometrial receptivity. *Fertil Steril*. 2013;99(2):508–17. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.09.046.
121. Mirkin S, Arslan M, Churikov D, Corica A, Diaz JI, Williams S, Bocca S, Oehninger S. In search of candidate genes critically expressed in the human endometrium during the window of implantation. *Hum Reprod*. 2005;20(8):2104–17. doi: 10.1093/humrep/dei051.
122. Horcajadas JA, Pellicer A, Simón C. Wide genomic analysis of human endometrial receptivity: new times, new opportunities. *Hum Reprod Update*. 2007;13(1):77–86. doi: 10.1093/humupd/dml046.
123. Horcajadas JA, Riesewijk A, Polman J, van Os R, Pellicer A, Mosselman S, Simón C. Effect of controlled ovarian hyperstimulation in IVF on endometrial gene expression profiles. *Mol Hum Reprod*. 2005;11(3):195–205. doi: 10.1093/molehr/gah150.
124. Horcajadas JA, Sharkey AM, Catalano RD, Sherwin JR, Domínguez F, Burgos LA, Castro A, Peraza MR, Pellicer A, Simón C. Effect of an intrauterine device on the gene expression profile of the endometrium. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(8):3199–207. doi: 10.1210/jc.2006-0430.
125. Arimoto T, Katagiri T, Oda K, Tsunoda T, Yasugi T, Osuga Y, Yoshikawa H, Nishii O, Yano T, Taketani Y, Nakamura Y. Genome-wide cDNA microarray analysis of gene-expression profiles involved in ovarian endometriosis. *Int J Oncol*. 2003;22(3):551–60. doi: 10.3892/ijo.22.3.551.
126. Moreno-Bueno G, Hardisson D, Sarrío D, Sánchez C, Cassia R, Prat J, Herman JG, Esteller M, Matías-Guiu X, Palacios J. Abnormalities of E- and P-cadherin and catenin (beta-, gamma-catenin, and p120ctn) expression in endometrial cancer and endometrial atypical hyperplasia. *J Pathol*. 2003;199(4):471–8. doi: 10.1002/path.1310.
127. Enciso M, Carrascosa JP, Sarasa J, Martínez-Ortiz PA, Munné S, Horcajadas JA, Aizpurua J. Development of a new comprehensive and reliable endometrial receptivity map (ER Map/



- ER Grade) based on RT-qPCR gene expression analysis. *Hum Reprod.* 2018;33(2):220–8. doi: 10.1093/humrep/dex370.
128. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell.* 2009;136(2):215–33. doi: 10.1016/j.cell.2009.01.002.
129. Jonas S, Izaurralde E. Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing. *Nat Rev Genet.* 2015;16(7):421–33. doi: 10.1038/nrg3965.
130. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature.* 2004;431(7006):350–5. doi: 10.1038/nature02871.
131. Bartel DP. Metazoan MicroRNAs. *Cell.* 2018;173(1):20–51. doi: 10.1016/j.cell.2018.03.006.
132. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, Shimizu M, Rattan S, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(9):2999–3004. doi: 10.1073/pnas.0307323101.
133. Calin GA, Liu CG, Sevignani C, Ferracin M, Felli N, Dumitru CD, Shimizu M, Cimmino A, Zupo S, Dono M, Dell'Aquila ML, Alder H, Rassenti L, Kipps TJ, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. MicroRNA profiling reveals distinct signatures in B cell chronic lymphocytic leukemias. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(32):11755–60. doi: 10.1073/pnas.0404432101.
134. Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, Sweet-Cordero A, Ebert BL, Mak RH, Ferrando AA, Downing JR, Jacks T, Horvitz HR, Golub TR. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature.* 2005;435(7043):834–8. doi: 10.1038/nature03702.

## In search for an ideal marker of endometrial receptivity: from histology to comprehensive molecular genetics-based approaches

M.V. Kibanov<sup>1</sup> • G.M. Makhmudova<sup>1</sup> • Ya.A. Gokhberg<sup>1</sup>

**Background:** Despite significant improvements in the efficiency of assisted reproductive technologies (ART) for the past 10 years, proportion of unsuccessful cycles still remains significant and can reach up to 40%. Impairment of embryonic implantation is considered as one of the possible causes for low ART efficiency. Implantation failure may be a consequence of a shift in the “window of implantation”, i.e. the period of a cycle when endometrium is most receptive and ready for embryo implantation. Several methods have been developed to evaluate endometrial receptivity, but their accuracy and efficiency are quite different. **Aim:** Review and efficiency evaluation of the methods used for endometrial receptivity assessment and the window of implantation determination. **Methods:** We performed a comprehensive literature search (September 2018) with the key words “endometrial receptivity”, “endometrial receptivity evaluation”, “implantation window”, “window of implantation”, “pinopodes” from PubMed and E-library (Russian) databases. One hundred and thirty four (134) publications were selected for the analysis, including 101 original papers and 33 literature reviews. **Results:** The methods of conventional histology, scanning electronic microscopy, immunohistochemistry, as well as techniques

based on the measurement of prostaglandin levels in endometrial fluid and mRNA profiling in an endometrium biopsy sample to assess endometrial receptivity are reviewed. The issue of a search for an ideal endometrial receptivity marker is discussed. **Conclusion:** At present, the most efficient and accurate methods to diagnose the window of implantation are those based on the mRNA profile assessment of an endometrial tissue sample. Analysis of mRNAs allows not only the accurate diagnosis of endometrial receptivity at the time of biopsy to be determined, but also the window of implantation shift to earlier or later periods to be reliably predicted.

**Key words:** endometrial receptivity, implantation window, window of implantation, pinopodes

**For citation:** Kibanov MV, Makhmudova GM, Gokhberg YaA. In search for an ideal marker of endometrial receptivity: from histology to comprehensive molecular genetics-based approaches. *Almanac of Clinical Medicine.* 2019;47(1):12–25. doi: 10.18786/2072-0505-2019-47-005.

Received 30 October 2018; accepted 22 January 2019; published 07 February 2019

**Mikhail V. Kibanov** – PhD (in Biol.), Biologist, Laboratory of Reproductive Genetics<sup>1</sup>  
✉ 15/1 Volochaevskaya ul., Moscow, 111033, Russian Federation. Tel.: +7 (495) 234 42 42. E-mail: mkibanov@gmail.com

**Gulnora M. Makhmudova** – MD, PhD, Professor, Head Physician, Head of the Reproductive and Gynecology Department<sup>1</sup>

**Yael A. Gokhberg** – Postgraduate Student<sup>1</sup>

### Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

<sup>1</sup>Yauza Medical Center; 15/1 Volochaevskaya ul., Moscow, 111033, Russian Federation