

УДК 576.08:616-08:618

ТРЕХМЕРНЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ МОДЕЛИ ЭНДОМЕТРИЯ В РАЗРАБОТКЕ ПЕРСОНИФИЦИРОВАННЫХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ

© 2025 г. И. К. Кунеев¹, А. В. Соколова¹, А. П. Домнина^{1, *}

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064, Россия

*E-mail: aldomnina@mail.ru

Поступила в редакцию 02.11.2024

После доработки 24.11.2024

Принята к публикации 25.11.2024

Разработка персонафицированных подходов в лечении и диагностике различных заболеваний, учитывающих индивидуальные особенности организма пациента, является активно развивающейся областью современной медицины. Однако переход к персонализированной медицине невозможен без создания релевантных и пациент-специфичных моделей заболеваний. Одним из трендов современной клеточной биологии является переход к использованию трехмерных (3D) клеточных культур, близких по архитектуре к тканям организма человека. Модели на основе таких культур наиболее физиологически адекватны и особенно ценны в тех случаях, когда необходимо воспроизвести функциональные особенности ткани пациента. Одной из них является модель эндометрия — внутренней слизистой оболочки матки, обеспечивающей наступление и развитие беременности. К сожалению, для многих заболеваний эндометрия до сих пор не разработаны схемы эффективного лечения, поскольку патогенез эндометриальных дисфункций часто недостаточно изучен. Кроме того, коррекция таких заболеваний, как правило, требует персонафицированного подхода. В представленном обзоре рассматриваются существующие 3D-клеточные модели эндометрия человека *in vitro*, а также перспективы их применения для разработки персонафицированных методов лечения в области гинекологии и репродуктологии.

Ключевые слова: эндометрий, 3D-клеточные культуры, клеточные модели тканей, персонализированная медицина

Принятые сокращения: ВКМ — внеклеточный матрикс; MMP — матриксные металлопротеиназы; ЭКО — экстракорпоральное оплодотворение; EGF — эпидермальный фактор роста.

DOI: 10.31857/S0041377125010013, EDN: DFHXXR

Достижения в области биотехнологии и растущее осознание важности высокого качества жизни способствуют изменению подходов к диагностике и лечению заболеваний и переходу к персонализированной медицине. Персонализированная медицина предполагает индивидуальное лечение, учитывающее клинические, генетические и экологические характеристики пациентов. Использование данной биологической информации о пациенте для подбора методов терапии повышает безопасность и эффективность лечения при одновременном снижении побочных эффектов (Goetz, Schork, 2018; Villalón-García et al., 2020; Gala et al., 2024; Montin et al., 2024; Owen, Корецкы, 2024). Однако переход к персонализированной медицине невозможен без разработки пациент-специфичных моделей заболеваний, создаваемых на основе биологического материала самих пациентов. Приоритетами при решении этой задачи являются минимальная инвазивность процедуры забора

материала, возможность многократного повторения экспериментов и скрининга фармпрепаратов на материале конкретного пациента, а также релевантность создаваемых моделей. В настоящее время имеются сообщения о разработке полностью персонафицированных трехмерных клеточных моделей таких тканей человека, как кожа (Min et al., 2018), сердечная мышца (Noor et al., 2019), а также о персонафицированных трехмерных клеточных моделях раковых опухолей (Mao et al., 2020; López de Andrés et al., 2022; Nothdurfter et al., 2022).

При создании некоторых моделей используются не только клетки пациента, но и тканевой внеклеточный матрикс (ВКМ) (Noor et al., 2019). Разработка подобных клеточных моделей актуальна и в области гинекологии и репродуктологии для поиска новых методов лечения и диагностики различных заболеваний женской репродуктивной системы, в том числе бесплодия (Francés-Herreo et al., 2022). По данным Росстата, в 2022 году

бесплодие было впервые диагностировано у 203 из 100 тыс. женщин в возрасте от 18 до 49 лет, что является значительными репродуктивными потерями (<https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Zdravooohran-2023.pdf>).

Причины женского бесплодия разделяют на 3 основные группы: расстройства овуляции (эндокринное бесплодие) (35—40 %), трубные и перитонеальные факторы (20—30 %) и гинекологические заболевания, негативно отражающиеся на фертильности (15—25 %), среди которых миома матки, синдром поликистозных яичников, врожденные пороки развития матки, маточные синехии, цервикальные факторы и патологии эндометрия (полипы, гиперплазия, эндометриоз) (Айламазян, 2014; Трубникова и др., 2019). Выделяется также подгруппа больных с так называемым необъяснимым бесплодием (10 %), причину которого используемыми методами исследования установить не удастся (Корсак и др., 2016). Основными методами лечения, в зависимости от заболевания, являются хирургические техники и гормональная фармакотерапия, также применяется процедура экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) (Айламазян, 2014; Охрименко и др. 2013; Трубникова и др., 2019). Тем не менее даже современные репродуктивные технологии, которые стремительно развиваются с каждым годом, не всегда оказываются эффективны.

Согласно данным регистра вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) от Российской ассоциации репродукции человека, 2022 году частота наступления беременности в результате процедуры ЭКО на одну процедуру аспирации яйцеклеток составила 28.2 % (https://www.rahr.ru/d_registr_otchet/RegistrVRT_2022.pdf). Чаще всего проблемы возникают на стадии имплантации эмбриона, на которую сложно повлиять и которую не удастся контролировать (Brosens et al., 2014; Macklon, Brosens, 2014; Muter et al., 2023). Одной из частых причин нарушения имплантации и не наступления беременности после ЭКО является дисфункция эндометрия матки женщины (Albertini, 2020; Lacconi et al., 2024). Культивирование клеток эндометрия человека *in vitro* позволило получить огромное количество знаний о процессах, происходящих внутри эндометриальных клеток, межклеточном взаимодействии и патогенезе многих заболеваний (Gargett, 2016; Bozorgmehr et al., 2020; Hibaoui, Feki, 2020).

В нашем обзоре подробно описаны структура и функции эндометрия и рассмотрены существующие трехмерные клеточные *in vitro* модели эндометрия человека, перспективные для использования в разработке методов персонализированного подхода в лечении гинекологических заболеваний.

СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ ЭНДОМЕТРИЯ

Эндометрий — это внутренняя слизистая оболочка матки, состоящая из покровного и железистого эпителия, стромы и кровеносных сосудов, а также иммунных клеток (Critchley et al., 2020a, 2020b; Muter et al., 2023). В эндометрии имеются маточные железы (крипты), представляющие собой длинные изогнутые простые трубчатые железы, открывающиеся в просвет матки. Эпителиальный компонент эндометрия составляют секреторные и мерцательные клетки, а также немногочисленные аргирофильные клетки. Мерцательные клетки находятся лишь возле устьев маточных желез и приобретают реснички только к концу менструального цикла (Айламазян, 2014). Строма эндометрия состоит из фибробластоподобных клеток и сосудов, а также гистиоцитов (макрофагов), Т- и единичных В-лимфоцитов и лаброцитов. В эндометрии выделяют функциональный и базальный слой. Функциональный поверхностный слой подвергается циклическим изменениям и отслаиванию в течении менструального цикла. Базальный слой не отторгается во время менструации и обеспечивает восстановление десквамированных слоев после менструации (Critchley et al., 2020a; Muter et al., 2023). Эндометрий — это гормонозависимая ткань, в которой под воздействием стероидных гормонов происходят регулярные изменения в течении менструального цикла.

Менструальный цикл представляет собой ряд повторяющихся изменений в деятельности системы гипоталамус—гипофиз—яичники, вследствие которых происходят структурные и функциональные изменения женских репродуктивных органов: матки, маточных труб, молочных желез и влагалища (Трубникова и др., 2019) (рис. 1). Началом каждого менструального цикла является менструальное кровотечение (менструация). Изменения функционального слоя эндометрия в течении менструального цикла происходят в три последовательные стадии. В стадии пролиферации под действием увеличивающейся концентрации эстрогенов, секретируемых растущим в яичнике

фолликулом, увеличивается толщина функционального слоя за счет роста всех элементов базального слоя: желез, стромы и кровеносных сосудов (Muter et al., 2023).

Следующая стадия, стадия секреции, наступает после овуляции на 13—14-е сут цикла, длится 14 сут и непосредственно связана с активностью желтого тела (рис. 1). На этой стадии под влиянием прогестерона эпителий желез эндометрия начинает вырабатывать секрет, содержащий кислые гликозаминогликаны, гликопротеиды, гликоген. В стадии секреции происходит подготовка стромы эндометрия к беременности, называемая децидуализацией (Muter et al., 2023). При децидуализации под воздействием гормона прогестерона размер, форма и биологические свойства стромальных фибробластов эндометрия претерпевают изменения, необходимые для имплантации эмбриона. В децидуальных клетках увеличивается экспрессия тканевого фактора и ингибитора активатора плазминогена типа 1 (РАI-1), матричных металлопротеиназ (ММР) и вазоконстриктора эндотелина-1 (ЕТ-1) (Kim, Kim, 2017; Muter et al., 2021). Происходит ремоделирование эндометрия, изменение тканевого гомеостаза, фибринолиза,

тонуса сосудов, необходимые для предотвращения кровоизлияния во время инвазии трофобласта.

В нефертильных циклах, снижение уровня прогестерона снижает уровень тканевого фактора и РАI-1 при одновременном увеличении ММР и ЕТ-1, вызывая деградацию ВКМ, фибринолиз, ишемию, десквамацию функционального слоя эндометрия и менструальное кровотечение (Kim S., Kim J., 2017; Muter et al., 2021). Стадия десквамации (менструация) вызывается снижением содержания половых стероидных гормонов в результате регресса желтого тела в яичнике (Айламазян, 2014; Трубникова и др., 2019). Это вызывает длительный спазм артерий функционального слоя эндометрия, приводящий к застою крови и образованию тромбов, что приводит к гипоксии. Гипоксию тканей (тканевой ацидоз) также усиливают повышенная проницаемость эндотелия, ломкость стенок сосудов, многочисленные мелкие кровоизлияния и массивная лейкоцитарная инфильтрация. Лизосомальные протеолитические ферменты, выделяемые лейкоцитами, усиливают разрушение тканевых элементов. Далее наступает паретическое расширение сосудов, что приводит к усилению притока крови, росту гидростатического давления

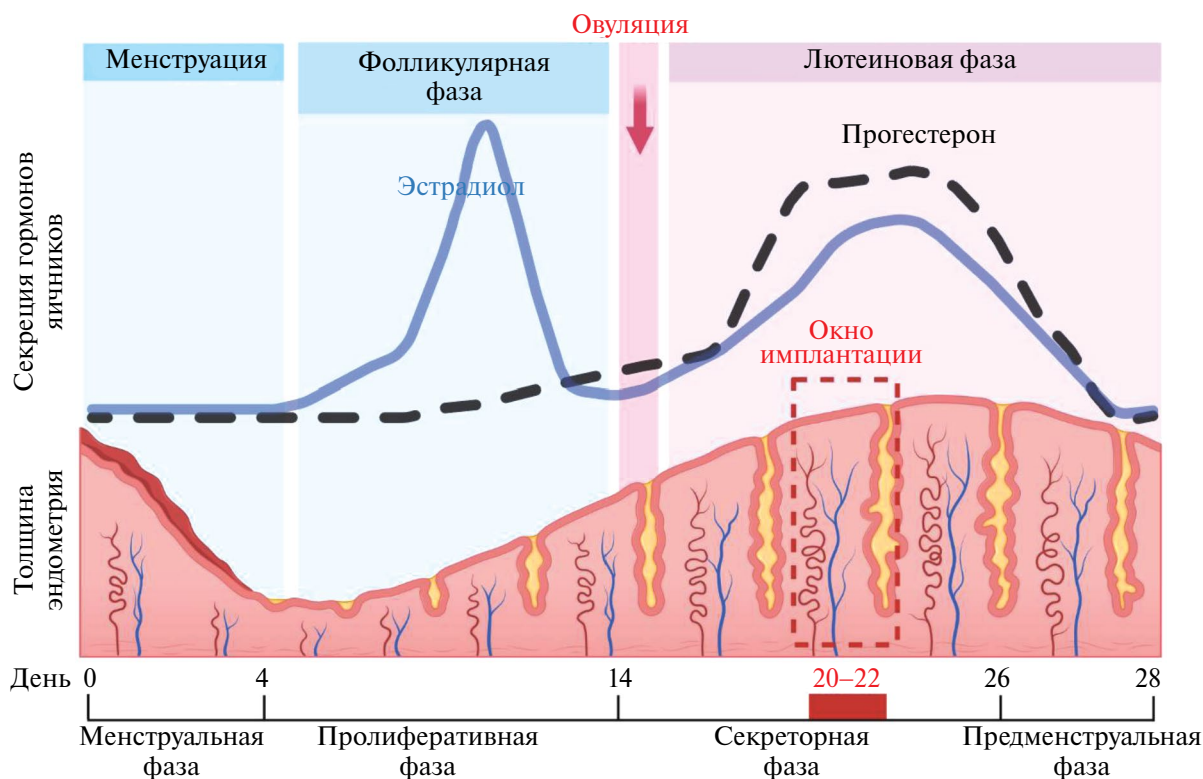


Рис. 1. Схематическое изображение динамики толщины эндометрия и уровней основных гормонов яичников в ходе менструального цикла (Draper et al., 2018).

в микроциркуляторном русле и разрыву стенок сосудов, которые уже утратили свою механическую прочность (Трубникова и др., 2019). В результате происходит отслаивание участков функционального слоя эндометрия. К концу первых суток менструации отторгается 2/3 функционального слоя, а полная его десквамация обычно заканчивается на третьи сутки. Менструальная кровь содержит участки десквамированного эндометрия, почти не свертывается, она богата ионами кальция, содержит мало фибриногена и лишена протромбина. В среднем за менструацию женщина теряет 50—70 мл крови (Трубникова и др., 2019).

Основной функцией эндометрия является поддержание возникновения и развития беременности на всех стадиях. Одним из важнейших этапов беременности является имплантация эмбриона (Critchley et al., 2020a; Muter et al., 2023). Период возможной имплантации эмбриона называется «окно имплантации» и наступает примерно через 6 сут после овуляции. В этот период эндометрий восприимчив к контакту с эмбрионом в течение 4 сут, примерно с 20-х по 24-е сут менструального цикла (рис. 1). Если имплантации не происходит, наступает менструация, и эндометрий отторгается (Айламазян, 2014; Critchley et al., 2020a; Muter et al., 2023).

В имплантации различают три этапа: оппозиция, адгезия и инвазия. Оппозиция — выбор бластоцистой подходящего места для прикрепления — происходит, когда полость матки максимально уменьшается из-за всасывания пиноподиями эпителиальных клеток находящейся в ней жидкости. За этим следует стадия адгезии — непосредственное прикрепление бластоцисты к эндометрию. После прикрепления эмбриональный трофобласт проникает через эпителий эндометрия в строму и внедряется в кровоток эндометрия, что является процессом инвазии (Рязанова и др., 2020; Massimiani et al., 2019).

Первый контакт на стадии адгезии происходит между поляризованным эпителием полости матки и трофобластом, клетки которого также являются поляризованными эпителиальными клетками. Апикальные мембраны поляризованных клеток обычно не взаимодействуют друг с другом напрямую. Эпителиальные клетки должны пройти через клеточные и молекулярные изменения, такие как потеря апикальных микропузырьков, модификация апикальной адгезивности, изменения в базолатеральных мембранах, изменения во вну-

триклеточном движении везикул и т. д. (Pollheimer, Knofler, 2005; Brosens et al., 2022; Muter et al., 2023).

Понимание механизмов установления «окна имплантации», а также механизмов непосредственно самой имплантации необходимо для выявления и коррекции нарушений данных процессов. Однако большая часть знаний о процессе имплантации была получена с использованием доступных животных моделей (мышей) и экстраполируется на человека из-за ограниченных возможностей наблюдения (Critchley et al., 2020; Muter et al., 2023).

Вследствие отсутствия релевантных моделей роль эпителия в имплантации у человека изучена недостаточно. Исследование патогенеза заболеваний эндометрия в лабораторных условиях затруднено, поскольку, несмотря на то, что репродуктивная система млекопитающих устроена по единому плану, между человеком и лабораторными животными есть существенные различия. У людей функциональный слой эндометрия сильно разрастается в ответ на повышение уровня эстрадиола в пролиферативной фазе, затем децидуализируется под влиянием прогестерона в секреторной фазе и отторгается после снижения уровня гормонов во время менструации. У мышей и других распространенных лабораторных животных менструации не происходит, у них существует эстральный цикл, который состоит из четырех фаз — проэструс, эструс, метэструс и диэструс. Эндометрий разрастается вовремя проэструса и эструса, а затем, начиная с метэструса, деградирует через вакуолярную дегенерацию с уменьшением размера и васкуляризации (Critchley et al., 2020a; Muter et al., 2023). У большинства млекопитающих децидуализация не происходит до тех пор, пока не появится эмбриональный сигнал. У человека же децидуализация запускается материнским сигналом во второй половине менструального цикла вне зависимости от наступления или ненаступления беременности (Muter et al., 2023). Если беременность не наступает, то децидуализированные клетки отслаиваются и выделяются во время менструации в составе менструальной жидкости.

Менструации, помимо людей, наблюдают у узконосых обезьян (включая человекообразных), некоторых видов летучих мышей, слоновой землеройки и каирской иглистой мыши (Critchley et al., 2020b). Некоторые из них были использованы в качестве лабораторных животных; исследования менструального цикла проводили, в частности на слоновой землеройке (Carter, 2018), а пред-

менструального синдрома — на иглистых мышцах (Bellofiore et al., 2019). Все перечисленные животные не являются типичными модельными, имеют малый ареал обитания, и их использование в широком спектре лабораторных исследований не представляется возможным. С этим связана чрезвычайная актуальность разработки моделей эндометрия человека *in vitro* для фундаментальных и прикладных исследований.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КЛЕТОК ЭНДОМЕТРИЯ

Еще с середины XX века монослойное культивирование клеток на плоской поверхности (2D-культивирование), чаще всего изготовленной из стекла или полистирола, являлось основным способом поддержания адгезивных клеток для всевозможных исследований. Такие культуры оказались востребованы в совершенно разных областях биологии, таких как биология развития, физиология, скрининг лекарств и многие другие (Haycock, 2011; Ivkovic et al., 2011).

Биологию эндометрия человека *in vitro* также длительное время изучали на монослойных культурах, но исследования были ограничены 2D-культивированием отдельных типов клеток (Kirk et al., 1978; Gargett et al., 2009, 2016). Наиболее представленный тип клеток эндометрия — стромальные клетки. Они хорошо пролиферируют и дифференцируются в децидуальные клетки в культуре (рис. 2а) (Земелько и др., 2011; Gargett et al., 2009). Другой тип клеток — эпителиальные клетки эндометрия (рис. 2б), в культуре быстро теряют полярность, подвергаются старению и име-

ют существенно ограниченный пролиферативный потенциал (Chen, Roan, 2015; Schutte et al., 2015). В связи с этим об их биологии и роли в функционировании эндометрия человека известно гораздо меньше. Тем не менее многие неопластические процессы развиваются при трансформации эпителиальных клеток, и механизмы, связанные с гиперплазией эндометрия или малигнизацией клеток эндометрия, еще предстоит исследовать (Kim et al., 2013).

Было установлено, что гормональная реакция эндометрия включает в себя в том числе и паракринное взаимодействие между эпителиальными и стромальными клетками (Li et al., 2011; Wetendorf, DeMayo, 2011; Kim et al., 2013). Взаимодействия стромы и эпителиальных клеток эндометрия претерпевают изменения на протяжении менструального цикла. После снижения уровня эстрадиола и прогестерона в начале менструации эпителиальные клетки вырабатывают интерлейкин 1 α (IL-1 α) и стимулируют секрецию матриксной металлопротеиназы 1 (MMP-1) стромальными клетками (Singer et al., 1997; Pretto et al., 2008). Стромально-эпителиальные взаимодействия влияют и на децидуализацию эндометрия, его рецептивность и инвазию трофобласта (Wang et al., 2013; Kim et al., 2005). Таким образом, для воссоздания условий, необходимых для нормального функционирования стромальных и эпителиальных клеток эндометрия, нужно их совместное культивирование. Важно учитывать, что эндометрий представляет из себя многослойную объемную тканевую структуру, которая необходима для реализации его функции. Так, в период возможной имплантации эмбриона толщина эндометрия в среднем

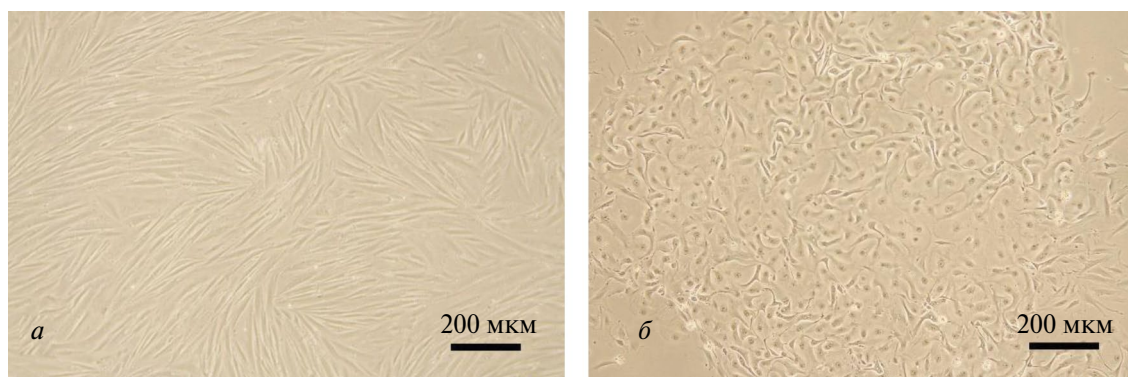


Рис. 2. Клетки эндометрия в двумерной (2D) культуре: *а* — монослойная культура стромальных клеток эндометрия, полученная и культивируемая по описанному протоколу (Земелько и др., 2011); *б* — монослойная культура эпителиальных клеток эндометрия, полученная и культивируемая по описанному протоколу (Chen, Roan 2015). Собственные результаты авторов.

составляет 9—14 мм (Brosens et al., 2014; Аганезов и др., 2017).

Как известно, ткань — это совокупность клеток (часто различных типов) и межклеточного вещества. Поэтому для максимального физиологического соответствия ткани в модели эндометрия важно наличие ВКМ и межклеточного взаимодействия. При культивировании в монослое межклеточные контакты и контакты клетка—матрикс ограничены ввиду двумерности системы, и воссоздание физиологических условий просто невозможно. Следовательно, для разработки персонализированных методов лечения необходим переход к использованию биоинженерных подходов к моделированию эндометрия *in vitro* в виде более физиологичных многослойных 3D-систем.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЭКСПЛАНТОВ ТКАНИ

Самым логичным и наиболее естественным подходом к моделированию эндометрия *in vitro* могло бы быть культивирование полнокомпонентных фрагментов ткани эндометрия, и развитие методик культивирования эксплантов различных тканей имеет долгую историю. Дадли с коллегами (Dudley et al., 1992) показали возможность культивирования фрагментов эндометрия в системе Transwell, отметив, что такие культуры сохраняют жизнеспособность и соответствующую метаболическую активность без существенного некроза до 5 сут (Dudley et al., 1992). В 2003 году другая группа исследователей ставила эксперименты по длительному культивированию эксплантов эндометрия в фибриновом геле с целью моделирования ранних этапов эндометриоза *in vitro* (Fasciani et al., 2003). Уже в первые сутки эти авторы наблюдали снижение жизнеспособности клеток такой модели, а свойства тех клеток, что оставались живыми, существенно изменялись. Позже Шафер и коллеги (Schafer et al., 2011) тоже проводили культивирование цельных участков эндометрия, не подвергая их воздействию протеолитических ферментов. Однако такие образцы могли сохранять свои исходные свойства в культуре не более 24 ч (Schafer et al., 2011). Авторы пришли к выводу, что эксплантаты эндометрия человека являются сложной в использовании моделью из-за ограниченной жизнеспособности, трудностей стандартизации и внутренних изменений во время культивирования, поэтому

эксперименты с такой моделью следует проводить в течение ограниченного времени в строго контролируемых условиях.

Это положение, общее для культур эксплантов эндометрия, подтверждается и рядом предшествовавших работ (Stavreus-Evers et al., 2003; Fogle et al., 2010). Однако метод культивирования эксплантов эндометрия был модифицирован в 2020 г., когда исследователи (Muruganandan et al., 2020) культивировали срезы ткани эндометрия в геле из коллагена типа I на границе раздела поверхности воздух—жидкость в системе культивирования с двойной чашкой, что позволило поддерживать жизнеспособность ткани в течение трех недель.

Под воздействием гормональной стимуляции в культивируемом участке эндометрия происходили изменения, характерные для различных фаз менструального цикла, такие как индуцированное эстрадиолом увеличение экспрессии маркера пролиферации Ki-67, рецепторов к эстрогенам и прогестерону во всех слоях эндометрия, и значительное снижение уровней этих белков при добавлении прогестерона (Muruganandan et al., 2020). Кроме того, были обнаружены морфологические изменения эндометрия под воздействием гормональной стимуляции эстрогеном и прогестероном, такие как околядерная вакуолизация и люминальная секреция желез, а также децидуализация стромы; участки эндометрия для культивирования получали от женщин, проходивших гистерэктомию в пролиферативной фазе менструального цикла (Muruganandan et al., 2020).

Метод, разработанный Муруганандан с соавторами (Muruganandan et al., 2020), наиболее полно сохраняет анатомическую структуру ткани эндометрия и межклеточные взаимодействия, позволяет проводить наблюдения за клетками во всех слоях эндометрия. Несмотря на все достоинства, такие модели имеют ограниченный срок жизни и трудности с воспроизведением результатов и их стандартизации. Работать с цельной живой тканью можно только в течение ограниченного срока; кроме того, нет возможности длительного сохранения и воспроизведения материала, поскольку предполагается однократное исследование одного донора без возможности повторного взятия материала. Таким образом, использование подобных моделей для разработки персонализированных подходов к лечению заболеваний эндометрия затруднено.

ОРГАНОИДЫ

Термин «органойд» (organoid) в англоязычной литературе обрел популярность в 1960-е гг. и описывал первые клеточные 3D-модели в классических экспериментах по биологии развития, в которых исследователи стремились воспроизвести органогенез с помощью экспериментов по диссоциации и повторной агрегации клеток (см., например: Weiss, Taylor, 1960). Сейчас органойд определяется как органоподобная 3D-структура, созданная из стволовых/органоспецифичных клеток, которая воспроизводит различные аспекты гистологии, функционирования, биологии и патологии соответствующего органа или ткани.

Часто органойды представляют собой самоорганизующиеся трехмерные реконструкции эпителия органа, культивируемые в условиях активации WNT-сигнального пути (Clevers, 2016). Они воспроизводят многие аспекты гистологии, функционирования, биологии и патологии эпителия различных тканей, таких как кишечник, предстательная железа, поджелудочная железа и др. (Sato et al., 2011; Barker et al., 2010; Clevers, 2016; Gao et al., 2014; Karthaus et al., 2014). В отличие от классических 2D-культур клеток *in vitro* органойды проявляют высокую способность к размножению с сохранением фенотипических и функциональных свойств, таким образом преодолевая ограниченную доступность или размножаемость первичных культур эпителиальной ткани человека (Yui et al., 2012; Chua et al., 2014; Nuch et al., 2015).

Для получения органойдов диссоциированную ткань культивируют в матрикеле (Matrigel), который используется в качестве матрикса, богатого белками ВКМ. Для культивирования используют комбинированные среды, содержащие ростовые факторы, а также активаторы WNT-сигнального пути, такие как WNT3A; R-спондин 1 (RSPO-1), который является лигандом сопряженного с G-белком рецептора 5-го типа, содержащего богатые лейцином повторы (LGR5), и действует как усилитель сигнализации WNT; митогены эпителиальных клеток, такие как эпидермальный фактор роста (EGF) и фактор роста фибробластов 10 (FGF-10); ингибиторы костного морфогенетического белка (BMP), такие как Noggin, которые обеспечивают длительное размножение путем предотвращения дифференцировки; антагонисты пути β -трансформирующего фактора роста (TGF- β), такие как ингибитор A83-01 киназы Alk, которые со-

храняют свойства эпителиальных клеток, а также N-ацетил-L-цистеин и ингибитор протеинкиназы p38 (вещество SB20219). Органойды могут быть моделями здоровых и больных тканей, что делает их подходящими платформами для разработки персонализированного подхода в медицине (Yui et al., 2012; Chua et al., 2014; Nuch et al., 2015).

ОРГАНОИДЫ ЭНДОМЕТРИЯ

Органойды получают (в частности) из участков ткани эндометрия, которые подвергают воздействию протеолитического фермента коллагеназы и механическому измельчению, фильтруют через сита с различными размерами пор, чтобы разделить эпителиальный и стромальный компонент. Изоляты, обогащенные эпителиальными клетками, помещают в капли матрикеля, где они самоорганизуются. Для культивирования используют среду, позволяющую поддерживать развитие органойдов тканей человека, содержащую эпидермальный фактор роста (EGF), Noggin, R-spondin-1 и A83-01 (ингибитор TGF- β рецепторов) (Arnold et al., 2001; Boretto et al., 2017; Zhi-Yue Gu et al., 2020). В 2017 г. двумя независимыми группами впервые были предложены трехмерные модели эндометрия на основе органойдов (Boretto et al., 2017; Turco et al., 2017).

В одной из этих работ (Turco et al., 2017) адаптировали условия, используемые для создания органойдных культур из различных клеток человека, для создания 3D-культур эндометрия человека. Полученные органойды могут быть культивированы в течение длительного времени, генетически стабильны и сохраняют способность отвечать на гормональную стимуляцию при моделировании менструального цикла и ранних сроков беременности. Анализ транскриптов подтвердил большое сходство между органойдами и исходным эндометрием. Подобные органойды также были созданы из децидуальной ткани, полученной на ранних сроках беременности и из раковых опухолей эндометрия. Для формирования органойдов использовали участки эндометрия, полученные при биопсии, а также абортный материал ранних сроков беременности и участки раковых опухолей эндометрия после удаления. После измельчения и ферментативной обработки участки ткани помещали в капли концентрированного матрикеля. Для культивирования использовали составную культуральную среду для органойдных культур.

Органоиды представляли собой сферы из одного слоя эпителиальных клеток.

В другой работе (Boretto et al., 2017) авторы показали, что полученные ими органоиды из эпителия человека могут воспроизводить менструальный цикл, в частности пролиферативную, секреторную и менструальную фазы. Органоиды последовательно культивировали в присутствии гормонов эстрадиола и прогестерона с последующей их отменой. При культивировании с эстрадиолом наблюдали увеличение доли клеток, экспрессирующих маркер пролиферации Ki67, а последующее добавление прогестерона приводило к уменьшению количества Ki67 положительных клеток (Boretto et al., 2017), что согласуется с эффектами этих гормонов *in vivo* (Eritja et al., 2013). Культивирование в присутствии прогестерона вызывало морфологические изменения в органоидах, которые имитировали изменения, появляющиеся в эндометрии в секреторной фазе, в частности увеличивали складчатость и извилистость желез со столбчатыми клетками с субнуклеарной вакуолизацией. Кроме того, было обнаружено присутствие в органоидах, культивированных с эстрадиолом, пролиферативного фазоспецифического маркера тиреотропин-рилизинг-гормона (ТРГ), который отсутствовал при культивировании в присутствии прогестерона, тогда как секреторно-фазоспецифический маркер прогестаген-ассоциированного белка эндометрия (РАЕР) был обнаружен в органоидах после культивирования с прогестероном и отсутствовал при культивировании с эстрадиолом (Boretto et al., 2017). Эти данные соотносятся с наблюдениями *in vivo* (Zieba et al., 2015).

Кроме того, Боретто и соавторы (Boretto et al., 2017) выявили наличие α -тубулин-ацетилированных ресничек и выработку муцина в клетках в составе органоидов при культивировании в присутствии прогестерона, которые присутствуют в эндометрии в секреторной фазе цикла (Meseguer et al., 2001). Продукция муцина отражает активацию экспрессии его гена (*MUC1*) в присутствии прогестерона в секреторной фазе цикла. Боретто и соавторы (Boretto et al., 2017) наблюдали активацию экспрессии других генов, характерных для эндометрия в секреторной фазе, таких как *ALOX15* и *AQP3* (Talbi et al., 2006; Kuokkanen et al., 2010; Ruiz-Alonso et al., 2012), тогда как маркеры пролиферативной фазы, такие как эстрогеновый рецептор 1 (ESR1), были подавлены.

Боретто и соавторы (Boretto et al., 2017) также обнаружили, что несколько лигандов сигнального пути WNT дифференциально экспрессируются при культивировании в присутствии эстрадиола или прогестерона, что согласуется с сообщениями об их фазоспецифической экспрессии *in vivo* (Punyadeera et al., 2005; Talbi et al., 2006). Самые высокие уровни экспрессии белков WNT4, WNT5A и WNT9A были отмечены при культивировании органоидов в присутствии прогестерона, тогда как экспрессия ингибитора WNT-сигнального пути — WIF1 была снижена, что тоже обнаружено *in vivo* (Talbi et al., 2006). Поскольку эти конкретные участники сигнального пути WNT связаны с неканонической передачей сигналов WNT, Боретто и соавторы (Boretto et al., 2017) проанализировали экспрессию неканонических генов-мишеней *SIAH2* и *CAPN1*, которые, как сообщается, опосредуют передачу сигналов WNT5A в неканоническом Ca^{2+} -зависимом пути (Komiyama, Habas, 2008; Topol et al., 2003), и обнаружили, что они активируются при культивировании в присутствии прогестерона. Последующая отмена гормонов и использование среды без фенолового красного (конкурентного антагониста эстрогенового рецептора) привели к нарушению железистой архитектуры с потемнением органоидов и потерей клеток на их границе (они окрашивались трипановым синим); наблюдали появление апоптотических клеток в органоидах и их просвете, что соответствовало менструальной фазе *in vivo* (Boretto et al., 2017).

Очевидным недостатком данных моделей является наличие только одного клеточного компонента эндометрия. Описано (Murphy et al., 2019) получение и культивирование органоидов эндометрия, которые состоят как из эпителиальных, так и из стромальных клеток эндометрия человека. Эти органоиды не требуют каких-либо экзогенных каркасных материалов и специально организованы так, чтобы эпителиальные клетки охватывали сфероидальную структуру и поляризовались со стромальными клетками в центре, которые, в свою очередь, продуцируют и секретируют коллаген. В данных органоидах была обнаружена экспрессия рецепторов к эстрогенам и прогестерону как в эпителиальных, так и в стромальных клетках (Murphy et al., 2019). Участки эндометрия в этой работе выделяли из хирургически удаленных маток женщин в постменопаузе с доброкачественными образованиями матки. Далее полученные участки ткани обрабатывали

ферментативно и культивировали в агарозных формах с использованием коммерческой среды MammoCult™ с гидрокортизоном и гепарином, которая разработана для культивирования сфероидов раковых клеток эпителиальной природы из тканей молочной железы (полный состав среды не раскрывается производителем). Данная среда позволяла органоидам сохранять свою структурную целостность и жизнеспособность в течение 14–28 сут культивирования. Однако влияние этой среды на стромальные клетки не исследовали. Дополнительно в среду добавляли эстрадиол и тестостерон. Присутствие эстрадиола и тестостерона, по-видимому, способствует образованию органоидов со специфической организацией эпителиальных клеток, выстилающих поверхность сфероида из стромальных клеток. Но авторы не проверяли, будут ли эстрадиол и тестостерон по отдельности способствовать образованию органоидов и какова будет оптимальная продолжительность обработки. Авторы отмечают, что получаемые таким способом органоиды эндометрия неоднородны по своей природе и различны по размеру, поскольку не все органоиды содержат одинаковое количество эпителиальных и стромальных клеток.

Позднее этот же коллектив авторов с помощью данной модели воспроизвел чрезмерное гормональное воздействие, характерное для поликистоза яичников, и обнаружил увеличение пролиферации клеток и нарушение регуляции генов в органоидах эндометрия в сравнении с физиологическим уровнем гормонов (Wiwatpanit et al., 2020).

Суммируя сведения из литературы, можно предположить, что органоиды могут стать релевантными моделями как нормальных тканей, так и патологически измененных. Это делает их перспективными платформами для персонализированных биомедицинских исследований, хотя и имеющими ряд существенных ограничений (Yui et al., 2012; Chua et al., 2014; Huch et al., 2015).

3D-КУЛЬТИВИРОВАНИЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАТРИЦ

За исключением клеток крови, подавляющее большинство клеток организма человека закреплены в малоподвижном ВКМ. При трехмерном культивировании клеток функцию ВКМ частично может выполнять матрица (скаффолд), способная обеспечить адгезивную поверхность для роста клеток во всех трех измерениях (Chan, Leong, 2008).

Для получения полноценной 3D-культуры клеток скаффолды должны обладать высокой адгезией для выбранного типа клеток, быть проницаемыми для всех компонентов ростовой среды и не должны препятствовать клеточной пролиферации и миграции (Cai et al., 2020). Скаффолды для трехмерного культивирования могут иметь природное происхождение или быть синтетическими (Carletti et al., 2011). Синтез скаффолдов позволяет контролировать множество параметров, таких как микроархитектура (размер пор, волокон) и физико-химические свойства. Независимо от способа получения скаффолды чаще всего представляют собой гидрогели — сети поперечно сшитых цепей органических полимеров, между которыми заключены молекулы воды, что делает их близкими по структуре к большинству биологических тканей (Miao Sun et al., 2021). Синтез скаффолдов возможен из биогенных материалов, среди них — белки (фибрин, коллаген) и полисахариды (агароза, альгиновая кислота, хитозан) (Ivkovic et al., 2011).

Метод трехмерного культивирования с использованием синтетических скаффолдов был использован и для создания 3D-моделей эндометрия человека. Группа исследователей проводила культивирование клеток эндометрия эпителиальной и стромальной природы с использованием коллагенового скаффолда (Abbas et al., 2020). На коллагеновый каркас из коллагена типа I заседали клетки стромы эндометрия, далее на поверхность этого каркаса наслаивали органоиды, полученные из эпителия эндометрия. Для получения стромального компонента использовали клетки, выделенные из децидуальной ткани при плановом прерывании нормальной беременности на ранних сроках, которые затем культивировали в течение двух пассажей для дедецидуализации. В своей работе авторы (Abbas et al., 2020) высевали на поверхность каркаса эпителиальные клетки из органоидов, полученных по ранее разработанной методике (Turco et al., 2017). В результате была обнаружена характерная поляризация эпителиальных клеток, образование ресничек и синтез белков базальной мембраны. Культуры отвечали на гормональные воздействия и могли поддерживаться в течение 10 сут (Abbas et al., 2020). Методом подбора было обнаружено, что размер пор 101 мкм является оптимальным, однако исследователи отмечают сложность с посевом клеток в достаточной плотности. Следующим шагом развития своего исследования авторы считают необходимость манипулирова-

ния архитектурой каркаса, чтобы сформировать структуры, подобные железе, и интегрировать как иммунные, так и эндотелиальные клетки (Abbas et al., 2020).

Ан с коллегами (Ahn et al., 2021) разработали еще более сложную модель эндометрия в формате «орган на чипе». Важно отметить, что в работе были использованы линейные клетки различного происхождения. В настоящее время модель, созданную этим коллективом авторов (Ahn et al., 2021), нельзя назвать персонализированной, тем не менее она является перспективной и заслуживает внимания.

Непосредственно ткань в этой модели состоит из трех слоев, образованных эпителиальными клетками рака эндометрия человека (Ishikawa), стромальными фибробластами (CRL-4003) и эндотелиальными клетками (HUVEC) в трехмерном внеклеточном матриксе. Она располагается в устройстве, состоящем из пяти микроканалов. Два центральных канала предназначены для 3D-культуры и морфогенеза стромальных фибробластов и эндотелиальных клеток в фибриновом геле. Еще два канала используют для обеспечения микроциркуляции культуральной среды, а крайний канал предназначен для еще одной культуры эндометриальных стромальных фибробластов, которые выделяют биохимические сигналы, вызывающие направленный проангиогенный ответ эндотелиальных клеток.

Для засева эндометриальных эпителиальных клеток на 8-е сут в один из каналов вместе со средой вносили эпителиальные клетки для последующей адгезии на поверхности геля (Ahn et al., 2021). После этого воссозданный эндометрий культивировали еще 5—6 сут для каждого эксперимента. Был воспроизведен эндометриальный васкуло- и ангиогенез, а также некоторые ключевые параметры эндометрия в пролиферативной и секреторной фазах менструального цикла, такие как повышенная экспрессия белков IGFBP1 и F-актина (в стромальных фибробластах) в присутствии эстрадиола и прогестерона. Кроме того, оценили эффект препарата для экстренной контрацепции левоноргестрела, который стимулировал дозозависимое увеличение проницаемости эндометрия и регрессию кровеносных сосудов. Кроме того, исследователи моделировали процесс имплантации эмбриона с помощью микробусин соответствующего размера, покрытых гепарин-связывающим EGF-подобным фактором роста (HB-EGF) или инсулиноподобным фактором роста 1 (IGF-1),

которые *in vivo* секретирует эмбрион перед имплантацией. Было показано преимущественное связывание таких бусин с эпителием в сравнении с контрольными, покрытыми бычьим сывороточным альбумином, что косвенно свидетельствует о применимости описываемой модели для изучения процесса инвазии трофобласта (Ahn et al., 2021). Подобные модели разрабатывали и другие исследователи (Park et al., 2021).

Как уже было сказано, скаффолды можно получать и из природных источников, а не только с помощью синтетических методов. Для этого применяется метод децеллюляризации тканей и органов, при котором происходит очистка ВКМ от клеточного материала. Такой метод успешно используется для инженерии различных тканей путем заселения получаемого матрикса новыми клетками. Например, таким способом удается получить конструкторы сосудов (Borschel et al., 2005), хрящей, связок (Ingram et al., 2007) и другие. Децеллюляризация может быть реализована с помощью разных подходов: химических (применение поверхностно-активных веществ (ПАВ), кислот, оснований или ферментов), механических (высокое гидростатическое давление, заморозка с последующим размораживанием и обработки жидким CO₂) и комбинированных (Sawada et al., 2008; Elder et al., 2010; Funamoto et al., 2010). Скаффолды из натуральных материалов зачастую изначально более биосовместимы, а также более дешевы в изготовлении.

Децеллюляризованные скаффолды применяли и для создания 3D-моделей эндометрия в культуре. Так, для получения децеллюляризованного внеклеточного матрикса эндометрия были использованы ткани, полученные от женщин при гистероэктомии (Olalekan et al., 2017). Для этого тонко нарезанные кусочки эндометрия обрабатывали 0.25 %-ным раствором Triton X-100 и 0.25 %-ным додецилсульфатом натрия с целью удаления клеток. Протеомный анализ децеллюляризованных каркасов выявил 107 белков экстраклеточного матрикса, таких как коллагены и ламинин, белки цитоскелета и клеточной адгезии, киназы и даже гистоны. Эти белки обеспечивают физиологичный каркас для прикрепления и роста клеток, чего недостает 2D-культурам и стандартным гелям из коллагена или фибронектина, которые часто используются для 3D-культивирования. Далее полученные матрицы заселяли клетками, выделенными из ткани эндометрия других доноров, и куль-

тивировали до четырех недель. Была обнаружена пролиферация клеток и экспрессия рецепторов к эстрогенам и прогестерону. Кроме того, авторы имитировали 28-суточный менструальный цикл человека методом последовательного добавления гормонов и обнаружили увеличение секреции пролактина и IGFBP-1 в ответ на гормональное воздействие, что свидетельствует о децидуальной дифференцировке клеток внутри скаффолда (Olalekan et al., 2017).

Сравнительно недавно в качестве матриц для 3D-культивирования было предложено использовать целлюлозные каркасы из децеллюляризованных растений (Modulevsky et al., 2014, 2016; Lee et al., 2019; Bilirgen et al., 2021). Целлюлоза — компонент клеточной стенки растений и один из самых распространенных природных полимеров. Этот материал дает возможность создавать матрицы разнообразной формы и архитектуры, при этом поверхность матриц можно химически модифицировать (Phan et al., 2020; Bilirgen et al., 2021). Еще одним важным свойством целлюлозных матриц является их устойчивость к диссоциации в водных растворах, что позволяет проводить длительное наблюдение за населяющими их клетками. Ранее нами для трехмерного культивирования и последующей тканеспецифической децидуальной дифференцировки стромальных клеток эндометрия человека были использованы матрицы, полученные из децеллюляризованного яблока, дополнительно покрытые коллагеном типа I (рис. 4). На таких матрицах клетки эндометрия в течение длительного времени сохраняли жизнеспособность и пролиферативную активность и были способны к направленной децидуальной дифференцировке (Кунеев и др., 2023).

3D-культуры эндометрия, полученные с использованием скаффолдов, являются перспективными для использования в персонализированной медицине, поскольку позволяют наиболее близко воссоздать строение нативной ткани и взаимодействия между разными типами клеток, а также необходимый объем для реализации ее функции.

Во многих упомянутых работах получение клеток эндометрия предполагало проведение биопсии, которая является инвазивной трансцервикальной процедурой и должна проводиться опытным специалистом в соответствующих условиях медицинского учреждения с применением специального оборудования, или использование хирургически удаленной матки по причине ее значительной па-

тологии. Для получения компонентов эндометрия образцы обрабатывали ферментами и длительно культивировали *in vitro*. Получение подобных трехмерных моделей предполагает использование многокомпонентных сред и материалов, а также является время- и трудозатратным. Повторяемость исследований на данных моделях ограничена из-за невозможности повторного взятия биологического материала от одного донора.

Неинвазивным источником клеток эндометрия могут являться фрагменты эндометрия, содержащиеся в менструальной крови, получение которой является простой процедурой, а доступность материала практически не ограничена. Согласно недавно опубликованным исследованиям, эпителиальные органоиды, полученные из клеток эндометрия, содержащихся в менструальной крови, не имеют существенных различий в транскриптомном профиле, пролиферации, реакции на гормональное воздействие, секреции, экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону, по сравнению с органоидами, полученными из эндометрия, отобранного с помощью биопсии (Cindrova-Davies et al., 2021).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработка 3D-моделей эндометрия *in vitro* с использованием собственных клеток пациентов может коренным образом изменить подход к диагностике и лечению различных заболеваний, а также позволит расширить фундаментальное понимание генетического вклада в развитие заболеваний эндометрия, в том числе приводящих к бесплодию. Такие клеточные модели могут служить в качестве надежных доклинических систем для скрининга лекарственных препаратов и разработки новых персонализированных методов лечения для каждого конкретного пациента с учетом его физиологических и генетических особенностей. Однако этот подход требует разработки многокомпонентных модельных систем, которые хорошо воспроизводят трехмерную микроструктуру ткани и дают возможность проведения длительных экспериментов при сохранении функции ткани. В основном клеточные модели эндометрия все еще представляют из себя монокультуры отдельных типов эндометриальных клеток или органоиды ограниченного объема. Но для моделирования функционального эндометрия требуются объемные

полноструктурные системы, в создании которых уже достигнуты значительные успехи.

Наш обзор сфокусирован на тех клеточных моделях эндометрия, которые являются персонализируемыми и успешно отражают различные свойства этой ткани *in vivo*. Заболевания эндометрия и многие биологические процессы, протекающие в матке, например инвазию трофобласта, невозможно адекватно воспроизвести на тонких образцах ткани, образованных монокультурами клеток. Кроме того, важную роль в функционировании эндометрия и развитии его патологии играют сосуды и клетки иммунной системы, что пока не учитывается в модели. Важны также доступность биологического материала пациента и возможность стандартизации. Продвинутые 3D-модели эндометрия в культуре способны внести существенный вклад в изучение эндометрия человека в норме и при патологии и стать ключевым этапом перехода к персонифицированной медицине будущего.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 24-24-00539).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с использованием животных и человека авторы не проводили.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аганезов С. С., Аганезова Н. В., Мороцкая А. В., Пономаренко К. Ю. 2017. Рецептивность эндометрия у женщин с нарушениями репродуктивной функции. Ж. акуш. и жен. болезн. Т. 66. № 3. С. 135. (Aganezov S. S., Aganezova N. V., Morotskaya A. V., Ponomarenko K. Y. 2017. Endometrial receptivity in women with disorders in reproductive system. Journal of Obstetrics and Women's Diseases. V. 66. No. 3. P. 135) <https://doi.org/10.17816/JOWD663135142>
- Айламазян Э. К., Новиков Б. Н., Зайнулина М. С., Рябцева И. Т., Тарасова М. А. 2014. Акушерство: учебник для медицинских вузов. Санкт-Петербург: СпецЛит, 553 с. (Ailamazyan E. K., Novikov B. N., Zainulina M. S., Ryabtseva I. T., Tarasova M. A. 2014. Obstetrics: textbook for medical universities. St. Petersburg: SpetsLit, 553 p.)
- Земелько В. И., Гринчук Т. М., Домнина А. П., Арцыбашева И. В., Зенин В. В., Кирсанов А. А., Бичева Н. К., Корсак В. С., Никольский Н. Н. 2011. Мультипотентные мезенхимные стволовые клетки десквамированного эндометрия. Выделение, характеристика и использование в качестве фидерного слоя для культивирования эмбриональных стволовых линий человека. Цитология. Т. 53. № 12. С. 919. (Zemelko V. I., Grinchuk T. M., Domnina A. P., Artzibasheva I. V., Zenin V. V., Kirsanov A. A., Bichevaia N. K., Korsak V. S., Nikolsky N. N. 2012. Multipotent mesenchymal stem cells of desquamated endometrium: isolation, characterization, and application as a feeder layer for maintenance of human embryonic stem cells. Cell Tiss. Biol. V. 6. P. 1.) <https://doi.org/10.1134/S1990519X12010129>
- Корсак В. С., Смирнова А. А., Шурыгина О. В. и др. 2016. Регистр центров ВРТ в России. Отчет за 2014 г. Проблемы репродукции. Т. 22. № 5. С. 10. (Korsak V. S., Smirnova A. A., Shurygina O. V. Russian ART register, 2014. 2016. Russian J. Human Reprod. V. 22. No. 5. P. 10.) <https://doi.org/10.17116/repro201622510-21>
- Кунеев И. К., Иванова Ю. С., Нащечкина Ю. А., Патронова Е. К., Соколова А. В., Домнина А. П. 2023. Разработка метода трехмерного культивирования мезенхимных стволовых (стромальных) клеток человека с использованием матрицы из целлюлозы. Цитология. Т. 65. № 2. С. 170. (Kuneev I. K., Ivanova J. S., Nashchekina Y. A., Patronova E. K., Sokolova A. V., Domnina A. P. 2023. Development of method for three-dimensional cultivation of human mesenchymal stem/stromal cells using cellulose scaffolds. Tsitologiya. V. 65. No. 2. P. 170.) <https://doi.org/10.31857/S0041377123020037>
- Охрименко М. А., Хачатурян Д. А., Смольникова В. Ю., Донников А. Е. 2013. Молекулярно-генетические аспекты процесса имплантации у пациенток программы экстракорпорального оплодотворения (обзор литературы). Гинекология. Т. 15. № 5. С. 51. (Okhrimenko M. A., Khachatryan D. A., Smol'nikova V. Y., Donnikov A. E. 2013. Molekulyarno-geneticheskie aspekty protsessa implantatsii u patsientok programmy ekstrakorporal'nogo oplodotvoreniya (obzor literatury). Gynecol. V. 15. No. 5. P. 51.)
- Рязанова И. А., Андреева Я. А., Лабзина М. В., Абрамова С. В. 2020. Проблемы имплантации эмбриона у женщин с патологией эндометрия (обзор литературы). Архив акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирёва. Т. 7. № 2. С. 74.

- (*Ryazanova I. A., Andreyeva Ya. A., Labzina M. V., Abramova S. V.*, 2020. Problems of embryo implantation in women with endometrial pathology (literature review). *Snegirev Arch. Obstetrics Gynecol.* (Russ.) V. 7. No. 2. P. 74.)
<http://doi.org/10.17816/2313-8726-2020-7-2-74-79>
- Трубникова Л. И., Вознесенская Н. В., Таджиева В. Д., Корнилова Т. Ю., Албутова М. Л., Тихонова Н. Ю.* 2019. Учебно-методическое пособие. Актуальные вопросы гинекологии. Ульяновск: УлГУ. (*Trubnikova L. I., Voznesenskaya N. V., Tadzhiyeva V. D., Kornilova T. Yu., Albutova M. L., Tikhonova N. Yu.* 2019. Educational and methodological manual. Top. Issues Gynecol. Ulyanovsk: UISU (Russ.).)
- Abbas Y., Brunel L. G., Hollinshead M. S., Fernando R. C., Gardner L., Duncan I., Moffett A., Best S., Turco M. Y., Burton G. J., Cameron R. E.* 2020. Generation of a three-dimensional collagen scaffold-based model of the human endometrium. *Interface Focus*. V. 2: e:20190079.
<https://doi.org/10.1098/rsfs.2019.0079>
- Ahn J., Yoon M. J., Hong S. H., Cha H., Lee D., Koo H. S., Ko J. E., Lee J., Oh S., Jeon N. L., Kang Y. J.* 2021. Three-dimensional microengineered vascularised endometrium-on-a-chip. *Hum Reprod*. V. 3. P. 2720.
<https://doi.org/10.1093/humrep/deab186>
- Albertini D. F.* 2020. Pregnancy loss: more a matter of chromosomes or maternal discretion? *J. Assist. Reprod. Genet*. V. 37. P. 1.
<https://doi.org/10.1007/s10815-020-01696-8>
- Arnold J. T., Kaufman D. G., Seppälä M., Lessey B. A.* 2001. Endometrial stromal cells regulate epithelial cell growth in vitro: a new co-culture model. *Human Reprod*. V. 16. P. 836.
<https://doi.org/10.1093/humrep/16.5.836>
- Barker N., Huch M., Kujala P., van de Wetering M., Snipert H. J., van Es J. H., Sato T., Stange D. E., Begthel H., van den Born M., Danenberg E., van den Brink S., Korving J., Abo A., Peters P. J., Wright N., Poulsom R., Clevers H.* 2010. Lgr5(+ve) stem cells drive self-renewal in the stomach and build long-lived gastric units in vitro. *Cell Stem Cell*. V. 6. P. 25.
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.11.013>
- Bellofiore N., Cousins F., Temple-Smith P., Evans J.* 2019. Altered exploratory behaviour and increased food intake in the spiny mouse before menstruation: a unique pre-clinical model for examining premenstrual syndrome. *Human Reprod*. V. 34. P. 308.
<https://doi.org/10.1093/humrep/dey360>
- Bilirgen A. C., Toker M., Odabas S., Yetisen A. K., Garipcan B., Tasoglu S.* 2021. Plant-based scaffolds in tissue engineering. *ACS Biomater. Sci. Eng.* V. 7. P. 926.
<https://doi.org/10.1021/acsbmaterials.0c01527>
- Boretto M., Cox B., Noben M., Hendriks N., Fassbender A., Roose H., Amant F., Timmerman D., Tomassetti C., Vanhie A., Meuleman C., Ferrante M., Vankelecom H.* 2017. Development of organoids from mouse and human endometrium showing endometrial epithelium physiology and long-term expandability. *Development*. V. 144. P. 1775.
<https://doi.org/10.1242/dev.148478>
- Borschel G. H., Huang Y. C., Calve S., Arruda E. M., Lynch J. B., Dow D. E., Kuzon W. M., Dennis R. G., Brown D. L.* 2005. Tissue engineering of recellularized small-diameter vascular grafts. *Tissue Eng*. V. 11. P. 778.
<https://doi.org/10.1089/ten.2005.11.778>
- Bozorgmehr M., Gurung S., Darzi S., Nikoo S., Kazemnejad S., Zarnani A. H., Gargett C. E.* 2020. Endometrial and menstrual blood mesenchymal stem/stromal cells: biological properties and clinical application. *Front Cell Dev. Biol*. V. 8. P. 497.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00497>
- Brosens J. J., Bennett P. R., Abrahams V. M., Ramhorst R., Coomarasamy A., Quenby S., Lucas E. S., McCoy R. C.* 2022. Maternal selection of human embryos in early gestation: insights from recurrent miscarriage. *Semin. Cell Dev. Biol*. V. 131. P. 14.
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2022.01.007>
- Brosens J. J., Salter S., Lucas E. S., Steel J. H., Christian M., Chan Y. W., Boomsma C. M., Moore J. D., Hartshorne G. M., Sućurović S., Mulac-Jericevic B., Heijnen C. J., Quenby S., Koerkamp M. J., Holstege F. C., Shmygol A., Macklon N. S.* 2014. Uterine selection of human embryos at implantation. *Sci. Rep*. V. 6: e3894.
<https://doi.org/10.1038/srep03894>
- Cai S., Wu C., Yang W., Liang W., Yu H., Liu L.* 2020. Recent advance in surface modification for regulating cell adhesion and behaviors. *Nanotechnol. Rev*. V. 9. P. 971.
<https://doi.org/10.1515/ntrev-2020-0076>
- Carletti E., Motta A., Migliaresi C.* 2011. Scaffolds for tissue engineering and 3D cell culture. *Methods Mol. Biol*. V. 695. P. 17.
https://doi.org/10.1007/978-1-60761-984-0_2
- Carter A. M.* 2018. Classics revisited: C. J. van der Horst on pregnancy and menstruation in elephant shrews. *Placenta*. V. 67. P. 24.
<https://doi.org/10.1016/j.placenta.2018.05.010>
- Chan B. P., Leong K. W.* 2008. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *Eur. Spine J*. V. 17. P. 467.
<https://doi.org/10.1007/s00586-008-0745-3>
- Chen J. C., Roan N. R.* 2015. Isolation and culture of human endometrial epithelial cells and stromal fibroblasts. *Bio Protoc*. V. 5: e1623.
<http://doi.org/10.21769/bioprotoc.1623>
- Chua C. W., Shibata M., Lei M., Toivanen R., Barlow L. J., Bergren S. K., Badani K. K., McKiernan J. M.,*

- Benson M. C., Hibshoosh H., Shen M. M. 2014. Single luminal epithelial progenitors can generate prostate organoids in culture. *Nat. Cell Biol.* V. 16. P. 951. <https://doi.org/10.1038/ncb3047>
- Cindrova-Davies T., Zhao X., Elder K., Jones C. J. P., Moffett A., Burton G. J., Turco M. Y. 2021. Menstrual flow as a non-invasive source of endometrial organoids. *Commun. Biol.* V. 4. P. 1. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02194-y>
- Clevers H. 2016. Modeling development and disease with organoids. *Cell.* V. 165. P. 1586. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.082>
- Critchley H. O. D., Babayev E., Bulun S. E., Clark S., Garcia-Grau I., Gregersen P. K., Kilcoyne A., Kim J. J., Lavender M., Marsh E. E., Matteson K. A., Maybin J. A., Metz C. N., Moreno I., Silk K., Sommer M., Simon C., Tariyal R., Taylor H. S., Wagner G. P., Griffith L. G. 2020a. Menstruation: science and society. *Am. J. Obstet. Gynecol.* V. 223. P. 624. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.06.004>
- Critchley H. O. D., Maybin J. A., Armstrong G. M., Williams A. R. W. 2020b. Physiology of the endometrium and regulation of menstruation. *Physiol. Rev.* V. 100. P. 1149. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2019>
- Draper C. F., Duisters K., Weger B., Chakrabarti A., Harms A. C., Brennan L., Hankemeier T., Goulet L., Konz T., Martin F. P., Moco S., van der Greef J. 2018. Menstrual cycle rhythmicity: metabolic patterns in healthy women. *Sci. Rep.* V. 8. P. 14568. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32647-0>
- Dudley D. J., Hatasaka H. H., Branch D. W., Hammond E., Mitchell M. D. 1992. A Human endometrial explant system: validation and potential applications. *Am. J. Obstetrics Gynecol.* V. 167. P. 1774. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(92\)91774-5](https://doi.org/10.1016/0002-9378(92)91774-5)
- Elder B. D., Kim D. H., Athanasiou K. A. 2010. Developing an articular cartilage decellularization process toward facet joint cartilage replacement. *Neurosurgery.* V. 66. P. 722. <https://doi.org/10.1227/01.NEU.0000367616.49291.9F>
- Eritja N., Mirantes C., Llobet D., Yeramian A., Bergadà L., Dosil M. A., Domingo M., Matias-Guiu X., Dolcet X. 2013. Long-term estradiol exposure is a direct mitogen for insulin/EGF-primed endometrial cells and drives PTEN loss-induced hyperplastic growth. *Am. J. Pathol.* V. 183. P. 277. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.03.008>
- Fasciani A., Bocci G., Jing Xu, Bielecki R., Greenblatt E., Leyland N., Casper R. F. 2003. Three-dimensional in vitro culture of endometrial explants mimics the early stages of endometriosis. *Fertility Sterility.* V. 80. P. 1137. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(03\)02164-2](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(03)02164-2)
- Fogle R. H., Li A., Paulson R. J. 2010. Modulation of HOXA10 and other markers of endometrial receptivity by age and human chorionic gonadotropin in an endometrial explant model. *Fertility and Sterility.* V. 93. P. 1255. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.11.002>
- Francés-Herrero E., Lopez R., Hellström M., de Miguel-Gómez L., Herraiz S., Brännström M., Pellicer A., Cervelló I. 2022. Bioengineering trends in female reproduction: a systematic review. *Hum. Reprod. Update.* V. 28. P. 798. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmac025>
- Funamoto S., Nam K., Kimura T., Murakoshi A., Hashimoto Y., Niwaya K., Kitamura S., Fujisato T., Kishida A. 2010. The use of high-hydrostatic pressure treatment to decellularize blood vessels. *Biomaterials.* V. 31. P. 3590. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.01.073>
- Gala K., Ghosn W., Acosta A. 2024. Precision medicine in bariatric procedures. *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.* V. 34. P. 765. <https://doi.org/10.1016/j.giec.2024.03.004>
- Gao D., Vela I., Sboner A., Iaquina P. J., Karthaus W. R., Gopalan A., Dowling C., Wanjala J. N., Undvall E. A., Arora V. K. et al. 2014. Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer. *Cell.* V. 159. No. 1. P. 176. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.08.016>
- Gargett C. E., Schwab K. E., Deane J. A. 2016. Endometrial stem/progenitor cells: the first 10 years. *Hum. Reprod. Update.* V. 22. P. 137. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv051>
- Gargett C. E., Schwab K. E., Zillwood R. M., Nguyen H. P., Wu D. 2009. Isolation and culture of epithelial progenitors and mesenchymal stem cells from human endometrium. *Biol. Reprod.* V. 80. P. 1136. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.075226>
- Goetz L. H., Schork N. J. 2018. Personalized medicine: motivation, challenges, and progress. *Fertil. Steril.* V. 109. P. 952. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.05.006>
- Haycock J. W. 2011. 3D cell culture: a review of current approaches and techniques. *Methods Mol. Biol.* V. 695. P. 1. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-984-0_1
- Hibaoui Y., Feki A. 2020. Organoid models of human endometrial development and disease. *Front. Cell Dev. Biol.* V. 8. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00084>
- Huch M., Gehart H., van Boxtel R., Hamer K., Blokzijl F., Verstegen M. M., Ellis E., van Wenum M., Fuchs S. A., de Ligt J., van de Wetering M., Sasaki N., Boers S. J., Kemperman H., de Jonge J., Ijzermans J. N., Nieuwenhuis E. E., Hoekstra R., Strom S., Vries R. R., van der Laan L. J., Cuppen E., Clevers H. 2015. Long-term

- culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver. *Cell*. V. 160. P. 299.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.11.050>
- Ingram J. H., Korossis S., Howling G., Fisher J., Ingham E. 2007. The use of ultrasonication to aid recellularization of acellular natural tissue scaffolds for use in anterior cruciate ligament reconstruction. *Tiss. Eng.* V. 13. P. 1561.
<https://doi.org/10.1089/ten.2006.0362>
- Ivkovic A., Marijanovic I., Hudetz D., Porter R. M., Pecina M., Evans C. H. 2011. Regenerative medicine and tissue engineering in orthopaedic surgery. *Front. Biosci. (Elite Ed.)*. V. 3. P. 923.
<https://doi.org/10.2741/e299>
- Karthauss W. R., Iaquina P. J., Drost J., Gracanin A., van Bortel R., Wongvipat J., Dowling C. M., Gao D., Begthel H., Sachs N., Vries R. G. J., Cuppen E., Chen Y., Sawyers C. L., Clevers H. C. 2014. Identification of multipotent luminal progenitor cells in human prostate organoid cultures. *Cell*. V. 159. P. 163.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.08.017>
- Kim J. J., Kurita T., Bulun S. E. 2013. Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocr. Rev.* V. 34. P. 130.
<https://doi.org/10.1210/er.2012-1043>
- Kim M. R., Park D. W., Lee J. H., Choi D. S., Hwang K. J., Ryu H. S., Min C. K. 2005. Progesterone-dependent release of transforming growth factor-beta1 from epithelial cells enhances the endometrial decidualization by turning on the Smad signalling in stromal cells. *Mol. Hum. Reprod.* V. 11. P. 801.
<https://doi.org/10.1093/molehr/gah240>
- Kim S. M., Kim J. S. 2017. A review of mechanisms of implantation. *Dev. Reprod.* V. 21. P. 351.
<https://doi.org/10.12717/DR.2017.21.4.351>
- Kirk D., King R. J. B., Heyes J., Peachey L., Hirsch P. J., Taylor R. W. T. 1978. Normal human endometrium in cell culture. *In Vitro*. V. 14. P. 651.
<https://doi.org/10.1007/BF02616162>
- Komiyama Y., Habas R. 2008. Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis*. V. 4. P. 68.
<https://doi.org/10.4161/org.4.2.5851>
- Kuokkanen S., Chen B., Ojalvo L., Benard L., Santoro N., Pollard J. W. 2010. Genomic profiling of microRNAs and messenger RNAs reveals hormonal regulation in microRNA expression in human endometrium. *Biol. Reprod.* V. 82. P. 791.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.081059>
- Lacconi V., Massimiani M., Carriero I., Bianco C., Ticconi C., Pavone V., Alteri A., Muzii L., Rago R., Pisaturo V., Campagnolo L. 2024. When the embryo meets the endometrium: identifying the features required for successful embryo implantation. *Int. J. Mol. Sci.* V. 25. 2834.
<https://doi.org/10.3390/ijms25052834>
- Lee J., Jung H., Park N. 2019. Induced osteogenesis in plants decellularized scaffolds. *Sci. Rep.* V. 9. 20194.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-56651-0>
- Li Q., Kannan A., DeMayo F. J., Lydon J. P., Cooke P. S., Yamagishi H., Srivastava D., Bagchi M. K., Bagchi I. C. 2011. The antiproliferative action of progesterone in uterine epithelium is mediated by Hand2. *Science*. V. 331. P. 912.
<https://doi.org/10.1126/science.1197454>
- López de Andrés J., Ruiz-Toranzo M., Antich C., Chocarro-Wrona C., López-Ruiz E., Jiménez G., Marchal J. A. 2022. Biofabrication of a tri-layered 3D-bioprinted CSC-based malignant melanoma model for personalized cancer treatment. *Biofabrication*. V. 15: 035016.
<https://doi.org/10.1088/1758-5090/AC8DC6>
- Macklon N. S., Brosens J. J. 2014. The human endometrium as a sensor of embryo quality. *Biol. Reprod.* V. 91. P. 98.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.122846>
- Mao S., He J., Zhao Y., Liu T., Xie F., Yang H., Mao Y., Pang Y., Sun W. 2020. Bioprinting of patient-derived in vitro intrahepatic cholangiocarcinoma tumor model: establishment, evaluation and anti-cancer drug testing. *Biofabrication*. V. 12: 045014.
<https://doi.org/10.1088/1758-5090/aba0c3>
- Massimiani M., Lacconi V., La Civita F., Ticconi C., Rago R., Campagnolo L. 2019. Molecular Signaling Regulating Endometrium-Blastocyst Crosstalk. *Int. J. Mol. Sci.* V. 21: 23.
<https://doi.org/10.3390/ijms21010023>
- Meseguer M., Aplin J. D., Caballero-Campo P., O'Connor J. E., Martín J. C., Remohí J., Pellicer A., Simón C. 2001. Human endometrial mucin MUC1 is up-regulated by progesterone and down-regulated in vitro by the human blastocyst. *Biol. Reprod.* V. 64. P. 590.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod64.2.590>
- Miao Sun, An Liu, Xiaofu Yang, Jiaxing Gong, Mengfei Yu, Xinhua Yao, Huiming Wang, Yong He. 2021. 3D cell culture — can it be as popular as 2D cell culture? *Adv. NanoBiomed. Res.* V. 1: 2000066.
<https://doi.org/10.1002/anbr.202000066>
- Min D., Lee W., Bae I.-H., Lee T. R., Croce P., Yoo S.-S. 2018. Bioprinting of biomimetic skin containing melanocytes. *Exp. Dermatol.* V. 27. P. 453.
<https://doi.org/10.1111/exd.13376>
- Modulevsky D. J., Cuerrier C. M., Pelling A. E. 2016. Biocompatibility of subcutaneously implanted plant-derived cellulose biomaterials. *PLoS One*. V. 11: e0157894.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157894>
- Modulevsky D. J., Lefebvre C., Haase K., Al-Rekabi Z., Pelling A. E. 2014. Apple derived cellulose scaffolds for 3D mammalian cell culture. *PLoS One*. V. 9: e97835.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097835>

- Montin D., Santilli V., Beni A., Costagliola G., Martire B., Mastrototaro M.F., Ottaviano G., Rizzo C., Sgrulletti M., Miraglia Del Giudice M., Moschese V. 2024. Towards personalized vaccines. *Front. Immunol.* V. 3: 1436108. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1436108>
- Murphy A.R., Wiwatpanit T., Lu Z., Davaadelger B., Kim J.J. 2019. Generation of multicellular human primary endometrial organoids. *J. Vis. Exp.* V. 152: e10.3791/60384. <https://doi.org/10.3791/60384>
- Muruganandan S., Fan X., Dhal S., Nayak N.R. 2020. Development of a 3D tissue slice culture model for the study of human endometrial repair and regeneration. *Biomol.* V. 14. P. 136. <https://doi.org/10.3390/biom10010136>
- Muter J., Kong C.S., Brosens J.J. 2021. The role of decidual subpopulations in implantation, menstruation and miscarriage. *Front. Reprod. Health.* V. 3: 804921. <https://doi.org/10.3389/frph.2021.804921>
- Muter J., Lynch V.J., McCoy R.C., Brosens J.J. 2023. Human embryo implantation. *Development.* V. 150: 201507. <https://doi.org/10.1242/dev.201507>
- Noor N., Shapira A., Edri R., Gal I., Wertheim L., Dvir T. 2019. 3D printing of personalized thick and perfusable cardiac patches and hearts. *Adv. Sci.* V. 6: 1900344. <https://doi.org/10.1002/advs.201900344>
- Nothdurfter D., Ploner C., Coraça-Huber D.C., Wilflingseder D., Müller T., Hermann M., Hagenbuchner J., Ausserlechner M.J. 2022. 3D bioprinted, vascularized neuroblastoma tumor environment in fluidic chip devices for precision medicine drug testing. *Biofabrication.* V. 14: 035002. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ac5fb7>
- Olalekan S.A., Burdette J.E., Getsios S., Woodruff T.K., Kim J.J. 2017. Development of a novel human recellularized endometrium that responds to a 28-day hormone treatment. *Biol. Reprod.* V. 96. P. 971. <https://doi.org/10.1093/biolre/iox039>
- Owen M.C., Kopecky B.J. 2024. Targeting macrophages in organ transplantation: a step toward personalized medicine. *Transplantation.* V. 108. P. 2045. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000004978>
- Park Se-Ra, Kim Soo-Rim, Im Jae Been, Hum Park Chan, Lee Hwa-Yong, Hong In-Sun. 2021. 3D stem cell-laden artificial endometrium: successful endometrial regeneration and pregnancy. *Biofabrication.* V. 13: 045012. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ac165a>
- Phan N.V., Wright T., Rahman M.M., Xu J., Coburn J.M. 2020. In vitro biocompatibility of decellularized cultured plant cell derived matrices. *ACS Biomater. Sci. Eng.* V. 6. P. 822. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.9b00870>
- Pollheimer J., Knofler M. 2005. Signalling pathways regulating the invasive differentiation of human trophoblasts: A review. *Placenta.* V. 26. Suppl. SA. S. 21. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2004.11.013>
- Pretto C.M., Gaide Chevronnay H.P., Cornet P.B., Galant C., Delvaux D., Courtoy P.J., Marbaix E., Henriot P. 2008. Production of interleukin-1alpha by human endometrial stromal cells is triggered during menses and dysfunctional bleeding and is induced in culture by epithelial interleukin-1alpha released upon ovarian steroids withdrawal. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* V. 10. P. 4126. <https://doi.org/10.1210/jc.2007-2636>
- Punyadeera C., Dassen H., Klomp J., Dunselman G., Kamps R., Dijcks F., Ederveen A., de Goeij A., Groothuis P. 2005. Oestrogen-modulated gene expression in the human endometrium. *Cell. Mol. Life Sci.* V. 62. P. 239. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4435-y>
- Ruiz-Alonso M., Blesa D., Simón C. 2012. The genomics of the human endometrium. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* V. 1822. P. 1931. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.05.004>
- Sato T., Stange D.E., Ferrante M., Vries R.G., Van Es J.H., Van den Brink S., Van Houdt W.J., Pronk A., Van Gorp J., Siersema P.D., Clevers H. 2011. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium. *Gastroenterol.* V. 141. P. 1762–1772. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.07.050>
- Sawada K., Terada D., Yamaoka T., Kitamura S., Fujisato T. 2008. Cell removal with supercritical carbon dioxide for acellular artificial tissue. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* V. 83. P. 943. <https://doi.org/10.1002/jctb.1899>
- Schafer W.R., Fischer L., Roth K., Jullig A.K., Stuckenschneider J.E., Schwartz P., Weimer M., Orlowska-Volk M., Hanjalic-Beck A., Kranz I., Deppert W.R., Zahradnik H.P. 2011. Critical evaluation of human endometrial explants as an ex vivo model system: a molecular approach. *Mol. Human Reprod.* V. 17. P. 255. <https://doi.org/10.1093/molehr/gaq095>
- Schutte S.C., James C.O., Sidell N., Taylor R.N. 2015. Tissue-engineered endometrial model for the study of cell–cell interactions. *Reprod. Sci.* V. 22. P. 308–315. <https://doi.org/10.1177/1933719114542008>
- Singer C.F., Marbaix E., Kokorine I., Lemoine P., Donnez J., Eeckhout Y., Courtoy P.J. 1997. Paracrine stimulation of interstitial collagenase (MMP-1) in the human endometrium by interleukin 1alpha and its dual block by ovarian steroids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 19: 10341. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.19.10341>
- Stavreus-Evers A., Hovatta O., Eriksson H., Landgren B.-M. 2003. Development and characterization of an endometrial tissue culture system. *Reprod. BioMed. Online.* V. 7. P. 243. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)61759-2](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)61759-2)

- Talbi S., Hamilton A. E., Vo K. C., Tulac S., Overgaard M. T., Dosiou C., Le Shay N., Nezhat C. N., Kempson R., Lessey B. A., Nayak N. R., Giudice L. C. 2006. Molecular phenotyping of human endometrium distinguishes menstrual cycle phases and underlying biological processes in normo-ovulatory women. *Endocrinol.* V. 147. P. 1097.
<https://doi.org/10.1210/en.2005-1076>
- Topol L., Jiang X., Choi H., Garrett-Beal L., Carolan P. J., Yang Y. 2003. Wnt-5a inhibits the canonical Wnt pathway by promoting GSK-3-independent β -catenin degradation. *J. Cell Biol.* V. 162. P. 899.
<https://doi.org/10.1083/jcb.200303158>
- Turco M. Y., Gardner L., Hughes J., Cindrova-Davies T., Gomez M. J., Farrell L., Hollinshead M., Marsh S. G. E., Brosens J. J., Critchley H. O., Simons B. D., Hemberger M., Koo B. K., Moffett A., Burton G. J. 2017. Long-term, hormone-responsive organoid cultures of human endometrium in a chemically defined medium. *Nat. Cell Biol.* V. 5. P. 568.
<https://doi.org/10.1038/ncb3516>
- Villalón-García I., Álvarez-Córdoba M., Suárez-Rivero J. M., Povea-Cabello S., Talaverón-Rey M., Suárez-Carrillo A., Munuera-Cabeza M., Sánchez-Alcázar J. A. 2020. Precision medicine in rare diseases. *Diseases.* V. 8. P. 42.
<https://doi.org/10.3390/diseases8040042>
- Wang H., Bocca S., Anderson S., Yu L., Rhavi B. S., Horcajadas J., Oehninger S. 2013. Sex steroids regulate epithelial-stromal cell cross talk and trophoblast attachment invasion in a three-dimensional human endometrial culture system. *Tiss. Eng. C. Methods.* V. 9. P. 676.
<https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2012.0616>
- Weiss P., Taylor A. C. 1960. Reconstitution of complete organs from single-cell suspensions of chick embryos in advanced stages of differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* V. 46. P. 1177.
<https://doi.org/10.1073/pnas.46.9.1177>
- Wetendorf M., DeMayo F. J. 2012. The progesterone receptor regulates implantation, decidualization, and glandular development via a complex paracrine signaling network. *Mol. Cell Endocrinol.* V. 357. P. 108.
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.10.028>
- Wiwatpanit T., Murphy A. R., Lu Z., Urbanek M., Burdette J. E., Woodruff T. K., Kim J. J. 2020. Scaffold-free endometrial organoids respond to excess androgens associated with polycystic ovarian syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* V. 105. P. 769.
<https://doi.org/10.1210/clinem/dgz100>
- Yui S., Nakamura T., Sato T., Nemoto Y., Mizutani T., Zheng X., Ichinose S., Nagaishi T., Okamoto R., Tsuchiya K., Clevers H., Watanabe M. 2012. Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5(+) stem cell. *Natl. Med.* V. 18. P. 618.
<https://doi.org/10.1038/nm.2695>
- Zhi-Yue Gu, Shuang-Zheng Jia, Song Liu, Jin-Hua Leng. 2020. Endometrial organoids: a new model for the research of endometrial-related diseases. *Biol. Reprod.* V. 103. P. 918.
<https://doi.org/10.1093/biolre/iaaa124>
- Zieba A., Sjöstedt E., Olovsson M., Fagerberg L., Hallström B. M., Oskarsson L., Edlund K., Tolf A., Uhlen M., Ponten F. 2015. The human endometrium-specific proteome defined by transcriptomics and antibody-based profiling. *OMICS A J. Integr. Biol.* V. 19. P. 659.
<https://doi.org/10.1089/omi.2015.0115>

THREE-DIMENSIONAL CELL MODELS OF ENDOMETRIUM IN DEVELOPMENT OF PERSONIFIED METHODS OF TREATMENT

I. K. Kuneev^a, A. V. Sokolova^a, and A. P. Domnina^{a, *}

^a Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, 194064, Russia

* e-mail: aldornina@mail.ru

The development of personalized approaches in the treatment and diagnosis of various diseases, which consider individual characteristics of the patient's organism, is an actively developing area of modern medicine. However, the transition to personalized medicine is impossible without the generation of relevant and patient-specific disease models. One of the trends in modern cell biology is the use of three-dimensional (3D) cell cultures similar in architecture to the tissues of the human body. Models based on such cultures are the most physiologically adequate and especially valuable when it is necessary to reproduce functional features of the patient's tissue. Models of endometrium, the inner lining of the uterus, which provides the onset and development of pregnancy, are just like that. Unfortunately, effective treatment regimens have not yet been developed for many endometrial diseases, since the pathogenesis of endometrial dysfunctions is often insufficiently studied. In addition, the correction of such diseases often requires a personalized approach. This paper reviews the existing 3D in vitro models of the human endometrium, as well as the prospects for their application for the development of personalized treatment methods in the field of gynecology and reproductive medicine.

Keywords: endometrium, 3D cell cultures, cell tissue models, personalized medicine