

DOI: 10.29296/24999490-2018-01

ISSN 1728-2918

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

# МОЛЕКУЛЯРНАЯ 2018 МЕДИЦИНА

Т. 16 № 1 MOLEKULARNAYA  
MEDITSINA

[www.rusvrach.ru](http://www.rusvrach.ru)



# ЭКСПРЕССИЯ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ В ЭНДОМЕТРИИ ЧЕЛОВЕКА: ОПТИМИЗАЦИЯ ИМПЛАНТАЦИОННОЙ ВОСПРИИМЧИВОСТИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ АЛЛОГЕННОГО ГИДРОЛИЗАТА ПЛАЦЕНТЫ

И.М. Кветной<sup>1</sup>, доктор медицинских наук, профессор, Т.С. Клейменова<sup>1</sup>, В.Р. Родичкина<sup>1</sup>, А.О. Дробинцева<sup>1</sup>, кандидат биологических наук, доцент, В.О. Полякова<sup>1</sup>, доктор биологических наук, профессор, А.А. Цыпурдеева<sup>1</sup>, кандидат медицинских наук, М.Р. Оразов<sup>2</sup>, доктор медицинских наук, доцент, С.Р. Поликарпова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Российская Федерация, 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3;

<sup>2</sup>Российский университет дружбы народов,

Российская Федерация, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6;

<sup>3</sup>МОО «Общество специалистов органа-тканевой и плацентарной терапии», Российская Федерация, 117292, Россия, Москва, ул. Профсоюзная, д. 26/44

E-mail: anna.drobintseva@gmail.com

**Введение.** Статья посвящена актуальной медико-социальной проблеме современной репродуктивной медицины – разработке подходов к повышению и восстановлению имплантационной восприимчивости эндометрия при бесплодии. Помимо традиционной гормональной терапии, современная медицина располагает широким комплексом метаболических веществ, антиоксидантов и репарантов для оптимизации рецептивности эндометрия. Исследование проводилось на культуре клеток эндометрия пациенток разного репродуктивного возраста с бесплодием, так как в современном мире с улучшением качества жизни и медицинскими достижениями все больше женщин планируют беременность после 35 лет.

**Цель исследования.** *In vitro* оценивалось влияние гидролизата плаценты человека для подкожного применения (препарат Мэлсмон®, Япония) на экспрессию сигнальных молекул, обеспечивающих рецептивность эндометрия к имплантации.

**Результаты.** Выявлено статистически достоверное увеличение экспрессии маркеров кальретиккулина, кисспептина и сиртуина-1, тогда как содержание цитохрома ароматазы P450 снижалось в культурах эндометрия пациенток с бесплодием под воздействием препарата Мэлсмон.

**Заключение.** Проведенные исследования экспрессии ключевых сигнальных молекул, обеспечивающих регуляцию метаболических процессов, внутри- и межклеточные взаимодействия в тканях, показали, что препарат Мэлсмон обладает свойствами регулировать и оптимизировать состояние эндометрия, восстанавливая его структурно-функциональные характеристики, активируя процессы внутри- и межклеточных коммуникаций, способствующие повышению имплантационной способности эндометрия.

**Ключевые слова:** препарат Мэлсмон, эндометрий, имплантация, рецептивность, бесплодие, сигнальные молекулы

## EXPRESSION OF SIGNAL MOLECULES IN HUMAN ENDOMETRIUM: OPTIMIZATION OF THE IMPLANTATION SUSCEPTIBILITY UNDER THE ACTION OF ALLOGENEIC PLACENTA HYDROLYSATE

I.M. Kvetnoy<sup>1</sup>, T.S. Kleimenova<sup>1</sup>, V.R. Rodichkina<sup>1</sup>, A.O. Drobintseva<sup>1</sup>, V.O. Polyakova<sup>1</sup>, A.A. Tsyurdeeva<sup>1</sup>, M.R. Orazov<sup>2</sup>, S.R. Polikarpova<sup>3</sup>

<sup>1</sup>D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Mendeleevskaya line, 3, Saint-Petersburg, Russian Federation, 199034;

<sup>2</sup>Peoples' Friendship University of Russia, Miklukho-Maklay str., 6, Moscow, Russian Federation, 117198;

<sup>3</sup>Society of specialists of organ-tissue and placental therapy, Profsoyuznaya str., 26/44, Moscow, Russian Federation, 117292

E-mail: anna.drobintseva@gmail.com

**Introduction.** The article is devoted to the actual medical and social problem of modern reproductive medicine – new approaches to improve and regenerate the implantation susceptibility of the endometrium in infertility. Currently, in addition to traditional hormone therapy, modern medicine has a wide range of metabolic substances, antioxidants and reparants to optimize the receptivity of the endometrium. The study was conducted on the endometrial cells culture of infertility patients of different reproductive age, because nowadays owing to the improvement of quality of life and medical achievements more and more women plan pregnancy after 35 years.

**The aim of the study.** To estimate «in vitro» the effect of human placental hydrolyzate (Melsmon® preparation, Japan) for the subcutaneous administration on the expression of signaling molecules providing endometrial receptivity to implantation.

**Results.** Under the influence of Melsmon preparation a statistically significant increase in the expression of the markers of calreticulin, kisspeptin and sirtuin-1 has been revealed, while the aromatase cytochrome P450 decreases in endometrial culture of infertile patients.

**Conclusion.** Results of expression of key signal molecules providing the regulation of metabolic processes, intra- and intercellular interactions in tissues, showed Melsmon preparation to have capabilities to regulate and optimize the state of the endometrium, restore its structural and functional characteristics, activate processes of intra- and intercellular communications, increase the implantation capacity of the endometrium.

**Key words:** Melsmon preparation, endometrium, implantation, receptivity, infertility, signal molecules

## ВВЕДЕНИЕ

Бесплодный брак остается одной из важных медицинских, социальных, экономических и демографических проблем. По данным ВОЗ, его частота составляет 10–15% и не имеет тенденции к снижению. Данные мировой статистики коррелируют с показателями по России [1]. При этом в структуре женского бесплодия патология эндометрия составляет 24–62% [2], а частота патологических изменений эндометрия при бесплодии, по данным российских авторов, приближается к 88% [3].

Недостаточная эффективность методов восстановления естественной фертильности человека стимулировала развитие вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), в том числе экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), результативность которого колеблется в среднем от 28,5 до 32,5% [4, 5] и в настоящее время не превышает 50%.

Основные проблемы, влияющие на результат ВРТ, — это качество эмбрионов (женский фактор — состояние «овариального резерва») и качество эндометрия (его потенциал имплантации). Так, при наличии хронического эндометрита и его последствий эффективность ВРТ снижается до 32–35%, не достигая 40% даже после лечения. А при синдроме «тонкого» эндометрия (<7 мм в период окна имплантации) частота наступления беременности при ВРТ составляет всего 8,5–10,8% [6].

Недостаточная эффективность ВРТ стимулировала в последние годы повышение внимания исследователей к разработке методов, направленных на повышение результативности циклов ЭКО [7]. Оптимизация эффективности ЭКО напрямую связана с решением ключевой проблемы репродуктологии — повышением рецептивности эндометрия (имплантационной восприимчивости), которая занимает ведущую роль в процессе имплантации [8–10].

Рецептивность эндометрия представляет собой комплекс структурно-функциональных характеристик эндометрия с четкими временными константами, которые определяют способность эндометрия обеспечить необходимые этапы имплантации: ориентацию бластоцисты в полости матки относительно места будущей имплантации, адгезию на поверхности эндометрия и инвазию трофобласта [11].

Реализация рецептивности эндометрия осуществляется посредством генетических и молекулярных превращений, которые приводят к экспрессии большого количества биологически активных молекул, таких как цитокины, факторы роста, молекулы адгезии и др. «Золотым стандартом» оценки рецептивности эндометрия долгое время считалась биопсия, которую использовали в первую очередь для определения

дефекта лютеиновой фазы менструального цикла [12]. Возможность достаточно простого получения эндометриальной ткани породила большие надежды на обеспечения с помощью биопсии необходимой информации о рецептивности эндометрия. Однако ряд исследователей признают, что внутриклеточные и молекулярные признаки изменения состояния ткани не выявляются при гистологической визуализации [13]. Таким образом, сегодня не существует общепринятого метода определения рецептивности эндометрия, и врачам в клинической практике приходится пользоваться простыми методами, такими как определение толщины эндометрия, измеренного на день назначения овуляторной дозы хорионического гонадотропина человека в циклах овариальной стимуляции или на день начала назначения прогестерона в циклах гормонозаместительной терапии [14].

Имуноцитохимическая верификация экспрессии сигнальных молекул, обеспечивающих имплантационную способность эндометрия, значительно расширяет возможности объективной оценки функциональной готовности эндометрия к имплантации. Знание нарушений экспрессии конкретных сигнальных молекул позволяет повысить объективизацию диагностики, оценить прогноз заболевания, избрать патогенетический метод лечения бесплодия, ассоциированного с патологией эндометрия. Применение молекулярно-морфологических методов анализа позволяет также значительно расширить представления о механизме действия фармакологических препаратов и верифицировать внутриклеточные мишени для их таргетного действия.

С учетом изложенного было проведено сравнительное изучение функциональной морфологии ткани эндометрия человека в условиях клеточного культивирования с целью выяснения механизма действия и эффективности подкожного применения гидролизата плаценты человека (препарат Мэлсмон®, Япония) для таргетной терапии патологических процессов в эндометрии, ассоциированных с бесплодием.

Метод плацентарной терапии был предложен профессором В.П. Филатовым в 1933 г. и первоначально разрабатывался как вспомогательная методика при пересадке тканей; в дальнейшем метод получил гораздо более широкое применение. Анализ номенклатуры официальных лекарственных средств из плаценты свидетельствует о том, что в медицинской практике бывшего СССР применялись 2 препарата, полученные из плаценты человека — взвесь плаценты и экстракт плаценты. К середине 80-х годов в СССР был накоплен внушительный клинический и экспериментальный опыт, подтверждающий эффективность плацентарной терапии при многих нозологиях, в частности для

стимуляции заживления ран, рассасывания спаек, при рубцовых поражениях кожи и слизистых оболочек (в том числе рубцовые сужения пищевода, гортани, уретры, атрезия слухового прохода), заболеваниях глаз, трофических расстройствах, заболеваниях нервной системы, хронических воспалительных и аутоиммунных процессах (хронические дерматозы, хроническая обструктивная болезнь легких, туберкулез), в педиатрии и гериатрии, а также в гинекологической практике, при лечении воспалительных процессов, бесплодии, климактерических расстройствах и пр. [15].

К середине XX века плацентарная терапия активно применялась за пределами СССР, в частности с середины 50-х годов в Японии на базе токийского университета велись разработки по созданию и тестированию препарата Melsmon, представляющего собой гидролизат плаценты человека (ГПЧ), производство которого началось в 1956 г. В течение 60 лет препарат Мэлсмон с успехом применяется в Японии, в том числе у женщин, как средство для коррекции симптомов перименопаузы и лечения гипо- и агалактии.

Эффективность ГПЧ в коррекции этих нарушений подтверждена клиническими исследованиями. При этом причиной эффективного купирования симптомов менопаузы на фоне Мэлсмон-терапии являются не увеличение концентрации эстрадиола, а антиоксидантные и противовоспалительные свойства препарата и его способность повышать активность клеточного и тканевого дыхания, приводя в итоге к нормализации состояния организма. Отсутствие гормональной активности препарата дает основание полагать, что его назначение безопасно с точки зрения воздействия на молочную железу, матку, коронарные артерии и риска тромбоза глубоких вен [16].

С 2011 г. аллогенный гидролизат плаценты для подкожного введения Мэлсмон был зарегистрирован на территории РФ как лекарственное (рецептурное) средство для коррекции астенических состояний у женщин в перименопаузе и стал предметом пристального изучения российских исследователей и клиницистов.

В экспериментальном исследовании *in vitro* было установлено, что в основе механизма действия препарата Мэлсмон лежит его способность усиливать энергетический потенциал клеток, способствуя нормализации функциональной активности митохондрий. По мнению авторов, это приводит к оптимизации клеточного обмена, тем самым тормозятся формирование и прогрессирование патологических процессов как на клеточном уровне, так и организма в целом [17, 18].

Поскольку в митохондриях интегрированы пути метаболизма белков, жиров и углеводов и осуществляются основные энергетические процессы, регуляция внутриклеточного распределения кальция, образование стероидов, регуляция апоптоза [19, 20], эти данные во многом объясняют эффективность препарата ГПЧ не только в коррекции симптомов перименопаузы (астении, ментального дистресс-синдрома и генитоуринарного синдрома у женщин с

естественной и ятрогенной менопаузой, в том числе с гинекологическим раком) [21–23], но и в отношении регуляции репродуктивной функции у женщин с недостаточностью лютеиновой фазы менструального цикла [24], при синдроме преждевременной недостаточности яичников [25], и в комплексных протоколах при подготовке к программам ВРТ [26].

При этом анализ литературы показал, что исследований о влиянии препарата ГПЧ для подкожного применения на экспрессию маркеров имплантационной восприимчивости эндометрия не проводилось.

Целью данной работы явилось изучение влияния препарата Мэлсмон на экспрессию маркеров восприимчивости эндометрия к имплантации в норме и при бесплодии *in vitro*.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал эндометрия (n=21) для создания культур клеток был получен при проведении пайпель-биопсии на 19–22-й день цикла в НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта. Пациентки находились в репродуктивном возрасте (23–45 лет), у всех был нормальный менструальный цикл. Пациентки не получали гормональную терапию (аналоги гонадотропин-релизинг-гормона – ГнРГ, даназол, комбинированные оральные контрацептивы). Диагноз бесплодия различного генеза был поставлен по совокупным данным анамнеза и результатам гистологического исследования биопсийных образцов. В случаях бесплодия, вызванного эндометриозом, степень эндометриоза определяли по шкале Американского общества фертильности. Другими причинами бесплодия были синдром поликистозных яичников, хронический эндометрит и недостаточность функции яичников.

Пассирование клеток производили через 3 дня на 4-й, когда культура достигала состояния монослоя. Клетки культивировали до 3-го пассажа. Все культуры были разделены на 3 группы: 1-я – культура эндометрия пациенток без бесплодия; 2-я – культура эндометрия пациенток с бесплодием до 35 лет; 3-я – культура эндометрия пациенток с бесплодием после 35 лет. Препарат Мэлсмон добавляли в культуральные среды в концентрации 200 мкл на 3 мл питательной среды; в каждой группе также проводили контроль путем добавления в культуральные среды физиологического раствора.

Для оценки функциональной активности эндометрия были выбраны сигнальные молекулы, наиболее активно участвующие в регуляции имплантационной восприимчивости эндометрия: кисспептин (KISS1), сиртуин-1 (SIRT1), кальретикулин (CALR) и ароматаза цитохрома P450.

Экспрессию сигнальных молекул и структурно-функциональную организацию клеток эндометриальных культур изучали молекулярно-морфологическими методами (иммуноцитохимическое маркирование, иммунофлюоресцентная конфокальная лазерная сканирующая микроскопия, морфометрия,

3D-реконструкция, компьютерный анализ микроскопических изображений).

Для иммунофлюоресцентного окрашивания клетки помещали в 24-луночный планшет («Биолот»). В работе использовали первичные моноклональные антитела к Calreticulin (Abcam, 1:200), Aromatase (Abcam, 1:30), Kisspeptin (Abcam, 1:140), SIRT1 (Abcam, 1:250). Для пермебилизации использовали 0,1% Triton X-100 («Биолот»), растворенный в фосфатном буфере (PBS). Далее культуры клеток инкубировали в 1% эмбриональной телячьей сыворотке (fetal bovine serum, FBS) (pH=7,5) в течение 30 мин для блокировки неспецифического связывания. Инкубацию с первыми антителами проводили в течение 60 мин.

Конфокальную микроскопию клеток проводили в инвертированном конфокальном микроскопе «Olympus Fluo ViewFV1000-IX70» с использованием апохроматического объектива «404 UPlan». Для спецификации флюоресценции исследуемых маркеров использовали волну возбуждения диодного 488 нм-мультиаргонового лазера 647 нм. Ядра клеток докрашивали Hoechst 33258 (Sigma), в результате чего они флюоресцировали синим цветом. Зеленая и красная флюоресценция отражала экспрессию исследуемых маркеров (инкубация со вторичными антителами, конъюгированными с флуорохромом Alexa Fluor 488 и 647, – 1:1000, Abcam, в течение 30 мин при комнатной температуре, в темноте).

Для оценки результатов иммуноцитохимического окрашивания проводили морфометрическое исследование с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений FW-10 и программного обеспечения Videotest Morphology 5.2. В каждом случае анализировали 5 полей зрения при увеличении в 400 раз. Измеряли площадь экспрессии, рассчитывая ее как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади клеток в поле зрения для маркеров с цитоплазматическим окрашиванием, и как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными ядрами, к общей площади ядер в поле зрения для маркеров с ядерной экспрессией. Показатели площади экспрессии выражали в %.

Статистическая обработка данных включала подсчет среднего арифметического, стандартного отклонения и доверительного интервала для каждой выборки (Statistica 7.0). Для анализа вида распределения использовали критерий Шапиро–Уилка (W-test). Было установлено, что все выборки соответствуют нормальному распределению.

Для проверки статистической однородности нескольких выборок были использованы непараметрические процедуры однофакторного дисперсионного анализа (критерий Крускала–Уоллиса). Для выборок со значительным разбросом применяли процедуры множественных сравнений с помощью критерия Манна–Уитни. Для групп с незначительным разбросом применяли t-критерий Стьюдента. Критический уровень достоверности нулевой гипотезы (об отсутствии различий) принимали равным 0,01.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В культуре эндометрия, полученной от пациенток с бесплодием, исходно площадь экспрессии KISS1 была в 2,3 раза ниже, чем в неизменном эндометрии. Терапия препаратом Мэлсмон способствовала повышению в 3,5 раза экспрессии KISS1 в культуре в группе с бесплодием до 35 лет. В позднем репродуктивном периоде (после 35 лет) наблюдалось более значимое увеличение экспрессии KISS1 – в 6 раз (рис. 1, а). При этом в контрольных пробах (с физиологическим раствором) повышение экспрессии KISS1 отсутствовало. В то же время в культуре нормального эндометрия, полученного от пациенток без бесплодия, экспрессия KISS1 под действием препарата Мэлсмон не изменялась.

Кисспептин представляет собой пептид, содержащий 145 аминокислотных остатков [27], который синтезируется в гипоталамусе, органах женской половой системы и плаценте. Основная функция KISS1 заключается в подавлении метастазирования опухолей; этот пептид также является ключевым регулятором функций трофобласта при имплантации и участвует в формировании плаценты. KISS1 выполняет роль трансмиттера в передаче сигналов от половых стероидов (эстрогенов, андрогенов), а также осуществляет посреднические функции между лептином и ГнРГ-секретирующими центрами гипоталамуса, таким образом осуществляя процессы «прямой/обратной связи» в пределах гонадной оси и сигнализируя об энергетическом балансе в названные центры. Взаимодействие KISS1 и его клеточного рецептора в мозге является определяющим фактором в активации нейронов, высвобождающих гонадолиберин, который, в свою очередь, управляет секрецией лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), вызывающих в итоге овуляцию. KISS1 был признан одним из самых мощных стимуляторов секреции ЛГ. Расстройства, нарушающие взаимодействие KISS1 и его рецептора, приводят к невозможности овуляции. Кроме того, KISS1 оказывает регуляторное воздействие на степень инвазии трофобласта и ангиогенез, поэтому усиление его экспрессии под воздействием препарата Мэлсмон, является благоприятным фактором для наступления овуляции, имплантации и последующего развития беременности.

В культуре эндометрия в норме экспрессия фактора транскрипции сиртуина-1 (SIRT1) под действием препарата Мэлсмон не изменялась. В культуре клеток эндометрия пациенток с бесплодием моложе 35 лет значения экспрессии были незначительно выше, статистически значимых отличий между группами не наблюдалось. Наибольший интерес представляют данные, полученные в группе пациенток старше 35 лет. В контрольной группе с введением физиологического раствора зафиксировано снижение площади экспрессии SIRT1 в 2,3 раза. Препарат Мэлсмон способствовал повышению в 2,2 раза площади экспрессии SIRT1 в культуре эндометрия с бесплодием в старшей возрастной группе (рис. 1, б).

Сиртуины (Silent Information Regulator proteins) представляют собой семейство эволюционно консервативных НАД-зависимых белков, обладающих деацетилазной или АДФ-рибозилтрансферазной активностью [28]. Сиртуины не только регулируют экспрессию различных генов, используя эпигенетические механизмы (меняя степень конденсации хроматина), но и непосредственно участвуют в устранении повреждений ДНК [29].

Доказано, что сиртуины вовлечены в регуляцию важных клеточных процессов и метаболических путей: процессов старения, транскрипции, апоптоза и сопротивляемости стрессу. Регуляция метаболизма и клеточные защитные механизмы, в которых участвуют сиртуины, могут быть использованы для увеличения продолжительности жизни. SIRT1 экспрессируется во всех органах, но преобладает в наиболее энергетически зависимых тканях. Нокаутлирующие мутации в гене SIRT1 ведут к пренатальной и перинатальной гибели, нарушениям гаметогенеза, хроническим инфекциям, атрофии поджелудочной железы.

Восстановление экспрессии SIRT1 до нормальных значений особенно значимо у пациенток старшего репродуктивного возраста, так как при старении накапливаются повреждения ДНК, вызванные мутациями и окислительным стрессом. Восстановление повреждений способствует нормальной экспрессии генома эндометриальной клетки и ее адекватному ответу на стимулы, поступающие от бластоцисты.

В культуре эндометрия без патологических изменений экспрессия CALR под действием препарата Мэлсмон не изменялась. В культуре эндометрия, полученной от пациенток с бесплодием моложе 35 лет, площадь экспрессии CALR была в 1,8 раза ниже, чем в нормальном эндометрии. Препарат Мэлсмон способствовал повышению в 1,7 раза экспрессии CALR в культуре у пациенток с бесплодием младшей возрастной группы. В контрольной культуре эндометрия, взятой у пациенток старшего репродуктивного возраста, площадь экспрессии CALR была значительно ниже, чем в неизменном эндометрии (соответственно 8,03 и 18,14%). При воздействии препарата Мэлсмон этот показатель возрастал в 1,8 раза (рис. 2, а).

Таким образом, введение препарата Мэлсмон в культуры эндометрия с бесплодием как в младшей, так и в старшей возрастной группе способствовало восстановлению экспрессии CALR в культурах до нормального уровня.

CALR является многофункциональным кальций-связывающим белком эндоплазматического ретикулума (ЭР). Кроме регуляции внутриклеточной концентрации  $Ca^{+2}$ , этот белок вместе с кальнексином участвует в формировании третичной структуры белков, обладая функциями шаперона.

CALR связывается с неправильно свернутыми белками и гликопротеинами и предотвращает их транспорт из ЭР к аппарату Гольджи. CALR, локализованный вне ЭР, также выполняет многочисленные функции. CALR регулирует адгезию клеток, про-

цессы их миграции и воздействует на выработку интегринов. CALR необходим для процессирования и представления антигена для адаптивного иммунного ответа. CALR-экспрессирующие дендритные клетки участвуют в фагоцитозе раковых клеток.

Выявленное в нашем исследовании повышение экспрессии CALR под воздействием препарата Мэлсмон у пациенток с бесплодием является фактором, повышающим успех имплантации бластоцисты в эндометрий и фактором адекватной иммунорегуляции.

В культуре эндометрия пациенток с бесплодием обеих возрастных контрольных групп (с введением физиологического раствора), площадь экспрессии ароматазы была соответственно в 6,4 и 8,1 раза выше, чем в неизменном эндометрии.

Препарат Мэлсмон способствовал снижению экспрессии ароматазы в патологических культурах эндометрия при бесплодии до минимальных значений (соответственно  $1,62 \pm 0,2$  и  $2,02 \pm 0,3\%$ ), таким образом подавляя аутопродукцию эстрогенов (см. рис. 2, б).

Ароматаза цитохрома P450 является единственным ферментом позвоночных, который катализируют био-

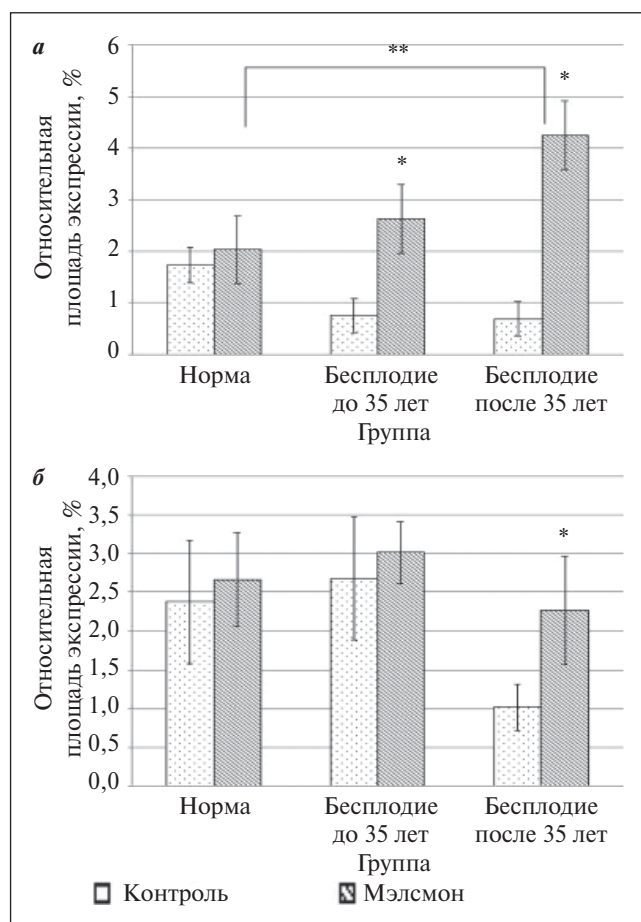
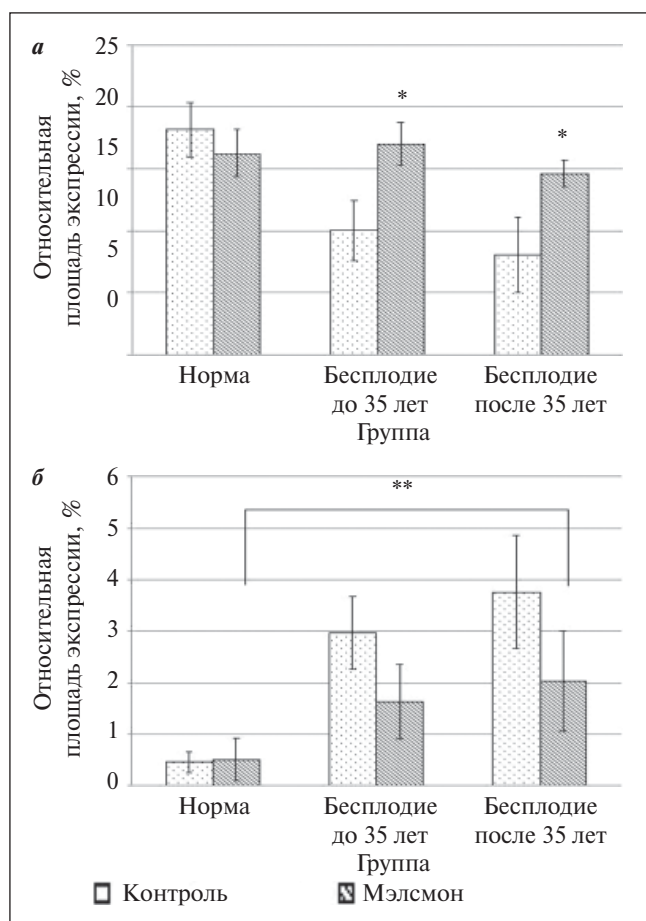


Рис. 1. Относительная площадь экспрессии KISS1 (а) и SIRT1 (б) в культуре клеток эндометрия. Различия достоверны ( $p < 0,05$ ): \* — по сравнению с соответствующим контролем, \*\* — с показателем в норме (здесь и на рис. 2)



**Рис. 2.** Относительная площадь экспрессии CALR (а) и ароматазы (б) в культуре клеток эндометрия

синтез эстрогенов из андрогенов: преобразует андростендион, тестостерон и 16 $\alpha$ -гидрокситестостерон соответственно в эстрон, 17 $\beta$ -эстрадиол и 17 $\beta$ , 16 $\alpha$ -эстриол. В яичнике произведенный эстрадиол действует местно совместно с гонадотропинами, секретируемыми из передней доли гипофиза, чтобы обеспечить успешный фолликулогенез и продукцию стероидов. С другой стороны, своевременный синтез ароматазы в фолликуле яичников отвечает за циклические изменения уровня эстрадиола в сыворотке крови. Эти изменения модулируют структуру и функцию женской репродуктивной системы и необходимы также для созревания ооцитов, оплодотворения и имплантации [30].

Таким образом, своевременная и клеточная экспрессия ароматазы в яичнике имеет решающее значение для аутокринной регуляции фолликулогенеза, эндокринного контроля органов репродуктивной системы и координации секреции гонадотропинов.

В то же время такие заболевания, как эндометриоз сочетаются с повышенной активностью ароматазы и экспрессией мРНК ароматазы цитохрома P450. Установлено, что ароматаза цитохрома P450 экспрессируется в эндометрии пациенток с эндометриозом и не экспрессируется в эндометрии менструирующих женщин [31]. Это позволяет предположить, что при указанной патологии в тканях происходит чрезмерный аутосинтез эстрогенов. В свою очередь, эстрогены, взаимодействуя со своими рецепторами, приводят к дальнейшему патологическому росту тканей, что может быть одной из причин бесплодия.

Обнаруженное нами снижение экспрессии ароматазы под воздействием препарата Мэлсмон способствует угнетению процессов, вызванных гиперэстрогемией (таких как повышенная пролиферация клеток), что может благоприятно сказываться на рецептивности эндометрия при этой патологии.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали наличие у препарата Мэлсмон биохимических и физиологических свойств, определяющих разнонаправленную активность препарата на экспрессию сигнальных молекул в клетках эндометрия как в норме, так и при патологических состояниях, регулирующих внутри- и межклеточные взаимодействия.

Препарат Мэлсмон обладает свойствами регулировать и оптимизировать состояние эндометрия, восстанавливая его структурно-функциональные характеристики, активируя процессы внутри- и межклеточных коммуникаций, способствующие повышению имплантационной способности эндометрия.

Препарат Мэлсмон обладает способностью ингибировать процесс развития эндометриоза и, в частности, гетеротопий за счет способности регулировать процессы клеточного обновления через усиление апоптоза клеток.

Также препарату Мэлсмон присущи выраженные геропротективный и антипролиферативный эффект, что дает основание для его дальнейшей разработки в качестве регенераторного средства, препятствующего старению, и противоопухолевого средства.

Изучение регуляторных свойств препарата Мэлсмон современными методами молекулярной морфофизиологии показало его несомненную широкую перспективность в качестве потенциального мощного биорегулятора метаболических и физиологических процессов в различных органах и тканях человека как в норме, так и при патологии.

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Кулаков В.И., Савельева Г.М., Манухин И.Б. Гинекология. Национальное руководство. ГЭОТАР-Медиа, 2011. (Kulakov V.I., Savel'eva G.M., Manuhin I.B. Ginekologija. Nacional'noe rukovodstvo. GEOTAR-Media, 2011 (in Russian))
2. Margalloth E.J., Ben-Chetrit A., Gal M. et al. Investigation and treatment of repeated implantation failure following IVF-ET. Hum. Reprod. 2006; 21 (12): 3036–43.
3. Корнеева И.Е. Современная концепция диагностики и лечения бесплодия в браке: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2006. (Korneeva I.E. Sovremennaja koncepcija diagnostiki i lechenija besplodija v brake: avtoref. dis. ... d-ra med. nauk. M., 2006 (in Russian))

4. De Mouzon J. et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2006: results generated from European registers by ESHRE. Hum Reprod 2010; 25: 1851–62.
5. Kupka M.S., Ferraretti A.P., de Mouzon J., Erb K., D'Hooghe T., Castilla J.A., Calhaz-Jorge C., De Geyter C., Goossens V. Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE. Hum Reprod. 2014; 29 (10): 2099–113.
6. Силантьева Е.С. Физические методы структурно-функционального ремоделирования эндометрия у женщин с нарушением репродуктивной функции: дис. ... д-ра мед. наук. М., 2008. (Silant'eva E.S. Fizicheskie metody strukturno-funkcional'nogo remodelirovaniya jendometrija u zhenshin s narusheniem reproduktivnoj funkcii: dis. ... d-ra med. nauk. M., 2008 (in Russian))
7. Seo W.S., Jee B.C., Moon S.Y. Expression of endometrial protein markers in infertile women and the association with subsequent in vitro fertilization outcome. Fertil. Steril. 2011; 95 (8): 2707–10.
8. Bourgain C., Devroey P. The endometrium in stimulated cycles for IVF. Hum Reprod Update. 2003; 9 (6): 515–22.
9. Boomsma C.M., Kavelaars A., Eijkemans M.J., Amarouchi K., Teklenburg G., Gutknecht D., Fauser B.J., Heijnen C.J., Macklon N.S. Cytokine profiling in endometrial secretions: a non-invasive window on endometrial receptivity. Reprod Biomed Online. 2009; 18 (1): 85–94.
10. Simon A., Laufer N. Repeated implantation failure: clinical approach. Fertil Steril. 2012; 97 (5): 1039–43.
11. Achache H., Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. Human Reproduction update. 2006; 12 (6): 731–46.
12. Devroey P., Fauser B.C., Platteau P., Beckers N.G., Dhont M., Mannaerts B.M. Induction of multiple follicular development by a single dose of long-acting recombinant follicle-stimulating hormone (FSH-CTP, corifollitropin alfa) for controlled ovarian stimulation before in vitro fertilization. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2004; 89 (5): 2062–70.
13. Coutifaris C., Myers E.R., Guzik D.S., Diamond M.P., Carson S.A., Legro R.S., McGovern P.G., Schlaff W.D., Carr B.R., Steinkamp M.P., Silva S., Vogel D.L., Leppert P.C. Histological dating of timed endometrial biopsy tissue is not related to fertility status. Fertil Steril. 2004; 82 (5): 1264–72.
14. Шнейдерман М.Г., Калинина Е.А., Смольникова В.Ю. и соавт. Проблема тонкого эндометрия: возможности комбинированного негормонального лечения при подготовке к процедуре экстракорпорального оплодотворения. Гинекология. 2014; 3: 67. (Shnejderman M.G., Kalinina E.A., Smol'nikova V.Ju. i soavt. Problema tonkogo jendometrija: vozmozhnosti kombinirovannogo negormonal'nogo lechenija pri podgotovke k procedure jekstrakorporal'nogo oplodotvorenija. Gynecology 2014; 3: 67 (in Russian))
15. Тканевая терапия, под ред. Акад. АМН СССР Пучковской Н.А., «Здоров'я», Киев 1975. (Tkanevaja terapija, pod. Red. Akad. AMN SSSR Puchkovskoj N.A., «Zdorov'ja», Kiev 1975 (in Russian))
16. Kim J.H., Kim S.H., Lee S.Y. The effect of human placenta extract on postmenopausal symptoms. Estradiol and FSH. Seoul, 2008.
17. Измайлова Т.Д. Персонализированные протоколы метаболической коррекции как основа anti-age программ. Инъекционные методы в косметологии. 2016; 1: 24–37. (Izmajlova T.D. Personalizirovannye protokoly metabolicheskoj korekcii kak osnova anti-age programm. In#ekcionnye metody v kosmetologii. 2016; 1: 24–37 (in Russian))
18. Измайлова Т.Д. Персонализированная PRP-терапия. Алгоритм подготовки пациента. Инъекционные методы в косметологии. 2016; 2: 19–23. (Izmajlova T.D. Personalizirovannaja PRP-terapija. Algoritm podgotovki pacienta. In#ekcionnye metody v kosmetologii. 2016; 2: 19–23 (in Russian))
19. Rustin P, Munnich A, Rotig A: Succinate dehydrogenase and human diseases: new insights into a well-known enzyme. Eur. J. Hum. Genet. 2002; 10 (5): 289–91.
20. Шабельникова Е.И. Морфофункциональные характеристики митохондрий лимфоцитов у детей при различных формах недостаточности клеточного энергообмена: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2013; 193. (Shabel'nikova E.I. Morfofunkcional'nye harakteristiki mitohondrij limfocitov u detej pri razlichnyh formah nedostatocnosti kletocnogo jenergoobmena: Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. M., 2013; 193 (in Russian))
21. Оразов М.Р., Радзинский В.Е., Хамошина М.Б. Опыт использования таргетной плацентарной терапии для коррекции менопаузальных симптомов. Хирургическая практика. 2016; 4: 45–53. (Orazov M.R., Radzinskij V.E., Hamoshina M.B. Opyt ispol'zovanija targetnoj placental'noj terapii dlja korekcii menopauzal'nyh simptomov. Hirurgicheskaja praktika. 2016; 4: 45–53 (in Russian))
22. Оразов М.Р., М.Б. Хамошина, Т.Н. Бебнева, С.Р.Поликарпова, Возможности гидролизата плаценты человека в комплексном лечении симптомов генитоуринарного синдрома в постменопаузе. Гинекология. 2017; 19 (1): 27–30. (Orazov M.R., M.B. Hamoshina, T.N. Bebneva, S.R.Polikarpova, Vozmozhnosti gidrolizata placenty cheloveka v kompleksnom lechenii simptomov genitourinarnogo sindroma v postmenopauze. Gynecology. 2017; 19 (1): 27–30 (in Russian))
23. Покуль Л.В., Оразов М.Р., Лебедева М.Г., Бебнева Т.Н., Поликарпова С.Р. К вопросу о возможности аллогенной плацентарной терапии постоварио-этомических проявлений у больных, отягощенных гинекологическим раком, после противоопухолевого лечения, Гинекология. 2017; 19 (1): 30–7. (Pokul' L.V., Orazov M.R., Lebedeva M.G., Bebneva T.N., Polikarpova S.R. K voprosu o vozmozhnosti allogennoj placental'noj terapii postovario-ektomicheskikh javlenij u bol'nykh, otjagoshennyh ginekologicheskim rakom, posle protivopuholevogo lechenija. Gynecology. 2017; 19 (1): 30–7 (in Russian))
24. Оразов М.Р., Радзинский В.Е., Хамошина М.Б., Поликарпова С.Р. 2 Опыт использования гидролизата плаценты человека в лечении недостаточности лютеиновой фазы менструального цикла, Московский хирургический журнал. 2016; 6 (52): 29–36. (Orazov M.R., Radzinskij V.E., Hamoshina M.B., Polikarpova S.R. 2 Opyt ispol'zovanija gidrolizata placenty cheloveka v lechenii nedostatocnosti ljuteinovoj fazy menstrual'nogo cikla, Moskovskij hirurgicheskij zhurnal. 2016; 6 (52): 29–36 (in Russian))
25. Царегородцева М.В., Новикова Я.С., Подольн О.Ф. Препредевременная недостаточность яичников: новые возможности терапии Климактерий. 2016; 3: 26–31. (Caregorodceva M.V., Novikova Ja.S., Podoljan O.F. Prezhdevremennaja nedostatocnost' jaichnikov: novye vozmozhnosti terapii Klimakterij. 2016; 3: 26–31 (in Russian))
26. Силантьева Е.С., Овчинникова М.М., Камилова Д.П., Тищенко М.А., Кузина С.В. Опыт применения аллогенного пептидного препарата Мэлсон при подготовке к программам вспомогательной репродукции, Женская консультация. 2016; 4: 12. (Silant'eva E.S., Ovchinnikova M.M., Kamilova D.P., Tishhenko M.A., Kuzina S.V. Opyt primeneniya allogennogo peptidnogo preparata Mjelsmon pri podgotovke k programam vspomogatel'noj reprodukcii, Zhenskaja konsul'tacija, 2016; 4: 12 (in Russian))
27. Taniguchi F., Kaponis A., Izawa M., Kiyama T., Deura I., Ito M., Iwabe T., Adonakis G., Terakawa N., Harada T. Apoptosis and endometriosis. Front Biosci (Elite Ed). 2011; 3: 648–62.
28. Chen J., Xavier S., Moskowitz-Kassai E. Cathepsin cleavage of siirtuin 1 in endothelial progenitor cells mediates stress-induced premature senescence. Amer. J. Pathol. 2012; 180 (3): 973–83.
29. Donato A.J., Walker A.E., Magerko K.A. Life-long caloric restriction reduces oxidative stress and preserves nitric oxide bioavailability and function in arteries of old mice. Aging Cell. 2013; 12 (5): 772–83.
30. Биохимия: учеб. для вузов. Под ред. Е.С. Северина. 2003; 779. (Biohimija: ucheb. dlja vuzov. Pod red. E.S. Severina. 2003; 779 (in Russian))
31. Молотков А.С., Ярмолинская М.И., Полякова В.О., Беженарь В.Ф., Цыпурдеева А.А., Рувев В.В., Дурнова А.О., Цицкарара Д.З. Значение экспрессии ароматазы в патогенезе наружного генитального эндометриоза. Молекулярная медицина. 2012; 4: 41–4. (Molotkov A.S., Jarmolinskaja M.I., Poljakova V.O., Bezhenar' V.F., Cypurdeeva A.A., Rulev V.V., Durnova A.O., Cickarava D.Z. Znachenie jekspressii aromatazy v patogeneze naruzhnogo genital'nogo jendometrijoza. Molekulyarnaya meditsina. 2012; 4: 41–4 (in Russian))

Поступила 30 августа 2017 г.

**Для цитирования:** Кветной И.М., Клейменова Т.С., Родичкина В.Р., Дробинцева А.О., Полякова В.О., Цыпурдеева А.А., Оразов М.Р., Поликарпова С.Р. Экспрессия сигнальных молекул в эндометрии человека: оптимизация имплантационной восприимчивости под действием аллогенного гидролизата плаценты. Молекулярная медицина. 2018; 16(1):37–43.  
DOI: 10.29296/24999490-2018-01-07

**For citation:** Kvetnoy I.M., Kleimenova T.S., Rodichkina V.R., Drobintseva A.O., Polyakova V.O., Tsyurdeeva A.A., Orazov M.R., Polikarpova S.R. Endometrium: optimization of the implantation susceptibility under the action of allogeneic placenta hydrolysate. Molekulyarnaya meditsina. 2018; 16(1):37–43 (in Russian).  
DOI: 10.29296/24999490-2018-01-07



