

МЕЛАТОНИН И НАРУЖНЫЙ ГЕНИТАЛЬНЫЙ ЭНДОМЕТРИОЗ: РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ И ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ В ТЕРАПИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

© М.И. Ярмолинская^{1, 2}, С.Ш. Тхазапличева¹, А.С. Молотков^{1, 3}, Н.Н. Ткаченко¹, В.Л. Бородина¹, Н.Ю. Андреева¹, Т.С. Клейменова^{1, 4}, В.В. Лысенко⁴

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

² ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург;

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

⁴ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург

Для цитирования: Ярмолинская М.И., Тхазапличева С.Ш., Молотков А.С., и др. Мелатонин и наружный генитальный эндометриоз: роль в патогенезе и возможности применения в терапии заболевания // Журнал акушерства и женских болезней. — 2019. — Т. 68. — № 3. — С. 51–60. <https://doi.org/10.17816/JOWD68351-60>

Поступила: 20.02.2019

Одобрена: 15.03.2019

Принята: 10.06.2019

■ **Актуальность.** Мелатонин обнаружен практически во всех живых организмах, спектр его эффектов достаточно разнообразен. Действие мелатонина в организме реализуется двумя путями: через специфические рецепторы и нерецепторные пути. Мелатонин — гормон, обладающий как мембранными, так и ядерными рецепторами.

Цель — изучить экспрессию рецепторов мелатонина MTR1 и MTR2 в эутопическом эндометрии и эндометриодных гетеротопиях, а также проанализировать уровень метаболита мелатонина 6-сульфатоксимелатонина в суточной моче у больных наружным генитальным эндометриозом.

Материал и методы исследования. В группу исследования уровня метаболита мелатонина были включены 67 пациенток репродуктивного возраста с верифицированным диагнозом наружного генитального эндометриоза и 18 женщин с овуляторным менструальным циклом без гинекологической патологии, которые составили контрольную группу. Уровень 6-сульфатоксимелатонина в суточной моче определяли методом иммуноферментного анализа. Экспрессию рецепторов мелатонина MTR1 и MTR2 в эндометрии и эндометриодных гетеротопиях изучали у 24 больных наружным генитальным эндометриозом, а также у 10 женщин репродуктивного возраста, которые были обследованы по поводу бесплодия и у которых на основании диагностической лапароскопии не было выявлено гинекологической патологии. Для исследования экспрессии рецепторов мелатонина забор эндометрия и эндометриодных гетеротопий осуществляли с 18-го по 22-й день менструального цикла. Морфологическая оценка включала гистологическое и иммунофлуоресцентное исследование с использованием конфокальной лазерной сканирующей микроскопии.

Результаты. У больных наружным генитальным эндометриозом была отмечена тенденция к снижению уровня экскреции 6-сульфатоксимелатонина в суточной моче по сравнению с контрольной группой. Суммарная относительная площадь экспрессии рецепторов мелатонина в эндометрии женщин с наружным генитальным эндометриозом была достоверно ниже по сравнению с эндометрием женщин контрольной группы. Достоверных отличий между показателями средней яркости и оптической плотности обнаружено не было. Было также выявлено, что относительная площадь экспрессии рецепторов мелатонина MTR1 и MTR2 в эутопическом эндометрии и в эндометриодных гетеротопиях достоверно не отличалась. В результате корреляционного анализа обнаружена отрицательная корреляция между относительной площадью экспрессии рецепторов мелатонина и степенью распространенности наружного генитального эндометриоза. Особое внимание в работе уделено роли мелатонина в развитии наружного генитального эндометриоза и возможностям его применения в терапии данного заболевания.

Заключение. Полученные результаты подтверждают несомненный вклад мелатонина в патогенез наружного генитального эндометриоза, однако разработка новых схем терапии с его применением требует дальнейшего изучения.

■ **Ключевые слова:** мелатонин; 6-сульфатоксимелатонин; экспрессия рецепторов мелатонина MTR1 и MTR2; генитальный эндометриоз.

GENITAL ENDOMETRIOSIS AND MELATONIN: A ROLE IN THE PATHOGENESIS AND ITS POSSIBLE USE IN THE TREATMENT OF THE DISEASE

© M.I. Yarmoliskaya^{1,2}, S.Sh. Tk hazaplizheva¹, A.S. Molotkov^{1,3}, N.N. Tkachenko¹, V.L. Borodina¹, N.Yu. Andreyeva¹, T.S. Kleymyonova^{1,4}, V.V. Lysenko⁴

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

² North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia;

³ Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia;

⁴ Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

For citation: Yarmoliskaya MI, Tk hazaplizheva SSh, Molotkov AS, et al. Genital endometriosis and melatonin: a role in the pathogenesis and its possible use in the treatment of the disease. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2019;68(3):51-60. <https://doi.org/10.17816/JOWD68351-60>

Received: February 20, 2019

Revised: March 15, 2019

Accepted: June 10, 2019

■ **Hypothesis/aims of study.** Melatonin is found in almost all living organisms, the range of its effects being quite diverse. Effects of this hormone in the human body are realized via two ways, through specific receptors and non-receptor pathways. Melatonin may act through both membrane and nuclear receptors. In the present work, the expression of MTR1 and MTR2 melatonin receptors was studied in the eutopic endometrium and endometrioid heterotopies, and the level of melatonin metabolite, 6-sulfatoxymelatonin, in daily urine in patients with genital endometriosis (GE) was analyzed.

Study design, materials and methods. The experimental group included 67 patients of reproductive age with a verified diagnosis of GE, and the control group consisted of 18 individuals with an ovulatory menstrual cycle without gynecological pathology. The 6-sulfatoxymelatonin level in daily urine was determined by enzyme immunoassay. The study of MTR1 and MTR2 melatonin receptor expression in the endometrium and endometrioid heterotopies was performed in 24 patients with GE and in 10 women of reproductive age who were examined for infertility who did not have gynecological pathology based on diagnostic laparoscopy. To study the expression of melatonin receptors, the endometrium and endometrial heterotopy sampling was carried out from day 18 to day 22 of the menstrual cycle. Morphological assessment included histological and immunofluorescence studies using confocal laser scanning microscopy.

Results. In patients with GE, there was found a tendency to a decrease in 6-sulfatoxymelatonin excretion in daily urine compared to the control group. It was also found that the total relative expression area of melatonin receptors in the endometrium of women with GE was significantly lower compared to the endometrium of patients from the control group. Significant differences between the average brightness and optical density were not found. In addition, it was revealed that the relative expression areas of MTR1 and MTR2 melatonin receptors in the eutopic endometrium and in endometrioid heterotopies did not differ significantly. A negative correlation was stated between the relative expression area of melatonin receptors and GE prevalence. Particular attention is paid to the role of melatonin in the development of GE and to the possibilities of working out new treatment regimens with its use.

Conclusion. The data obtained confirm the undoubted role of melatonin in the pathogenesis of GE, however, the development of new treatment regimens with its use requires further study.

■ **Keywords:** melatonin; 6-sulfatoxymelatonin; MTR1 and MTR2 melatonin receptor expression; genital endometriosis.

Мелатонин известен с 50-х гг. прошлого века как гормон, синтезируемый и секретируемый шишковидной железой. Данные литературы свидетельствуют о плейотропном действии этого гормона [1], что в последние годы повышает интерес к изучению влияния и функции мелатонина. Мелатонин присутствует во всех живых организмах — от одноклеточных эукариот, бактерий, водорослей до млекопитающих и человека. В организме человека этот гормон синтезируется в клетках эпифиза — пинеалоцитах из предшественника серотонина. Секреция мелатонина происходит синхронизированно с циклом день – ночь, при этом пик концентрации приходится на ночное время суток. Однако существует и экстрапинеальный синтез мелатонина в клет-

ках желудочно-кишечного тракта, иммунных клетках, сетчатке, костном мозге, тромбоцитах, коже, лимфоцитах [2]. Мелатонин служит пусковым механизмом процесса сна и одним из ключевых регуляторов естественного цикла сна [3]. Известно, что существует эндогенный суточный ритм продукции мелатонина (пик выработки приходится на 2–4 часа ночи с последующим снижением), значительное влияние на которое оказывает свет: синтез данного гормона подавляется тем больше, чем ярче свет. Мелатонин также является центральным эндогенным синхронизатором биологических ритмов, на которые влияет на органном, клеточном и субклеточном уровнях путем связывания с собственными рецепторами, находящимися на органах-мишенях [4].

Действие мелатонина реализуется посредством активации двух высокоаффинных рецепторов, связанных с G-белками, — MT1 (Mel1A) и MT2 (Mel1B) [4], которые локализуются в толще плазматической и ядерной мембран клеток-мишеней. В плазматической мембране обнаружено три типа рецепторов мелатонина: MT1 (M-1a, MTNR1A), MT2 (M-1b, MTNR1B) и MT3 (M-1c, MTNR1C). У человека выявлены первые два типа рецепторов.

Сигнал при помощи рецепторов мелатонина MT1 и MT2 передается за счет связывания гетеротримерных G-белков, состоящих из α -, β - и γ -субъединиц [5]. Эффекторная система, на которую действует мелатонин через рецепторы MT1 и MT2, включает аденилатциклазу, фосфолипазу C, фосфолипазу A2, калиевые каналы и потенциально гуанилатциклазу и кальциевые каналы [5].

Как известно, мелатонин обладает широким спектром эффектов. Изучены его хронобиологические свойства и способность регулировать циркадный ритм [6]. Эксперименты показали, что шишковидная железа функционально и анатомически связана в том числе и с иммунной системой, что позволяет признать ее важным нейроиммуноэндокринным органом. Пинеалэктомия и подавление ночной продукции мелатонина у животных угнетает пролиферацию в костном мозге клеток — предшественников гранулоцитов и макрофагов, вызывает значительное снижение гематологических параметров, включая количество эритроцитов, лейкоцитов, лимфоцитов, и приводит к увеличенному инфицированию мозга *Staphylococcus aureus* [7].

Мелатонин также является мощным антиоксидантом. За счет инактивации свободных радикалов, образующихся в процессе жизнедеятельности клетки, реализуется прямой антиоксидантный эффект мелатонина [3]. Кроме того, путем стимуляции продукции синтеза антиоксидантных ферментов клетки данный гормон защищает ядерную ДНК от свободно-радикального окисления [8].

В ряде исследований на лабораторных животных было обнаружено, что мелатонин оказывает противоопухолевое, «онкостатическое» действие. В эксперименте активизация функции пинеальной железы или экзогенное введение мелатонина приводит к снижению частоты возникновения опухолей, тогда как пинеалэктомия оказывает стимулирующий эффект на рост опухолей [9]. Кроме того, гормон шишковидной железы ингибирует гормонально за-

висимые линии клеток рака молочной железы. «Онкостатическое» действие мелатонина основано на его способности ограничивать синтез эстрогенов путем подавления транскрипции, а также снижения активности многих ферментов, участвующих в продукции эстрогенов [10, 11]. Гормон эпифиза способен влиять на синтез и секрецию гормонов, регулирующих репродуктивную функцию, путем воздействия на гипоталамо-гипофизарную систему. В эксперименте с культивированными гранулезными клетками человека мелатонин снижает ЛГ- и ФСГ-стимулированную секрецию эстрадиола, что свидетельствует о возможности подавления функции яичников данным гормоном [3]. Однако определено, что антигонадотропный эффект мелатонина является дозозависимым. Известно, что мелатонин снижает активность и экспрессию ароматазы, повышает активность и экспрессию эстроген-сульфотрансферазы, а также является селективным модулятором эстрогеновых рецепторов, что позволяет говорить об антиэстрогенном влиянии гормона эпифиза [3]. Данные эффекты позволяют рассматривать применение мелатонина в лечении эстрогензависимых заболеваний, в том числе и эндометриоза, развитие которого сопровождается эстрогензависимой воспалительной реакцией, изменением выработки и рецепторной активности стероидных гормонов, оксидативным стрессом, избыточной пролиферацией, неоангиогенезом [3].

Наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) является сложным мультифакторным заболеванием, формирующимся на фоне нарушенного гормонального и иммунного гомеостаза [3]. НГЭ встречается с частотой 5–15 % у женщин репродуктивного возраста и выявляется у 20–50 % пациенток, страдающих бесплодием [12]. Несмотря на существующие методы комбинированного лечения, эндометриоз характеризуется высокой частотой рецидивов, что приводит к повторным хирургическим вмешательствам. Помимо прогрессирующего течения и снижения фертильности, заболевание служит причиной достоверного снижения качества жизни пациенток, изменения психоэмоционального состояния, сексуальной дисфункции в связи с наличием синдрома хронических тазовых болей. Существуют различные схемы медикаментозной терапии заболевания, однако все они недостаточно эффективны.

В связи с этим дальнейшее изучение патогенеза заболевания, поиск и разработка новых возможных методов и схем терапии представ-

ляют важную и актуальную на сегодняшний день задачу. Роль гормона шишковидной железы при различных заболеваниях изучается достаточно давно, в результате мелатонин нашел широкое применение в различных отраслях медицины. При этом особый интерес вызывает изучение его роли в патогенезе НГЭ, являющегося хроническим, прогрессирующим и рецидивирующим заболеванием.

В исследовании N. Yesildaglar et al. было выявлено, что мелатонин эффективен при лечении эндометриоза, индуцированного у SCID-мышей (с тяжелым комбинированным иммунодефицитом) [13]. Мелатонин также способствовал регрессу эндометриоидных имплантатов у крыс путем снижения уровня VEGF (эндотелиального фактора роста) — сигнального белка, вырабатываемого клетками для стимуляции ангиогенеза, и подавления выработки противовоспалительных цитокинов [14].

В литературе сообщается, что применение мелатонина способствовало снижению болевого синдрома и улучшению качества жизни пациенток с НГЭ и бесплодием [15].

Антиоксидантное действие мелатонина было описано во многих исследованиях [8, 12]. H. Yang и et al. (2018) [12] обнаружили, что мелатонин подавляет оксидативный стресс путем инактивации свободных радикалов, образующихся в результате перекисного окисления липидов. Так как важным аспектом патогенеза НГЭ является оксидативный стресс, терапия мелатонином может быть эффективной в предотвращении развития заболевания.

В одной из работ было продемонстрировано антипролиферативное действие мелатонина в клетках эндометрия в экспериментальной модели эндометриоза у крыс [16].

В работе T. Ness (2013) описан терапевтический эффект приема 10 мг мелатонина в день в течение 8 нед. для лечения эндометриоз-ассоциированной боли. Пациентки отметили снижение выраженности болевого синдрома, альгодисменореи, нормализацию сна, реже принимали анальгетические препараты, в сыворотке крови на фоне лечения было зарегистрировано снижение экспрессии фактора роста нервов (BDNF). Известно, что BDNF ассоциирован с болевым синдромом и повреждением нервных волокон [17] и его экспрессия повышена в эндометриоидных гетеротопиях.

С учетом вышеописанных эффектов гормона эпифиза, его роли в развитии эндометриоза важным и перспективным направлением явля-

ется разработка новых схем патогенетически обоснованной терапии этого заболевания.

Мелатонин, циркулирующий в крови, метаболизируется в печени. Вначале он подвергается 6-гидроксилированию, а затем конъюгации с сульфатом или глюкуронидом. Впоследствии 6-гидроксимелатонин-сульфат (6-сульфатоксимелатонин) и 6-гидроксимелатонин-глюкуронид выводятся с мочой [18]. У человека основным метаболитом мелатонина является 6-сульфатоксимелатонин, уровень экскреции которого в плазме крови и моче отражает качественные и количественные аспекты секреции мелатонина, что часто используют как для анализа ритма эндогенного мелатонина, так и для исследования фармакокинетических свойств гормона, введенного, например, в форме таблеток или капсул [5]. В одной из работ было выявлено, что уровень 6-сульфатоксимелатонина в моче у пациенток с I–II стадиями НГЭ оказался ниже по сравнению с его уровнем у пациенток контрольной группы. При этом у больных III–IV стадиями НГЭ уровень мелатонина также был снижен относительно контроля, но значимых отличий при этом получено не было [19].

Цель — определить экспрессию рецепторов мелатонина 1A и 1B в эндометрии и эндометриоидных гетеротопиях, а также уровни суточной и часовой экскреции 6-сульфатоксимелатонина в моче у больных НГЭ.

Материалы и методы

Содержание метаболита мелатонина (6-сульфатоксимелатонина) в суточной моче исследовали с помощью набора для иммуноферментного анализа 6-Sulfatoxymelatonin ELISA (Buhlmann Laboratories AG, Швейцария). Основную группу составили 67 пациенток репродуктивного возраста с верифицированным диагнозом НГЭ без тяжелой соматической патологии. Критериями включения были репродуктивный возраст и установленный диагноз НГЭ различной степени распространенности (согласно пересмотренной классификации Американского общества фертильности (rAFS)). Диагноз верифицировали в ходе оперативного вмешательства и подтверждали результатами морфологического исследования. Критериями исключения были системные и тяжелые соматические сопутствующие заболевания, сахарный диабет, прием гормональных препаратов в момент проведения исследования, а также в течение 6 мес. перед ним. Группу контроля составили 18 женщин с овуляторным менстру-

альным циклом без гинекологической патологии. Сбор мочи осуществляли в ночное время, производили исключительно в темноте, мочу не подвергали воздействию прямого солнечного или искусственного освещения. Измеряли общий объем мочи за сутки, который учитывали при расчете суточной и часовой экскреции 6-сульфатоксимелатонин-сульфата.

Оценивали экспрессию рецепторов мелатонина 1A и 1B в эндометрии и эндометриoidных гетеротопиях у 24 больных НГЭ. Критерии включения и исключения были такими же, как и при изучении метаболита мелатонина в моче. В группе контроля экспрессию рецепторов мелатонина 1A и 1B оценивали в эндометрии.

Контрольную группу составили десять женщин репродуктивного возраста, которые были обследованы по поводу бесплодия, и на основании диагностической лапароскопии у них не было выявлено гинекологической патологии.

Для исследования экспрессии рецепторов мелатонина забор эндометрия и эндометриoidных гетеротопий осуществляли с 18-го по 22-й день менструального цикла. Морфологическое исследование состояло из гистологической и иммуногистохимической оценки эндометрия и эндометриoidных гетеротопий. Гистологическое исследование проводили по стандартной методике. Исследование экспрессии Melatonin Receptor 1A и Melatonin Receptor 1B выполняли методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии.

Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах толщиной 5 мкм, которые помещали на предметные стекла, покрытые пленкой из поли-L-лизина (Sigma, Япония). В качестве системы визуализации использовали Dako Cytomation LSAB2 System-HRP (Dako, Дания). Для проведения иммуногистохимической реакции применяли стандартный одноэтапный протокол с демаскировкой антигена (высокотемпературной обработкой ткани) в 0,01 М цитратном буфере, pH 7,6. Иммуногистохимический метод исследования включал количественную и качественную оценку экспрессии рецептора к мелатонину 1A (ab 87639) и 1B (ab92339) в стандартном разведении 1 : 100 и 1 : 200 соответственно (Abcam, Англия).

Иммунофлюоресцентный анализ выполняли на парафиновых срезах толщиной 5 мкм, которые помещали на предметные стекла, покрытые пленкой из поли-L-лизина (Sigma, Япония). Иммунофлюоресцентный анализ проводили по стандартному одноэтапному протоколу с де-

маскировкой антигена (высокотемпературной обработкой ткани) в 0,01 М цитратном буфере, pH 6,10. Использовали первичные антитела к рецептору мелатонина 1A (ab 87639) и 1B (ab 92339) в стандартных разведениях 1 : 100 и 1 : 200 соответственно. Инкубацию с вторичными антителами, конъюгированными с флюорохромом Alexa Fluor 488 и Alexa Fluor 647 (1 : 1000, Abcam, Англия), осуществляли во влажной камере в течение 30 мин при комнатной температуре в темноте. Ядра клеток докрашивали Hoechst 33258 (Sigma, США). Готовые препараты заключали под покровные стекла в монтирующую среду Dako Fluorescent Mounting Medium (Dako, США). Образцы визуализировали с помощью конфокального микроскопа FlueView 1000 (Olympus, Япония) и программного обеспечения FV10-ASW при увеличении $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$.

Для верификации экспрессии рецепторов к мелатонину 1A и 1B применяли лазеры с длинами волн 635 и 500 нм, для визуализации ядер клеток — 405 нм.

Микропрепараты исследовали под микроскопом с настройкой освещения по Келлеру при увеличении $\times 100$, $\times 200$ и $\times 400$ с целью получения общего представления о результатах иммуногистохимической реакции. Количественную оценку результатов иммуногистохимической реакции проводили на микрофотографиях, полученных с помощью системы фиксации микроскопических изображений. Из фотосъемки исключали поля зрения, содержащие дефекты ткани, дефекты окрашивания и артефакты. Фотосъемку производили при увеличении $\times 400$ (окуляр $\times 10$, объектив $\times 40$). Долю экспрессии изучаемого маркера рассчитывали с помощью программы ВидеоТест-Морфология 5.0 («Видеотест», Россия).

Статистическую обработку данных выполняли при помощи программы SASv9.4. Значимость различий между количественными признаками в двух группах оценивали с помощью U-критерия Манна – Уитни. Для парных сравнений применяли критерий Вилкоксона. Для оценки взаимосвязи между количественными признаками вычисляли непараметрический коэффициент корреляции Спирмена. Результаты считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Средний возраст в группе больных НГЭ, у которых анализировали экскрецию 6-сульфатоксимелатонина в моче, составил $32,3 \pm 4,7$ го-

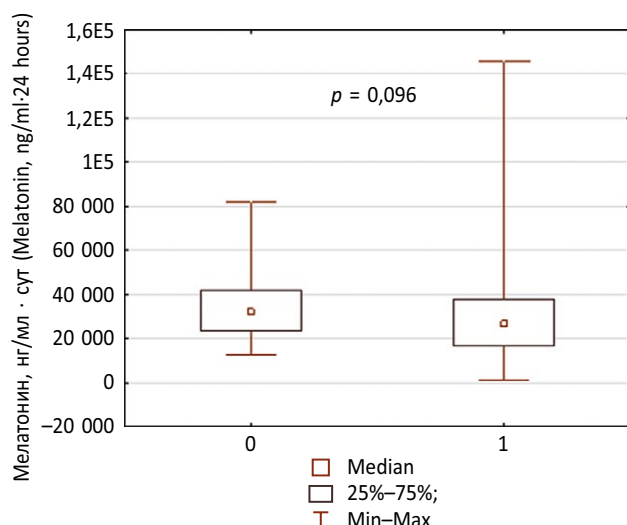


Рис. 1. Суточная экскреция 6-сульфатоксимелатонина, нг/мл · сут (0 — контрольная группа; 1 — группа с наружным генитальным эндометриозом)

Fig. 1. Twenty-four-hour excretion of 6-sulfatoxymelatonin, ng/ml·24 hours) (0, control group; 1, genital endometriosis group)

да, а в группе контроля — $31,9 \pm 5,1$ года. Была отмечена тенденция к снижению экскреции метаболита мелатонина у больных НГЭ по сравнению с пациентами контрольной группы. Уровень метаболита мелатонина у больных НГЭ в среднем составил $29498,9 \pm 2692,2$ и $1257,9 \pm 111,7$ нг/мл · ч; у пациенток контрольной группы экскреция 6-сульфатоксимелатонин-сульфата была $36410,8 \pm 4546,3$ и $1517,08 \pm 189,4$ нг/мл · ч. Однако в силу большого разброса полученных значений в обеих группах отличия не были достоверными (рис. 1).

Следует отметить, что наиболее выраженное снижение уровня суточной экскреции 6-сульфатоксимелатонин-сульфата по сравнению с группой контроля было зафиксировано при I степени распространенности заболевания, что требует дальнейшего изучения (табл. 1).

Таблица 1 / Table 1

Показатели суточной и часовой экскреции 6-сульфатоксимелатонина в группе пациенток с наружным генитальным эндометриозом и в контрольной группе

Daily and hourly excretion of 6-sulfatoxymelatonin in the study groups

Группы пациенток	Уровень 6-сульфатоксимелатонин-сульфата ($M \pm m$), нг/мл · сут	
Контроль	$36410,8 \pm 4546,3$	$1517,1 \pm 189,4$
НГЭ 1-й степени	$21815,1 \pm 3367,6$	$909,0 \pm 140,3$
НГЭ 2-й степени	$40467,0 \pm 5102,7$	$1762,4 \pm 210,1$
НГЭ 3-й степени	$23966,9 \pm 2834,1$	$999,1 \pm 118,1$
НГЭ 4-й степени	$30413,7 \pm 5708,1$	$1299,9 \pm 233,4$

Примечание. НГЭ — наружный генитальный эндометриоз.

В результате корреляционного анализа у пациенток основной группы между показателями экскреции 6-сульфатоксимелатонин-сульфата и степенью распространенности НГЭ значимых корреляций обнаружено не было.

При анализе экспрессии рецепторов мелатонина MTR1 и MTR2 средний возраст пациенток группы контроля составил $32,8 \pm 3,6$ года, а в основной группе — $29,4 \pm 4,7$ года. В результате оценки коэкспрессии рецепторов мелатонина MTR1 и MTR2 было обнаружено, что относительная площадь экспрессии в эутопическом эндометрии больных эндометриозом была достоверно ниже по сравнению со значениями в эндометрии пациенток контрольной группы: 25,5 (18,6; 31,6) и 34,6 (28,3; 34,9) соответственно ($p = 0,04$). Между показателями средней яркости в основной группе (37,4 (31,5; 50,3)) и в группе контроля (38,5 (26,5; 43,1)) ($p = 0,70$) и оптической плотности в основной группе (0,9 (0,7; 0,9)) и в группе контроля (0,9 (0,8; 1,0)) ($p = 0,6$) достоверных различий выявлено не было.

При оценке показателей относительной площади коэкспрессии рецепторов мелатонина MTR1 и MTR2 в эутопическом эндометрии и эндометриоидных гетеротопиях основной группы статистически значимые различия отсутствовали: 25,5 (18,6; 31,6) и 23,4 (16,5; 46,3). Однако было выявлено достоверное снижение оптической плотности железистого компонента в эутопическом эндометрии больных НГЭ по сравнению с показателями в эндометриоидных гетеротопиях: 0,9 (0,78; 1,0) и 1,4 (0,92; 1,2) ($p = 0,03$).

По результатам оценки экспрессии рецептора мелатонина MTR1 в эутопическом эндометрии и в эндометриоидных гетеротопиях больных НГЭ (рис. 2) показатели относительной площади экспрессии и оптической плотности достоверно не отличались.

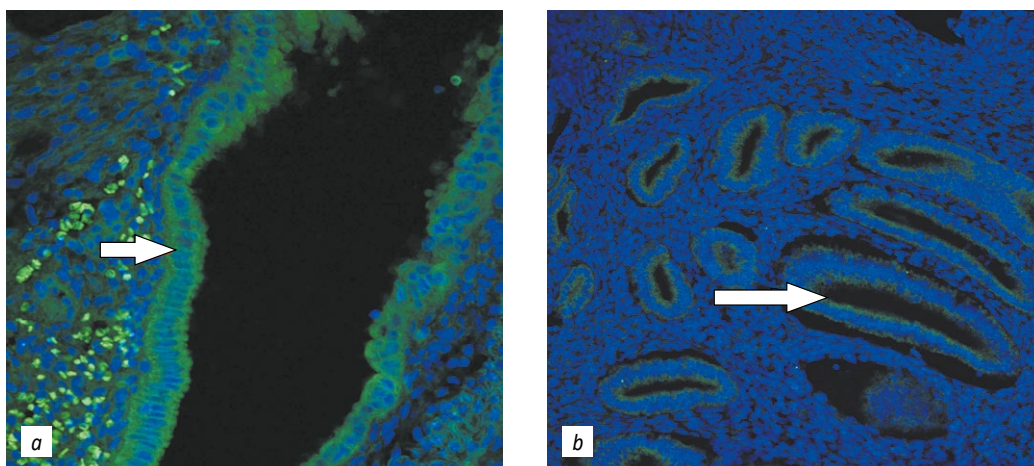


Рис. 2. Экспрессия рецептора мелатонина MTR1 в эндометриодной гетеротопии и эутопическом эндометрии у пациенток с наружным генитальным эндометриозом: *a* — экспрессия рецептора мелатонина MTR1 в эндометриодной гетеротопии (зеленая флуоресценция), Hoechst (синяя флуоресценция), увеличение $\times 400$; *b* — экспрессия рецептора мелатонина MTR1 в эутопическом эндометрии (зеленая флуоресценция), Hoechst (синяя флуоресценция), увеличение $\times 400$. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия

Fig. 2. Confocal laser scanning microscopy images of MTR1 melatonin receptor expression in endometrioid heterotopia and the eutopic endometrium in patients with genital endometriosis: *a*, MTR1 melatonin receptor expression in endometrial heterotopy (green fluorescence), Hoechst (blue fluorescence), $\times 400$ magnification; *b*, MTR1 melatonin receptor expression in the eutopic endometrium (green fluorescence), Hoechst (blue fluorescence), $\times 400$ magnification

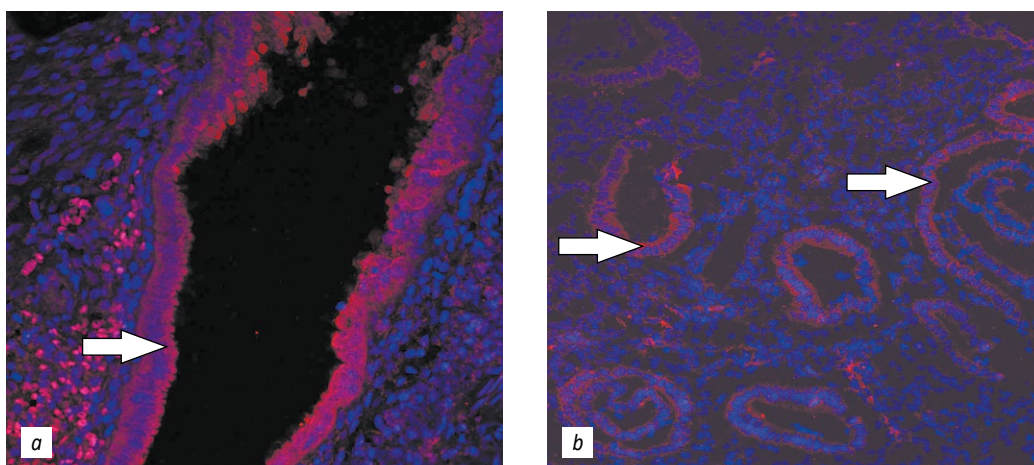


Рис. 3. Экспрессия рецептора мелатонина MTR2 в эндометриодной гетеротопии и эутопическом эндометрии у пациенток с наружным генитальным эндометриозом: *a* — экспрессия рецептора мелатонина MTR2 в эндометриодной гетеротопии (красная флуоресценция), Hoechst (синяя флуоресценция), увеличение $\times 400$; *b* — экспрессия рецептора мелатонина MTR2 в эутопическом эндометрии (красная флуоресценция), Hoechst (синяя флуоресценция), увеличение $\times 400$. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия

Fig. 3. Confocal laser scanning microscopy images of MTR2 melatonin receptor expression in endometrioid heterotopia and the eutopic endometrium in patients with genital endometriosis: *a*, MTR2 melatonin receptor expression in endometrial heterotopy (red fluorescence), Hoechst (blue fluorescence), $\times 400$ magnification; *b*, MTR2 melatonin receptor expression in the eutopic endometrium (red fluorescence), Hoechst (blue fluorescence), $\times 400$ magnification

При анализе относительной площади экспрессии и оптической плотности рецептора мелатонина MTR2 (рис. 3) в эутопическом эндометрии больных НГЭ и в эндометриодных гетеротопиях достоверных отличий найдено не было.

На основании корреляционного анализа выявлена достоверная отрицательная корреляционная зависимость между показателями относительной площади экспрессии мелатониновых рецепторов MTR1 и MTR2 в ткани эндометриодных гетеротопий и степенью распростра-

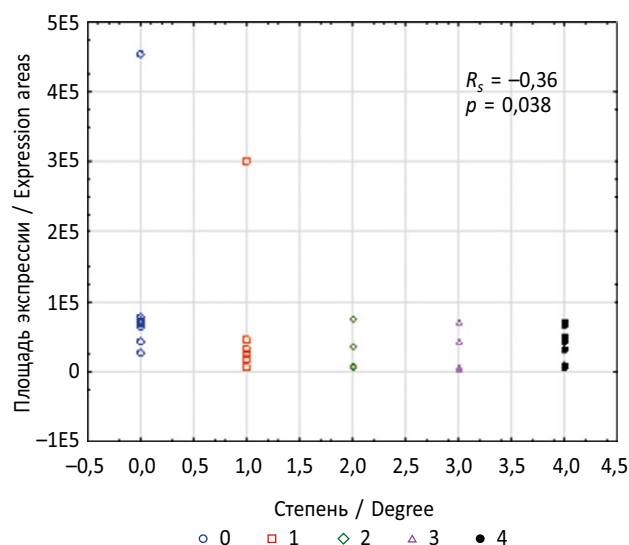


Рис. 4. Отрицательная корреляционная зависимость между относительной площадью экспрессии мелатониновых рецепторов MTR1 и MTR2 в ткани эндометриоидных гетеротопий и степенью распространенности наружного генитального эндометриоза (R_s — коэффициент корреляции Спирмена; p — коэффициент достоверности)

Fig. 4. Negative correlation between the relative expression areas of MTR1 and MTR2 melatonin receptors in endometrioid heterotopies and genital endometriosis prevalence (R_s , Spearman's rank correlation coefficient; p , reliability coefficient)

ненности НГЭ (рис. 4). Коэффициент корреляции Спирмена (R_s) составил $-0,36$ ($p = 0,038$). Таким образом, степень распространенности заболевания ассоциирована со снижением экспрессии рецепторов мелатонина в очагах эндометриоза.

Обсуждение

У больных НГЭ была отмечена тенденция к снижению уровня экскреции 6-сульфатоксимелатонина в суточной моче по сравнению с пациентками контрольной группы, однако в связи со значительным разбросом полученных значений отличия не были достоверными. Данные свидетельствуют о больших индивидуальных различиях в экскреции мелатонина, что не противоречит данным литературы [20]. Интересные результаты были получены при проведении корреляционного анализа между уровнем метаболита мелатонина в суточной моче и степенью распространенности заболевания. Наиболее низкие значения были получены при I степени (начальной стадии) НГЭ, что, возможно, является одним из «пусковых механизмов» заболевания. Вероятно, выраженные индивидуальные колебания экскреции мелато-

нина не позволят рекомендовать его определение в рутинной практике в качестве основного критерия. Известно, что на циркадные ритмы экскреции мелатонина влияет длительность фотопериода. Изменение концентрации данного гормона в суточной моче наблюдается не только в различные сезоны года, но и в каждом отдельно взятом месяце, что необходимо учитывать при изучении содержания эпифизарного гормона при различных патологических состояниях [21].

Наиболее интересным и важным, с нашей точки зрения, является изучение экспрессии мелатонина непосредственно в эндометрии и очагах эндометриоза, что позволит уточнить механизм его действия при заболевании и патогенетически обосновать терапию.

На основании результатов иммуногистохимического исследования у больных НГЭ как в эутопическом эндометрии, так и в эндометриоидных гетеротопиях выявлена экспрессия обоих типов рецепторов мелатонина (MTR1 и MTR2), что подтверждает возможность прямого влияния мелатонина на очаг эндометриоза и эндометрий.

Суммарная относительная площадь экспрессии рецепторов мелатонина в эндометрии женщин с НГЭ была достоверно ниже по сравнению с экспрессией в эндометрии контрольной группы. При этом показатели средней яркости и оптической плотности не имели достоверных отличий между группами. При оценке экспрессии рецепторов мелатонина (как MTR1, так и MTR2) в эутопическом эндометрии больных НГЭ и в эндометриоидных гетеротопиях показатели относительной площади экспрессии, средней яркости и оптической плотности достоверно не отличались.

Была установлена также отрицательная корреляционная зависимость между относительной площадью экспрессии рецепторов мелатонина и степенью распространенности НГЭ. У женщин с более высокой степенью распространенности НГЭ в эндометриоидных гетеротопиях отмечена тенденция к снижению коэкспрессии рецепторов мелатонина (1A + 1B). Это можно объяснить тем, что при более распространенных инфильтративных формах эндометриоза в ткани гетеротопий развиваются склеротические процессы, которые приводят к уменьшению объема гормонально активной ткани и, соответственно, к уменьшению количества рецепторов к половым стероидным гормонам и мелатонину.

Заключение

НГЭ представляет собой актуальную проблему в современной гинекологии, он проявляется болевым синдромом различной степени выраженности, характеризуется прогрессирующим и рецидивирующим течением, приводит к бесплодию и сопровождается достоверным снижением качества жизни. Необходимо продолжать исследовать механизмы развития данного заболевания и разрабатывать новые схемы терапии, так как в настоящее время не существует метода, который гарантировал бы полное излечение. Эффекты мелатонина при НГЭ опосредованы его влиянием на регуляцию активности ферментов и синтез стероидных гормонов, в частности эстрадиола, а также иммунорегуляторным действием, снижением активности провоспалительных цитокинов, матриксных металлопротеиназ, антипролиферативным и антиангиогенным влиянием, регуляцией процесса апоптоза, что в конечном счете будет приводить к регрессу очагов эндометриоза и, следовательно, к уменьшению клинической симптоматики и снижению риска рецидива заболевания. Способность мелатонина регулировать циркадные ритмы и влиять на уровни экспрессии нейротрофического фактора роста нервов оказывает положительный эффект на клинические проявления заболевания, такие как хроническая тазовая боль, и может значительно улучшать качество жизни пациенток с НГЭ. Установленная нами тенденция к более низкой экскреции метаболита мелатонина в суточной моче, а также достоверное снижение экспрессии рецепторов мелатонина как в эндометрии, так и в эндометриоидных гетеротопиях больных НГЭ подтверждают целесообразность заместительной терапии гормоном пинеальной железы у больных эндометриозом. Именно поэтому терапия НГЭ с применением мелатонина является патогенетически обоснованной. Однако для разработки наиболее эффективных схем терапии, определения длительности применения и дозировки препарата необходимы дальнейшие исследования.

Литература

1. Mahmood D. Pleiotropic effects of Melatonin. *Drug Res (Stuttg)*. 2019;69(2):65-74. <https://doi.org/10.1055/a-0656-6643>.
2. Датиева В.К., Васенина Е.Е., Левин О.С. Перспективы применения мелатонина в клинической практике // Современная терапия в психиатрии и неврологии. — 2013. — № 1. — С. 47–51. [Datieva VK, Vasenina EE, Levin OS. Prospects of application of melatonin in clinical practice. *Sovremennaya terapiya v psikiatrii i neurologii*. 2013;(1):47-51. (In Russ.)]
3. Ярмолинская М.И., Айламазян Э.К. Генитальный эндометриоз. Различные грани проблемы. — СПб.: Эко-Вектор, 2017. [Yarmolinskaya MI, Aylamazyan EK. Genital'nyy endometriozy. Razlichnye grani problemy. Saint Petersburg: Eko-Vektor; 2017. (In Russ.)]
4. Light and Biological Rhythms in Man. Ed. by L. Wetterberg. Stockholm; 1994.
5. Мелатонин: теория и практика / Под ред. С.И. Рапопорта, В.А. Голиченкова. — М.: Медпрактика-М, 2009. [Melatonin: teoriya i praktika. Ed. by S.I. Rapoport, V.A. Golichenkov. Moscow: Medpraktika-M; 2009. (In Russ.)]
6. Pandi-Perumal SR, Srinivasan V, Maestroni GJ, et al. Melatonin: Nature's most versatile biological signal? *FEBS J*. 2006;273(13):2813-2838. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05322.x>.
7. Beskonakli E, Palaoglu S, Aksaray S, et al. Effect of pinealectomy on immune parameters in rats with *Staphylococcus aureus* infection. *Neurosurg Rev*. 2001;24(1):26-30. <https://doi.org/10.1007/pl00011962>.
8. Yan G, Yu L, Jiang S, Zhu J. Melatonin antagonizes oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction in retinal pigmented epithelium cells via melatonin receptor 1 (MT1). *J Toxicol Sci*. 2018;43(11):659-669. <https://doi.org/10.2131/jts.43.659>.
9. Schernhammer ES, Schulmeister K. Melatonin and cancer risk: does light at night compromise physiologic cancer protection by lowering serum melatonin levels? *Br J Cancer*. 2004;90(5):941-943. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601626>.
10. Bondy SC, Campbell A. Mechanisms underlying tumor suppressive properties of Melatonin. *Int J Mol Sci*. 2018;19(8). <https://doi.org/10.3390/ijms19082205>.
11. Menendez-Menendez J, Martinez-Campa C. Melatonin: An anti-tumor agent in hormone-dependent cancers. *Int J Endocrinol*. 2018;2018:3271948. <https://doi.org/10.1155/2018/3271948>.
12. Yang HL, Zhou WJ, Gu CJ, et al. Pleiotropic roles of melatonin in endometriosis, recurrent spontaneous abortion, and polycystic ovary syndrome. *Am J Reprod Immunol*. 2018;80(1):e12839. <https://doi.org/10.1111/aji.12839>.
13. Yesildaglar N, Yildirim G, Yildirim OK, et al. The effects of melatonin on endometriotic lesions induced by implanting human endometriotic cells in the first SCID-mouse endometriosis-model developed in Turkey. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2016;43(1):25-30.
14. Yilmaz B, Kilic S, Aksakal O, et al. Melatonin causes regression of endometriotic implants in rats by modulating angiogenesis, tissue levels of antioxidants and matrix metalloproteinases. *Arch Gynecol Obstet*. 2015;292(1):209-216. <https://doi.org/10.1007/s00404-014-3599-4>.
15. Тхазаплизева С.Ш., Молотков А.С. Эффективность мелатонина в комбинированном лечении больных наружным генитальным эндометриозом // Журнал акушерства и женских болезней. — 2017. — Т. 66. — № 5. — С. 151–152. [Tkhazaplizheva SS, Molotkov AS. Effektivnost' melatonina v kombinirovannom lechenii bol'nykh naruzhnym genital'nyy endometriozy. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2017;66(5):151-152. (In Russ.)]

16. Zhao H, Pang SF, Poon AM. mt(1) Receptor-mediated antiproliferative effects of melatonin on the rat uterine antimesometrial stromal cells. *Mol Reprod Dev.* 2002;61(2):192-199. <https://doi.org/10.1002/mrd.1147>.
17. Ness TJ. Not always lost in translation. *Pain.* 2013;154(6):775. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.03.022>.
18. Thompson C. Melatonin and the Mammalian Pineal Gland. Josephine Arendt. London: Chapman & Hall. 1995. 331 p. £49.50 (hb). *Br J Psychiatry.* 2018;167(3):419-419. <https://doi.org/10.1192/s0007125000065296>.
19. Слесарева К.В. Клиническое значение факторов антиоксидантной защиты и клеточной регуляции у пациенток репродуктивного возраста с наружным генитальным эндометриозом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Самара, 2015. [Slesareva KV. Klinicheskoe znachenie faktorov antioksidantnoy zashchity i kletchnoy regulyatsii u patsientok reproduktivnogo vozrasta s naruzhnym genital'nym endometriozom. [dissertation] Samara; 2015. (In Russ.)]
20. Линде В.А., Ермолова Н.В., Слесарева К.В., и др. Клиническое значение мелатонина в развитии и прогрессировании наружного генитального эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста // Главный врач Юга России. — 2016. — № 3. — С. 18–20. [Linde VA, Ermolova NV, Slesareva KV, et al. The clinical significance of melatonin in the development and progression of external genital endometriosis patients of reproductive age. *Glavnyy vrach Yuga Rossii.* 2016;(3):18-20. (In Russ.)]
21. Плехова Е.И., Турчина С.И. Годовые и циркадные ритмы экскреции мелатонина у здоровых мальчиков-подростков / Проблемы детской эндокринологии: третий международный симпозиум компании «Ново Нордиск» (Дания); сентябрь 17–19, 1998; Крым. [Plekova EI, Turchina SI. Godovye i tsirkadnye ritmy ekskretsii melatonina u zdorovykh mal'chikov-podrostkov. In: Proceedings of the 3rd International Symposium of the Novo Nordisk Company (Denmark) "Problemy detskoj endokrinologii"; 1998 Sep 17-19; Krym. (In Russ.)]

■ Информация об авторах (Information about the authors)

Мария Игоревна Ярмолинская — д-р мед. наук, профессор РАН, руководитель отдела эндокринологии репродукции, руководитель центра «Диагностика и лечение эндометриоза». ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; профессор кафедры акушерства и гинекологии. ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-6551-4147>. SPIN-код: 3686-3605. E-mail: m.yarmolinskaya@gmail.com.

Саимат Шауаловна Тхазаплизева — аспирант отдела эндокринологии репродукции. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. E-mail: saim86@mail.ru.

Арсений Сергеевич Молотков — канд. мед. наук, старший научный сотрудник гинекологического отделения с операционным блоком. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; доцент кафедры акушерства, гинекологии и репродуктологии медицинского факультета. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0003-3433-3092>. SPIN-код: 6359-6472. E-mail: arseny.molotkov@gmail.com.

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

Валентина Леонидовна Бородина — канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела эндокринологии репродукции. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. E-mail: bvl130250@mail.ru.

Нелли Юрьевна Андреева — клинический ординатор. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. E-mail: nelly8352@yahoo.com.

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

Вера Владимировна Лысенко — студент. ФГБОУ ВО «СПбГПМУ» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: verochka.lysenko.96@mail.ru.

Maria I. Yarmolinskaya — MD, PhD, DSci (Medicine), Professor of the Russian Academy of Sciences, the Head of the Department of Endocrinology of Reproduction, the Head of the Diagnostics and Treatment of Endometriosis Center. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia; Professor. The Department of Obstetrics and Gynecology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-6551-4147>. SPIN-code: 3686-3605. E-mail: m.yarmolinskaya@gmail.com.

Saimat Sh. Tkhasaplizheva — MD, Post-Graduate Student. The Department of Endocrinology of Reproduction. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. E-mail: saim86@mail.ru.

Arseniy S. Molotkov — MD, PhD, Senior Researcher. The Department of Gynecology with the Operating Unit, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia; Associate Professor. The Department of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Sciences, Medical Faculty, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-3433-3092>. SPIN-code: 6359-6472. E-mail: arseny.molotkov@gmail.com.

Natalia N. Tkachenko — PhD, the Head of the Laboratory of Endocrinology. The Department of Endocrinology of Reproduction, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. E-mail: liberin@mail.ru.

Valentina L. Borodina — PhD, Senior Researcher. The Department of Endocrinology of Reproduction, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. E-mail: bvl130250@mail.ru.

Nelli Yu. Andreyeva — Clinical Resident. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. E-mail: nelly8352@yahoo.com.

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

Vera V. Lysenko — Student. Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: verochka.lysenko.96@mail.ru.