

ЭКСПРЕССИЯ КИСПЕПТИНА И МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В КУЛЬТУРЕ ЭНДОМЕТРИЯ ЧЕЛОВЕКА: ИССЛЕДОВАНИЕ ИНВАЗИВНЫХ И МИГРАЦИОННЫХ СВОЙСТВ

© Т.С. Клейменова^{1,2}, А.О. Дробинцева^{1,2}, В.О. Полякова^{1,3}, А.А. Цыпурдеева¹

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

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург;

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

Для цитирования: Клейменова Т.С., Дробинцева А.О., Полякова В.О., Цыпурдеева А.А. Экспрессия киспептина и матричных металлопротеиназ в культуре эндометрия человека: исследование инвазивных и миграционных свойств // Журнал акушерства и женских болезней. — 2019. — Т. 68. — № 2. — С. 43–50. <https://doi.org/10.17816/JOWD68243-50>

Поступила: 17.01.2019

Одобрена: 19.02.2019

Принята: 18.03.2019

■ **Актуальность.** Киспептин (KISS1) кодируется геном *KISS1* и вместе с рецептором (KISS1R) подавляет метастазирование злокачественных опухолей и регулирует выработку гонадотропин-рилизинг-гормона, который в свою очередь способствует секреции эстрадиола и прогестерона. Активация синтеза стероидных гормонов системой KISS1/KISS1R в теории может влиять на гормонально зависимые заболевания, такие как эндометриоз. Показано, что экспрессия KISS1 подавляет активность ряда матричных металлопротеиназ (ММП).

Цель — выделить клеточные культуры эндометрия от пациенток с эндометриозом и без него; провести иммуноцитохимический анализ экспрессии белков KISS1, KISS1R и ММП-2, -9; культуральные тесты: Scratch-тест и анализ миграционной активности.

Результаты исследования. Иммуноцитохимический анализ показал, что KISS, KISS1R и ММП-2, -9 присутствуют в клеточной культуре. В ходе культуральных тестов было установлено, что при эндометриозе повышается миграционная способность клеточной культуры.

■ **Ключевые слова:** эндометриальная культура клеток; киспептин; рецептор киспептина; матричные металлопротеиназы; наружный генитальный эндометриоз; миграция клеток.

EXPRESSION OF KISSPEPTIN AND MATRIX METALLOPROTEINASES IN HUMAN ENDOMETRIAL CULTURE: A STUDY OF INVASIVE AND MIGRATORY PROPERTIES

© T.S. Kleimenova^{1,2}, A.O. Drobintseva^{1,2}, V.O. Polyakova^{1,3}, A.A. Tsyurdeyeva¹

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

² Saint Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia;

³ Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

For citation: Kleimenova TS, Drobintseva AO, Polyakova VO, Tsyurdeyeva AA. Expression of kisspeptin and matrix metalloproteinases in human endometrial culture: a study of invasive and migratory properties. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2019;68(2):43-50. <https://doi.org/10.17816/JOWD68243-50>

Received: January 17, 2019

Revised: February 19, 2019

Accepted: March 18, 2019

■ **Hypothesis/aims of study.** Kisspeptin (KISS1) is encoded by *KISS1* gene and its interaction with KISS1 receptor (KISS1R) suppresses metastasis and regulates release of gonadotropin-releasing hormone, which promotes secretion of estradiol and progesterone. Steroid hormone synthesis is regulated by KISS1/KISS1R and its activation can be involved in hormone dependent disorders such as endometriosis. KISS1 expression has been shown to inhibit the activity of a number of matrix metalloproteinases (MMPs). In this study, we aimed to isolate endometrial cell cultures from patients with and without endometriosis; to evaluate KISS1, KISS1R, MMP-2, and MMP-9 protein expression by immunocytochemistry; and to perform culture tests: the scratch assay and the analysis of cell migration activity.

Results. It was found that the endometrial cell cultures expressed KISS1, KISS1R, MMP-2, and MMP-9 proteins, with the cell migration ability enhanced.

■ **Keywords:** human endometrial culture; kisspeptin; KISS1R; matrix metalloproteinases; external genital endometriosis; cell migration.

Обоснование

Наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) характеризуется ростом ткани, сходной с эндометрием, за пределами полости матки, что обусловлено протеолитическими свойствами стромы внутренней оболочки матки. В этом механизме задействованы различные протеазы, в том числе металлопротеиназы 2-го и 9-го типов [1, 2]. Очаги эндометриоза могут быть локализованы в слизистой оболочке, мышечной ткани, серозе, клетчатке, коже и даже в костной ткани [3]. Эндометриоз обладает способностью метастазировать — по одной из теорий распространение клеток осуществляется током крови или лимфы. Различные молекулы были интенсивно исследованы как потенциальные терапевтические цели, среди них ароматаза P450 [4], эстрогены [5], цитокины [6], фактор некроза опухоли [7] и др. Однако ни одна из предложенных сейчас терапий не гарантирует выздоровления и отсутствие рецидивов заболевания.

Кисспептин — пептидный гормон, подавляющий миграционную активность клеток трофобласта [8] и, возможно, регулирующий образование гетеротопий при эндометриозе. KISS1 был первоначально описан как белок, супрессирующий метастазирование опухолевых клеток при меланоме кожи [9]. У человека он был обнаружен как лиганд рецептора, связанного с G-белком 54 (GPR54), в настоящее время называемого KISS1R [10]. Ген *KISS1* кодирует несколько белков, которые составляют семейство кисспептинов. Кисспептин представляет собой пептид, содержащий 145 аминокислотных остатка [11]. От C-конца может отщепляться 54-аминокислотный пептид — кисспептин 54 (KISS-54), который в основном вырабатывается в плаценте. Существуют также KISS-14, KISS-13, KISS-10. Они тоже обладают биологической активностью, хотя пока неясно, в какой степени эти пептиды генерируются эндогенно [12].

Ранее нами было выполнено исследование экспрессии кисспептина и его рецептора в ткани эндометрия и эндометриальных гетеротопий [13]. При иммуногистохимическом исследовании эндометрия и гетеротопий было

выявлено, что KISS1/KISS1R экспрессируется как в основной, так и в контрольной группе. Уровень экспрессии KISS1/KISS1R в ткани эндометрия, взятого у пациентки с диагнозом НГЭ, был статистически значимо снижен по сравнению с контролем. Эти данные подтверждает другое исследование, в котором изучали НГЭ I и II степеней: при гормональном обследовании было обнаружено, что уровень кисспептина в периферической крови пациенток с НГЭ достоверно выше по сравнению с уровнем в контрольной группе. Было также показано, что в очагах эндометриоидных гетеротопий, которые располагались на брюшине малого таза, отмечалось достоверное повышение экспрессии белка KISS1 и рецептора KISS1R по сравнению с фрагментами интактной брюшины [14].

Многие исследователи сообщают, что в развитии эндометриоидных гетеротопий большую роль играют матриксные металлопротеиназы (ММП). Семейство ММП — это группа родственных по структуре цинксодержащих эндопептидаз, разрушающих базальные мембраны и внеклеточный матрикс при физиологических и патологических условиях [15]. KISS1 подавляет активность ряда ММП, что может рассматриваться в качестве механизма, посредством которого KISS1 подавляет метастазирование, а возможно, и прикрепление и проникновение фрагментов эндометриоидной ткани в различные органы при эндометриозе. В ряде исследований было продемонстрировано подавление 2-го или 9-го типа ММП белком кисспептином [1, 16]. Важно отметить, что активные ММП могут расщеплять пептидную связь между Gly118 и Leu119 в белковой последовательности KISS-54. В результате этого удаляются три аминокислоты с N-конца пептида, что приводит к инактивации KISS-54. Этот механизм может регулировать обратную связь между кисспептином и ММП.

Эндометрий — это сложная, многокомпонентная система, состоящая из покровного и железистого эпителия, стромы, основного вещества и кровеносных сосудов. Первые клеточные культуры эндометрия были выделены в 70-х гг. прошлого века [17], но до сих пор эта

модель для изучения взаимодействия клеток и оценки действия лекарственных препаратов остается актуальной. Культуру эндометрия использовали также для изучения инвазии бластоцисты в стромальный слой эндометрия [18], исследования ориентации эмбриона в полости матки [19] и для получения мезенхимальных стволовых клеток [20].

Цель данного исследования заключалась в выделении клеточной культуры эндометрия от пациенток с НГЭ, характеристике миграционных свойств полученной культуры и оценке экспрессии KISS1/KISS1R с целью дальнейшего использования в качестве возможной модели для изучения лекарственных препаратов.

Методы

Дизайн исследования

Исследование проводили на материале, взятом у 7 пациенток. Весь материал был разделен на две группы: контрольную ($n = 4$) и группу с НГЭ. В группу с НГЭ входил материал от пациенток с НГЭ I ($n = 1$) и IV ($n = 2$) стадий. В контрольной группе биопсию эндометрия выполняли с диагностической целью путем проведения гистеро- или лапароскопии и пайпель-биопсии. Способ и результат выделения клеточной культуры не зависели от метода получения материала. Возраст пациенток составил от 23 до 38 лет. Все доноры проходили обследование в отделении оперативной гинекологии. В контрольной группе пациентки имели регулярный менструальный цикл. При обследовании у пациенток инфекций репродуктивного тракта выявлено не было. Материал для выделения клеточной культуры забирали на 21–22-й день менструального цикла в пяти случаях и на 7–12-й день — в двух случаях.

Методика выделения эндометриальной клеточной культуры отработана и подробно описана в статье Э.К. Айламазяна и др. [21]. В данной работе в качестве фермента использовали коллагеназу II типа (Gibco), клетки культивировали в среде DMEM/F-12 с 10 % FBS, оптимальная концентрация при высаживании на флакон равнялась $1 \cdot 10^3$ клеток в миллилитре. Описанная методика позволяет получить культуру эндометриальных клеток стромального и железистого происхождения для широкого спектра исследований. Для образования монослоя культуре клеток требовалось 1–2 дня. Иммуноцитохимический анализ проводили с помощью покровных стекол

Menzel ($d = 6$ мм) на первом пассаже. В качестве первичных антител использовали: anti-kisspeptin monoclonal antibody (1 : 100, Abcam), anti-KISS1R polyclonal antibody (1 : 200, Abcam), anti-MMP-9 monoclonal antibody (1 : 100, abcam) и anti-cytokeratin-8 (1 : 100, Dako). В качестве вторичных антител применяли антитела, конъюгированные с флуорохромом Alexa Fluor 647 и AlexaFluor 488 (1 : 1000, Abcam). В качестве контроля специфичности антител производили иммуноцитохимическую реакцию без использования первичных антител.

Культуры криоконсервировали в 10 % DMSO на сыворотке, разливали суспензию клеток в криовials с концентрацией не менее $1 \cdot 10^6$. Криовials переносили в контейнер для замораживания при -80 °C (Mr. Frosty, Nalgene). Через сутки клетки переносили в сосуды Дюара с жидким азотом для длительного хранения. Процедуру оттаивания проводили в водяной бане при 37 °C. Жизнеспособность размороженной культуры определяли с помощью красителя трипанового синего.

Для оценки инвазии клеток применяли вставки Falcon в 24-луночные планшеты (BD Biosciences, США) диаметром пор 8 мкм. Суспензию эндометриальных клеток в среде DMEM/F-12 вносили в верхнюю камеру (вставку), а в нижнюю камеру (лунку) вносили фетальную телячью сыворотку, а во второй серии экспериментов в нижнюю камеру вводили аутологичную перитонеальную жидкость. Планшеты инкубировали 10 ч при 37 °C в атмосфере с 5 % CO_2 и затем подсчитывали количество клеток, проникших через поры вставки в нижнюю камеру.

Тест на застывание раны (Scratch-тест) проводили с помощью μ -Dish 35 mm, high (Ibidi). Культуру высаживали в две лунки в концентрации 35 000 кл/мл, монослой доводили до 90–95 % конфлюэнтности, наносили на монослой «рану», убирая специальную рамку из чашки Петри. Открепившиеся клетки удаляли промывкой DPBS и добавляли свежую среду. Сканирование осуществляли через 12, 24, 48 и 72 ч.

Анализ в подгруппах

Результаты иммуноцитохимического исследования архивировали на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе Olympus FluoView1000 с программным обеспечением ASW. Оценку осуществляли в программе Морфология 5.0, при этом исследовали такие

параметры, как относительная площадь экспрессии и средняя яркость.

Статистический анализ

Для статистической оценки различий значений признаков, имеющих непрерывное распределение, применяли ранговый *U*-критерий Манна – Уитни в программе Statistica 7.0. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Ранее нами было показано, что KISS1/KISS1R в большей степени экспрессируется цилиндрическими клетками эпителия железы, а не соединительнотканью клетками стромы [13], в связи с чем клеточная культура была проанализирована на наличие эпителиоподобных железистых клеток с использованием маркера цитокератина-8. По данным S. Wonodirekso, цитокератин-8 — это цитоплазматический белок, являющийся специфическим маркером клеток однослойного плоского эпителия. Число железистых клеток варьировало от образца к образцу ($S_{\text{эксСК-8}} = 5,72\text{--}38,29\%$) [22].

Было установлено, что киспептин, его рецептор и ММП-2, -9 присутствуют в первичной клеточной культуре эндометрия в единичных клетках (табл. 1).

При оценке относительной площади экспрессии киспептина была выявлена тенденция к уменьшению уровня белка при НГЭ. При этом при НГЭ IV степени были установлены самые низкие показатели ($S_{\text{эксKISS1}} = 0,568$). Эти различия не являются статистически до-

стоверными. Для более тщательного анализа требуется увеличить количество исследуемых клеточных культур. При оценке рецептора к киспептину не было обнаружено никаких закономерных различий в уровне экспрессии.

Миграция и инвазия — ключевые свойства живых клеток, играющие решающую роль в нормальном развитии организма, иммунного ответа и патологических процессов, таких как метастазирование при раке и воспалительные процессы [23–25]. Изучение миграции клеток в исследованиях эндометриоза представляет особый интерес, поскольку одной из основных проблем НГЭ является образование эндометриодных гетеротопий. В нашем исследовании был проведен анализ инвазии клеточных культур, основанный на измерении подвижности клеток и активности движения клеток по градиенту химиоаттрактанта. Было показано, что в контрольной группе количество клеток, прошедших через трансэробный фильтр (пора 8 мкм) и прикрепившихся на поверхности, варьировало от 4,6 до 16,3 в пяти полях зрения (при увеличении $\times 40$). В клеточной культуре, полученной при эндометриозе, эти цифры практически не отличались и равнялись 6,5–12,8 (рис. 1). Добавление перитонеальной жидкости в нижнюю камеру не влияло на миграционные способности клеток контрольной группы, однако усиливало инвазию в группе с НГЭ. Полученные данные объясняются повышением в перитонеальной жидкости пациенток с НГЭ числа цитокинов, активирующих ангиогенез (ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ИЛ-8) и стимулирующих адгезию клеток эндометрия к мезотелию брюшины (ФНО α) [26], а также факторов

Таблица 1 / Table 1

Показатели экспрессии исследуемых белков в клеточной культуре эндометрия
Protein expression indicators in the endometrial cell cultures

Возраст	День менструального цикла	Контроль/ степень наружного генитального эндометриоза	Относительная площадь экспрессии KISS1, %	Относительная площадь экспрессии KISS1R, %	Относительная площадь экспрессии ММП-2, %	Относительная площадь экспрессии ММП-9, %
33	22-й	Контроль	1,022	3,716	1,957	2,976
27	7-й	Контроль	1,938	2,713	2,510	2,162
30	21-й	Контроль	1,405	0,948	1,558	2,371
38	20-й	Контроль	2,032	1,932	1,302	1,938
35	22-й	I	1,305	2,167	1,136	1,062
23	12-й	IV	0,916	1,603	1,567	2,531
32	9-й	IV	0,568	3,599	8,789	2,872

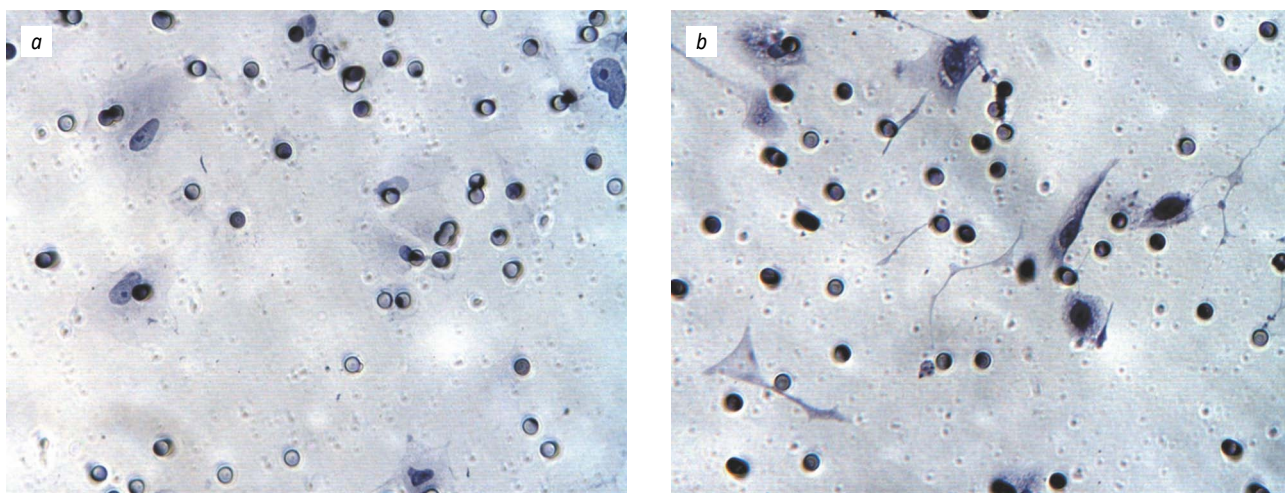


Рис. 1. Анализ инвазии клеточных культур по хемоаттрактанту (увеличение $\times 40$): *a* — контрольная клеточная культура эндометрия; *b* — клеточная культура эндометрия от пациенток с наружным генитальным эндометриозом

Fig. 1. Invasion assay data (in response to a chemotactic gradient; $\times 40$ magnification): *a* — control cell endometrial culture; *b* — endometrial cell culture from patients with endometriosis genitalis externa

роста (VEGF) [27], усиливающих инвазивные свойства культуры клеток.

Ранее исследователями не было выявлено существенных различий между пролиферативной активностью клеток при эндометриозе и у здоровых пациенток [28]. Мы изучали подвижность этих двух культур клеток с помощью Scratch-теста. Изменения числа клеток в ране, их местоположение и форму фиксировали с помощью цифровой фотокамеры. При анализе полученного материала установлено, что клеточные линии принципиально разли-

чаются между собой по миграционной способности. В контрольной культуре клеток через 24 ч площадь раны составляла 27,29 % от площади препарата, через 48 ч — 17,61 %. В культуре от пациенток с НГЭ площадь раны через 24 ч равнялась 20,77 %, через 48 ч — 8,21 % (рис. 2). Данные различия статистически достоверны ($p < 0,05$) и, возможно, связаны со способностью кисспептина ингибировать миграцию клеток. Исходя из ширины раны, мы рассчитали расстояние миграции и скорость движения клеток, которая оказалась

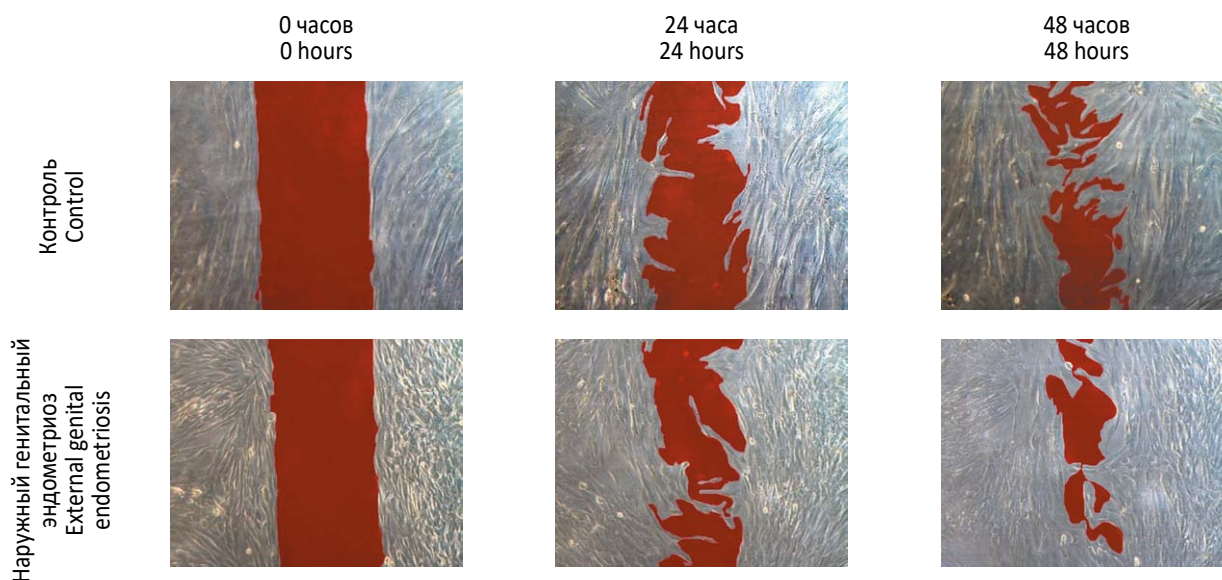


Рис. 2. Тест на застывание раны — Scratch-тест (выделена площадь раны, увеличение $\times 400$)

Fig. 2. Wound healing assay data (the wound area is highlighted; $\times 400$ magnification)

36,53 мкм/ч. Так как в клеточной культуре от пациенток с НГЭ был снижен уровень KISS1, миграционная активность этой линии была повышена по сравнению с контролем. Однако стоит отметить, что на эти различия могут влиять индивидуальные особенности пациенток, от которых был получен материал эндометрия: гормональный фон, возраст, особенности течения эндометриоза, сопутствующие заболевания и т. д. В ряде исследований было показано, что активация KISS1R с помощью KISS1 ингибирует подвижность клеток, пролиферацию, инвазию, хемотаксис и образование метастазов [29–31].

Обе культуры демонстрируют одинаковый тип движения по субстрату: отмечается коллективная миграция, то есть клетки переднего края тянут за собой остальную монослой, так как его клетки находятся в плотном контакте. Одиночные клетки практически не покидают монослой и в «рану» не мигрируют, а клетки, находящиеся в «ране», через мезенхимно-эпителиальный переход примыкают к монослою.

В исследовании показано, что при «поломке» рецептора к кисспептину половое созревание не происходит [32]. Система KISS1/KISS1R подавляет метастазирование и регулирует выработку гонадотропин-рилизинг-гормона, который, в свою очередь, способствует секреции эстрадиола и прогестерона, что дает возможность предположить ее связь с гормонально зависимыми заболеваниями, такими как НГЭ. Инвазию клеток эндометрия и образование гетеротопий часто сравнивают с агрессивным развитием рака и инвазией трофобласта при наступлении беременности — во всех этих процессах задействованы ММП и другие ферменты. Экспрессия кисспептина была исследована при раке эндометрия: Kang et al. доказали, что экспрессия KISS1R обратно зависима от развития опухоли и гистологической стадии эндометриального рака [33]. В этом исследовании продукция KISS1 была ниже в эндометриальной клеточной культуре с НГЭ, чем в нормальной культуре клеток, в то же время экспрессия рецептора не изменялась. Есть данные о низком уровне KISS1 у женщин с необъяснимым бесплодием (исследование перед экстракорпоральным оплодотворением) [34]. Уровень KISS1 оказывает влияние на оплодотворение ооцитов, подготовку эндометриальных слоев для имплантации эмбриона и, следовательно, успешную беременность.

Кисспептин может синтезироваться не только в гипоталамусе, но и в других органах, восприимчивых к стероидным гормонам. Оболочка матки состоит из эндометриальных эпителиальных клеток и эндометриальных стромальных клеток, функции этих клеток различны, но секретируемые молекулы, экспрессируемые рецепторы и молекулы адгезии в первую очередь способствуют прикреплению и развитию эмбриона. С другой стороны, уникальный молекулярный профиль клеток эндометрия является неблагоприятным фактором, так как позволяет им прикрепляться, имплантироваться и приживаться в других тканях, формируя эндометриоидные очаги. Исследование культуры эндометрия от пациенток с эндометриозом и выявление в них кисспептина и рецептора к этому белку в железистых клетках обозначает новую таргетную мишень.

Установлен высокий пролиферативный потенциал культуры; высокая жизнеспособность после криоконсервации (90–95 %). Во всех культивируемых образцах эндометрия преобладали клетки с фибробластоподобной морфологией, что дало нам основание предполагать отсутствие контаминации эндометриальной линии со стороны других клеточных популяций.

Заключение

В результате исследования был отработан ферментативный метод получения эндометриальной клеточной культуры от пациенток с НГЭ и от здоровых женщин. Было установлено, что в культурах присутствуют KISS1, KISS1R, ММП-2 и ММП-9. Кисспептин и его рецептор показали статистически не различимые уровни экспрессии как в контроле, так и в эутопическом эндометрии. В результате анализа экспрессии ММП-2, -9 в культуре было выяснено, что статистические различия между контролем и исследуемой группой отсутствовали, возможно, это обусловлено небольшой выборкой.

Так как исследуемые молекулярные мишени связаны с миграционными и инвазивными свойствами, нами был проведен Scratch- и миграционный тесты, которые показали, что клетки эндометрия при НГЭ обладают повышенной скоростью движения по субстрату.

В дальнейшем необходимо увеличить выборку, оценить экспрессию молекулярных мишеней в эндометриальных клетках в разных фазах менструального цикла и в разных возрастных группах, а также получить эндометриоидные клетки из гетеротопий.

Литература

- Takino T, Koshikawa N, Miyamori H, et al. Cleavage of metastasis suppressor gene product KiSS-1 protein/metastin by matrix metalloproteinases. *Oncogene*. 2003;22(30):4617-4626. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206542>.
- Qiao C, Wang CH, Shang T, Lin QD. Clinical significance of KiSS-1 and matrix metalloproteinase-9 expression in trophoblasts of women with preeclampsia and their relation to perinatal outcome of neonates. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2005;40(9):585-590.
- Dongxu Z, Fei Y, Xing X, et al. Low back pain tied to spinal endometriosis. *Eur Spine J*. 2014;23 Suppl 2:214-217. <https://doi.org/10.1007/s00586-013-2988-x>.
- Молотков А.С. Подходы к оценке ароматазной активности в эндометриальных гетеротопиях // Вестник Российской военно-медицинской академии. — 2013. — № 2. — С. 25–28. [Molotkov AS. Approaches to evaluation of aromatase activity in endometriosis heterotopies. *Vestnik Rossiiskoi voenno-meditsinskoi akademii*. 2013;(2):25-28. (In Russ.)]
- Айламазян Э.К., Ярмолинская М.И., Молотков А.С., Цицкарава Д.З. Классификации эндометриоза // Журнал акушерства и женских болезней. — 2017. — Т. 66. — № 2. — С. 77–92. [Aylamazyan EK, Yarmolinskaya MI, Molotkov AS, Tsitskarava DZ. Classifications of endometriosis. *Journal of obstetrics and women's diseases*. 2017;66(2):77-92. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17816/JOWD66277-92>.
- Иванов И.А., Цивьян Б.Л., Вологжанин Д.А., и др. Цитокины макрофагального звена при эндометриозе // Цитокины и воспаление. — 2013. — Т. 12. — № 1–2. — С. 88–93. [Ivanov IA, Tsiv'yan BL, Vologzhanin DA, et al. Macrophage cytokines and endometriosis. *Cytokines & inflammation*. 2013;12(1-2):88-93. (In Russ.)]
- Braundmeier AG, Nowak RA. Cytokines regulate matrix metalloproteinases in human uterine endometrial fibroblast cells through a mechanism that does not involve increases in extracellular matrix metalloproteinase inducer. *Am J Reprod Immunol*. 2006;56(3):201-214. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2006.00418.x>.
- Bilban M, Ghaffari-Tabrizi N, Hintermann E, et al. Kisspeptin-10, a KiSS-1/metastin-derived decapeptide, is a physiological invasion inhibitor of primary human trophoblasts. *J Cell Sci*. 2004;117(Pt 8):1319-1328. <https://doi.org/10.1242/jcs.00971>.
- Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst*. 1996;88(23):1731-1737. <https://doi.org/10.1093/jnci/88.23.1731>.
- Messenger S, Chatzidaki EE, Ma D, et al. Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(5):1761-1766. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409330102>.
- Mead EJ, Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. Kisspeptins: a multifunctional peptide system with a role in reproduction, cancer and the cardiovascular system. *Br J Pharmacol*. 2007;151(8):1143-1153. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707295>.
- d'Anglemont de Tassigny X, Colledge WH. The role of kisspeptin signaling in reproduction. *Physiology (Bethesda)*. 2010;25(4):207-217. <https://doi.org/10.1152/physiol.00009.2010>.
- Дробинцева А.О., Клейменова Т.С., Полякова В.О. Экспрессия кисспептина и его рецептора при наружном генитальном эндометриозе // Молекулярная медицина. — 2016. — Т. 14. — № 5. — С. 55–59. [Drobintseva AO, Kleymenova TS, Polyakova VO. Kisspeptin and kisspeptin receptor's expression in external genital endometriosis. *Molekuliarnaia meditsina*. 2016;14(5):55-59. (In Russ.)]
- Айламазян Э.К., Ярмолинская М.И., Ганбарли Н.Ф., и др. Роль метастина в патогенезе наружного генитального эндометриоза // Журнал акушерства и женских болезней. — 2017. — Т. 66. — № 3. — С. 16–24. [Aylamazyan EK, Yarmolinskaya MI, Ganbarli NF, et al. The role of metastin in pathogenesis of genital endometriosis. *Journal of obstetrics and women's diseases*. 2017;66(3):16-24. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17816/JOWD66316-24>.
- Catania JM, Chen G, Parrish AR. Role of matrix metalloproteinases in renal pathophysiology. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;292(3):F905-911. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00421.2006>.
- Qiao C, Wang CH, Shang T, Lin QD. Clinical significance of KiSS-1 and matrix metalloproteinase-9 expression in trophoblasts of women with preeclampsia and their relation to perinatal outcome of neonates. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2005;40(9):585-590.
- Hiratsu T. *In vitro* cultivation of human endometrium and the influences of steroid hormones on a cell line derived from the endometrium. *Kobe J Med Sci*. 1968;14(1):29-48.
- Carver J, Martin K, Spyropoulou I, et al. An *in-vitro* model for stromal invasion during implantation of the human blastocyst. *Hum Reprod*. 2003;18(2):283-290. <https://doi.org/10.1093/humrep/deg072>.
- Simon C, Valbuena D. Embryonic implantation. *Ann Endocrinol (Paris)*. 1999;60(2):134-136.
- Шилина М.А., Домнина А.П., Кожухарова И.В., и др. Характеристика культуры эндометриальных мезенхимных стволовых клеток, полученных от пациентки с аденомиозом // Цитология. — 2015. — Т. 57. — № 11. — С. 771–779. [Shilina MA, Domnina AP, Kozhukharova IV, et al. Characteristic of endometrial mesenchymal stem cells in culture obtained from patient with adenomyosis. *Cell and tissue biology*. 2015;57(11):771-779. (In Russ.)]
- Айламазян Э.К., Дурнова А.О., Полякова В.О., и др. Кокультивирование эмбриона человека с эндометрием: оптимизация экстракорпорального оплодотворения // Журнал акушерства и женских болезней. — 2012. — Т. 61. — № 4. — С. 16–22. [Aylamazyan EK, Durnova AO, Polyakova VO, et al. Co-cultivation of embryos with human

- endometrium: optimization of in vitro fertilization. *Journal of obstetrics and women's diseases*. 2012;61(4):16-22. (In Russ.)]
22. Wonodirekso S, Au CL, Hadisaputra W, et al. Cytokeratins 8, 18 and 19 in endometrial epithelial cells during the normal menstrual cycle and in women receiving Norplant. *Contraception*. 1993;48(5):481-493. [https://doi.org/10.1016/0010-7824\(93\)90137-V](https://doi.org/10.1016/0010-7824(93)90137-V).
 23. Castellone RD, Leffler NR, Dong L, Yang LV. Inhibition of tumor cell migration and metastasis by the proton-sensing GPR4 receptor. *Cancer Lett*. 2011;312(2):197-208. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2011.08.013>.
 24. Yoshida M, Yoshida K. Sperm chemotaxis and regulation of flagellar movement by Ca²⁺. *Mol Hum Reprod*. 2011;17(8):457-465. <https://doi.org/10.1093/molehr/gar041>.
 25. Radu CG, Yang LV, Riedinger M, et al. T cell chemotaxis to lysophosphatidylcholine through the G2A receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(1):245-250. <https://doi.org/10.1073/pnas.2536801100>.
 26. Павлов Р.В., Сельков С.А. Уровень цитокинов в перитонеальной жидкости женщин с наружным генитальным эндометриозом // Журнал акушерства и женских болезней. — 2008. — Т. 57. — № 4. — С. 55–58. [Pavlov RV, Sel'kov SA. Scytokine level in the peritoneal fluid of women with external genital endometriosis. *Journal of obstetrics and women's diseases*. 2008;57(4):55-58. (In Russ.)]
 27. Kianpour M, Nematbakhsh M, Ahmadi SM, et al. Serum and peritoneal fluid levels of vascular endothelial growth factor in women with endometriosis. *Int J Fertil Steril*. 2013;7(2):96-99.
 28. Kao AP, Wang KH, Chang CC, et al. Comparative study of human eutopic and ectopic endometrial mesenchymal stem cells and the development of an *in vivo* endometriotic invasion model. *Fertil Steril*. 2011;95(4):1308-1315;e1301. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.09.064>.
 29. Hori A, Honda S, Asada M, et al. Metastin suppresses the motility and growth of CHO cells transfected with its receptor. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;286(5):958-963. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.5470>.
 30. Kotani M, Detheux M, Vandenbogaerde A, et al. The metastasis suppressor gene *KISS-1* encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *J Biol Chem*. 2001;276(37):34631-34636. <https://doi.org/10.1074/jbc.M104847200>.
 31. Wang CH, Qiao C, Wang RC, Zhou WP. KISS1 mediated suppression of the invasive ability of human pancreatic carcinoma cells is not dependent on the level of KISS1 receptor GPR54. *Mol Med Rep*. 2016;13(1):123-129. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.4535>.
 32. Seminara SB, Messenger S, Chatzidaki EE, et al. The *GPR54* gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med*. 2003;349(17):1614-1627. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa035322>.
 33. Kang HS, Baba T, Mandai M, et al. GPR54 is a target for suppression of metastasis in endometrial cancer. *Mol Cancer Ther*. 2011;10(4):580-590. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-10-0763>.
 34. Mumtaz A, Khalid A, Jamil Z, et al. Kisspeptin: a potential factor for unexplained infertility and impaired embryo implantation. *Int J Fertil Steril*. 2017;11(2):99-104. <https://doi.org/10.22074/ijfs.2017.4957>.

■ Информация об авторах (Information about the authors)

Татьяна Сергеевна Клейменова — младший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии. Отдел патоморфологии, ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; старший лаборант кафедры медицинской биологии. ФГБОУ ВО «СПбГПМУ» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0003-0767-5564>. SPIN-код: 4876-3420. **E-mail:** kleimenovats@gmail.com.

Анна Олеговна Дробинцева — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии. Отдел патоморфологии, ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; доцент кафедры медицинской биологии. ФГБОУ ВО «СПбГПМУ» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-6833-6243>. SPIN-код: 4277-0122. **E-mail:** anna.drobintseva@gmail.com.

Виктория Олеговна Полякова — д-р биол. наук, профессор, профессор РАН, заведующая лабораторией клеточной биологии. Отдел патоморфологии, ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; профессор кафедры общей физиологии биологического факультета. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0001-8682-9909>. SPIN-код: 5581-5413. **E-mail:** vopol@yandex.ru.

Анна Алексеевна Цыпурдеева — канд. мед. наук, старший научный сотрудник гинекологического отделения с операционным блоком. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0001-7774-2094>. SPIN-код: 5208-9707. **E-mail:** tsypurdeevan@mail.ru.

Tatyana S. Kleimenova — Junior Researcher. The Laboratory of Cell Biology, the Department of Pathomorphology, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia; Senior Laboratory Assistant. The Department of Medical Biology, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-0767-5564>. SPIN-code: 4876-3420. **E-mail:** kleimenovats@gmail.com.

Anna O. Drobintseva — PhD, Senior Researcher. The Laboratory of Cell Biology, the Department of Pathomorphology, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia; Associate Professor. The Department of Medical Biology, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-6833-6243>. SPIN-code: 4277-0122. **E-mail:** anna.drobintseva@gmail.com.

Victoria O. Polyakova — PhD, DSci (Biology), Professor, Professor of the Russian Academy of Sciences, the Head of the Laboratory of Cell Biology. The Department of Pathomorphology, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia; Professor. The Department of General Physiology, Biological Faculty, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-8682-9909>. SPIN-code: 5581-5413. **E-mail:** vopol@yandex.ru.

Anna A. Tsypurdeyeva — MD, PhD, Senior Researcher. The Department of Gynecology with the Operating Unit, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-7774-2094>. SPIN-code: 5208-9707. **E-mail:** tsypurdeevan@mail.ru.