

Экспрессия генов *MSX1*, *HOXA11* и *TP53I3* в эндометрии, связанная с наступлением беременности после неоднократных неудачных попыток экстракорпорального оплодотворения у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия

Е.А. Князева[✉], М.В. Кузнецова, О.В. Бурменская, А.Е. Донников, Е.А. Калинина
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия
[✉]dr.knyazeva.ea@gmail.com

Аннотация

Актуальность. Успешность программы экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) в числе прочих факторов зависит от готовности эндометрия принять эмбрион. Считается, что это возможно в так называемое «окно имплантации», сроки которого могут сдвигаться под влиянием разных факторов. Оценка рецептивности эндометрия и «окна имплантации» на основе анализа экспрессии генов эндометрия перед переносом эмбрионов является перспективным подходом для предсказания вероятности наступления беременности в программах ЭКО.

Цель. Построить классификатор на основе экспрессии генов эндометрия для предсказания исходов программы ЭКО у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе.

Материалы и методы. Перед очередной программой ЭКО было проведено полногеномное транскриптомное профилирование с помощью микрочипов Affymetrix образцов эндометрия 15 женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе. Были выбраны потенциальные гены, способные классифицировать исходы программы ЭКО, после чего экспрессия данных генов анализировалась методом полимеразной цепной реакции в реальном времени в эндометрии 47 женщин для построения классификаторов исходов ЭКО на основе экспрессии пар и троек генов.

Результаты. Классификатор на основе экспрессии тройки генов *MSX1* (*HOX7*), *HOXA11* и *TP53I3* позволял определять наступление беременности в программе ЭКО с чувствительностью 73% и специфичностью 71% при площади под ROC-кривой (AUC) 0,738 (95% доверительный интервал 0,577–0,898). Ранее была выявлена связь экспрессии данных генов с рецептивностью эндометрия, что позволяет предполагать, что эти гены играют роль в наступлении «окна имплантации».

Выводы. Использование классификатора на основе генов *MSX1* (*HOX7*), *HOXA11* и *TP53I3* может определять готовность эндометрия принять эмбрион и создавать индивидуальный прогноз исхода программы ЭКО у женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе.

Ключевые слова: экстракорпоральное оплодотворение, бесплодие, рецептивность эндометрия, «окно имплантации», метилирование ДНК, *HOX*-гены, *HOXA11*, *MSX1*, *TP53I3*.

Для цитирования: Князева Е.А., Кузнецова М.В., Бурменская О.В. и др. Экспрессия генов *MSX1*, *HOXA11* и *TP53I3* в эндометрии, связанная с наступлением беременности после неоднократных неудачных попыток экстракорпорального оплодотворения у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. Гинекология. 2020; 22 (1): 23–28. DOI: 10.26442/20795696.2020.1.200028

Original Article

Expression of *MSX1*, *HOXA11* and *TP53I3* in the endometrium associated with the onset of pregnancy after repeated failed IVF attempts in patients with tubo-peritoneal factor infertility

Ekaterina A. Knyazeva[✉], Maria V. Kuznetsova, Olga V. Burmenskaya, Andrey E. Donnikov, Elena A. Kalinina
Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia
[✉]dr.knyazeva.ea@gmail.com

Abstract

Relevance. The success of the in vitro fertilisation (IVF) program, among other factors, depends on the readiness of the endometrium to accept the embryo. It is believed that this is possible during the so-called "implantation window", the timing of which can be shifted under the influence of various factors. Evaluation of endometrial receptivity and the "implantation window" based on analysis of endometrial gene expression before embryo transfer is a promising approach for predicting the likelihood of pregnancy in IVF programs.

Aim. To construct a classifier based on the expression of endometrial genes for predicting the outcome of an IVF program in patients with tubal-peritoneal infertility factor and repeated failed IVF attempts in history.

Materials and methods. Before the IVF program, a genome-wide transcriptome profiling of endometrial samples of 15 women with tubal-peritoneal infertility factor and repeated unsuccessful IVF attempts in history was carried out using Affymetrix arrays. Potential genes capable of classifying IVF program outcomes were selected, after which the expression of these genes was analyzed by qPCR-RT in the endometrium of 47 women to construct IVF outcome classifiers based on the expression of pairs or triples of genes.

Results. A classifier based on the expression of the triple of genes *MSX1* (*HOX7*), *HOXA11*, and *TP53I3* made it possible to determine the onset of pregnancy in an IVF program with a sensitivity of 73% and a specificity of 71% with an area under the ROC-curve (AUC) of 0.738 (95% confidence interval 0.577–0.898). Earlier, a relationship was found between the expression of these genes and receptivity of the endometrium, which suggests that these genes play a role in the onset of the "implantation window".

Conclusions. The use of a classifier based on the genes *MSX1* (*HOX7*), *HOXA11*, and *TP53I3* can determine the readiness of the endometrium to accept an embryo and create an individual prognosis of the outcome of an IVF program in women with tubal-peritoneal infertility factor and repeated failed IVF attempts in history.

Key words: in vitro fertilisation, infertility, endometrial receptivity, implantation window, DNA methylation, *HOX* genes, *HOXA11*, *MSX1*, *TP53I3*.

For citation: Knyazeva E.A., Kuznetsova M.V., Burmenskaya O.V. et al. Expression of *MSX1*, *HOXA11* and *TP53I3* in the endometrium associated with the onset of pregnancy after repeated failed IVF attempts in patients with tubo-peritoneal factor infertility Gynecology. 2020; 22 (1): 23–28. DOI: 10.26442/20795696.2020.1.200028

Введение

В настоящее время наиболее эффективным способом лечения бесплодия во всем мире является использование программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) используется в мировой практике в терапии бесплодия с 1978 г. Частота применения метода ЭКО в России с целью лечения бесплодия с каждым годом увеличивается: за 20 лет (с 1995 по 2015 г.) количество проводимых циклов ЭКО увеличилось более чем в 30 раз (с 3690 до 111 972 циклов) [1]. Несмотря на более чем 40-летнюю историю существования методов ВРТ, эффективность программ ЭКО существенно не меняется и частота наступления беременности составляет 30–40% в расчете на один цикл без тенденции к увеличению [2]. В связи с этим в последние годы большое внимание сконцентрировано на поиске новых подходов, которые помогли бы увеличить эффективность лечения пациентов с бесплодием.

Известно, что на результат программ ЭКО влияют состояние эндометрия и его имплантационный потенциал [3]. Еще в 1956 г. А. Hertig и соавт. впервые предположили, что эндометрий способен принять эмбрион в течение менструального цикла только в ограниченный промежуток времени, называемый «окном имплантации» [4]. Впоследствии было подтверждено: эндометрий готов к имплантации бластоцисты в середине секреторной фазы, на 6–8-й день после пика лютеинизирующего гормона и овуляции [3].

Созревание эндометрия и развитие эмбриона – это два самостоятельных процесса, идущих независимо друг от друга [3]. «Окно имплантации» является оптимальным периодом, когда оба процесса синхронизированы. Если синхронизация не произойдет, то имплантация не состоится или беременность прервется на ранних стадиях [5]. Поскольку в программах ЭКО созревание эмбриона контролируется визуально, то перед переносом необходимо убедиться, что эндометрий готов принять эмбрион, т.е. находится в периоде «окна имплантации».

У всех пациенток с бесплодием на этапах обследования по поводу бесплодия и подготовки к программе ЭКО корректируются гинекологические заболевания, которые могут повлиять на исход программы ЭКО (полипы/гиперплазия эндометрия, субмукозные миоматозные узлы, спаечный процесс, гидросальпинкс и т.п.). Однако, несмотря на это, у части женщин беременность не наступает при неоднократных попытках ЭКО. Данная категория женщин представляет особый интерес для практикующих врачей и исследователей, в связи с чем в последнее время активно изучается роль особенностей «окна имплантации» у этой группы пациенток. Десинхронизация процессов развития эндометрия может приводить к тому, что развитие «окна имплантации» может «отставать» или «опережать» сроки, считающиеся стандартными [6]. В исследовании N. Mahajan показано, что у пациенток с выраженным аденомиозом имеется смещение «окна имплантации»: у 47% пациенток эндометрий был «прецептивным», а у 53% – «пострецептивным» [7]. В исследовании M. Ruiz-Alonso и соавт. показано, что у каждой 4-й пациентки с повторными неудачами имплантации (repeated implantation failure) определяется смещение «окна имплантации», причем у 84% из них эндометрий был определен как «прецептивный», а у остальных – как «пострецептивный» [6]. В клинической практике информация о том, что у конкретной женщины имеется смещение «окна имплантации», могла бы помочь правильно выбрать день переноса эмбриона, при необходимости произвести витрификацию эмбриона и тем самым помочь повысить частоту наступления беременности у женщин с неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе.

В настоящее время существуют различные методы, которые могут использоваться для оценки рецептивности эндометрия: гистологический, электронная микроскопия, иммуногистохимическое окрашивание образцов, изучение профиля экспрессии генов в биоптатах эндометрия. В основе данных методов лежит определение различными способами тех изменений в эндометрии, которые возникают в период

«окна имплантации» (образование пиноподий, появление структурных белков на апикальной поверхности эпителиальных клеток; синтез цитокинов, факторов роста, молекул адгезии и др.) [8]. В 2011 г. был разработан метод оценки «окна имплантации» с помощью молекулярно-генетического исследования экспрессии 238 генов в эндометрии – тест ERA (Endometrial receptivity array) [9]. Таким образом, стало возможным использовать транскрипционный профиль образца эндометрия для определения уровня рецептивности и периода «окна имплантации» у каждой конкретной пациентки, что позволяет определить персонализированное «окно имплантации» и выбрать подходящий именно для этой пациентки день переноса эмбриона (personalized embryo transfer) [6]. Однако данный метод имеет ряд ограничений, в частности, в России его проведение затруднено в связи с достаточно высокой стоимостью и необходимостью транспортировки биологического материала за границу.

В опубликованном метаанализе L. Graciunas и соавт., включающем данные более чем 160 исследований и более 88 тыс. пациенток, было выявлено, что в настоящее время имеется огромное число различных потенциальных маркеров рецептивности эндометрия, однако не существует одного конкретного маркера или панели из очень ограниченного числа маркеров, которые имели бы высокую диагностическую точность для оценки состояния рецептивности эндометрия [10]. В связи с этим продолжается поиск новых информативных маркеров «окна имплантации», что могло бы позволить прогнозировать наступление беременности в программах ВРТ.

Цель работы – построение классификатора для определения исхода программы ЭКО на основе сочетанного анализа экспрессии нескольких генов в эндометрии женщин с повторными неудачными попытками ЭКО.

Материалы и методы

Клиническая характеристика пациенток

Все пациентки были нами разделены на две группы в зависимости от исхода программы ЭКО после проведения пайпель-биопсии. В 1-ю группу вошли пациентки, у которых беременность наступила в результате проведенной программы ЭКО (n=15); 2-ю группу составили те пациентки, у которых беременность не наступила (n=32). На основании критерия Колмогорова–Смирнова выявлено, что как возраст, так и антропометрические данные пациенток в исследуемых группах подчинялись закону нормального распределения ($p>0,05$), однако в связи с небольшим объемом исследуемых выборок мы применяли непараметрические методы расчета (различия между статистическими величинами считали статистически значимыми при уровне значимости $p<0,05$). Тест Манна–Уитни не выявил статистически значимых различий по возрасту, росту, массе тела и, как следствие, по индексу массы тела между исследуемыми группами (см. таблицу).

Менструальная и сексуальная функции также статистически значимо не отличались между группами пациенток. Структура гинекологической заболеваемости была представлена наличием наружного генитального эндометриоза I–II стадии, интрамуральной миомы матки малых размеров и миомэктомией в анамнезе, полипами эндометрия и гиперплазией эндометрия в анамнезе, эрозией шейки матки и перенесенными ранее инфекциями, передаваемыми половым путем. Гинекологическая заболеваемость была несколько выше в группе незабеременевших пациенток, однако статистически значимых различий между группами забеременевших и незабеременевших обнаружено не было. Также у большего числа пациенток в обеих группах отмечалось вторичное бесплодие. При этом продолжительность бесплодия в обеих группах была сопоставима (медиана составила 5,0 года); см. таблицу.

Получение биологических образцов

У каждой пациентки производился забор ткани эндометрия с помощью аспирационной биопсии инструментом Pipelle de Cornier (Laboratoire CCD, Франция) в период

Клинико-anamnestические характеристики исследуемых групп Clinical and anamnesic characteristics of the studied groups			
Параметр	1-я группа (беременные), n=15	2-я группа (небеременные), n=32	p – уровень значимости
<i>Возраст и антропометрические характеристики</i>			
Возраст, лет**	33,0 (31,0–36,0)	34,5 (32,5–39,0)	0,291
Рост, см**	168,0 (165,0–169,0)	165,0 (162,0–170,0)	0,362
Масса тела, кг**	68,5 (56,0–76,0)	64,0 (52,0–70,0)	0,264
Индекс массы тела, кг/м**	25,0 (19,6–26,6)	22,0 (20,1,8–25,7)	0,615
<i>Менструальная и половая функция</i>			
Возраст менархе, лет**	13,0 (12,0–14,0)	13,0 (12,0–14,0)	0,569
Длительность менструации, дни**	5,0 (5,0–5,0)	5,0 (4,0–5,0)	0,719
Длина цикла, дни**	28,0 (27,0–30,0)	28,0 (28,0–28,5)	0,597
Возраст начала половой жизни, лет**	18,0 (17,0–19,0)	18,0 (16,5–18,0)	0,145
<i>Гинекологический и акушерский анамнез</i>			
Инфекции, передаваемые половым путем, в анамнезе*	46,7% (7)	56,3% (18)	>0,05
Наружный генитальный эндометриоз I–II стадии*	13,3% (2)	15,6% (5)	>0,05
Миома матки*	6,7% (1)	18,8% (6)	>0,05
Патология эндометрия (гиперплазия эндометрия, полипы эндометрия)*	20,0% (3)	37,5% (12)	>0,05
Эрозия шейки матки*	13,3% (2)	18,8% (6)	>0,05
Число внутриматочных вмешательств**	0 (0–1)	1 (1–3)	0,069
<i>Тип бесплодия*</i>			
Первичное	40,0% (6)	43,7% (14)	>0,05
Вторичное	60,0% (9)	56,3% (18)	
Длительность бесплодия, годы**	5,0 (4,0–10,0)	5,0 (3,0–10,0)	0,909
Число беременностей в анамнезе**	1 (0–2)	1 (0–2)	0,867
Число беременностей после ЭКО**	0 (0–1)	0 (0–0)	0,145
Число искусственных прерываний беременности**	0 (0–0)	0 (0–0)	0,109
Число самопроизвольных прерываний беременности**	1 (0–2)	1 (0–2)	0,864
Число родов**	0 (0–1)	0 (0–0)	0,263
Примечание. Различия между статистическими величинами считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$. *Данные представлены как процент и абсолютные значения, точный критерий Фишера; **данные представлены как медиана, 25–75-й проценти, тест Манна–Уитни. Note. Differences between statistical values were considered statistically significant at $p < 0,05$. *Data are presented as percentage and absolute values, Fisher's exact test; **data are presented as median, 25–75th percentile, Mann–Whitney test.			

«окна имплантации», на 7–9-й день после овуляции, которая диагностировалась при помощи ультразвукового исследования и мочевого теста на овуляцию Clear Blue (Unipath Ltd, Великобритания). Для предотвращения деградации матричной РНК биопсийный материал помещали в лизирующий раствор с гуанидинтиоцианатом (набор реагентов «Проба НК», «ДНК-технология», Россия) и замораживали при -20°C .

Выделение РНК

Выделение тотальной РНК из биологических образцов осуществляли по принципу гуанидинтиоцианат-фенол-хлороформной экстракции с помощью набора реагентов RNeasy Mini Kit с использованием Qiazol Lysis Reagent (Qiagen, Германия) по протоколу производителя. Оценку концентрации РНК осуществляли с помощью спектрофотометра NanoPhotometer P-Class (Implen, Германия). Качество выделенной РНК оценивали с помощью набора реагентов Experion RNA StdSens Analysis Kit на автоматической системе для электрофореза Experion (Bio-Rad, США), используя в дальнейшей работе образцы РНК с индексом качества РНК (RQI) не менее 7, как описано ранее [11].

Транскриптомный анализ на микрочипах

Для полногеномного транскриптомного анализа использовали наборы реагентов GeneChip WT PLUS Reagent Kit и GeneChip Hybridization, Wash and Stain Kit с микрочипами GeneChip Human Gene 2.0 ST Array (Thermo Fisher Scientific) по протоколу производителя. На один чип использовали 500 нг образца тотальной РНК, выделенной из биопсийного материала. Обработку транскриптомных данных осуществляли с помощью программного обеспечения Transcriptome

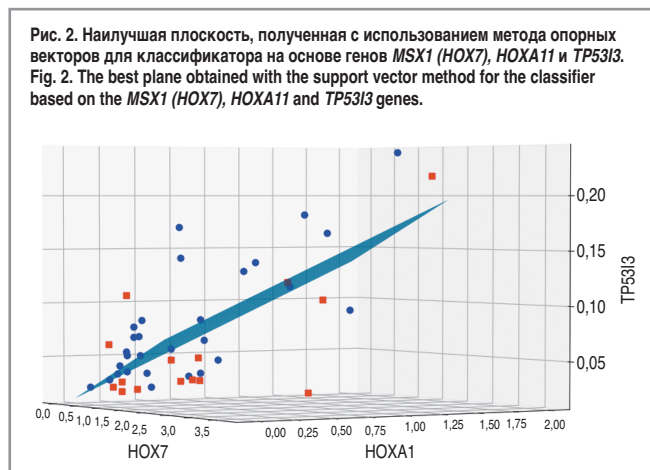
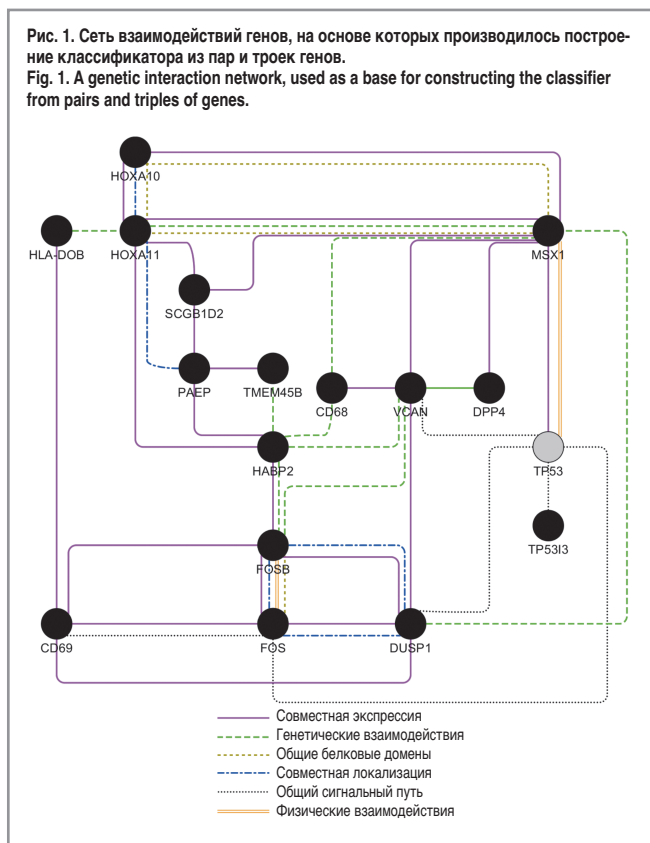
Analysis Console v.4.0.1.36 (Thermo Fisher Scientific) с использованием статистической опции eBayes (различия между статистическими величинами считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$). Построение и визуализация сети взаимосвязей генов осуществлялись с помощью плагина GeneMANIA 3.5.1 для Cytoscape 3.7.2.

Постановка полимеразной цепной реакции

В образцах тотальной РНК (по 500 нг на реакцию) с помощью набора реагентов для полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией в реальном времени («ДНК-технология», Россия) определяли экспрессию 3 референсных генов (*B2M*, *GUSB* и *TBP*) и 16 функциональных генов. ПЦР в реальном времени проводили в двух повторах для каждой точки по следующей программе: предварительная денатурация при 95°C в течение 5 мин, затем 40 циклов из трех шагов каждый: денатурация при 94°C в течение 20 с, отжиг при 64°C в течение 10 с, элонгация при 72°C в течение 15 с; фиксацию флуоресцентного сигнала осуществляли в режиме реального времени. После 40 циклов ПЦР строили кривую плавления.

Результаты

Одно из направлений изучения маркеров и предикторов определенных состояний и вмешательств заключается в построении классификатора, обладающего способностью разделять наблюдения с двумя вариантами на основе анализа экспрессии нескольких генов одновременно, чаще пар и троек генов. При этом экспрессия отдельных генов в составе пар и троек может не различаться достоверно в двух группах наблюдений с разными исходами, однако

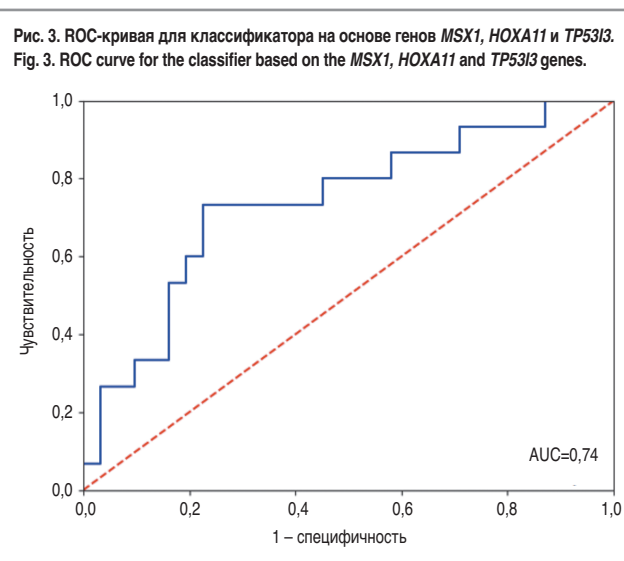


совместный учет экспрессии данных генов позволяет построить эффективный классификатор. С биологической точки зрения данное наблюдение может объясняться тем, что гены в составе пар и троек могут относиться к взаимосвязанным процессам и сигнальным путям в клетке, поэтому статистически незначимое изменение экспрессии каждого гена может приводить к выраженному суммарному биологическому эффекту.

На микроматрицах Affymetrix GeneChip Human Gene 2.0 ST Array имеются специфичные зонды, соответствующие 40 716 транскриптам из базы данных RefSeq. Из комбинаторики известно, что количество различных сочетаний из n объектов (в нашем случае 40 716 транскриптов) по k объектов в каждом сочетании (в нашем случае 2 для пар генов) определяется следующей формулой:

$$C_n^k = \frac{n!}{(n-k)! \times k!} = \frac{40716!}{40714! \times 2!} = \frac{40715 \times 40716}{2} = 828\,875\,970 \text{ сочетаний}$$

По данной формуле можно подсчитать, что для сочетаний по 3 гена существует примерно в 13,5 тыс. раз больше



вариантов. Для анализа такого количества сочетаний транскриптов необходимо использование суперкомпьютера. В связи с этим был произведен предварительный отбор генов, которые потенциально могут играть роль в определении исходов программ ЭКО. Поскольку биологический смысл пар и троек, как уже было сказано, заключается в суммации эффектов изменения экспрессии нескольких генов с взаимосвязанной функцией, то было отобрано 16 генов, образующих сеть взаимосвязей и играющих роль в определении рецептивности эндометрия. Данные 16 генов образуют сеть взаимосвязей, таких как генетические и физические взаимодействия, совместная экспрессия и локализация, общие белковые домены и сигнальные пути (рис. 1).

Из отобранных 16 генов можно составить 120 пар и 560 троек генов. Для экспрессии данных генов на микрочипах Affymetrix с помощью метода опорных векторов были построены классификаторы, способные линейно разделять пациенток по исходу программы ЭКО (наступление и ненаступление беременности). Для первичной фильтрации результатов был выбран порог чувствительности и специфичности разделения 70%. Ни одна из пар выбранных генов не позволяла достичь необходимого порога классификации, однако 235 из 560 троек генов показали способность к идеальному линейному разделению пациенток. Поскольку с помощью микрочипов Affymetrix было проанализировано только 15 образцов ткани эндометрия, то дальнейшая валидация троек генов производилась по результатам ПЦР на 16 отобранных генах.

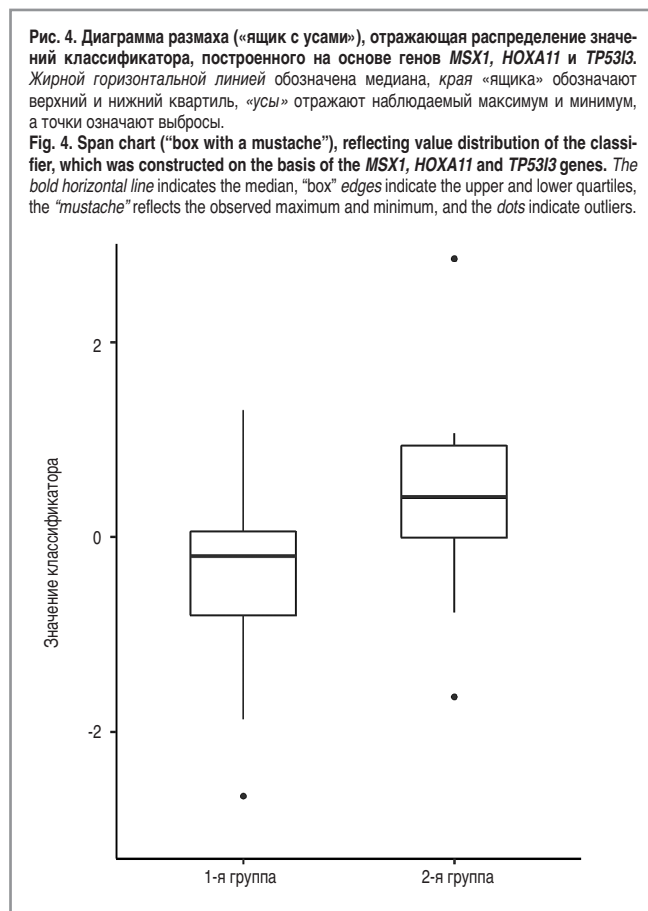
Всего проанализировано 47 образцов, из них 15 образцов от женщин, у которых наступила беременность, и 32 образца от женщин, у которых не наступила беременность. Из 235 троек порог по чувствительности и специфичности превысила только одна тройка, состоящая из генов MSX1 (HOX7), HOXA11 и TP53I3.

Метод опорных векторов при анализе троек генов позволяет построить такую плоскость, которая наилучшим способом разделяет два исхода программы ЭКО. Визуализация наилучшей плоскости для двух выбранных троек представлена на рис. 2. При этом формула имеет вид:

$$0,741 \times \text{Expr}_{MSX1} + 1,544 \times \text{Expr}_{HOXA11} - 24,769 \times \text{Expr}_{TP53I3} + 0,287,$$

где Expr_{MSX1} , Expr_{HOXA11} и Expr_{TP53I3} – это экспрессия генов MSX1, HOXA11 и TP53I3 соответственно, нормированная на экспрессию референсных генов B2M, GUSB и TBP, при этом у забеременевших после ЭКО женщин значение формулы согласно классификатору должно быть выше 0.

Для тройки генов MSX1, HOXA11, TP53I3 чувствительность классификатора составила 73%, специфичность – 71%, а площадь под ROC-кривой (AUC) – 0,738 (95% довери-



тельный интервал 0,577–0,898). Прогностическая ценность отрицательного результата составила 84,6%, а положительного – 55,0%. Полученная ROC-кривая представлена на рис. 3, а диаграмма, отражающая распределение значений классификатора в 2 группах, – на рис. 4.

Обсуждение

В результате исследования было выявлено, что тройка генов *MSX1*, *HOXA11*, *TP53I3* позволяет предсказывать исходы программы ВРТ у женщин с многократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе и трубно-перитонеальным фактором бесплодия.

Ген *MSX1* (*HOX7*) относится к семейству генов, содержащих гомеобокс, и кодирует транскрипционный фактор, взаимодействующий с основным транскрипционным комплексом и другими гомеопротеинами в процессе эмбриогенеза и онтогенеза. Было выявлено, что экспрессия гена *MSX1* отличается в ткани пререцептивного и рецептивного эндометрия [12]. Ген *MSX1* участвует в регуляции рецептивности эндометрия, а его сниженная экспрессия в эндометрии была ассоциирована с бесплодием [13]. Данное наблюдение согласуется с формулой классификатора, согласно которой увеличение экспрессии гена *MSX1* коррелирует с наступлением беременности в программах ВРТ.

Белок, кодируемый геном *TP53I3*, сходен с оксидоредуктазами, ферментами, вовлеченными в клеточный ответ на оксидативный стресс и облучение. Данный ген индуцируется опухолевым супрессором p53 и, по-видимому, вовлечен в p53-опосредованную клеточную гибель. Экспрессия проапоптотического гена *TP53I3* была повышена в нерепрезентивном эндометрии по сравнению с рецептивным [14]. При наличии воспаления в тканях эндометрия отмечалась повышенная экспрессия гена *TP53I3* [15]. Согласно формуле классификатора, пониженная экспрессия *TP53I3* коррелирует с наступлением беременности в циклах ВРТ, что согласуется с приведенными выше результатами исследований.

Ген *HOXA11* относится к семейству гомеобокс-содержащих генов. Согласно данным литературы ген *HOXA11* отно-

сится к числу ключевых регуляторов процессов рецептивности эндометрия [16, 17]. Известно, что ген *HOXA11* экспрессируется как в ядрах эпителия желез эндометрия, так и в строме эндометрия в различных участках матки. Кроме того, в процессе трансформации эндометрия в середине цикла в клетках эндометрия значительно увеличивается экспрессия гена *HOXA11* [18]. Известно, что снижение уровня продукта того или иного гена может быть вызвано как генетическими причинами (полиморфизмом гена или мутацией), так и эпигенетической регуляцией. В частности, метилирование промоторного участка гена может приводить как к снижению экспрессии гена, так и к полной его инактивации («эпигенетическое молчание»). Ряд работ демонстрирует, что метилирование промотора гена *HOXA11* приводит к снижению его экспрессии и снижению рецептивности эндометрия [19]. Также было показано, что мультипараметрическая модель, включающая данные по метилированию гена *HOXA11*, может предсказывать исходы программ ВРТ при неоднократных неудачных попытках ЭКО в анамнезе [20].

Все эти данные позволяют предполагать, что данные гены связаны с рецептивностью эндометрия, что может определять их связь с исходами программ ВРТ.

Выводы

В результате исследования транскрипционных профилей у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО была выявлена тройка генов *MSX1* (*HOX7*), *HOXA11* и *TP53I3*, которая позволила классифицировать образцы в соответствии со статусом «беременность» или «отсутствие беременности». По данным литературы данные гены связаны с рецептивностью эндометрия и могут участвовать в определении «окна имплантации», что и определяет их значимость при классификации исходов программ ВРТ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare that there is no conflict of interests.

Литература/References

1. Хабаров С.В., Хадарцева К.А. Возрастные аспекты в неудачах программ вспомогательных репродуктивных технологий. *Вестн. новых медицинских технологий*. 2018; 12 (2): 74–9. [Khabarov S.V., Khadartseva K.A. *Vozrastnye aspekty v neudachakh programm vspomogatel'nykh reproduktivnykh tekhnologii*. *Vestn. novykh meditsinskikh tekhnologii*. 2018; 12 (2): 74–9 (in Russian).]
2. Bashiri A, Halper KI, Orvieto R. Recurrent Implantation Failure-update overview on etiology, diagnosis, treatment and future directions // *Medical and Health Sciences 1114 Paediatrics and Reproductive Medicine*. *Reprod Biol Endocrinol* 2018; 16 (1): 1–18.
3. Teh WT, McBain J, Rogers P. What is the contribution of embryo-endometrial asynchrony to implantation failure? *J Assist Reprod Genet* 2016; 33 (11): 1419–30.
4. Hertig AT, Rock J, Adams EC. A description of 34 human ova within the first 17 days of development. *Am J Anat* 1956; 98 (3): 435–93.
5. Valdes CT, Schutt A, Simon C. Implantation failure of endometrial origin: it is not pathology, but our failure to synchronize the developing embryo with a receptive endometrium. *Fertil Steril* 2017; 108 (1): 15–8.
6. Ruiz-Alonso M, Blesa D, Díaz-Gimeno P et al. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure. *Fertil Steril* 2013; 100 (3): 818–24.
7. Mahajan N. Endometrial receptivity array: Clinical application. *J Hum Reprod Sci* 2015; 8 (3): 121–9.
8. Kibanov MV, Makhmudova GM, Gokhberg YA. In search for an ideal marker of endometrial receptivity: from histology to comprehensive molecular genetics-based approaches. *Alm Clin Med* 2019; 47 (1): 12–25.
9. Díaz-Gimeno P, Horcajadas JA, Martínez-Conejero JA et al. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature. *Fertil Steril* 2011; 95 (1): 50–60.e15.

10. Craciunas L, Gallos I, Chu J et al. Conventional and modern markers of endometrial receptivity: A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2019; 25 (2): 202–23.
11. Nikulin SV, Knyazev EN, Poloznikov AA et al. Expression of SLC30A10 and SLC23A3 Transporter mRNAs in Caco-2 Cells Correlates with an Increase in the Area of the Apical Membrane. *Mol Biol* 2018; 52 (4): 577–82.
12. Burmenskaya OV, Bozhenko VK, Smolnikova VY et al. Transcription profile analysis of the endometrium revealed molecular markers of the personalized “window of implantation” during in vitro fertilization. *Gynecol Endocrinol* 2017; 33 (Suppl. 1): 22–7.
13. Bolnick AD, Bolnick JM, Kilburn BA et al. Reduced homeobox protein *MSX1* in human endometrial tissue is linked to infertility. *Hum Reprod* 2016; 31 (9): 2042–50.
14. Salliew-Wondim D, Hölker M, Rings F et al. Bovine pretransfer endometrium and embryo transcriptome fingerprints as predictors of pregnancy success after embryo transfer. *Physiol Genomics* 2010; 42 (2): 201–18.
15. Qin L, Wang R, Li S et al. Differentially Gene Expression Profile Related to Inflammation in Endometrial Cells Induced by Lipopolysaccharide. *J Reprod Contracept* 2009; 20 (1): 27–34.
16. Knyazeva EA, Alieva KU, Kalinina EA. Ovarian pregnancy after an IVF program in a patient with reduced endometrial receptivity. *Akusherstvo Ginekol (Russian Fed.)* 2018; 8: 180–4.
17. Knyazeva EA, Kalinina EA, Bystritsky AA et al. Role of *HOX* genes associated with infertility in female reproductive system diseases. *Akusherstvo Ginekol (Russian Fed.)* 2017; 11: 16–22.
18. Bourdieu A, Ahmad S-F, Lachhab A et al. Regulation of inflammatory and angiogenesis mediators in a functional model of decidualized endometrial stromal cells. *Reprod Biomed Online* 2016; 32 (1): 85–95.
19. Du H, Taylor HS. The Role of Hox Genes in Female Reproductive Tract Development, Adult Function, and Fertility. *Cold Spring Harb. Perspect Med* 2016; 6 (1): a023002.
20. Nazarenko TA, Kalinina EA, Knyazeva EA et al. The role of abnormal hypermethylation of the *HOXA10* and *HOXA11* promoters in implantation failures in IVF programs. *Gynecol Endocrinol* 2019; 35 (Suppl. 1): 31–4.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Князева Екатерина Андреевна – аспирант отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АПТ им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: dr.knyazeva.ea@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1472-2018>

Кузнецова Мария Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. молекулярно-генетических методов ФГБУ «НМИЦ АПТ им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: mkarja@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3790-0427>

Бурменская Ольга Владимировна – д-р биол. наук, зав. лаб. онкологической генетики ФГБУ «НМИЦ АПТ им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: o_bourmenskaya@oparina4.ru

Донников Андрей Евгеньевич – канд. мед. наук, зав. лаб. молекулярно-генетических методов, врач клинической лабораторной диагностики, ФГБУ «НМИЦ АПТ им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: a_donnikov@oparina4.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3504-2406>

Калинина Елена Анатольевна – д-р мед. наук, доц, рук. отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АПТ им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: e_kalinina@oparina4.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8922-2878>

Ekaterina A. Knyazeva – Postgraduate Student, Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: dr.knyazeva.ea@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1472-2018>

Maria V. Kuznetsova – Cand. Sci. (Biol.), Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: mkarja@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3790-0427>

Olga V. Burmenskaya – D. Sci. (Biol.), Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: o_bourmenskaya@oparina4.ru

Andrey E. Donnikov – Cand. Sci. (Med.), Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: a_donnikov@oparina4.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3504-2406>

Elena A. Kalinina – D. Sci. (Med.), Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: e_kalinina@oparina4.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8922-2878>

Статья поступила в редакцию / The article received: 10.02.2020

Статья принята к печати / The article approved for publication: 25.02.2020