

УДК 618.145-007.415-07

DOI: 10.17816/JOWD66316-24

РОЛЬ МЕТАСТИНА В ПАТОГЕНЕЗЕ НАРУЖНОГО ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА

© Э.К. Айламазян, М.И. Ярмолинская, Н.Ф. Ганбарли, Н.Н. Ткаченко, Г.Х. Толибова, Т.Г. Траль, В.В. Рулев, А.А. Цыпурдеева

ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

Для цитирования: Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66. – № 3. – С. 16–24. doi: 10.17816/JOWD66316-24

Поступила в редакцию: 29.03.2017

Принята к печати: 16.05.2017

■ Наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) имеет много сходных черт с опухолевым процессом, характеризуется избыточной пролиферацией, неоангиогенезом, сниженным апоптозом, обладает способностью к инфильтрирующему росту с проникновением в окружающие ткани и деструкцией последних и возможностью метастазирования. Известно, что кисспептин (первоначально названный как метастин) обладает способностью подавлять клетки метастазов злокачественных опухолей. С этой целью представляет интерес изучение роли метастина (кисспептина) в патогенезе наружного генитального эндометриоза. **Материалы и методы.** В исследование вошли 28 больных с НГЭ I–II степеней распространенности по R-AFS, а также 11 здоровых женщин, составившие контрольную группу. У всех пациенток проводилась лапароскопия и гистероскопия, гистологическое исследование ткани яичников, брюшины, эндометрия, а также эндометриодных гетеротопий у больных НГЭ. Определение уровней кисспептина, ФСГ, ЛГ, пролактина, АМГ, эстрадиола, эстрогена, андрогенов (свободный тестостерон, дегидроэпиандростерон — ДНЕА) в периферической крови у здоровых женщин и у больных НГЭ осуществлялось иммуноферментным методом на 2-й и 8-й дни менструального цикла. Иммуногистохимическим методом оценивалась экспрессия метастина (кисспептина) и его рецептора в ткани яичников, брюшине, эндометриодных гетеротопиях и в эндометрии. **Результаты.** При гормональном обследовании обнаружено, что уровень кисспептина в периферической крови достоверно выше по сравнению с уровнем в контрольной группе. При иммуногистохимическом исследовании нами выявлено, что у пациенток с НГЭ площадь экспрессии KISS и рецептора KISS1R в эндометрии была достоверно ниже при сопоставлении со значениями в группе контроля. В очагах эндометриодных гетеротопий, которые располагались на брюшине малого таза, отмечалось достоверное повышение экспрессии белка KISS1 и рецептора KISS1R по сравнению с фрагментами интактной брюшины. Площадь экспрессии рецептора KISS1R в эндометриодных гетеротопиях достоверно превышала площадь как в эндометрии больных НГЭ, так и в эндометрии женщин контрольной группы. Выявлена прямая корреляционная зависимость между площадью экспрессии белка (KISS) в эндометрии и уровнем кисспептина на 8-й день менструального цикла в периферической крови ($r_s = 0,90$). Определено, что уровень кисспептина на 2-й день менструального цикла в периферической крови коррелирует с площадью экспрессии рецептора KISS1R в брюшине ($r_s = 0,57$). Отмечается прямая корреляционная зависимость между площадью экспрессии рецептора KISS1R в брюшине и уровнем кисспептина на 8-й день менструального цикла в сыворотке крови ($r_s = 0,90$). **Заключение.** Полученные данные показывают несомненную роль кисспептина в патогенезе наружного генитального эндометриоза. Можно предположить, что повышение уровня метастина (кисспептина) в периферической крови, а также повышение экспрессии в эндометриодных гетеротопиях KISS1, и особенно его рецептора KISS1R, являются компенсаторно-приспособительной реакцией, направленной на «сдерживание» дальнейшего распространения эндометриоза. Полученные результаты обосновывают необходимость продолжения исследований в данном направлении для углубленного понимания патогенеза заболевания и возможного применения кисспептина в качестве биомаркера для неинвазивной диагностики, а также потенциальной таргетной терапии НГЭ.

■ **Ключевые слова:** метастин (кисспептин); рецептор кисспептина; наружный генитальный эндометриоз; периферическая кровь; эндометрий; брюшина; эндометриодные гетеротопии; иммуногистохимический метод исследования.

THE ROLE OF METASTIN IN PATHOGENESIS OF GENITAL ENDOMETRIOSIS

© E.K. Aylamazyan, M.I. Yarmolinskaya, N.F. Ganbarli, N.N. Tkachenko, G.Kh. Tolibova, T.G. Tral, V.V. Rulev, A.A. Tsipurdeeva

FSBSI “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”, Saint Petersburg, Russia

For citation: Journal of Obstetrics and Women’s Diseases. 2017;66(3):16-24. doi: 10.17816/JOWD66316-24

Received: 29.03.2017

Accepted: 16.05.2017

■ **Materials and methods.** 28 patients with GE of I-II degrees of prevalence (R-AFS) were included in the study. Control group consisted of 11 healthy women. All the patients underwent laparoscopy and hysteroscopy with histological examination of ovarian tissue, peritoneum and endometrium; patients with GE also were performed histological examination of endometrioid of heterotopies. Definition of levels of kisspeptin, FSH, LH, prolactin, AMH, estradiol, estrone, androgens (free testosterone, dehydroepiandrosterone – DHEA) in peripheral blood in healthy women and in patients with GE were conducted by ELISA on the 2nd and 8th days of menstrual cycle. Immunohistochemical method was used to evaluate expression of metastine (kisspeptin) and its receptor in ovarian tissue, peritoneum, in endometrioid heterotopies and in endometrium. **Results.** Hormonal survey has revealed that the level of kisspeptin in peripheral blood was reliably higher compared to its level in the control group. Immunohistochemical study found that in patients with GE area of expression of KISS and KISS1R receptor in endometrium was reliably lower when compared with these values in the control group. In the foci of endometrioid heterotopies, which were located on the pelvic peritoneum, it was observed a reliable increase in protein KISS1 expression and receptor KISS1R compared to fragments of intact peritoneum. The area of expression of receptor KISS1R in endometrioid heterotopies was reliably higher than the area of its expression in endometrium of patients with GE and in endometrium of women of the control group. Direct correlation between the area of protein expression (KISS) in endometrium with level kisspeptin on the 8th day of menstrual cycle in peripheral blood ($r_s = 0,90$) has been revealed. It has been determined that the level of kisspeptin on the 2nd day of menstrual cycle in peripheral blood correlates with the area of expression of receptor KISS1R in peritoneum ($r_s = 0,57$). A direct correlation between the area of expression of receptor KISS1R in peritoneum with the level of kisspeptin on the 8th day of menstrual cycle in serum has been found ($r_s = 0,90$). **Conclusion.** The obtained data show a definite role of kisspeptin in pathogenesis of genital endometriosis. It can be assumed that the increase in the level of metastine (kisspeptin) in peripheral blood and increased expression of KISS1 in endometrioid heterotopies and especially its receptor KISS1R are compensatory-adaptive response aimed at deterrence of further spread of endometriosis. The obtained results justify the need to continue research in this direction for a deeper understanding of pathogenesis of the disease and possible use of kisspeptin as biomarker for non-invasive diagnostics as well as potential targeted therapy of GE.

■ **Keywords:** metstin (kisspeptin); receptor kisspeptin; genital endometriosis; peripheral blood; endometrium; peritoneum; endometrioid heterotopies; immunohistochemical study.

Генитальный эндометриоз является широко распространенным заболеванием, особенно у пациенток репродуктивного возраста. Известно, что наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) имеет много сходных черт с опухолевым процессом, характеризуется избыточной пролиферацией, неоангиогенезом, сниженным апоптозом, обладает способностью к инфильтрирующему росту с проникновением в окружающие ткани, деструкцией последних и даже возможностью метастазирования [1].

О кисспептине (метастине) стало известно в 1996 г. как о гене, супрессирующем метастазирование меланомы [2]. Экспрессия кисспептина отсутствует или незначительна при метастазирующей меланоме в сравнении с неметастазирующими вариантами. Подобное действие объясняется индукцией апоптоза в опухолевых клетках [3]. Также экспрессия гена *KISS1* подавляет активность матриксных металлопротеиназ [4–6], что может рассматриваться как один из механизмов подавления метастазов опухолей. Определение кисспептина и его рецептора GPR-54 при проведении иммуногистохимических (ИГХ) исследований биопсийных образцов опухолей помогает прогнозировать положительный исход заболевания раком яичников у женщин [7]. L. Yu et al. (2017) при ИГХ-исследовании

образцов ткани эпителиального рака яичников установили, что уровень экспрессии *KISS1* был значительно ниже, чем при доброкачественных заболеваниях яичников [8]. Однако в другой работе оценивались ИГХ-методом экспрессия и корреляция белка *KISS1* в первичных эпителиальных опухолях яичников [9]. Экспрессия белка метастина при первичных эпителиальных опухолях яичников была значительно выше, чем при аденоме яичника и в нормальных тканях [9]. Экспрессия метастина в пограничных опухолях яичников также была значительно выше, чем в неизмененных тканях [9]. Отмечено, что экспрессия метастина при раке яичников достоверно коррелировала с метастазами в соседние органы, однако экспрессия метастина (кисспептина) не коррелировала с различными гистологическими вариантами опухоли и степенью дифференцировки и стадией распространенности по FIGO [9]. При карциноме эндометрия была обнаружена более низкая экспрессия мРНК *KISS1*. Была отмечена корреляции экспрессии мРНК *KISS1* у больных с карциномой эндометрия с клинической стадией, метастазированием в миометрий и метастазами в лимфатические узлы. При изучении экспрессии мРНК рецептора *KISS1* (*KISS1R*) данные корреляционные зависимости установлены не были [10].

Цель исследования — изучить роль метастина (кисспептина) в патогенезе наружного генитального эндометриоза.

Материалы и методы

В исследование вошли 28 больных с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) I–II степеней распространенности по пересмотренной классификации R-AFS и 11 здоровых женщин, составивших контрольную группу. Диагноз у всех больных был установлен на основании лапароскопии и подтвержден результатами гистологического исследования. НГЭ I степени наблюдался у 42,9 % (12) больных, II степени — у 57,1 % (16) пациенток. Контрольную группу составили пациентки, у которых при лапароскопическом обследовании не было найдено гинекологической патологии. Средний возраст пациенток с НГЭ составил $32,5 \pm 5,5$ года, в контрольной группе — $34,1 \pm 4,9$ года. У всех больных с НГЭ наблюдалось бесплодие, соотношение первичного бесплодия к вторичному составило 1 : 1. Гормональное обследование выполнялось на 2-й и 8-й дни менструального цикла и включало определение в сыворотке крови уровня метастина (кисспептина), ФСГ, ЛГ, АМГ, пролактина, эстрадиола, эстрона, андрогенов (свободного тестостерона, дегидроэпиандростерона сульфата). Пролактин, ФСГ, ЛГ, общий тестостерон, ДЭА-сульфат определяли при помощи тест-систем «Алкор-био» (Россия); эстрадиол, андростендион, свободный тестостерон, эстрон, 17-ОНП определяли при помощи тест-систем DRG Diagnostic (Германия); АМГ — с использованием тест-системы Beckman Coulter (США). Для определения метастина в периферической крови образцы крови собирались на 2-й и 8-й дни менструального цикла с дальнейшим замораживанием образца до -70 °С. Определение концентрации кисспептина в сыворотке крови у пациенток осуществлялась с помощью иммуноферментного анализа (ИФА).

Всем пациенткам было проведено гистологическое исследование биоптатов эндометрия, взятых на 18–22-й дни менструального цикла, ткани яичника, интактной брюшины в группе контроля, у больных НГЭ — эндометриоидных гетеротопий, которые располагались на брюшине малого таза. Иммуногистохимическое исследование проведено в вышеперечисленных образцах тканей. Гистологическое и иммуногистохимическое исследования были выполнены по стандартной методике с обзорной окраской

гематоксилином и эозином. Для исследования рецепторов кисспептина использовали первичные моноклональные мышинные антитела к KISS [клон ab 55384] производства Abcam в стандартном разведении 1 : 100; для изучения его рецептора KISS1R [клон ab 140839] использовали поликлональные кроличьи антитела производства Abcam в стандартном разведении 1 : 200. Оценку результатов иммуногистохимического окрашивания проводили методом морфометрии с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений, состоящей из микроскопа Olympus, цифровой камеры Olympus-BX46 и программного обеспечения CellSens Entry. Дальнейшее количественное исследование осуществляли с помощью программы компьютерного анализа изображений Морфология 5.0 (ВидеоТест, Россия).

Результаты исследования и их обсуждение

В настоящее время в литературе отсутствуют исследования, посвященные изучению уровня метастина (кисспептина) в периферической крови больных НГЭ.

Согласно результатам нашего исследования уровень кисспептина в сыворотке крови у больных с НГЭ на 2-й день менструального цикла был достоверно выше ($1,2 \pm 0,04$ нг/мл) по сравнению с показателями в контрольной группе ($0,57 \pm 0,03$ нг/мл; $p < 0,01$), при этом уровень АМГ был достоверно ниже ($1,74 \pm 0,64$ нг/мл) по сравнению с уровнем в группе контроля ($5,74 \pm 2,07$ нг/мл; $p < 0,05$). Отмечено достоверное повышение уровня эстрадиола ($276,33 \pm 41,46$ пмоль/л) при эндометриозе по сравнению со значениями в контрольной группе ($169,80 \pm 36,87$ пмоль/л; $p < 0,01$). Содержание ФСГ и ЛГ у пациенток с эндометриозом не имело достоверных отличий от значений в группе контроля. Установлена отрицательная корреляционная связь между уровнем ФСГ и эстрадиола в периферической крови у больных НГЭ (коэффициент корреляции Спирмена $r_s = -0,72$). Наблюдалась тенденция к повышению уровня эстрона у больных НГЭ ($252,39 \pm 19,82$ пмоль/л) по сравнению с показателями в контрольной группе ($227,14 \pm 24,15$ пмоль/л), а также уровня пролактина ($293,75 \pm 30,21$ мМЕ/л) по сравнению с уровнем в группе контроля ($235,08 \pm 71,38$ мМЕ/л). Отмечена прямая корреляционная зависимость между уровнем эстрадиола у больных НГЭ в сыворотке крови с уровнем эстрона ($r_s = 0,69$). Значения свободного

тестостерона ($2,36 \pm 0,74$ пмоль/л) и ДГЭА-С ($6,50 \pm 1,20$ мкмоль/л) в периферической крови у больных НГЭ не имели значимых отличий от показателей в группе контроля ($2,15 \pm 0,33$ и $5,73 \pm 1,27$ мкмоль/л соответственно).

Ароматазная активность у больных НГЭ, рассчитанная по формуле $\Delta E2/AMG$, была достоверно выше ($61,21 \pm 17,39$) по сравнению со значениями в группе контроля ($34,96 \pm 16,08$; $p < 0,01$).

Уровень кисспептина (метастина) у больных НГЭ на 8-й день менструального цикла в периферической крови был достоверно выше ($0,87 \pm 0,05$ нг/мл) по сравнению с уровнем в контрольной группе ($0,52 \pm 0,04$ нг/мл; $p < 0,01$), однако отмечено его снижение относительно уровня на 2-й день менструального цикла. У больных НГЭ уровень AMG был достоверно ниже ($2,03 \pm 0,75$ нг/мл) по сравнению со значениями в группе контроля ($7,54 \pm 2,59$ нг/мл; $p < 0,05$), при этом выявлена тенденция к повышению относительно уровня на 2-й день менструального цикла. Отмечено достоверное повышение уровня эстрадиола ($361,31 \pm 52,09$ пмоль/л) при эндометриозе по сравнению с уровнем в контрольной группе ($291,80 \pm 71,36$ пмоль/л; $p < 0,01$). Содержание ФСГ и ЛГ в сыворотке крови у пациенток с эндометриозом достоверно ниже ($5,76 \pm 0,45$ МЕ/л; $5,77 \pm 0,55$ МЕ/л) по сравнению с показателями в группе контроля ($7,14 \pm 0,78$ МЕ/л; $6,47 \pm 0,54$ МЕ/л; $p < 0,05$). Наблюдалась тенденция к повышению уровня эстрогена у больных НГЭ ($339,26 \pm 19,84$ пмоль/л) по сравнению с уровнем в контрольной группе ($275,53 \pm 43,38$ пмоль/л; $p < 0,01$). Уровень пролактина ($238,03 \pm 31,72$ мМЕ/л) у больных эндометриозом также имел тенденцию к повышению по сравнению с группой контроля ($177,58 \pm 28,60$ мМЕ/л). Отмечена прямая корреляционная зависимость между уровнем эстрадиола у больных НГЭ в сыворотке крови с уровнем эстрогена ($rs = 0,69$). Содержание свободного тестостерона ($2,00 \pm 0,63$ пмоль/л) в периферической крови у больных НГЭ не имело значимых отличий от показателей в группе контроля ($2,32 \pm 0,73$ пмоль/л).

Ароматазная активность у больных НГЭ на 8-й день менструального цикла была достоверно выше ($57,27 \pm 17,00$) по сравнению с группой контроля ($25,74 \pm 10,39$; $p < 0,01$). Выявлены отрицательные корреляционные связи между уровнем AMG на 8-й день менструального цикла в периферической крови и уровнем ароматазной активности на 2-й и 8-й дни менстру-

ального цикла в сыворотке крови ($rs = -0,57$ и $rs = -0,68$ соответственно). Отмечена прямая корреляционная зависимость между уровнем эстрадиола на 8-й день менструального цикла в сыворотке крови с уровнем ароматазной активности на 8-й день менструального цикла в периферической крови ($rs = 0,60$).

Результаты гистологического исследования биоптатов эндометрия у 28 больных НГЭ показали, что у 17,9 % (5) пациенток эндометрий соответствовал ранней стадии фазы секреции, у 50,0 % (14) пациенток — средней стадии фазы секреции и у 28,6 % (8) пациенток отмечалась слабовыраженная секреторная трансформация эндометрия с отставанием в развитии стромального компонента, в 3,6 % (1) случаев была верифицирована гиперплазия эндометрия.

В контрольной группе у 27,3 % (3) пациенток эндометрий соответствовал ранней стадии фазы секреции, у 54,5 % (6) женщин — средней стадии фазы секреции, слабовыраженная секреторная трансформация эндометрия была отмечена у 18,2 % (2) пациенток.

В группе больных НГЭ очаги эндометриоидных гетеротопий были подтверждены гистологически во всех исследуемых образцах. В 7,1 % (2) случаев было выявлено наличие большого числа желез как округлой, так и неправильной формы, с эпителием пролиферативного типа и умеренным количеством цитогенной стромы, представленной веретенообразными фибропластическими клетками (рис. 1). В 64,3 % (18) случаев очаг эндометриоидной гетеротопии был представлен умеренным количеством эндометриальных желез со скудным количеством стромы, и в 28,6 % (8) случаев исследования стромальный компонент отсутствовал.

Воспалительная инфильтрация продуктивного характера присутствовала только в 21,4 % (6) случаев и характеризовалась умеренной степенью выраженности с наличием моноцитов в очаге воспаления.

Сосудистый компонент эндометриоидных гетеротопий был представлен преимущественно венозно-капиллярным типом и характеризовался слабой степенью выраженности в 35,7 % (10) случаев, в одном из которых выявлялись очаги кальцификации, и в одном случае был представлен артериовенозным типом сосудистого компонента. В 64,3 % (18) исследуемых образцов определялся капиллярно-венозный тип васкуляризации с умеренной степенью выраженности, в 3 случаях — с очагами кровоизлияний (рис. 2).

В контрольной группе при гистологическом исследовании брюшины выявлены фрагменты мышечно-жировой ткани со слабо выраженной степенью васкуляризации в 72,7 % (8) случаев и умеренной степенью васкуляризации в 27,3 % (3) случаев.

Было исследовано 28 биоптатов яичника у больных с эндометриозом, из них в 7,1 % (2) случаев выявлялся слабовыраженный склероз белочной оболочки с наличием в 1 образце фолликулярной кисты яичника, в 53,6 % (15) случаев были диагностированы кисты яичников, представленные фолликулярными кистами, кистами неовулировавших фолликулов и их сочетаниями, кистой неполноценного желтого тела и в одном случае эндометриоидной кистой яичника диаметром 0,5 см. В 14,3 % (4) представленных образцов были выявлены атретические фолликулы. Патологических изменений в биоптатах яичника не было обнаружено в 25 % (7) случаев.

Биоптаты яичников контрольной группы исследования (11 больных) представлены корковой зоной с первичными фолликулами. В двух исследуемых образцах были выявлены неовулировавший фолликул и формирующаяся фолликулярная киста, в девяти случаях в корковой зоне определялись атретические фолликулы.

Результаты иммуногистохимического исследования биоптатов эндометрия показали, что у пациенток с НГЭ площадь экспрессии KISS была достоверно ниже при сопоставлении с показателями группы контроля ($p < 0,05$), что не противоречит результатам других исследователей [11]. Данные представлены в табл. 1.

Оптическая плотность экспрессии исследуемого маркера в эндометрии статистически значимо не отличалась. Аналогичная картина отмечалась при оценке экспрессии рецептора KISS1R в эндометрии ($p < 0,05$).

Выявлена прямая корреляционная зависимость между площадью экспрессии белка (KISS) в эндометрии и уровнем кисспептина на 8-й день менструального цикла в периферической крови ($r_s = 0,90$). В очагах эндометриоидных гетеротопий на брюшине экспрессия белка KISS и рецептора KISS1R составила $33,6 \pm 5,21$ и $43,7 \pm 2,5$ соответственно. Определено, что уровень кисспептина на 2-й день менструального цикла в периферической крови коррелирует с площадью экспрессии рецептора KISS1R в брюшине ($r_s = 0,57$). Отмечается прямая корреляционная зависимость между площадью экспрессии рецептора KISS1R в интактной брюшине с уровнем кисспептина на 8-й день менструального цикла в сыворотке крови ($r_s = 0,90$). Оптическая плотность экспрессии рецептора KISS1R у больных НГЭ достоверно не отличалась от показателей контрольной группы ($0,16 \pm 0,01$ и $0,16 \pm 0,04$ соответственно). На рис. 3 представлена экспрессия KISS и KISS1R в эндометрии.

При сравнении площади экспрессии белка KISS1 в эндометриоидных гетеротопиях (рис. 4, а) в секреторную фазу менструального цикла была отмечена тенденция к его повышению по сравнению с экспрессией в эндометрии у больных НГЭ — $33,6 \pm 5,21$ и $28,5 \pm 2,79$ соответственно, а также в очагах эндометриоидных гетеротопий на брюшине отмечалось достоверное повышение экспрессии белка KISS1 по сравнению с фрагментами интактной брюшины ($p < 0,01$). При этом отмечено, что площадь экспрессии рецептора KISS1R в эндометриоидных гетеротопиях (рис. 4, б) достоверно превышала площадь экспрессии как в интактной брюшине, так и в эндометрии больных НГЭ и в эндометрии женщин контрольной группы. Оптическая плотность экспрессии в обеих группах была одинакова и составила $0,16 \pm 0,01$ и $0,15 \pm 0,04$ соответственно.

Таблица 1

Относительная площадь экспрессии белка KISS и KISS1R у больных наружным генитальным эндометриозом и в группе контроля

Table 1

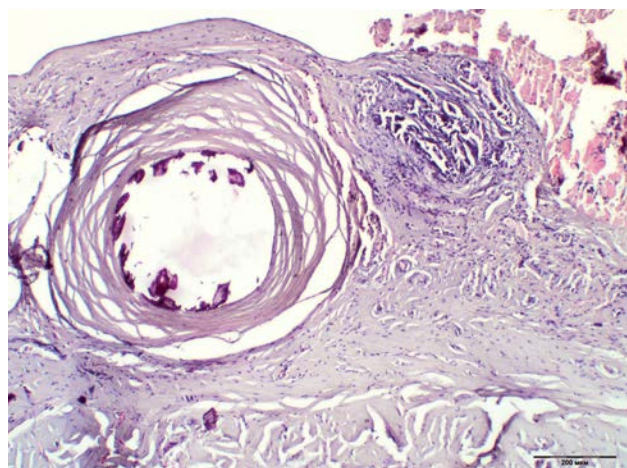
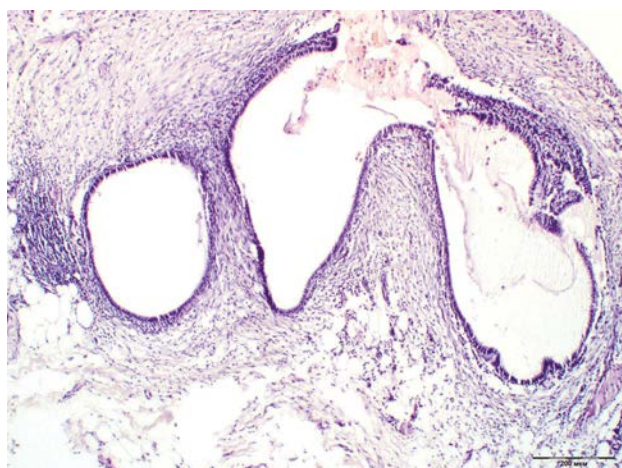
Relative expression area of KISS and KISS1R protein in EGE patients and in control group

Маркер	Группа больных эндометриозом			Контрольная группа		
	биоптаты эндометрия	эндометриоидные гетеротопии	биоптаты яичников	биоптаты эндометрия	интактная брюшина	биоптаты яичников
Локализация	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
KISS1	$28,5 \pm 2,79^*$	$33,6 \pm 5,21^a$	$26,7 \pm 7,4$	$41,7 \pm 4,0$	$9,5 \pm 3,24$	$17,9 \pm 4,1$
KISS1R	$30,7 \pm 1,6^*$	$43,7 \pm 2,5^{aa}$	$28,2 \pm 6,4$	$36,7 \pm 2,2$	$11,8 \pm 2,7$	$17,3 \pm 7,1$

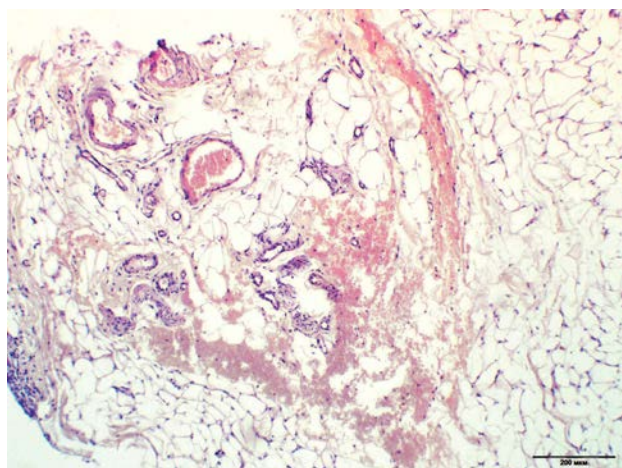
* $p < 0,05$, ^a $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, ^{aa} $p < 0,001$ при сравнении с группой контроля;
* $p < 0,05$, ^a $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, ^{aa} $p < 0,001$ when compared with control group

Рис. 1. Эндометриоидные железы и строма в очаге эндометриоидной гетеротопии. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$

Fig. 1. Endometrial glands and stroma in the focus of endometrioid heterotopy. H-E, $\times 40$



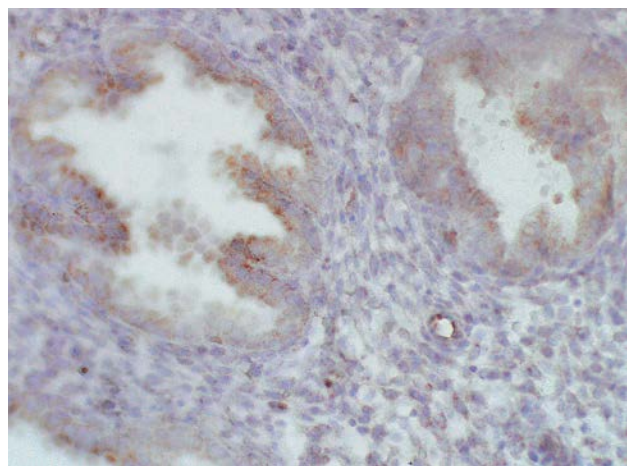
a



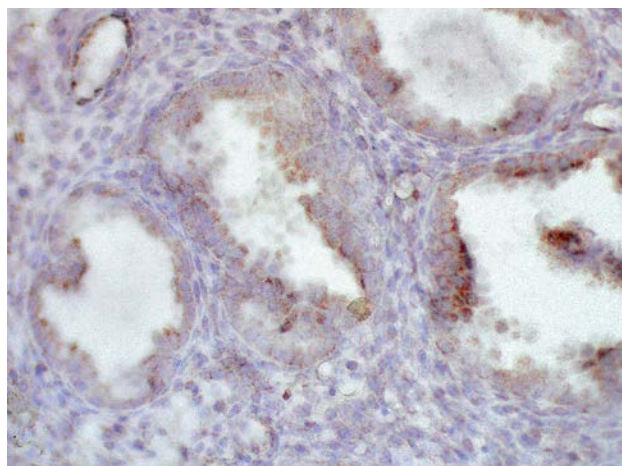
b

Рис. 2. Очаги эндометриоидных гетеротопий на брюшине: *a* — очаг эндометриоидной гетеротопии с участками отложения солей кальция; *b* — жировая ткань с умеренным кровенаполнением сосудистого русла и очагами кровоизлияний. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

Fig. 2. Foci of endometrioid heterotopias on the peritoneum: *a* – a lesion of endometrioid heterotopy with areas of calcium salts deposits; *b* – adipose tissue with a moderate blood supply of blood vessels and foci of hemorrhage. H-E, $\times 100$



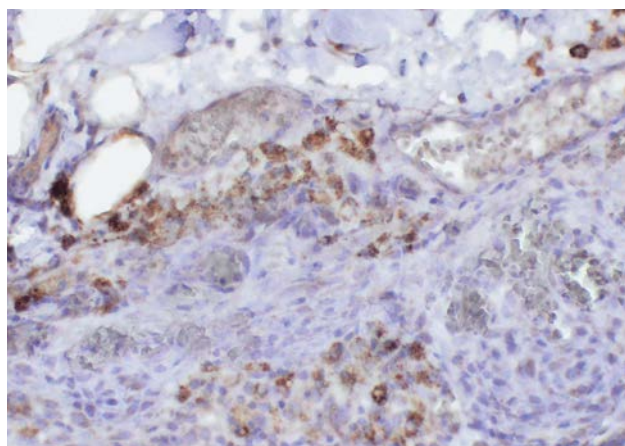
a



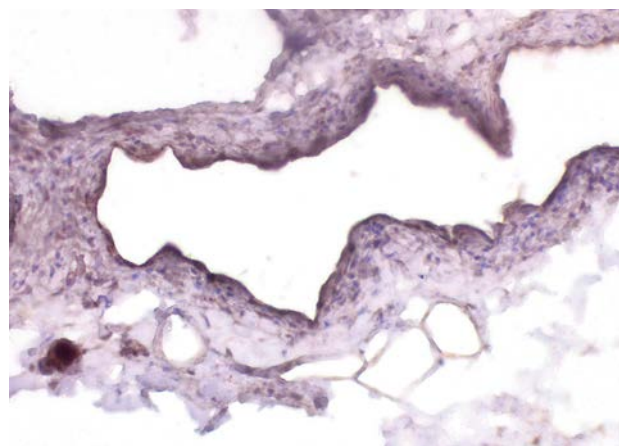
b

Рис. 3. Экспрессия кисспептина и его рецептора в эутопическом эндометрии: *a* — экспрессия KISS; *b* — KISS1R. Иммуногистохимическое исследование. $\times 400$

Fig. 3. Expression of kisspeptin and its receptor in eutopic endometrium: *a* – expression of KISS, *b* – KISS1R. IHC $\times 400$



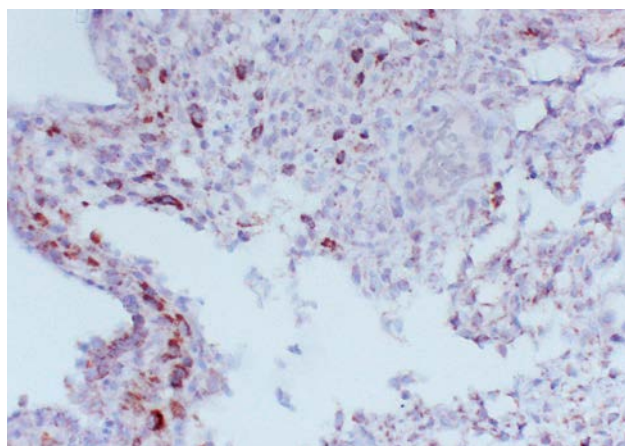
a



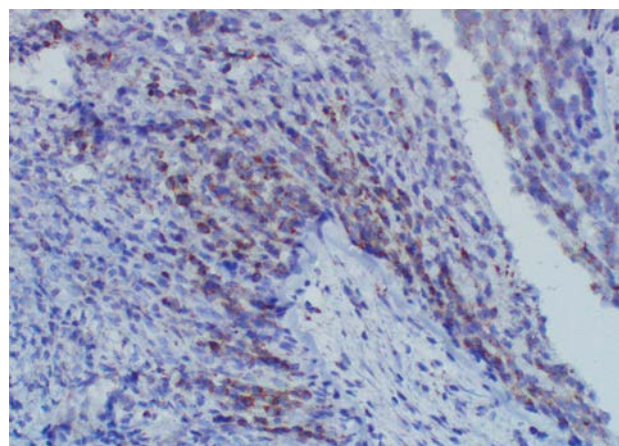
b

Рис. 4. Экспрессия киссептина и его рецептора в эндометриодных гетеротопиях: *a* — экспрессия KISS; *b* — KISS1R. Иммуногистохимическое исследование. $\times 400$

Fig. 4. Expression of kisspeptin and its receptor in endometrioid heterotopias: *a* – expression of KISS and *b* – KISS1R. IHC $\times 400$



a



b

Рис. 5. Экспрессия киссептина и его рецептора в биоптатах яичника: *a* — экспрессия KISS; *b* — KISS1R. Иммуногистохимическое исследование. $\times 400$

Fig. 5. Expression of kisspeptin and its receptor in biopsies of the ovary: *a* – expression of KISS; *b* – KISS1R. IHC $\times 400$

В биоптатах яичников у пациенток с НГЭ площадь экспрессии KISS достоверно выше по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) (рис. 5, *a*). Выявлена прямая корреляционная зависимость между уровнем киссептина в сыворотке крови на 2-й день менструального цикла с площадью белка (KISS) в яичнике ($r_s = 0,53$). Оптическая плотность в группе больных с НГЭ имела тенденцию к повышению по сравнению с контрольной группой (рис. 5, *b*). При оценке площади экспрессии и оптической плотности экспрессии рецептора KISS1R была отмечена тенденция к его повышению по сравнению с контрольной группой.

Литературные данные, посвященные изучению экспрессии киссептина и его рецептора при наружном генитальном эндометриозе, так-

же немногочисленны и противоречивы [11, 12]. A. Makri et al. изучали экспрессию киссептина и его рецептора у больных НГЭ в эутопическом эндометрии и в эндометриодных гетеротопиях как в пролиферативную, так и в секреторную фазу менструального цикла [12]. В эндометрии у здоровых женщин, а также в эндометриодных гетеротопиях не было выявлено экспрессии киссептина и его рецептора [12]. При исследовании 24 образцов эутопического эндометрия у 10 женщин с эндометриозом определена экспрессия рецептора KISS1R [12]. У всех пациенток был установлен диагноз «Наружный генитальный эндометриоз III–IV степеней» [12].

A. Timologou et al. в 2016 г. провели изучение эндометриодных гетеротопий и эндометрия

у 38 пациенток с наружным генитальным эндометриозом и у 29 женщин без эндометриоза, подвергшихся лапароскопии в пролиферативную фазу менструального цикла [13]. Диагноз эндометриоза (или отсутствие заболевания) был установлен на основании результатов гистологического исследования. Экспрессию белков KISS1 и KAI1 (супрессор метастазирования опухоли) анализировали иммуногистохимическим методом. Было определено, что экспрессия KAI1 в эндометрии у больных с эндометриозом была достоверно снижена по сравнению с уровнем экспрессии у пациенток контрольной группы [13]. Экспрессия KISS1 в железистом компоненте эндометриоидной гетеротопии была значительно повышена по сравнению с экспрессией в эндометрии у больных как с эндометриозом, так и в эндометрии пациенток контрольной группы [13], что не противоречит полученным данным в секреторную фазу менструального цикла. Была также обнаружена повышенная экспрессия KISS1 при аденомиозе по сравнению с эутопическим железистым эндометрием пациенток с аденомиозом, а также с эндометрием контрольной группы [14], что является перспективным для рассмотрения экспрессии KISS1 в качестве маркера для ранней и малоинвазивной диагностики аденомиоза.

Экспрессия рецептора KISS1R, согласно результатам наших исследований, также была достоверно повышена в эндометриоидных гетеротопиях по сравнению с интактной брюшиной, а также эутопическим эндометрием больных НГЭ и эндометрием пациенток группы контроля, что указывает на большое значение метастина (кисспептина) и его рецептора в патогенезе генитального эндометриоза.

Выводы

Таким образом, полученные данные показывают несомненную роль кисспептина в патогенезе наружного генитального эндометриоза. Можно предположить, что повышение уровня метастина (кисспептина) в периферической крови, а также увеличение экспрессии в эндометриоидных гетеротопиях KISS1, и особенно его рецептора KISS1R, являются компенсаторно-приспособительной реакцией, направленной на «сдерживание» дальнейшего распространения эндометриоза. Полученные результаты обосновывают необходимость продолжения исследований в данном направлении для углубленного понимания патогенеза вы-

шеуказанного заболевания и возможного применения метастина в качестве биомаркера для неинвазивной диагностики, а также потенциальной таргетной терапии НГЭ.

Литература

1. Ярмолинская М.И. Генитальный эндометриоз: влияние гормональных, иммунологических и генетических факторов на развитие, особенности течения и выбор терапии: дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 2009. – 408 с. [Yarmolinskaya M.I. Genital'nyj ehndometrioz: vliyanie gormonal'nykh, immunologicheskikh i geneticheskikh faktorov na razvitie, osobennosti techeniya i vybor terapii: diss. ... d-ra med. nauk. – СПб., 2009. – 408 p. (In Russ.)]
2. Lee J, Miele M, Hicks D, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*. 1996;88(23):1731-7. doi: 10.1093/jnci/88.23.1731.
3. Lee J, Welch D. Identification of highly expressed genes in metastasis-suppressed chromosome 6/human malignant melanoma hybrid cells using subtractive hybridization and differential display. *International Journal of Cancer*. 1997;71(6):1035-44. doi: 10.1002/(sici)1097-0215(19970611)71:6<1035::aid-ijc20>3.0.co;2-b.
4. Bilban M, Ghaffari-Tabrizi N, Hintermann E, et al. Kisspeptin-10, a KiSS-1/metastatin-derived decapeptide, is a physiological invasion inhibitor of primary human trophoblasts. *Journal of Cell Science*. 2004;117(8):1319-28. doi: 10.1242/jcs.00971.
5. Hesling C, D'Incan M, Mansard S, et al. *In vivo* and *in situ* modulation of the expression of genes involved in metastasis and angiogenesis in a patient treated with topical imiquimod for melanoma skin metastases. *The British journal of dermatology*. 2004;150(4):761-7. doi: 10.1111/j.0007-0963.2004.05898.x.
6. Yan C, Wang H, Boyd D. KiSS-1 represses 92-kDa type IV collagenase expression by down-regulating NF- κ B binding to the promoter as a consequence of I κ B α -induced block of p65/p50 nuclear translocation. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;276(2):1164-72. doi: 10.1074/jbc.m008681200.
7. Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, et al. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*. 2001;411:613-7. doi: 10.1038/35079135.
8. Yu L, Zhu B, Wu S, et al. Evaluation of the correlation of vasculogenic mimicry, ALDH1, KiSS-1, and MACC1 in the prediction of metastasis and prognosis in ovarian carcinoma. *Diagnostic pathology*. 2017;2;12(1):23. doi: 10.1186/s13000-017-0612-9.
9. Gao G, Liu L, Zou X, et al. Expression of KiSS-1, matrix metalloproteinase-9, nuclear factor-kappaBp65 in ovarian tumour. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2007;42(1):34-8.

10. Jiang T, Zhang S, Lin B, et al. Expression and clinical significance of KISS-1 and GPR54 mRNA in endometrial carcinoma. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 2005;27(4):229-31.
11. 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, Klemenova TS, Polyakova VO. Kisspeptin and kisspeptin receptor's expression in external genital endometriosis. *Journal of Molecular Biology*. 2016;14(5):55-9. (In Russ.)]
12. Makri A, Msaouel P, Petraki C, et al. KISS1/KISS1R expression in eutopic and ectopic endometrium of women suffering from endometriosis. *In Vivo*. 2012;26(1):119-27.
13. Timologou A, Zafrakas M, Grimbizis G, et al. Immunohistochemical expression pattern of metastasis suppressors KAI1 and KISS1 in endometriosis and normal endometrium. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2016;199:110-115. doi: 10.1016/j.ejogrb.2016.02.004.
14. Kolioulis I, Zafrakas M, Grimbizis G, et al. Immunohistochemical expression pattern of metastasis suppressor KISS-1 protein in adenomyosis lesions and normal endometrium. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*. 2016;5;210:64-68. doi: 10.1016/j.ejogrb.2016.12.004.

■ **Адреса авторов для переписки (Information about the authors)**

Эдуард Карпович Айламазян — директор, академик РАН, заслуженный деятель науки, профессор. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** iagmail@ott.ru.

Мария Игоревна Ярмолинская — д-р мед. наук, профессор РАН, ведущий научный сотрудник отдела эндокринологии репродукции. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»; руководитель центра «Диагностики и лечения эндометриоза», профессор кафедры акушерства и гинекологии ГБОУ ВПО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург. **E-mail:** m.yarmolinskaya@gmail.com.

Низгар Фуадовна Ганбарли — аспирант 3-го года обучения отделения оперативной гинекологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** n-ganbarli@mail.ru.

Наталья Николаевна Ткаченко — канд. биол. наук, заведующая гормональной лабораторией. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** liberin@mail.ru.

Гулрухсор Хайбуллоевна Толибова — канд. мед. наук. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** gulyatolibova@mail.ru.

Татьяна Георгиевна Траль — канд. мед. наук, врач-патологоанатом, заведующая патологоанатомическим отделением отдела патоморфологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** TTG2008@bk.ru.

Виктор Викторович Рулев — канд. мед. наук, старший научный сотрудник отдела эндокринологии репродукции. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** vrulev@mail.ru.

Анна Алексеевна Цыпурдеева — канд. мед. наук, заведующая отделением оперативной гинекологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** tsypurdeeva@mail.ru.

Edvard K. Aylamazyan — chief, academician, professor. FSBSI “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** iagmail@ott.ru.

Mariya I. Yarmolinskaya — professor of Russian Academy of Sciences, leading research assistant of department of endocrinology of reproduction, Doctor of medical sciences, head of center “Diagnostics and treatment of endometriosis”. FSBSI “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”; prof. Department of obstetrics and gynecology North-Western state medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** m.yarmolinskaya@gmail.com.

Nigar F. Ganbarli — 3rd year post-graduate student of Surgical Gynecology Department. FSBSI “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** n-ganbarli@mail.ru.

Natalia N. Tkachenko — Candidate of Biological Sciences, Head of the hormonal laboratory. FSBSI “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** liberin@mail.ru.

Gulruksor Kh. Tolibova — PhD, MD. FSBSI “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** gulyatolibova@mail.ru.

Tatyana G. Tral — PhD, MD, Pathologist, Head of Pathologist Laboratory, Department of Pathomorphology. FSBSI “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** TTG2008@bk.ru.

Viktor V. Rulev — Candidate of medical sciences, Researcher Endocrinology of Reproduction department. FSBSI “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** vrulev@mail.ru.

Anna A. Tsypurdeeva — MD, Head of Department of Operative Gynecology. FSBSI “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** tsypurdeeva@mail.ru.