

Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования  
«Санкт-Петербургский государственный университет»  
Направление «Медицина»  
Кафедра акушерства, гинекологии и репродуктологии

Допускается к защите  
Заведующая кафедрой акушерства, гинекологии и репродуктологии

\_\_\_\_\_ Ниаури Д.А.  
*(Подпись)*

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ г

## **ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**

НА ТЕМУ: Оценка экспрессии рецепторов мелатонина в  
эндометриоидных гетеротопиях у больных наружным генитальным  
эндометриозом

Выполнила студентка 601 группы

Жарук Анастасия Дмитриевна

Научный руководитель:

к.м.н. Молотков Арсений Сергеевич

Санкт-Петербург

2017 год

## ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	3
ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	7
1.1. Наружный генитальный эндометриоз. Современные представления о патогенезе. ....	7
1.2. Мелатонин. Синтез и секреция. Рецепторы мелатонина.....	14
1.3. Биологические эффекты мелатонина.....	17
1.4. Роль мелатонина в патогенезе НГЭ.....	19
1.5. Медикаментозное лечение эндометриоза.....	22
1.6. Перспективные направления лечения эндометриоза.....	25
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	29
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	32
3.1. Клиническая характеристика обследованных женщин.....	32
3.2. Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B в ткани эндометрия и эндометриоидных гетеротопий пациенток основной и контрольной групп.....	39
3.3. Обсуждение результатов.....	50
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	53
ВЫВОДЫ.....	55
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	56
Приложения.....	64
Приложение 1.....	64

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

НГЭ – наружный генитальный эндометриоз

ЦОГ-2 – циклооксигеназа 2

ММР – матриксные металлопротеиназы

НАТ - N – ацетилтрансфераза

НОИМТ - гидроксииндол-О-метилтрансфераза

ААНАТ - арилалкиламин-N-ацетилтрансфераза

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат

цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат

MTR1 - Melatonin Receptor 1A

MTR2- Melatonin Receptor 1B

TNF-а – фактор некроза опухоли альфа

ТИМР – тканевой ингибитор металлопротеиназы

BDNF – нейротрофический фактор мозга

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность исследования**

Генитальный эндометриоз – широко распространенное заболевание у женщин молодого возраста. По данным некоторых авторов, заболевание встречается у 6-50% женщин репродуктивного возраста, а среди женщин с бесплодием эта цифра может достигать 50-60%[18,42,63]. В настоящее время эндометриоз представляет собой большую проблему для врачей многих специальностей, так как он может поражать не только половые органы, а также кишечник, мочевой пузырь, диафрагму и другие органы[18,34]. Эндометриоз является одной из основных причин хронической тазовой боли, и среди всех клинических проявлений этого заболевания, именно тазовая боль значительно снижает качество жизни и является частой причиной обращения пациентки к врачу[1].

Еще одной актуальной проблемой, связанной с эндометриозом, является бесплодие. Связь между эндометриозом и бесплодием была доказана более 20 лет назад[2,63]. У женщин, обращающихся в клиники по поводу бесплодия, эндометриоз выявляют в 50-60% случаев[18]. В различных исследованиях последних лет показано несколько механизмов связи этого заболевания и бесплодия: поражение эндометриозом маточных труб, перитонеальные факторы, оказывающие влияние на овуляцию, эндокринные и паракринные регуляторные нарушения[6].

Лечение эндометриоза до сих пор остается нерешенной проблемой, и, к сожалению, на сегодняшний день невозможно гарантировать женщине полное выздоровление. В связи с этим проводится множество исследований, направленных на поиски ранее неизвестных звеньев патогенеза эндометриоза с целью подбора новых схем терапии.

Мелатонин – это гормон, известный как регулятор циркадных ритмов. Еще в конце прошлого века о нем было точно известно, что это гормон шишковидной железы, который вырабатывается только в определенное время[16,67]. Но на данный момент, исследователи утверждают, что источники секреции мелатонина и его рецепторы находят в каждой системе органов организма человека[11]. Наличие ключевых ферментов синтеза мелатонина и рецепторов мелатонина в многочисленных тканях, а также открытие антиоксидантных и противовоспалительных свойств мелатонина, приводят исследователей к мысли о том, что молекула мелатонина является многозадачной и выполняет множество функций в физиологических и патологических процессах организма[11,16,40,67].

С момента открытия мелатонина многие ученые стали искать связь между циркадными ритмами выработки мелатонина и репродуктивной системой женщины. Экспериментально доказали, что рецепторы к мелатонину есть во многих органах репродуктивной системы, таких как молочная железа, миометрий, клетки гранулезы и тека-клетки яичников[59,64]. Также было определено влияние мелатонина на синтез и секрецию некоторых гормонов (ФСГ, ЛГ, эстрогены, прогестерон) [59,64]. Все эти исследования указывают на роль мелатонина в репродуктивной системе и необходимость продолжения исследований в этой области для поиска ранее неоткрытых механизмов его действия.

К настоящему времени уже накоплено много данных об эффективности применения мелатонина в комплексном лечении таких заболеваний как злокачественные новообразования, нейродегенеративные процессы, иммунологические заболевания, диабет и вирусные поражения[66,67]. Появляются исследования, в которых оценивают эффективность применения мелатонина в лечении эндометриоза, хотя патогенетического обоснования для данного метода терапии нет. Именно

поэтому, поиск рецепторов мелатонина и исследование его роли в патогенезе НГЭ представляется актуальным.

### **Цель и задачи исследования**

Цель исследования - оценить экспрессию рецепторов мелатонина в эндометриоидных гетеротопиях у больных с различной степенью распространенности наружного генитального эндометриоза.

Для выполнения этой цели были сформированы две группы. Основная группа – женщины с диагнозом НГЭ, и группа контроля – женщины без гинекологической патологии.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить особенности соматического и гинекологического анамнеза у женщин с диагнозом НГЭ.

2. Определить показатели экспрессии рецепторов мелатонина в гетеротопиях и эндометрии, полученных во время оперативного вмешательства у женщин по поводу наружного генитального эндометриоза и у женщин контрольной группы.

3. Сравнить показатели экспрессии рецепторов мелатонина в эндометрии основной группы и группы контроля.

4. Сравнить показатели экспрессии рецепторов мелатонина в эндометриоидных гетеротопиях основной группы и эндометрии группы контроля.

5. Сопоставить показатели экспрессии рецепторов мелатонина и стадию наружного генитального эндометриоза.

## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Наружный генитальный эндометриоз. Современные представления о патогенезе

Эндометриоз – это мультифакторное заболевание, при котором ткань морфологически сходная с эндометрием разрастается за пределами обычной для него локализации. При том, такие очаги подвергаются таким же циклическим менструальным изменениям, как и нормальный эндометрий. В связи с ростом заболеваемости в последние годы, эндометриоз является актуальной проблемой современной гинекологии. По данным последних исследований заболевание встречается у 12-50% женщин фертильного возраста, при этом пик выявления эндометриоза приходится на 28 лет[28,34,42,53]. Такие вариации распространенности частично объясняются отсутствием опубликованных исследований по репрезентативным выборкам населения в целом, а частично разными диагностическими подходами в разных центрах[34]. Многочисленными исследованиями последних лет доказано, что эта патология встречается в любом возрасте независимо от этнической расы и социально-экономических особенностей [3].

Несмотря на многолетние исследования к настоящему времени не появилось такой теории, которая могла бы охватить все аспекты этиологии и патогенеза эндометриоза. Разными авторами были предложены следующие теории:

1) Имплантационная теория. Предложена J. Sampson в 1927 году. Данная теория основывается на том, что клетки эндометрия во время десквамационной фазы менструального цикла через маточные трубы могут перемещаться в брюшную полость. Далее происходит адгезия фрагментов эндометрия к поверхности брюшины, сменяющаяся инвазией, и в

последующем процесс завершается васкуляризацией сформировавшегося очага эндометриоза[4].

2) Дизонтогенетическая теория. Дизонтогенетическая теория предполагает развитие очагов эндометриоза из остатков мюллеровых протоков. В пользу этой теории говорит сочетание эндометриоза с врожденными аномалиями репродуктивной системы: полной перегородкой матки, двурогой маткой[43]. Также существуют исследования, в которых отмечают более высокие уровни экспрессии генов WNT7A и PAX8, отвечающих за формирование женских половых путей из мюллерового протока в эмбриогенезе, у женщин с эндометриозом по сравнению с контрольной группой [68].

3) Метапластическая теория. Данная теория предполагает возможность развития очагов эндометриоза из плюрипотентных клеток мезотелия брюшины[4]. Данная теория утверждает, что исходная целомическая мембрана претерпевает метаплазию, образуя типичные эндометриальные железы и строму. Метапластическая теория подтверждается описанием случаев эндометриоза, при которых ретроградная менструация не возникает и не может быть объяснена имплантационной теорией[61]. На возможность метаплазии указывает описанный факт существования переходных гистологических форм от мезотелия к очагам эндометриоза яичников, выявляемых при световой микроскопии[61].

4) Неопластическая теория. Существуют обширные клинико-патологические, молекулярные и генетические доказательства, подтверждающие гипотезу о том, что эндометриоз является неопластическим процессом с потенциалом злокачественной трансформации[4]. Нечувствительность к антипролиферативным сигналам, резистентность к апоптозу, устойчивый ангиогенез, аномалии в ДНК –



репарирующих ферментах, - все эти данные говорят в пользу неопластической теории [4,16].

В соответствии с современной концепцией о происхождении генитального эндометриоза, в патогенезе рассматривается участие разнообразных факторов: наследственность, ретроградная менструация, целомическая метаплазия, наследственные или приобретенные дефекты перитонеального эпителия, дефекты клеточного и гуморального иммунитета, роль избыточной экспрессии энзима ароматазы и развитие в связи с этим феномена локальной гипергормонемии, ауто- и паракринные влияния, оксидативный стресс[6,18,54].

Эндометриоз несомненно является эстроген-зависимым заболеванием. Вполне возможно, что генетические изменения, приводящие к увеличению эффекта эстрогенов на эндометриоидные очаги могут способствовать развитию заболевания[13].

Генетические изменения эндометриальных клеток бесспорно считаются доказанным фактором риска эндометриоза [13]. Эутопический эндометрий женщин с эндометриозом имеет отличия от эндометрия здоровых женщин. Изменения регуляции антиапоптического гена BCL-2 наблюдают у женщин с НГЭ как в очагах гетеротопий, так и в эндометрии. Изменение регуляции апоптоза имеет первостепенное значение в способности клеток эндометрия выживать в брюшной полости[57]. Ингибирование апоптоза эндометриальных клеток также может быть опосредовано активацией транскрипции генов, которые способствуют воспалению, ангиогенезу и пролиферации[57].

Данные исследования, опубликованного в 1997 году группой R. Hadfield и соавторов показывают наличие генетической предрасположенности к данному заболеванию. В исследование включали

пары монозиготных близнецов и сопоставляли данные анамнеза с гистологическим исследованием[32].

Приобретенные геномные мутации также рассматривают как одно из важнейших звеньев патогенеза заболевания[18]. Так, в исследованиях показывают наличие мутаций в гене супрессоре опухоли РТЕН, зарегистрированное у 56% исследуемых с эндометриозом[50].

К настоящему моменту, накоплено большое количество доказательств эпигенетического регулирования экспрессии различных генов и действия стероидных гормонов в очагах эндометриоза[18].

Стероидные гормоны – несомненно являются одним из ключевых звеньев патогенеза. Считается, что рост и изменения в гетеротопическом эндометрии регулируется гормонами яичников, как и в нормальном эндометрии. Эстрогены – это гормоны ответственные за пролиферацию, и повышенная чувствительность к эстрогену объясняет усиленное развитие эндометриоидных гетеротопий[45]. Кроме того, в различных исследованиях показывают повышенный уровень ароматазной активности в гетеротопиях и в эутопическом эндометрии у женщин с НГЭ[17,62]. При этом, агрессивность эндометриоза коррелирует с интенсивностью экспрессии ароматазы Р450 в гетеротопиях[17]. Данный факт объясняет повышенную локальную активность эстрогенов в эктопических очагах и их активную пролиферацию[17,62].

Некоторые другие исследователи развитие эндометриоза связывают с резистентностью к прогестерону, который противодействует стимулирующему пролиферации действию эстрогенов[37]. Резистентность к прогестерону может быть вызвана снижением экспрессии рецепторов прогестерона или функциональной аномалией данных рецепторов[57].

Повышенное окисление липопротеинов связано с патогенезом эндометриоза, когда активные формы кислорода вызывают перекисное окисление липидов, которое приводит к повреждению ДНК в клетках эндометрия[31]. Наличие воды и электролитов в увеличенном объеме перитонеальной жидкости у пациентов с эндометриозом является источником активных форм кислорода. У этих пациентов также отмечают перегрузку железом в брюшной полости вследствие распада гемоглобина, что в свою очередь вызывает окислительно-восстановительные реакции[13,31]. Высвобождение провоспалительных цитокинов и сигналы окислительного стресса, генерируемые активными формами кислорода, вызывают воспаление, которое приводит к активации лимфоцитов и активированных макрофагов, продуцирующих цитокины, которые индуцируют окисление ферментов и способствуют росту эндотелия[31]. Избыточное производство активных форм кислорода также сопровождается снижением уровня антиоксидантов, которые обычно элиминируют эти молекулы. Результативное накопление активных форм кислорода может способствовать распространению и поддержанию эндометриоза и связанных с ним симптомов[13,31].

Как правило, ткань эндометрия, попавшая в брюшную полость, элиминируется с помощью иммунной системы. Но нарушения в местном иммунитете могут приводить к имплантации и росту клеток эндометрия в тканях брюшины[57]. У женщин с эндометриозом отмечают более высокие концентрации активированных макрофагов, сниженный клеточный иммунитет и недостаточную функцию NK-клеток[55]. В итоге, и иммунные и эндометриальные клетки секретируют цитокины и факторы роста, которые индуцируют клеточную пролиферацию и ангиогенез, тем самым способствуя имплантации и росту эндометриоидных гетеротопий[35].

Циклооксигеназы (ЦОГ) – группа ферментов, участвующих в синтезе простагландинов. Существует две изоформы циклооксигеназы, ЦОГ-1 – является конститутивной, то есть выполняет важные физиологические функции. ЦОГ-2 – наоборот является индуцибельной, и начинает функционировать при определенных состояниях организма. Так, давно известно, что ЦОГ-2 является одним из важнейших ферментов воспалительных реакций. Активация ЦОГ-2 индуцируется факторами роста, онкогенами, канцерогенами[44]. В нормальной эндометрии, считается что ЦОГ-2 участвует в клеточной пролиферации, регенерации и регуляции ангиогенеза[19,44]. Ранее считалось, что повышенная экспрессия ЦОГ-2 при эндометриозе должна коррелировать с такими симптомами, как дисменорея, выраженность болевого синдрома, бесплодие, и высокое содержание ЦОГ-2 должно быть обнаружено в очагах эндометриоза. В 2002 году было проведено исследование, в котором показали повышенное содержание ЦОГ-2 в очагах эндометриоза[19]. Авторы объясняют это двумя теориями. Во-первых, в нормальной эндометрии и гетеротопиях различная экспрессия цитокинов, которые могут инициировать экспрессию ЦОГ-2. Во-вторых, авторы предполагают, что эстрогены способны влиять на экспрессию мРНК, и, тем самым, увеличивать образование ЦОГ-2[19].

Стволовые клетки. Поскольку ежемесячная регенерация эпителия происходит из базального слоя эндометрия, который содержит стволовые клетки, некоторые авторы рассматривают теорию ретроградной менструации с заносом в брюшную полость стволовых клеток и дальнейшей их дифференцировкой[33]. В результате, в дополнение к дифференцированным клеткам, присоединяются стволовые, что и способствует циклической регенерации в эндометриоидной гетеротопии и появлению новых очагов эндометриоза[33]. Стволовые клетки должны дифференцироваться в зрелые клетки в соответствии с тканью, в которой

они оказались (то есть в данном случае в клетки брюшины), по-видимому реализовать механизм превращения в эндометриодные клетки они могут только в окружении уже дифференцированных клеток[57]. Кроме того, брюшная полость имеет непосредственную связь с полостью матки, и таким образом, поток жидкости из матки, богатой цитокинами и хемокинам также может способствовать дифференцировке стволовых клеток[57].

Матриксные металлопротеиназы функционируют как ферменты, которые деградируют структурные компоненты внеклеточного матрикса [26]. Протеолиз, создаваемый с помощью матриксных металлопротеиназ может создать пространство для инвазии клеток. Вторым эффектом, которым металлопротеиназы обладают, это индукция и участие их в неоангиогенезе[49].

Эндометриоз похож по биологическому поведению на злокачественные опухоли. Эндометриодные клетки способны прикрепляться к мезотелию брюшины, проникать в перитонеальный слой и разрушать внеклеточный матрикс, тем самым вторгаясь в окружающие ткани[61]. Считается, что активность матриксных металлопротеиназ проявляется на нескольких стадиях прогрессирования опухоли, включая формирование опухоли, рост, неоваскуляризацию и метастазирование[49]. Аналогичным образом предполагается, что ММП играют значительную роль в патофизиологии эндометриоза. Экспрессия ММП в эндометрии регулируется факторами роста и цитокинами. У женщин с эндометриозом повышена перитонеальная экспрессия цитокинов во время менструации[26], которые стимулирует ММП. Таким образом, активностью матриксных металлопротеиназ может быть объяснена возможность имплантации и инвазии с формированием эндометриодных гетеротопий при ретроградном забросе менструальной крови[49].

## 1.2. Мелатонин. Синтез и секреция. Рецепторы мелатонина

Мелатонин – гормон индоламинового типа, синтезируемый секреторными клетками эпифиза, из серотонина под действием N – ацетилтрансферазы (NAT) и оксиндол-О-метилтрансферазы[11]. Исходным предшественником биосинтеза мелатонина является аминокислота триптофан. Пинеалоциты поглощают триптофан из крови и превращают его в серотонин посредством гидроксилирования и декарбоксации. Серотонин затем превращают в N-ацетилсеротонин с помощью фермента арилалкиламин-N-ацетилтрансферазы (AANAT). N-ацетил-серотонин впоследствии метилируется до образования мелатонина, на этом этапе требуется фермент гидроксииндол-О-метилтрансфераза (HIOMT)[11].

В шишковидной железе продукция мелатонина контролируется циркадным сигналом от супрахиазматического ядра, сигналы от которого достигают пинеалоцита через сложный путь, включающий в себя паравентрикулярное ядро и нервные окончания в преганглиолярных симпатических нейронах интермедиолатеральной зоны спинного мозга, которые активируют эпифиз[5]. Ночью этот путь активен и высвобождает норадреналин из симпатических волокон, которые, в свою очередь, активируют аденилатциклазу через  $\beta$ 1-адренергические рецепторы в пинеалоците[5,67]. Секреция мелатонина инициируется связыванием норадреналина с адренергическими  $\beta$ 1-рецепторами и последующей активацией аденилатциклазы пинеалоцитов, увеличением циклического АМФ (цАМФ) и синтезом de novo NAT или его активатора[11].

Активность фермента AANAT проявляет такие же суточные колебания концентрации, как и уровень мелатонина в крови, и на данный момент именно этот фермент считают ответственным за циркадные ритмы в образовании мелатонина эпифизом [67]. А за уровень синтеза мелатонина

ответственен другой фермент, а именно HIOMT, активность которого зависит от долговременной (сезонной) стимуляции в-адренорецепторов. Таким образом, AANAT участвует в кратковременных (циркадных) изменениях, тогда как активность HIOMT определяет уровень сезонных колебаний синтеза мелатонина[5,11,16].

Синтез мелатонина эффективно происходит только с наступлением темноты и резко снижается в светлую фазу суток - факт, впервые показанный R.Wurtman в 1960 г. Пик выработки мелатонина отмечен между 2 и 4 часами ночи, затем его синтез постепенно снижается во второй половине ночи[11].

Дневной ритм продукции мелатонина зависит от активности AANAT в сетчатке, которая в свою очередь зависит от ионов кальция, дофамина и  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМК)[11]. Сетчатка является независимым и важным местом продукции мелатонина, по содержанию которого она стоит на втором месте после эпифиза. Предполагается, что в сетчатке дофамин и мелатонин являются компонентами взаимно взаимодействующей (отрицательно) системы и действуют как биохимические аналоги света и тьмы, соответственно[11]. Мелатонин модулирует глициновые токи ганглиозных клеток сетчатки и повышает восприимчивость фоторецепторов к светоиндуцированным повреждениям[67].

Мелатонин обладает высокой растворимостью в липидах и воде, что облегчает проход через клеточные мембраны. После высвобождения в кровотоки он легко проникает в различные жидкости, ткани и клеточным компартментами (слюна, моча, спинномозговая жидкость, преовуляторный фолликул, сперма, амниотическая жидкость и молоко)[11]. У человека на ночные часы приходится 70% суточной продукции мелатонина. Пиковые уровни концентрации гормона в плазме крови у взрослых, составляют от 60 до 70 пг /мл ночью, а в дневные часы около 10 пг/мл[40].

Эффекты мелатонина в организме опосредован двумя путями, через специфические рецепторы мелатонина и нерцепторные пути. Мелатонин – гормон имеющий как мембранные, так и ядерные рецепторы. Мембранные рецепторы мелатонина MTR1 (Melatonin Receptor 1A) и MTR2 (Melatonin Receptor 1B) принадлежат к семейству рецепторов, связанных с гуанин-нуклеотид связывающим регуляторным белком (G-белкам)[67]. Активация MTR1-рецептора приводит к ингибированию цАМФ, за счет увеличения внутриклеточного кальция[40]. Связывание с MTR2 рецептором приводит к ингибированию и цАМФ и цГМФ. MTR1 рецепторы связаны с репродуктивными и метаболическими функциями мелатонина, а MTR2-рецепторы участвуют в регуляции циркадных ритмов и высвобождении допамина в сетчатке, вазодилатации[40]. Мелатонин при активации MTR1 или MTR2 ингибирует аденилатциклазу, через ингибирование цАМФ и, как следствие, вызывает ингибирование протеинкиназы А, что в конечном итоге приводит к изменению транскрипции генов. По такому пути мелатонин регулирует антиоксидантную транскрипцию генов[52].

Активация MTR2 рецепторов вызывает активацию еще и других сигнальных путей, включающих фосфолипазу, митоген-активируемую протеинкиназу. Эти пути контролируют такие процессы как транскрипция генов, метаболизм, пролиферация, подвижность и апоптоз клеток[67].

Мелатонин проявлять свой эффект может также через ядерные ROR рецепторы. Один из путей, реализующихся через эти рецепторы – это активация транскрипции генов антиоксидантных ферментов. А по данным недавних исследований, механизм активации антиоксидантных рецепторов мелатонин может реализовать и через мембранные рецепторы MTR1 и MTR2[67].



### 1.3. Биологические эффекты мелатонина

Мелатонин является акцептором свободных радикалов. Мелатонин может непосредственно связывать высокотоксичный гидроксильный радикал и другие радикалы с кислородсодержащим центром[67]. Помимо этого, через свои рецепторы мелатонин может активировать синтез некоторых антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза. В последние годы появились данные, что мелатонин может находиться не только в плазме, но и в ядрах клеток и предохранять макромолекулы ядра от оксидативного повреждения во всех субклеточных структурах[40].

В многочисленных исследованиях влияния мелатонина на рост опухолей показано, что мелатонин обладает выраженным противоопухолевым эффектом[52]. Онкостатические механизмы мелатонина многообразны и включают антипролиферативный эффект, индукцию апоптоза, ингибирование инвазии и метастазирования, уменьшение ангиогенеза и усиление иммуномодуляции[66]. Клинические исследования показывают, что мелатонин повышает эффективность и уменьшает побочные эффекты химиотерапии, продлевает выживаемость и улучшает качество жизни[52].

Изучение влияния мелатонина на рост опухоли и ангиогенез в модели ксенотрансплантата рака молочной железы показали, что мелатонин уменьшает рост опухоли и пролиферации клеток и ингибирует ангиогенез путем уменьшения экспрессии рецептора VEGF 2 и увеличения экспрессии рецептора эпидермального фактора роста и инсулиноподобного фактора роста 1[66]. Кроме того, было показано, что мелатонин участвует в активации лимфоцитов и моноцитов, макрофагов, предотвращая развитие опухоли [66].

Нейропротекторный эффект мелатонина также связывают с его антиоксидантным действием[36]. Спад производства мелатонина в пожилом возрасте предположительный механизм развития нейродегенеративных заболеваний. Таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона. Клинические испытания с мелатонином показали его эффективность в замедлении развития подобных заболеваний[36].

Гормон эпифиза также участвует в регуляции секреции инсулина и патофизиологии нарушений углеводного обмена. Суточные ритмы инсулина и мелатонина не совпадают, и на пик секреции мелатонина приходится спад секреции инсулина[3]. Предполагается, что таким образом мелатонин обеспечивает синхронизацию метаболических процессов с ночным периодом, когда нет потребности в высоких концентрациях инсулина. Рецепторы мелатонин MTR1 и MTR2 обнаружены в островковых клетках поджелудочной железы и в экспериментах показано как ингибирующее, так и стимулирующее влияние мелатонина на синтез инсулина. Кроме того, показано, что мелатонин способствует пролиферации островковых клеток поджелудочной железы и подавлению их апоптоза[3].

В некоторых исследованиях показано влияние мелатонина на гипоталамо-гипофизарно-яичниковую ось[24,58]. Активация MTR1A и MTR1B рецепторов снижали экспрессию мРНК гонадотропин-рилизинг гормона, что приводило к уменьшению секреции лютеинизирующего гормона клетками гипофиза[24]. Кроме того, оба типа рецептора были идентифицированы в тканях яичника и фолликулярной жидкости, что предполагает прямое воздействие этого гормона на функцию яичников[58]. В клетках гранулезы мелатонин усиливает экспрессию рецепторов к

лютеинизирующему гормону, увеличивает синтез прогестерона, но при этом снижает концентрацию рецепторов к Гн-РГ[58].

Мелатонин влияет и на регуляцию стрессовых реакций, и на адаптацию организма в экстремальных условиях[8]. Антистрессовое влияние мелатонина может реализоваться за счет стабилизации деятельности эндокринной системы, дестабилизированной стрессом, а также за счет воздействия на ГАМК-ергические и дофаминергические механизмы головного мозга[8].

#### **1.4. Роль мелатонина в патогенезе НГЭ**

Было показано, что окислительный стресс тесно связан с воспалительным процессом и патофизиологией эндометриоза[9]. Объем перитонеальной жидкости у женщин с эндометриозом увеличивается, а число макрофагов в ней больше, чем у нормальных женщин[54]. Активированные макрофаги запускают процессы окислительного стресса с образованием продуктов перекисного окисления липидов и других побочных веществ, являющихся следствием взаимодействия аполипопротеина с пероксидами[47]. Увеличивается образование активных форм кислорода макрофагами перитонеальной жидкости у пациентов с эндометриозом[54]. Активные формы кислорода приводят к локализованной воспалительной реакции в области таза, приводя к увеличению концентрации цитокинов, факторов роста, простагландинов и других провоспалительных медиаторов[54]. Свободное железо и гем также играют важную роль в производстве активных форм кислорода. Их отложение увеличивается в непосредственной близости к эндометриодным гетеротопиям брюшины. Соответственно, активность индуцированной NO-синтазы и оксида азота перитонеальными макрофагами значительно повышены при эндометриозе[47]. Антиоксидантный эффект мелатонина

приводит к угасанию воспалительной реакции и способствует угнетению прогрессирования заболевания, а также уменьшает спаечный процесс[52].

Мелатонин модулирует синтез эстрогенов и прогестерона. Увеличение локальной продукции эстрогенов и повышенная активность ароматазы в очагах эндометриоза показана многими исследователями[17]. Мелатонин может модулировать синтез эстрогенов двумя путями. Во-первых, мелатонин снижает активность ароматазы и в условиях базального синтеза ароматазы, и в условиях стимулированного синтеза[20]. Такое действие мелатонин оказывает через MTR1 рецепторы и сигнальные пути реализации этого эффекта были показаны в исследованиях с эстроген-зависимыми опухолями молочной железы[20]. Во-вторых, мелатонин способен подавлять стероидогенез напрямую через воздействие на цАМФ, что приводит к изменению экспрессии генов ответственных за синтез стероидных гормонов, в частности эстрогенов[58]. Кроме того, в некоторых исследованиях показано повышение уровней прогестерона при введении определенных доз мелатонина[58].

S. Paul и соавторы в исследовании показали роль мелатонина в профилактике и регрессии эндометриоза у мышей[46]. Они идентифицировали новый диагностический маркер, матриксные металлопротеиназы (ММП-9) / тканевой ингибитор металлопротеиназы (ТИМР-1) в оценке прогрессирования и тяжести заболевания[46]. Это исследование показало, что введение мелатонина (48 мг / кг, внутривнутрибрюшинно) замедляет перекисное окисление липидов и окисление белка при перитонеальном эндометриозе. Мелатонин также снижает активность и экспрессию proMMP-9 и увеличивает экспрессию TIMP-1 и TIMP-3[46]. TIMP-3 также является регулятором воспаления вследствие ингибирования TNF- $\alpha$ [15]. Кроме того, по данным некоторых авторов TIMP-3 также является индуктором апоптоза, и увеличение экспрессии

данных молекул может приводить к регрессии очагов эндометриоза[15]. Эти данные указывают на роль мелатонина в предотвращении и индуцировании регресса эндометриоза посредством регуляции MMP.

Влияние мелатонина на окислительно-восстановительный потенциал клеток является важной частью в регулировании деятельности матриксных металлопротеиназ (MMP). Вестерн-иммуноблоттинг анализ показал, что эффект мелатонина как ингибитора сосредоточен на активности и экспрессии MMP2, MMP3 и MMP9. Этот эффект опосредован повышенной экспрессии рецепторов MT1[46].

В другом исследовании, А. Schwertner и соавторы в 2013 году опубликовали данные исследования, которое показало, что мелатонин вызывает регрессию очагов эндометриоза по сравнению с плацебо-группой, которое не только статистически значимо, но также может быть клинически значимым[52]. Кроме того, это исследование показало, что лечение мелатонина было связано с улучшением качества сна и снижением уровня BDNF. Этот вывод наводит на мысль, что мелатонин оказывает прямое воздействие на пути боли или на уровни сигнальных химических веществ, которые регулируют боль[52].

BDNF – нейротрофический фактор мозга, экспрессируется в головном и спинном мозге и является регулятором воспалительной боли и вторичной гипералгезии[39]. Изменение уровней BDNF наблюдается как при острой, так и при хронической боли. Рецепторы мелатонина, расположенные в префронтальной коре воздействуют на уровни экспрессии нейротрофического фактора мозга, и тем самым регулируют ноцицептивную реакцию и память о боли[39]. Такой эффект мелатонина может положительно влиять на уменьшение хронической тазовой боли у пациенток с НГЭ.

Мелатонин является избирательным ингибитором ЦОГ-2, тем самым он угнетает выработку простагландинов и оказывает противовоспалительный эффект[18]. Такой эффект является одной из терапевтических мишеней в лечении эндометриоза [9].

### **1.5. Медикаментозное лечение эндометриоза**

Несмотря на многочисленные исследования на данный момент не разработано универсальной схемы медикаментозной терапии эндометриоза, она остается неспецифической и в основном направлена на уменьшение выраженности имеющихся симптомов [7]. В настоящее время не существует метода лечения, который гарантировал бы больным продолжительную ремиссию [7,14]. В итоге, цели медикаментозной терапии сводятся к уменьшению болевого синдрома, повышению фертильности женщин и снижению риска рецидива заболевания[7,27,51]. Гормональная терапия в настоящее время является основой лечения эндометриоза, она достаточно эффективна, безопасна и служит профилактикой рецидивирования и прогрессирования заболевания [27]. К тому же, терапия гормональными препаратами способствует сохранению и повышению фертильности пациенток [7]. Такие препараты подавляют синтез эстрогенов, уменьшают кровотечение, а также способствуют атрофии эндометриодных гетеротопий, создавая состояние функционального покоя яичников[7,14,27,51,56].

Агонисты гонадотропин-рилизинг гормона (Гн-РГ) (золадекс, бусерелин, синарел, диферелин, люкрин). Механизм действия таких препаратов основан на блокировании гипоталамо-гипофизарной, что приводит к гипоэстрогенному состоянию, сопровождающемуся атрофическими изменениями очагов эндометриоза[7,14,27,51]. На фоне

лечения агонисты Гн-РГ в первую очередь исчезает дисменорея, затем тазовые боли, через 3-4 месяца – диспареуния[27].

Лечение агонистами Гн-РГ вызывает ряд побочных эффектов, связанных с состоянием «псевдоменопаузы»: приливы, потливость, сухость влагалища, смена настроений, головная боль. С целью уменьшения таких нежелательных реакций можно проводить комбинированное лечение агонисты Гн-РГ с заместительной гормональной терапией (add-back терапия)[7]. Продолжительность курса лечения агонисты Гн-РГ обычно составляет не более 6 месяцев[7,14,27,51].

Антигонадотропины. К этой группе относятся препараты даназол. Антигонадотропины подавляют пиковый выброс ФСГ и ЛГ, это приводит к угнетению функции яичников, а, следовательно, к подавлению овуляции и синтеза эстрогенов. В результате развивается аменорея и атрофические процессы в эндометрии и гетеротопиях [7,14,27,51]. Лечение антигонадотропинами проводят в течении 4-6 месяцев[7]. Побочные эффекты антигонадотропинов связаны с андрогенным эффектом: акне, себорея, гирсутизм, огрубение голоса[7].

Прогестагены. Препараты этой группы существуют в формах как для перорального приема (оргаметрил, диеногест), так и для парентерального применения (внутриматочная система с левоноргестрелом) [7]. Механизм действия прогестагенов основан на блокировании гипоталамо-гипофизарной оси, что приводит к уменьшению секреции эстрогенов яичниками, а также они оказывают прямое антипролиферативное действие на эндометриоидную ткань[7,14,27,51].

Согласно клиническим рекомендациям, препараты этой группы можно назначать в режиме монотерапии, в непрерывном режиме и в достаточно высоких дозах[7]. Прием прогестагенов позволяет добиться

уменьшения боли, регресса очагов эндометриоза и предотвратить развитие новых поражений[14,51].

Комбинированные контрацептивы. Комбинированные оральные контрацептивы относятся к препаратам первого выбора у больных эндометриозом[7]. Как и большинство препаратов для лечения эндометриоза механизм их действия заключается в блокаде гипоталамо-гипофизарной оси, что сопровождается аменореей. Преимуществом применения КОК является низкая частота возникновения побочных эффектов, возможность их длительного приема[7,14,27,56]. Препараты данной группы достаточно эффективно воздействуют на болевой синдром и дисменорею, но их применение неэффективно при развитии рецидива заболевания и при тяжелых формах эндометриоза, что ограничивает их назначение[27]. Предпочтение в выборе следует отдавать монофазным препаратам с низким содержанием эстрогенов или высоким содержанием прогестагенов[14].

Ингибиторы ароматазы (летрозол, анастразол, аримидекса) подавляют превращение андростендиона и тестостерона в эстрон и эстрадиол. В результате уменьшается продукция эстрогенов, в том числе и в очагах эндометриоза, приводя к атрофии и прекращению циклических изменений. Применение ингибиторов ароматазы должно проводиться на фоне уже выключенной функции яичников, в противном случае это будет приводить к увеличению ФСГ и образованию фолликулярных кист яичников[7]. Клинические исследования показывают эффективность комбинированного лечения с включением в схему ингибиторов ароматаз при тяжелых формах эндометриоза, с выраженным болевым синдромом, который не купируется препаратами первой линии[7,14,27,51,56].



## 1.6. Перспективные направления лечения эндометриоза

Селективные модуляторы рецепторов прогестерона (мифепристон, улипристала ацетат). Препараты данной группы обладают антипролиферативным действием на эндометриоидную ткань, уменьшают продукцию простагландинов без риска гипоэстрогенных побочных эффектов[14,27,51]. Мифепристон наиболее известен как препарат для медикаментозного аборта. В клинических исследованиях показано, что применение мифепристона значительно уменьшает симптомы эндометриоза (тазовые боли, дисменорея, диспареуния) и приводит к регрессу очагов, не вызывая при этом к состоянию гипоэстрогении[27]. Эффективность препарата была достоверно выше по сравнению с группой плацебо.

Блокаторы фактора некроза опухоли-альфа (этанерцепт, инфликсимаб). В исследованиях показано, что ингибиторы TNF-альфа – блокируют экспрессию цитокинов, участвующих в патогенезе эндометриоза и ингибиторов апоптоза[14,27,56]. В рандомизированных исследованиях с экспериментальной моделью эндометриоза у крыс и бабуинов показали значительное уменьшение сывороточных уровней VEGF, IL-6, TNF-а, а также регресс эндометриоидных очагов, по сравнению с контрольной группой[56].

Ингибиторы ядерного фактора «каппа-би». Большинство исследований этой группы в качестве потенциальных фармакологических препаратов при эндометриозе проводились *in vitro* [27,56]. Но данные эксперимента по применению препарата у крыс с индуцированным эндометриозом брюшины показывают значительный регресс поражений как по объему, так и по степени васкуляризации, что позволяет рассматривать возможность дальнейшего исследования этого препарат у людей[56].

Статины (аторвастатин, симвастатин). Статины эффективны в ингибировании механизмов ангиогенеза и пролиферации. Исследования показали, что аторвастатин и симвастатин эффективно приводят к уменьшению количества и размеров экспериментально индуцированных эндометриоидных имплантов[27,56]. Кроме того, было отмечено ингибирование MMP-3 при добавлении к культуре ткани симвастатина[56]. А применение аторвастатина значительно ингибировало экспрессию ЦОГ-2 и VEGF. Но применение статинов остается сомнительным, потому как эффективность они показывают только при внутрибрюшинном введении[27].

Ингибиторы матриксных металлопротеиназ. В исследованиях на животных отмечено более низкое прогрессирование эндометриоза по сравнению с контрольной группой[27,56]. Но в модели эндометриоза у крыс при применении ингибиторов матриксных металлопротеиназ обнаружили уменьшение количество фолликулов в яичниках и уменьшение количество зигот при наступлении беременности[56]. Данные факт ограничивает возможное применение данной группы препаратов у женщин репродуктивного возраста.

Поскольку уже накоплены данные о повышенной экспрессии у больных эндометриозом антиапоптического гена Bcl-2, еще одно направление в исследовании новых препаратов для лечения эндометриоза – это молекулы, которые могут изменять экспрессию антиапоптических генов[56].

Мелатонин. На данный момент проведено несколько исследований, целью которых было показать эффективность мелатонина при лечении эндометриоза. В двух исследованиях, в 2008 году (Güney M, Oral B, Karahan N, Mungan T.) и 2010 году (Koc O, Gunduz B, Torcuoglu A, Bugdayci G, Yilmaz F, Duran B.) опубликовали данные исследований, в которых они

показали уменьшение размеров очагов эндометриоза по сравнению с группой контроля при введении мелатонина внутривнутрибрюшинно[29,38]. Кроме того, они определяли некоторые биохимические маркеры, отмечались более низкие показатели малондиальдагида (который является маркером окислительного стресса) и более высокую активность ферментов антиоксидантной системы супероксиддисмутазы и каталазы[29,38]. О. Кос и соавторы также показали увеличение объема гетеротопий у крыс, у которых была проведена пинеалэктомия[38].

В другом исследовании 2010 года группа авторов (Yildirim G, Attar R, Ozkan F, Kumbak B, Ficicioglu C, Yesildaglar N.) сравнивали эффективность мелатонина и летрозола (ингибитора ароматазы). Авторы отмечают более выраженный регресс очагов эндометриоза при применении мелатонина, и снижение частоты рецидивов в группе мелатонина при отмене препаратов[65].

В 2013 году опубликованы данные 8-недельного рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования [52]. Авторы показывают статистически значимое снижение хронической тазовой боли, ассоциированной с эндометриозом у группы, принимающей мелатонин по сравнению с группой контроля. Кроме того, полученные данные результаты показали, что лечение мелатонином снижает уровень нейротрофического фактора мозга (BDNF)[52].

Одна из целей лечения эндометриоза – повышение фертильности женщин. Однако гормональное лечение приводит к блокированию гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси и подавлению овуляции, что препятствует наступлению беременности на фоне терапии[23]. Кроме того, рядом исследователей показано, что временное подавление овуляции не приводит к повышению частоты наступления беременности без применения методов вспомогательных репродуктивных технологий[14,23]. В тоже

время, мелатонин не оказывает контрацептивного действия, не обладает тератогенным эффектом и при этом он эффективно уменьшает клинические проявления заболевания.

Таким образом, для более полноценной оценки потенциальных преимуществ мелатонина в различных клинических условиях необходимы дополнительные исследования с большим числом пациентов, и необходимы дальнейшие исследования, прежде чем можно будет сделать окончательные выводы относительно мелатонина и лечения эндометриоза. Поскольку известны механизмы влияния мелатонина на матриксные металлопротеиназы и тканевые ингибиторы протеиназ возможно уточнение данных об изменении активности этих маркеров в гетеротопиях при лечении мелатонина[38,56,65]. Кроме того, имеются данные о влиянии мелатонина на экспрессию некоторых генов через MTR1 и MTR2 рецепторы, поэтому очевидна необходимость определения экспрессии данных рецепторов в эндометриоидных гетеротопиях и нормальном эндометрии[29,38,56,65].

## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 10 женщин с диагнозом наружный генитальный эндометриоз, группу контроля составили 4 женщины, у которых при обследовании не выявлено гинекологической патологии.

Группу контроля составили 4 здоровые женщины, находящиеся в научно-поликлиническом отделении ФГБНУ «НИИ АГиР имени Д.О. Отта». Критерии включения в группу контроля явились: возраст от 18 до 45 лет, отсутствие клинических признаков НГЭ, отсутствие указаний на прием гормональных препаратов на момент исследования и в течении предшествующих 12 месяцев.

Основную группу составили 10 женщин, с диагнозом наружный генитальный эндометриоз I-IV степени распространенности. Степень распространенности НГЭ определялась по пересмотренной классификации Американского общества фертильности (rAFS)[12]. Все женщины основной группы находились на стационарном лечении в отделении оперативной гинекологии НИИ АГиР имени Д.О. Отта. Критериями включения в основную группу явились: женщины репродуктивного возраста (18-45 лет), отсутствие тяжелой соматической патологии, верификация диагноза интраоперационно и при гистологическом исследовании. Критерии исключения: острые воспалительные заболевания женских половых органов на момент включения в исследование, прием гормональных препаратов в течении предшествующих 12 месяцев и на момент включения в исследование, беременность на момент включения в исследование и в течении предыдущего года.

При обследовании женщин применяли клинические и морфологические методы исследования.

**Клинические методы** включали анализ анамнестических данных, при котором особое внимание уделяли наличию в анамнезе женщин данным

акушерско-гинекологического анамнеза, выраженности клинических симптомов наружного генитального эндометриоза. Также изучали данные протоколов операций, для установление стадии эндометриоза. При этом оценивали общее состояние органов малого таза и брюшины.

**Морфологические методы** включали гистологическое и иммуногистохимическое исследование ткани эндометрия и эндометриоидных гетеротопий. Исследование экспрессии Melatonin Receptor 1A и Melatonin Receptor 1B проводили методом конфокальной микроскопии. В качестве первичных антител использовались следующие антитела: Anti-Melatonin Receptor 1A antibody ab87639, Anti-Melatonin Receptor 1B antibody ab92239. В качестве вторичных антител использовались антитела конъюгированные с флуорохромом – Alexa Flour 488 и Alexa Flour 647. Докрашивание ядер проводилось с использованием Hoechst 33342. Сканирование образцов выполнялось на микроскопе Olympus Flour View 1000 (Япония). При анализе экспрессии Melatonin Receptor 1A и Melatonin Receptor 1B определяли относительную площадь и среднюю яркость экспрессии. Анализ данных проводили в программе Морфология 5.2 (Видеотест).

Статистическую обработку данных проводили при помощи программы Statistica v.10.0. Данные представлены в виде  $M \pm SE$  (средняя арифметическая  $\pm$  ошибка средней арифметической). Статистическую значимость различий между количественными критериями оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Непараметрический анализ корреляций между двумя количественными признаками проводили при помощи критерия корреляции Спирмена. Критический уровень достоверности нулевой гипотезы принимали равным вероятности не менее 95% ( $p \leq 0,05$ ).

Составление специальных электронных таблиц и оформление, а также статистическую обработку материала проводили на ЭВМ с помощью программного пакета «Microsoft Office 2013».

## Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1. Клиническая характеристика обследованных женщин

В таблице 1 представлена клинико-анамнестическая характеристика всех женщин, включенных в исследование

Таблица 1

#### Клиническая характеристика женщин основной группы и группы контроля

	Основная группа	Контрольная группа
Возраст, лет	29,40 ± 1,31	32,5 ± 3,32
Возраст менархе, лет	12,9 ± 0,58	13,25 ± 0,55
Продолжительность менструального кровотечения, дней	5,4 ± 0,28	5,25 ± 0,29

Возраст женщин основной группы в среднем составил 29,40±1,31 лет (от 24 до 36 лет), контрольной группы 32,5±3,32 лет (от 29 до 41 года). Достоверных различий по возрасту пациенток группы контроля и основной группы не выявлено ( $t=1,71$ ;  $p>0,05$ ). Средний возраст менархе у женщин основной группы 12,9±0,58 лет, у женщин группы контроля 13,25±0,55 лет. Достоверных различий по возрасту наступления менархе в основной группе и группе контроля также не выявлено ( $t=0,44$ ;  $p>0,05$ ). Достоверных различий по продолжительности менструального кровотечения у женщин основной группы и группы контроля не выявлено ( $p>0,05$ ).



**Распределение женщин основной группы по степени распространения НГЭ**

	n=10	%
Доля женщин с НГЭ I степени	2	20
Доля женщин с НГЭ II степени	2	20
Доля женщин с НГЭ III степени	2	20
Доля женщин с НГЭ IV степени	4	40

В совокупности обследованных женщин, наибольшую часть составили пациентки с НГЭ IV степени (40%). В равных долях (20%) представлены женщины с I, II и III степенью НГЭ. При большой оценке распространенности эндометриоза получены значения от 3 до 147 баллов, и среднее значение составило  $62,67 \pm 19,77$  баллов.

**Клинико-анамнестическая характеристика женщин основной группы**

	n=10	%
Доля женщин с нарушением менструального цикла	5	50
Доля женщин с выраженным спаечным процессом (3-4 степени)	4	40
Доля женщин с наличием эндометриoidных кист одного или двух яичников	5	50
Доля женщин с выраженным болевым синдромом	4	40

Как следует из таблицы 3, среди женщин, включенных в исследование, нарушения менструального цикла выявлено у 50% больных, у 40% были жалобы на выраженный болевой синдром. У 50% по данным анамнеза и ультразвуковых исследований выявлены кисты яичников. В 80% случаев отмечено поражение одного яичника, в 20% поражены оба яичника. Размер кист варьировал от 1,0 до 4,5 см и в среднем составил  $3,0 \pm 0,57$  см. При оперативном вмешательстве у 5 (50%) женщин был обнаружен сопутствующая спаечная болезнь органов малого таза, у 4 из них выраженный спаечный процесс 3-4ст. При интраоперационном

обследовании поверхностные гетеротопии выявлены у 40% больных, глубокие у 60%. У 20% больных выявлен ретроцервикальный эндометриоидный инфильтрат. У одной больной (10%) выявлена полная облитерация позадиматочного пространства. Экстрагенитальный эндометриоз наблюдался у одной больной (10%) – эндометриоз аппендикса.

Наружный генитальный эндометриоз сочетался с аденомиозом у 1 больной (10%), с воспалительными заболеваниями придатков матки в 10%, с врожденными аномалиями матки в 10%, с миомой матки у 10%.

Таблица 4

#### **Распределение женщин основной группы по первичности выявления заболевания**

	n=10	%
НГЭ, впервые выявленный	7	70
НГЭ, рецидив	3	30

Как показано в таблице 4, среди обследованных женщин с рецидивом НГЭ было 30% пациенток. С впервые выявленным эндометриозом 70%.

Поскольку одним из основных симптомов НГЭ является тазовые боли, мы проанализировали частоту выраженного болевого синдрома при различной степени НГЭ.

**Распределение пациенток основной группы с выраженным болевым синдромом по стадии НГЭ**

	<b>n = 4</b>	<b>%</b>
I степень	<b>1</b>	<b>25%</b>
II степень	<b>1</b>	<b>25%</b>
III степень	<b>1</b>	<b>25%</b>
IV степень	<b>1</b>	<b>25%</b>

Из таблицы 5 следует, среди женщин с выраженным болевым синдромом в равных долях встречаются женщины с разной степенью распространенности НГЭ. Таким образом, степень НГЭ не влияет на выраженность болевого синдрома.

Одна из наиболее частых причин обращения больных эндометриозом за врачебной помощью – бесплодие. При некоторых формах эндометриоза с тяжелыми поражениями органов малого таза, эндометриоз является непосредственной причиной, приводящей к бесплодию.

**Распределение пациенток основной группы по репродуктивному анамнезу**

		n=10	%
Всего женщин с бесплодием		8	80
Количество женщин с первичным бесплодием		6	60
Женщины с беременностью в анамнезе 4 женщины, (40%)	Беременность закончилась родами	2	20
	Беременность закончилась самопроизвольным выкидышем	2	20

Из таблицы 6 следует, среди обследованных женщин основной группы у 4 женщин (40%) в анамнезе есть беременности, у двоих из них закончились родами. У двоих женщин, (20%) беременность закончилась самопроизвольным выкидышем. Первичное бесплодие у 6 женщин (60%).

**Распределение пациенток основной группы с бесплодием по степени распространенности НГЭ**

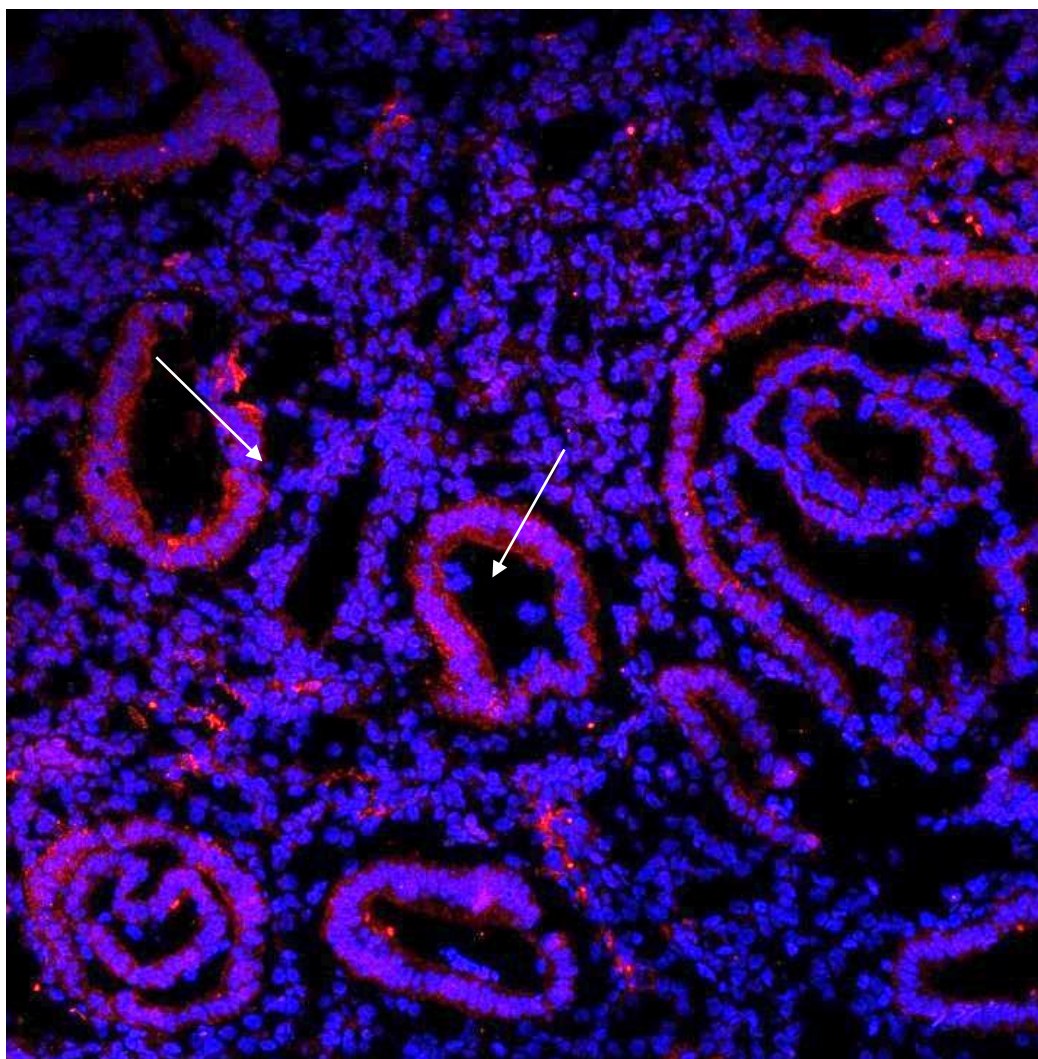
	n=8	%
I степень	2	25,0
II степень	2	25,0
III степень	1	12,5
IV степень	3	37,5

Мы провели анализ по распределению пациенток с бесплодием по степеням распространенности НГЭ. Как видно из таблицы, среди пациенток с бесплодием, у 37,5% диагностирован НГЭ 4ст, в равных долях (25,0%) НГЭ 1ст и 2ст. В 12,5% случаев – НГЭ 3ст.

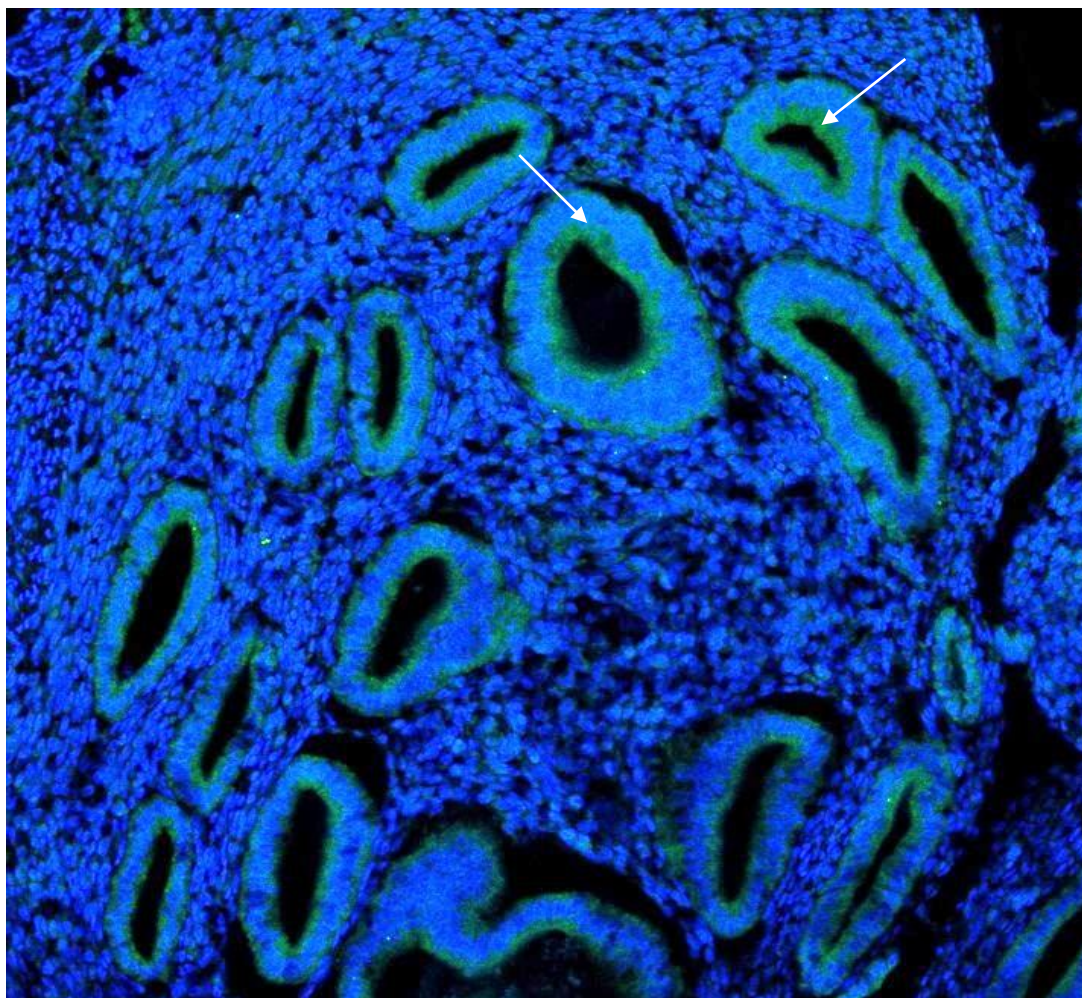
Все операции больным выполнены лапароскопическим доступом. При обнаружении эндометриoidных гетеротопий проводили их иссечение и коагуляцию поверхностных очагов. При наличии кист яичника проводили цистэктомия, 50% больных. При выявлении ретроцервикальных инфильтратов проводили их иссечение. Адгезиолизис во время операции выполнен у 50% больных, противоспаечные барьеры применялись у 60%. У одной больной (10%) выполнена миомэктомия, удаление рудиментарного рога матки и аппендэктомия.

### **3.2. Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B в ткани эндометрия и эндометриоидных гетеротопий пациенток основной и контрольной групп**

На рисунках 1 и 2 представлены препараты эндометрия женщин группы контроля. Маркеры Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B определяется преимущественно по краю эндометриальных желез.



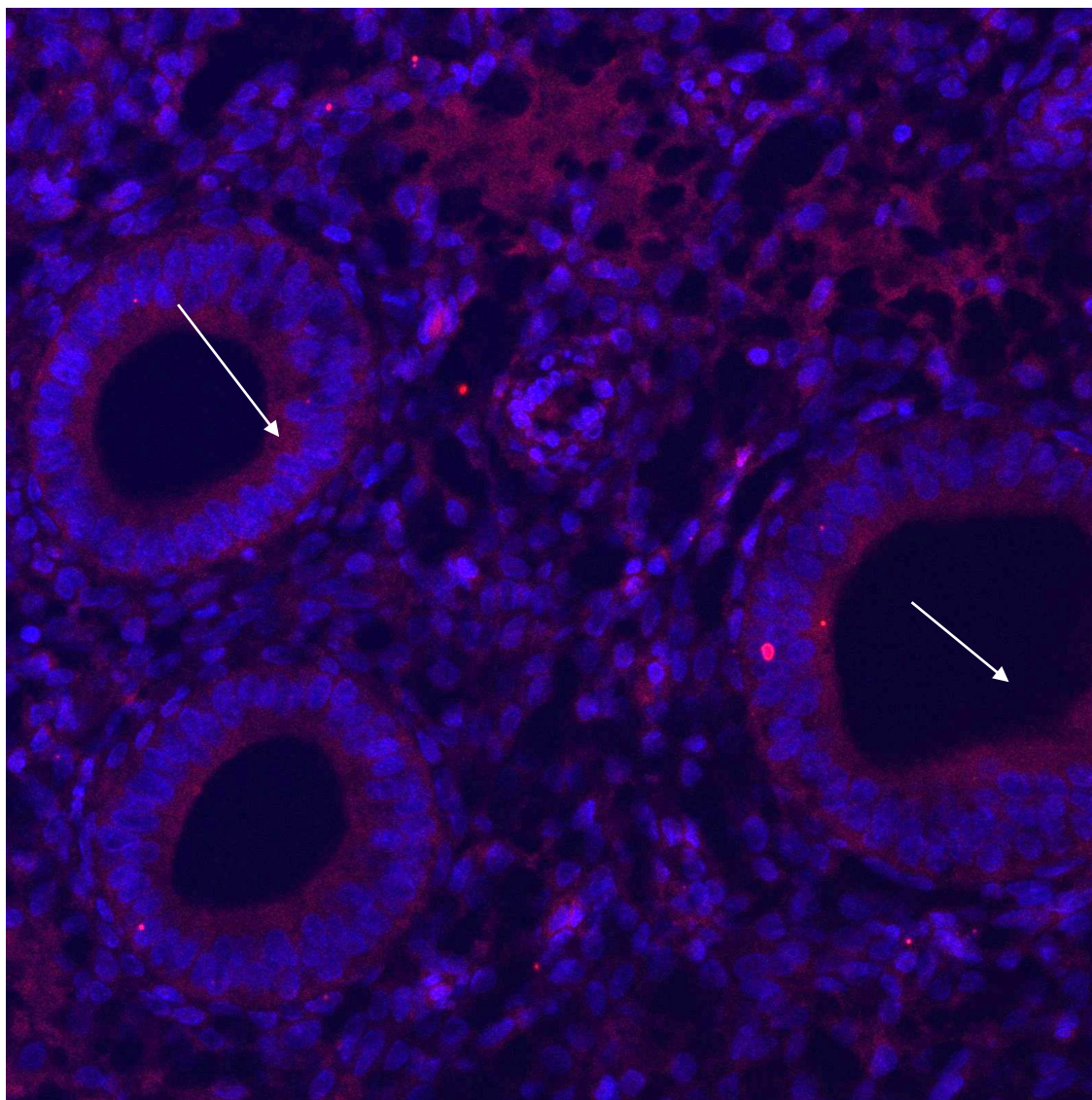
**Рис. 1. Receptor Melatonin 1A в эндометриальных железах эндометрия женщины группы контроля, полученной после диагностической гистероскопии. Стрелками указана экспрессия Receptor Melatonin 1A. Окраска: иммуногистохимическая реакция на Receptor Melatonin 1A.**



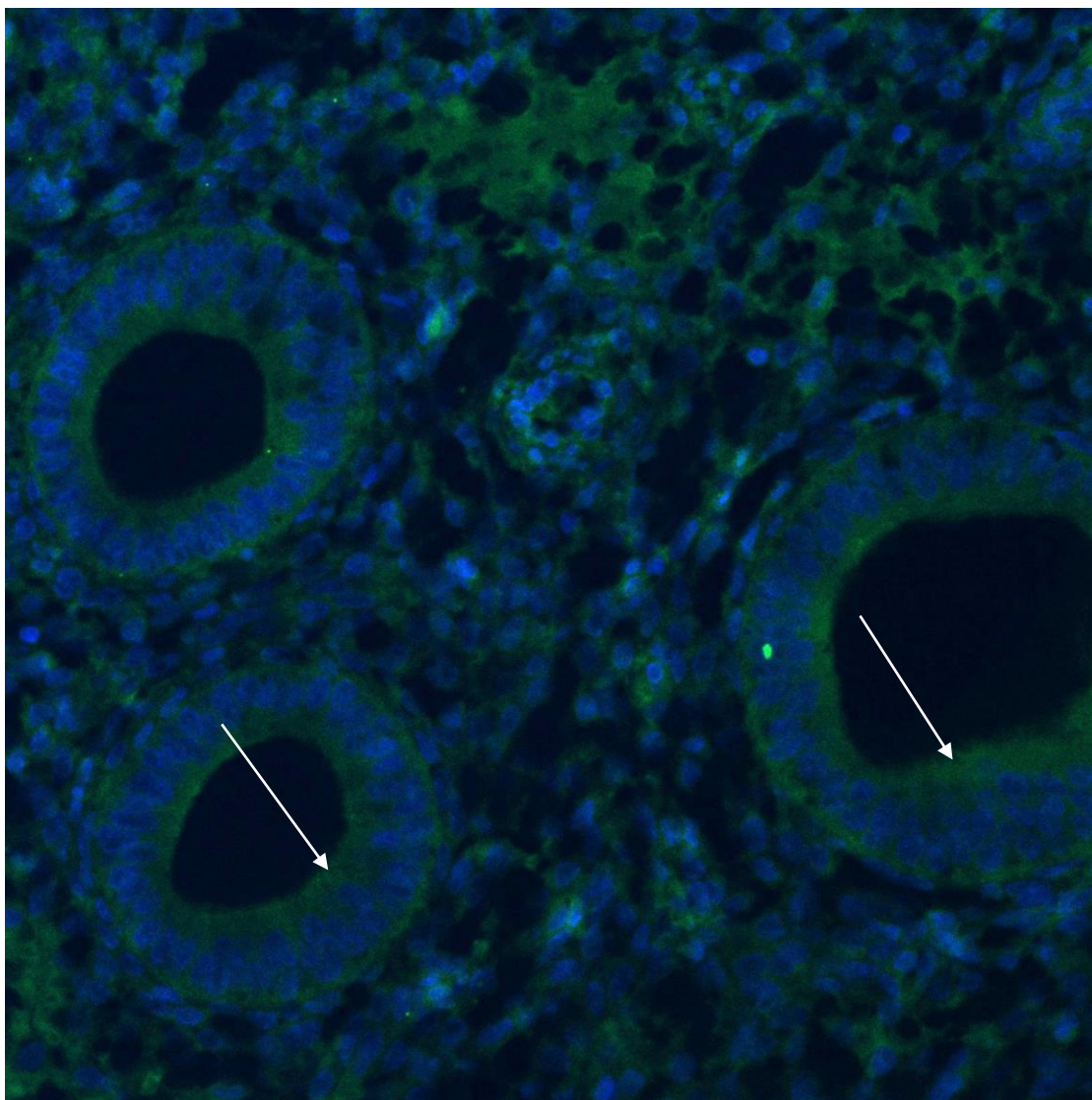
**Рис. 2. Receptor Melatonin 1B в эндометриальных железах эндометрия женщины группы контроля, полученной после диагностической гистероскопии. Стрелками указана экспрессия Receptor Melatonin 1B. Окраска: иммуногистохимическая реакция на Receptor Melatonin 1B.**

На рисунках 3 и 4 представлены препараты эндометрия женщин основной группы. Маркеры Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B определяется преимущественно по краю эндометриальных желез.



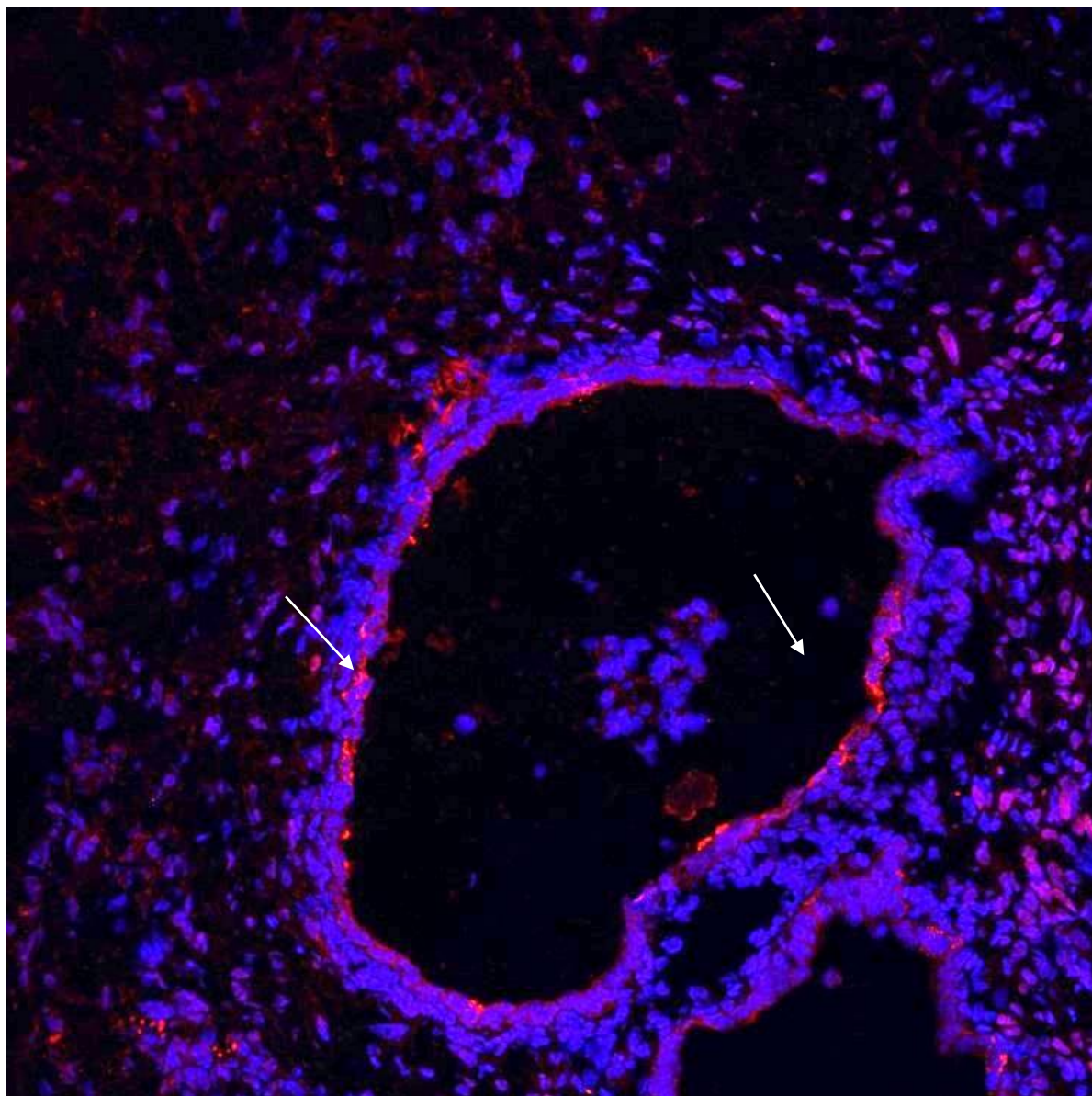


**Рис. 3. Receptor Melatonin 1A в эндометриальных железах эндометрия женщины основной группы, полученной после диагностической гистероскопии. Стрелками указана экспрессия Receptor Melatonin 1A. Окраска: иммуногистохимическая реакция на Receptor Melatonin 1A.**

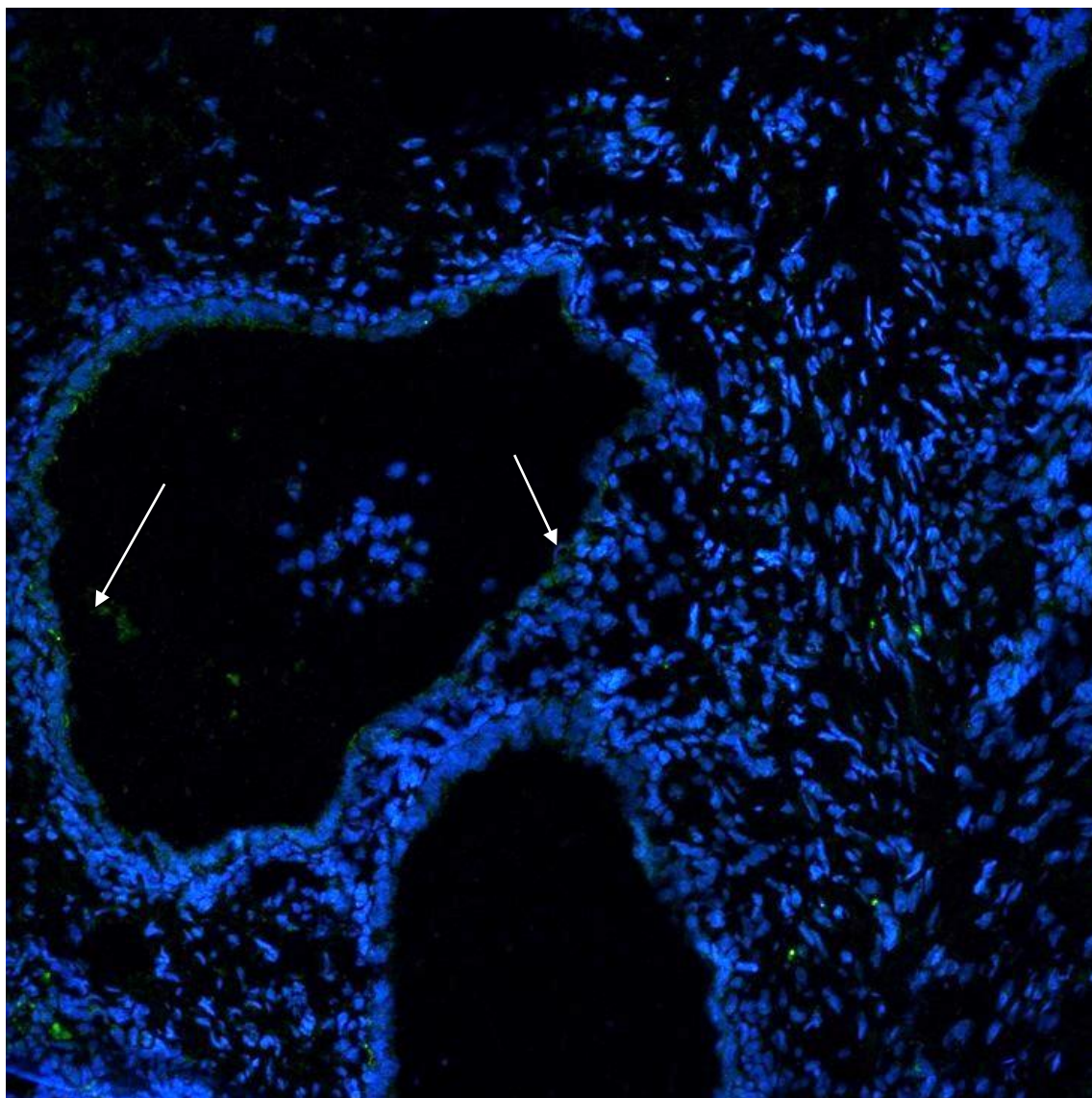


**Рис. 4. Receptor Melatonin 1B в эндометриальных железах эндометрия женщины основной группы, полученной после диагностической гистероскопии. Стрелками указана экспрессия Receptor Melatonin 1B. Окраска: иммуногистохимическая реакция на Receptor Melatonin 1B.**

На рисунках 5 и 6 представлены препараты эндометриоидных гетеротопий женщин основной группы. Маркеры Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B определяется преимущественно по краю эндометриальных желез.



**Рис. 5. Receptor Melatonin 1A в эндометриальных железах гетеротопии женщины основной группы, полученной во время лапароскопической операции. Стрелками указана экспрессия Receptor Melatonin 1A. Окраска: иммуногистохимическая реакция на Receptor Melatonin 1A.**



**Рис. 6. Receptor Melatonin 1B в эндометриальных железах гетеротопии женщины основной группы, полученной во время лапароскопической операции. Стрелками указана экспрессия Receptor Melatonin 1B. Окраска: иммуногистохимическая реакция на Receptor Melatonin 1B.**

Проведенный анализ результатов микроскопии эндометрия женщин основной группы и группы контроля, с анализом экспрессии Receptor Melatonin 1A не выявил достоверные различия показателей относительной площади экспрессии между ними ( $U=10$ ,  $p>0,05$ ), средней яркости экспрессии ( $U=17$ ,  $p>0,05$ ), и оптической плотности экспрессии ( $U= 18$ ,  $p>0,05$ ) между ними. Но отмечается тенденция к снижению относительной

площади экспрессии данного рецептора в эндометрии здоровых женщин. Результаты этого анализа представлены в таблице 8 и диаграмме 1.

Таблица 8

**Иммуногистохимические показатели экспрессии Receptor Melatonin 1A в эндометрии женщин группы контроля и основной группы**

Показатели экспрессии	Группы пациенток	
	основная группа	группа контроля
Относительная площадь экспрессии (%)	34,02 ± 3,92	20,08 ± 2,44
Средняя яркость экспрессии (у.е.)	12,93 ± 2,53	14,21 ± 1,68
Оптическая плотность экспрессии (у.е.)	1,36 ± 0,09	1,44 ± 0,11

Диаграмма 1

**Иммуногистохимические показатели экспрессии Receptor Melatonin 1A в эндометрии женщин группы контроля и основной группы**



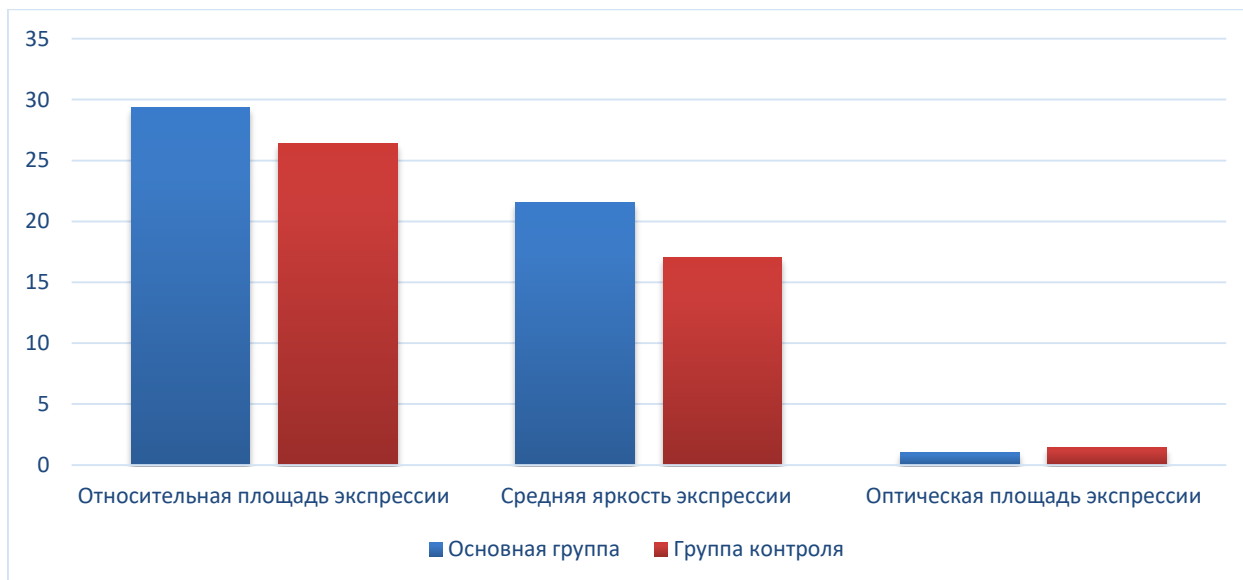
Проведенный анализ результатов микроскопии эндометрия женщин основной группы и группы контроля, с анализом экспрессии Receptor Melatonin 1B не выявил достоверные различия показателей относительной площади экспрессии ( $U= 5, p>0,05$ ), средней яркости экспрессии ( $U=15, p>0,05$ ) и оптической плотности экспрессии ( $U= 25, p>0,05$ ) между ними. Результаты этого анализа представлены в таблице 9 и диаграмме 2.

Таблица 9

**Иммуногистохимические показатели экспрессии Receptor Melatonin 1B в эндометрии женщин группы контроля и основной группы**

Показатели экспрессии	Группы пациенток	
	основная группа	группа контроля
Относительная площадь экспрессии (%)	$29,33 \pm 2,27$	$26,41 \pm 0,81$
Средняя яркость экспрессии (у.е.)	$21,52 \pm 2,96$	$17,01 \pm 2,13$
Оптическая плотность экспрессии (у.е)	$1,02 \pm 0,1$	$1,29 \pm 0,11$

**Иммуногистохимические показатели экспрессии Receptor Melatonin 1B в эндометрии женщин группы контроля и основной группы**



Проведенный анализ результатов микроскопии гетеротопии женщин основной группы с анализом экспрессии Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B не выявил достоверные различия показателей относительной площади экспрессии ( $U=28, p>0,05$ ), и средней яркости экспрессии ( $U=13, p>0,05$ ) между экспрессией Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B. Результаты этого анализа представлены в таблице 10.

**Иммуногистохимические показатели экспрессии Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B в эндометриоидных гетеротопиях женщин основной группы**

Показатели экспрессии	Группы пациенток	
	Receptor Melatonin 1A	Receptor Melatonin 1B
Относительная площадь экспрессии (%)	24,12 ± 2,94	31,46 ± 2,64
Средняя яркость экспрессии у.е.	8,69 ± 0,48	15,81 ± 1,14
Оптическая плотность экспрессии (у.е)	1,5 ± 0,05	1,22 ± 0,04

Далее был проведен статистический анализ на выявление достоверности разности величин между экспрессией рецепторов Receptor Melatonin 1A в гетеротопиях и эндометрии женщин группы контроля. Анализ не выявил достоверные различия показателей относительной площади экспрессии ( $U=17$ ,  $p>0,05$ ), средней яркости экспрессии ( $U=35$ ,  $p>0,05$ ) и оптической плотности экспрессии ( $U=17$ ,  $p>0,05$ ) между ними. Такой же анализ был проведен для оценки достоверности разности величин в экспрессии Receptor Melatonin 1B в гетеротопиях и эндометрии группы контроля. Анализ не выявил достоверные различия показателей относительной площади экспрессии ( $U=15$ ,  $p>0,05$ ), средней яркости экспрессии ( $U=15,5$ ,  $p>0,05$ ) и оптической плотности экспрессии ( $U=24$ ,  $p>0,05$ ) между ними.



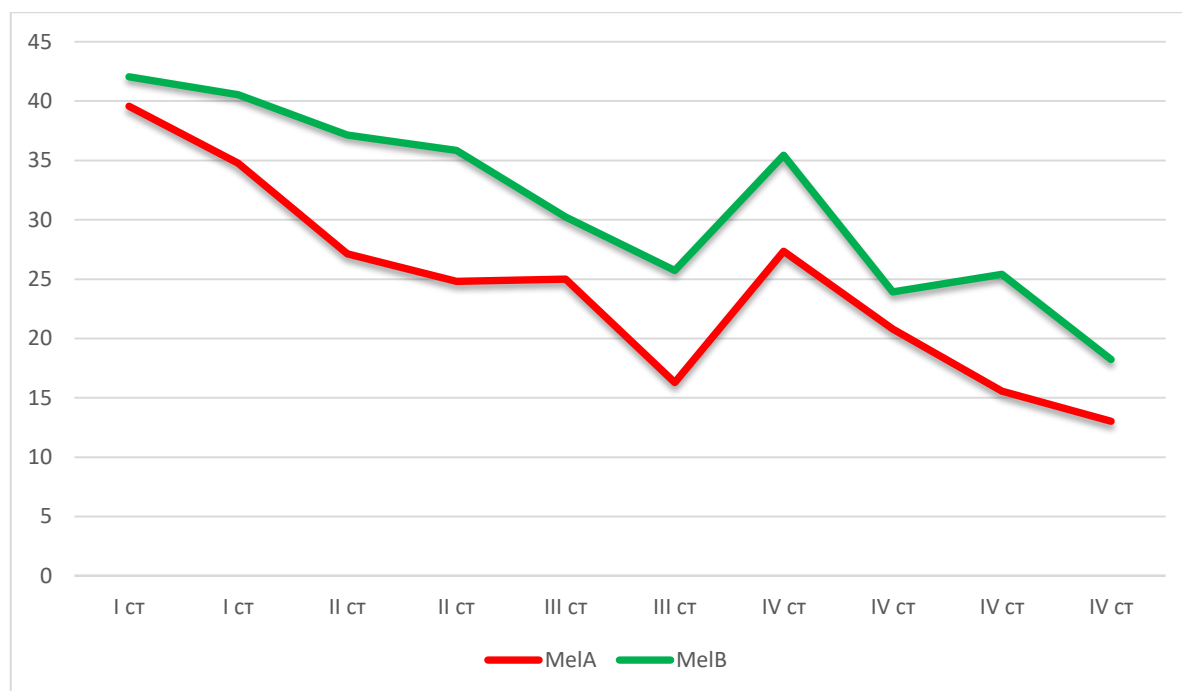
Далее был проведен корреляционный анализ у пациенток основной группы между показателями относительной площади экспрессии Receptor Melatonin 1A, Receptor Melatonin 1B в гетеротопиях со степенью распространенности НГЭ.

Receptor Melatonin 1A. Была выявлена обратная корреляционная зависимость относительной площади экспрессии Receptor Melatonin 1A в ткани эндометриоидной гетеротопии от степени распространенности НГЭ, сила связи по шкале Чеддока - высокая. Коэффициент корреляции Спирмена ( $\rho$ ) равен -0.712 Критическое значение критерия Спирмена при данном числе степеней свободы составляет 0.648,  $r_{набл} < r_{крит}$ , зависимость признаков статистически не значима ( $p > 0,05$ ).

Receptor Melatonin 1B. Была выявлена обратная корреляционная зависимость относительной площади экспрессии Receptor Melatonin 1B в ткани эндометриоидной гетеротопии от степени распространенности НГЭ, сила связи по шкале Чеддока - высокая. Коэффициент корреляции Спирмена ( $\rho$ ) равен -0.809 Критическое значение критерия Спирмена при данном числе степеней свободы составляет 0.648,  $r_{набл} < r_{крит}$ , зависимость признаков статистически не значима ( $p > 0,05$ ).

Таким образом, отмечается тенденция к снижению экспрессии рецепторов мелатонина при более выраженной степени распространения НГЭ. Наглядно это представлено на диаграмме 3.

**Зависимость относительной площади экспрессии Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B в ткани эндометриоидной гетеротопии от степени распространенности НГЭ**



**3.3. Обсуждение результатов**

В ходе данного исследования впервые были получены значения относительной площади экспрессии Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B в ткани эндометриоидных гетеротопий, в нормальной эндометрии и эндометрии женщин с диагнозом НГЭ. Было установлено, что площадь относительной экспрессии Receptor Melatonin 1A в среднем составляет  $20,08 \pm 2,44\%$  при средней яркости экспрессии  $14,21 \pm 1,68$ , оптической плотности экспрессии  $1,44 \pm 0,11$  в эндометрии здоровых женщин, а относительная площадь Receptor Melatonin 1B  $26,41 \pm 0,81\%$  при средней яркости экспрессии  $17,01 \pm 2,13$ , оптической плотности экспрессии

1,29 ± 0,11. В эндометрии женщин с НГЭ площадь относительной экспрессии Receptor Melatonin 1A в среднем составляет 34,02 ± 3,92% при средней яркости экспрессии 12,93 ± 2,53, оптической плотности экспрессии 1,36 ± 0,09, а относительная площадь экспрессии Receptor Melatonin 1B 29,33 ± 2,27% при средней яркости экспрессии 21,52 ± 2,96, оптической плотности экспрессии 1,02 ± 0,1. Площадь относительной экспрессии Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B в эндометриоидных гетеротопиях в среднем составляет 24,12 ± 2,94% при средней яркости экспрессии 8,69 ± 0,48, оптической плотности экспрессии 1,5 ± 0,05; и 31,46 ± 2,64% при средней яркости экспрессии 15,8 ± 1,14, оптической плотности экспрессии 1,22 ± 0,04 соответственно. Статистическая обработка данных выявила, что показатели экспрессии Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B в эндометрии здоровых женщин и гетеротопиях женщин с НГЭ не имеют достоверных различий, но отмечается тенденция к снижению относительной площади экспрессии Receptor Melatonin 1A в эндометрии здоровых женщин по сравнению с эндометрием женщин с НГЭ. Такой результат можно объяснить механизмами регуляции экспрессии рецепторов мелатонина. В исследованиях показано, что концентрация мелатонина может регулировать функции MTR1A рецептора, при высокой концентрации мелатонина плотность рецептора MTR1A увеличивается, но при этом снижается его аффинность к лиганду[24]. Если предположить, что у женщин, больных НГЭ, синтез мелатонина снижен, то это объясняет причину выявления более низких показателей экспрессии у здоровых женщин.

В данном исследовании мы определяли три показателя экспрессии с целью выделить из них наиболее информативный, который бы отражал изменения экспрессии рецепторов мелатонина у женщин с наружным генитальным эндометриозом. В работе было определено, что средняя

яркость экспрессии и оптическая плотность экспрессии не имели различий, из чего был сделан вывод, что данные показатели являются неинформативными, в отличие от относительной площади экспрессии, для которой была показана вариабельность значений у разных женщин.

Проанализированные данные об экспрессии рецепторов мелатонина в эндометриоидных гетеротопиях у женщин с НГЭ и корреляционный анализ относительной площади экспрессии Receptor Melatonin 1A, Receptor Melatonin 1B с показателем степени распространенности НГЭ позволили установить обратную корреляционную зависимость между этими показателями. И мы показали наличие тенденции к снижению экспрессии Receptor Melatonin 1A, Receptor Melatonin 1B у женщин с более высокой степенью распространенности НГЭ. Это объясняется 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 и к половым гормонам, и к мелатонину.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наружный генитальный эндометриоз является одним из самых значимым заболеваний в гинекологии и репродуктологии. Отсутствие полной и ясной картины патогенеза эндометриоза приводит к тому, что на данный момент нет такого метода, который гарантировал бы полное излечение пациенток. Поэтому поиск новых звеньев патогенеза эндометриоза – это одно из важнейших направлений в исследованиях.

В литературе описывают возможное участие мелатонина в патогенезе эндометриоза. И к настоящему моменту несколько исследователей показывают эффективность применения мелатонина в комплексном лечении эндометриоза[52].

Обнаружение рецепторов мелатонина и в эндометрии, и в эндометриоидных гетеротопиях еще раз доказывает морфологическое сходство этих двух тканей. Выявление Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B в очагах эндометриоза указывает на роль этого гормона в физиологических процессах, таких как регуляция роста и секреторных изменений эндометрия. Выявленная экспрессия рецепторов мелатонина в эндометриоидных гетеротопиях показывает, что действие мелатонина опосредовано не только его системными эффектами, а и воздействием непосредственно на очаг эндометриоза. Таким образом, эффекты мелатонина при НГЭ опосредованы его влиянием на синтез стероидных гормонов, регуляцией экспрессии проапоптотических и антиапоптотических генов, снижением активности матриксных металлопротеиназ, что в конечном итоге будет приводить к регрессу очагов эндометриоза и снижению риска рецидива заболевания. Кроме того, влияние мелатонина на уровни экспрессии нейротрофического фактора мозга, выраженность воспалительной реакции и способность ингибировать ЦОГ-2 оказывает

положительный эффект на клинические проявления заболевания, такие как хроническая тазовая боль, и значительно улучшает качество жизни больных с НГЭ. Данные, полученные в ходе этого исследования, доказывают, что лечение мелатонином больных НГЭ - патогенетически обоснованный метод терапии. В тоже время, мелатонин не оказывает контрацептивного действия, не обладает тератогенным эффектом и при этом он эффективно уменьшает клинические проявления заболевания.

## ВЫВОДЫ

1. У больных наружным генитальным эндометриозом в эндометрии и очагах эндометриоза обнаруживаются оба типа рецепторов к мелатонину.
2. Выявлена экспрессия Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B в эндометрии у здоровых женщин.
3. Не выявлено достоверно значимых различий относительной площади, средней яркости и оптической плотности экспрессии Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B в эндометрии женщин с диагнозом НГЭ и здоровых женщин соответственно.
4. Сравнительный анализ показал, что относительная площадь, средняя яркость и оптическая плотность экспрессии Receptor Melatonin 1A и Receptor Melatonin 1B в эндометрии здоровых женщин и гетеротопиях женщин с НГЭ достоверных различий не имеют.
5. Отмечается тенденция к снижению экспрессии рецепторов мелатонина при более распространенной степени НГЭ.
6. Показано, что средняя яркость экспрессии и оптическая плотность экспрессии являются неинформативными показателями экспрессии рецепторов мелатонина в эндометрии и эндометриоидных гетеротопиях.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баринов С.В., Новикова Е.И., Новиков Д.Г., Индутный А.В., Василенко Л.Н. Особенности перитонеальных факторов при наружном генитальном эндометриозе // *Акушерство. Гинекология. Репродукция.* – 2015. - № 4. – С. 18-24.
2. Качалина Т.С., Семерикова М.В., Строгин Л.Г. Современные представления о патогенезе наружного генитального эндометриоза // *Современные технологии в медицине.* – 2011. - №1. – С. 177-122.
3. Коненков В.И., Климонтов В.В., Мичурина С.В., Прудникова М.А., Ищенко И.Ю. Мелатонин при сахарном диабете: от патофизиологии к перспективам лечения // *Сахарный диабет.* – 2013. - №2. – С.11-16.
4. Кононов А. В. Мозговой С. И. Мозговая Е. И. Новиков Д. Г. Эндометриоз: теории происхождения // *Омский научный вестник.* - 2008; - №1. – С. 32-36.
5. Наумов А. В., Конюх Е. А. Мелатонин: медико-биологические функции // *Проблемы здоровья и экологии.* – 2011. - №3. – С. 132-136.
6. Слесарь К.В., Ермолова Н.В, Линде В.А, Колесникова Л.В, Томай Л.Р. К вопросу о патогенезе наружного генитального эндометриоза // *Журнал фундаментальной медицины и биологии.* -2013. - №1. – С. 18-22.
7. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных. Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация // Москва, 2013
8. Хоменко В.Г. Мелатонин – как продукт шишковидной железы в регуляции физиологических функций организма // *Здоровье и образование в XXI веке.* – 2013. - №1. – С. 1-4.
9. Ярмолинская М. И, Зайцев Д.В, Тхазаплизева С.Ш. «Мелатонин и генитальный эндомириоз – новые возможности терапии» // *Журнал акушерства и женских болезней.* – 2015. - №1. – С. 67-71.



10. Ярмолинская М.И., А. С. Молотков, В. М. Денисова. Роль матриксных металлопротеиназ в патогенезе генитального эндометриоза // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. - №2. – С. 92-100.
11. Acuna-Castroviejo D, Escames G, Venegas C, Diaz-Casado ME, Lima-Cabello E, Lopez LC, Rosales-Corral S, Tan DX, Reiter RJ. Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions. Cellular and Molecular Life Science, 2014, vol. 71, is. 16, pp. 2997-3025.
12. American Fertility Society. Revised American Fertility Society. Classification of Endometriosis. Fertility and Sterility, 1985, vol. 43, pp. 347–350.
13. Augoulea A, Alexandrou M, Creatsa N, Vrachnis I, Lambrinouadaki. Pathogenesis of endometriosis: the role of genetics, inflammation and oxidative stress. Archives of Gynecology and Obstetrics, 2012, pp. 1–5.
14. Bedaiwy MA, Alfaraj S, Yong P, Casper R. New developments in the medical treatment of endometriosis. Fertility and Sterility, 2017, vol. 107, is. 3, pp. 555-565.
15. Bond M, Murphy G, Bennet MR. Tissue inhibitor of metalloproteinase-3 induces a Fas-associated death domain- dependent Type II apoptotic pathway. Journal Biological Chemistry, 2002, vol. 277 is. 16, pp. 13787-13795.
16. Bruno Claustrata, Jocelyne Bruna, Guy Chazot. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. Sleep Medicine Reviews, 2005, vol. 9, is. 1, pp. 11-24.
17. Bukulmez O., Hardy D.B., Carr B.R. Inflammatory status influences aromatase and steroid receptor expression in endometriosis. Endocrinology, 2008, vol. 149, is. 3, pp. 1190–1204.
18. Burney RO., Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. Fertility and Sterility, 2012, vol. 98, is. 3, pp. 511-9.
19. Chishima F, Hayakawa S, Sugita K, Kinukawa N, Aleemuzzaman S, Nemoto N, Yamamoto T, Honda M. Increased expression of cyclooxygenase-2 in local

- lesions of endometriosis patients. *American Journal of reproductive immunology*, 2002, vol. 48, is. 1, pp. 50-6.
20. Cos S, González A, Martínez-Campa C, Mediavilla MD, Alonso-Gosnzález C, Sánchez-Barceló EJ. Melatonin as a selective estrogen enzyme modulator. *Current Cancer Drug Targets*, 2008, vol. 8, is. 8, pp. 691-702.
21. Danilov A, Kurganova J. Melatonin in Chronic Pain Syndromes. *Pain Therapy*, 2016, vol. 5, is. 1, pp. 1-17.
22. Deane J, Gualano R, Gargett C. Regenerating endometrium from stem/progenitor cells; is it abnormal in endometriosis, Asherman's syndrome and infertility? *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 2013, vol. 25, pp. 193–200.
23. Derouich S, Attia L, Slimani O, Bouzid A, Mathlouthi N, Ben Temim R, Makhoulouf T. Medical treatment of endometriosis. *La tunisie Medicale*, 2015, vol 93, is. 7, pp. 407-412.
24. Dubocovich ML, Markowska M. Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. *Endocrine*, 2005, vol. 27, is. 2, pp. 101-10.
25. Gaetje R, Holtrich U, Engels K, Kissler S, Rody A, Karn T, Kaufmann M. Endometriosis may be generated by mimicking the ontogenetic development of the female genital tract. *Fertility and Sterility*, 2007, vol. 87, is. 3, pp. 651-6.
26. Gilabert-Estelles J, Estelles A, Gilabert J, Castello R, Espana F, Falco C, Romeu A, Chirivella M, Zorio E, Aznar J. Expression of several components of the plasminogen activator and matrix metalloproteinase systems in endometriosis. *Human Reproduction*, 2003, vol. 18, pp. 1516-1522.
27. Goenka L, George M, Sen M. A peek into the drug development scenario of endometriosis - A systematic review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, vol. 90, pp. 575-585.
28. Gruppo Italiano per lo studio dell'endometriosi. Prevalence and anatomical distribution of endometriosis in women with selected gynaecological

- conditions: results from a multicentric Italian study. *Human Reproduction*, 1994, vol. 9, pp. 1158–1162.
29. Güney M, Oral B, Karahan N, Mungan T. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with melatonin. *Fertility and Sterility*, 2008, vol. 89, is. 4, pp. 934-42.
30. Guo SW. Epigenetics of endometriosis. *Molecular Human Reproduction*, 2009, vol. 15, pp. 587–607.
31. Gupta S, Agarwal A, Krajcir N, Alvarez J. Role of oxidative stress in endometriosis. *Reproductive BioMedicine*, 2006, vol. 13, is. 1, pp. 126–134.
32. Hadfield R, Mardon H, Barlow D, Kennedy S. Endometriosis in monozygotic twins. *Fertility and Sterility*, 1997, vol. 68, pp. 941–942.
33. Hemmings R, Rivard M, Olive D.L, Poliquin-Fleury J, Gagne D, Hugo P. Evaluation of risk factors associated with endometriosis. *Fertility and Sterility*, 2004, vol. 81, pp. 1513–1521.
34. Houston D, Noller K, Melton L, Selwyn B. The epidemiology of pelvic endometriosis. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 1988, vol. 31, pp. 787–800.
35. Ioana I, Razvan I. Cytokines and Endometriosis - the Role of Immunological Alterations. *Biotechnology, molecular biology and nanomedicine*, 2013, vol. 1, is. 2, pp. 8-18.
36. Jain A, Bhatnagar M. Melatonin — a “magic biomolecule”. *Annals of Neurosciences*, 2007; vol. 14, is. 14.
37. Kim J, Kurita T, Bulun S. Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocrine Reviews*, 2013, vol. 34, pp. 130–162.
38. Koc O, Gunduz B, Topcuoglu A, Bugdayci G, Yilmaz F, Duran B. Effects of pinealectomy and melatonin supplementation on endometrial explants in a rat model. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2010, vol. 153, is. 1, pp. 72-6.

39. Laste G, Ripoll Rozisky J, Caumo W, Lucena da Silva Torres I. Short- but not long-term melatonin administration reduces central levels of brain-derived neurotrophic factor in rats with inflammatory pain. *Neuroimmunomodulation*, 2015, vol. 22, is. 6, pp. 358-64.
40. Liu J, Clough S, Hutchinson A, Adamah-Biassi E, Popovska-Gorevski M, Dubocovich M. MT1 and MT2 Melatonin Receptors: A Therapeutic Perspective. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2016, vol. 56, pp. 361-83.
41. Mahmood TA, Templeton A. Prevalence and genesis of endometriosis. *Human Reproduction*, 1991, vol. 6, pp. 544–549.
42. Mangtani P, Booth M. Epidemiology of endometriosis. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 1993, vol. 47, pp. 84–88
43. Nawroth F, Rahimi G, Nawroth C, Foth D, Ludwig M, Schmidt T. Is there an association between septate uterus and endometriosis. *Human Reproduction*, 2006, vol. 21, is. 2, pp. 542-4.
44. Ota H, Igarashi S, Sasaki M, Tanaka T. Distribution of cyclooxygenase-2 in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Human Reproduction*, 2001, vol. 16, pp. 561–566.
45. Parente C, Bentes De Souza M, Bianco B, Christofolini D. The effect of hormones on endometriosis development. *Minerva Ginecologica*, 2011, vol. 63, no. 4, pp. 375–386.
46. Paul S, Sharma A, Mahapatra P, Bhattacharya P, Swarnakar S. Role of melatonin in regulating matrix metalloproteinase-9 via tissue inhibitor of metalloproteinase-1 during protection against endometriosis. *J Pineal Res*, 2008, vol. 44, pp. 439–49.
47. Reiter R, Tan D, Terron M, Flores L, Czernocki Z. Melatonin and its metabolites: new findings regarding their production and their radical scavenging actions. *Acta Biochimica Polonica*, 2007, vol. 54, is. 1, pp. 1–9.

- 48.Reiter R. Melatonin and human reproduction. *J Pineal Res*, 2005, vol 38, pp. 217-22.
- 49.Rodgers W, Matrisian L, Giudice L, Dsupin B, Cannon P, Svitek C, et al. Patterns of matrix metalloproteinase expression in cycling endometrium imply differential functions and regulation by steroid hormones. *Epidemiologic Determinants of Endometriosis: A Hospital-Based CaseControl Study. J Clin Invest*, 1994, vol. 93, is. 3, pp. 946-953.
- 50.Sato N, Tsunoda H, Nishida M, Morishita Y, Takimoto Y, Kubo T, Noquchi M. Loss of heterozygosity on 10q23.3 and mutation of the tumor suppressor gene PTEN in benign endometrial cyst of the ovary: possible sequence progression from benign endometrial cyst to endometrioid carcinoma and clear cell carcinoma of the ovary. *Cancer Res*, 2000, vol. 60, pp. 7052–7056.
- 51.Schrager S, Falleroni J, Edgoose J. Evaluation and treatment of endometriosis. *American Family Physician*, 2013, vol. 87, is. 2, pp. 107-13.
- 52.Schwertner A, Conceição dos Santos C, Dalferth Costa, Deitos A, Souza A, Izabel Cristina Custodio de Souza, Iraci L.S. Torres, João Sabino L. da Cunha Filho, Wolnei Caumo. Efficacy of melatonin in the treatment of endometriosis: A phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pain*, 2013, vol. 154, is. 6, pp. 874-81.
- 53.Signorello LB, Harlow BL, Cramer DW, Hill J. Epidemiologic determinants of endometriosis: a hospitalbased case-control study. *Annals of Epidemiology*, 1997, vol. 7, pp. 267–274.
- 54.Signorile PG, Baldi A. Endometriosis: New concepts in the pathogenesis. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2010, vol. 42, is. 6, pp. 778-80.
- 55.Sikora J, Mielczarek-Palacz A, Kondera-Anasz Z. Role of Natural Killer cell activity in the pathogenesis of endometriosis. *Current Medicinal Chemistry*, 2011, vol. 18, is. 2, pp. 200–208.

56. Soares SR, Martínez-Varea A, Hidalgo-Mora JJ, Pellicer A. Pharmacologic therapies in endometriosis: a systematic review. *Fertility and Sterility*, 2012, vol. 98, is. 3, pp. 529-55.
57. Sourial S, Tempest N, Hapangama D. Theories on the Pathogenesis of Endometriosis. *International Journal of Reproductive Medicine*, Volume 2014 (2014), Article ID 179515, 9 pages.
58. Tamura H, Nakamura Y, Korkmaz A, Manchester LC, Tan DX, Sugino N, Reiter RJ. Melatonin and the ovary: physiological and pathophysiological implications. *Fertility and Sterility*, 2009, vol. 92, is. 1, pp. 328-43.
59. Tenorio F, Simões Mde J, Teixeira VW, Teixeira ÁA. Effects of melatonin and prolactin in reproduction: review of literature. *Rev Assoc Med Bras*, 2015, vol. 61, is. 3, pp. 269-74.
60. Touitou Y, Reinberga A, Touitou D. Association between light at night, melatonin secretion, sleep deprivation, and the internal clock: Health impacts and mechanisms of circadian disruption. *Life Science*, 2017, vol. 173, pp. 94-106
61. Varma R, Rollason T, Gupta JK, Maher ER. Endometriosis and the neoplastic process. *Reproduction*, 2004, vol. 127, pp. 293-304.
62. Velasco I, Rueda J., Acien P. Aromatase expression in endometriotic tissues and cell cultures of patients with endometriosis. *Molecular Human Reproduction*, 2006, vol. 12, is. 6, pp. 377-381.
63. Viganò P, Parazzini F, Somigliana E, Vercellini P. Endometriosis: epidemiology and aetiological factors. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2004, vol. 18, is. 2, pp. 177-200.
64. Voordouw BC, Euser R, Verdonk RE, Alberda BT, de Jong FH, Drogendijk AC. Melatonin and melatonin-progestin combinations alter pituitary-ovarian function in women and can inhibit ovulation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1992, vol. 74, pp. 108-17.

65. Yildirim G, Attar R, Ozkan F, Kumbak B, Ficicioglu C, Yesildaglar N. The effects of letrozole and melatonin on surgically induced endometriosis in a rat model: a preliminary study. *Fertility and Sterility*, 2010, vol. 93, is. 6, pp. 1787-92.
66. Zamfir Chiru, CR Popescu, Gheorghe. Melatonin and cancer. *Journal Medicine and Life*, 2014, vol. 7, is. 3, pp. 373–374.
67. Zawilska JB, Skene DJ, Arendt J. Physiology and pharmacology of melatonin in relation to biological rhythms. *Pharmacology Reproduction*, 2009, vol. 61, is. 3, pp. 383-410.
68. Zheng W. Initial endometriosis showing direct morphologic evidence of metaplasia in the pathogenesis of ovarian endometriosis. *International journal of gynecological pathology: official journal of the International Society of Gynecological Pathologists*, 2005, vol. 24, is 2, pp. 164-172.

## **Приложения**

### **Приложение 1**

Список печатных работ.

1. Жарук А. Д. Определение рецепторов мелатонина в очагах эндометриоза // *Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье*. 2017. С.193.