

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кафедра Акушерства та гінекології

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

за спеціальністю 222 Медицина

спеціалізація Акушерство і гінекологія

на тему: Експресія рецепторів мелатоніну в міоматозних вузлах

Виконала: здобувач вищої освіти

6 курсу, 12 групи

медичного факультету 2,

денної форми навчання

Климович Дарина Сергіївна

Керівник д.мед.н., доцент,

Бербець Андрій Миколайович

Рецензенти:

д.мед.н. проф. Юзько Олександр Михайлович

к.мед.н. доц. Бакун Оксана Валеріанівна

Чернівці - 2024

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ .....	3
ВСТУП .....	4
РОЗДІЛ 1 ЛЕЙОМІОМА МАТКИ ТА МЕЛАТОНІН: СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ .....	7
(огляд літератури) .....	7
1.1. Проблема лейоміоми матки. ....	7
1.2. Патофізіологія лейоміоми матки. ....	9
1.3. Міома та фертильність. ....	10
1.4. Міома і гормональні порушення.....	11
1.5. Мелатонін та жіноча репродуктивна система. ....	13
1.6. Вплив мелатоніну на нейроімунотуляцію та онкогенез. ....	17
1.7. Рецептори до мелатоніну. ....	18
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	21
2.1. Формування клінічної групи, етичні вимоги. ....	21
2.2. Визначення мелатонінових рецепторів в тканині міометрію.....	22
2.3. Статистична обробка отриманих результатів. ....	23
РОЗДІЛ 3. ЕКСПРЕСІЯ МЕЛАТОНІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ В НЕЗМІННОМУ МІОМЕТРІЇ ТА В МІОМАТОЗНИХ ВУЗЛАХ.....	24
3.1. Клініко-статистична характеристика обстежених пацієнток.....	24
3.2. Результати імуногістохімічного аналізу та візуалізації рецепторів до мелатоніну.....	26
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	38
ВИСНОВКИ.....	43
ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ .....	44
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	45

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

ЛМ	Лейоміома матки
MT1	рецептор до мелатоніну 1
MT2	рецептор до мелатоніну 2
ІНС	immune-histochemical (імуногістохімічний)
TNF- $\alpha$	tumor necrotizing factor- $\alpha$ (фактор некрозу пухлин- $\alpha$ )
VEGF	vascular endothelial growth factor (ендотеліальний фактор росту судин)

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Демографічна ситуація в Україні, станом на зараз, є загрозовою, особливо враховуючи воєнний час. За останні два роки в Україні значно знизилась народжуваність [1]. Однією з причин зниження народжуваності є захворювання жіночої репродуктивної системи, що викликають безпліддя. До таких належать: ендометріоз, ендокринні захворювання, хронічні запальні процеси та пухлини жіночих статевих органів [2, 3]. Лейоміома матки – найбільш поширена доброякісна пухлина жіночої репродуктивної системи, яка, за даними різних авторів, вражає до 70 відсотків жіночого населення [4, 5]. У пацієток репродуктивного віку лейоміома матки в 2-3% відсотках випадків призводить до безпліддя [6].

На сьогоднішній день лейоміома матки вважається гормонозалежною пухлиною, ріст якої запускається та підтримується жіночими репродуктивними гормонами, в першу чергу, естрогенами [7]. Однак, роль і місце інших гормонів в розвитку такого захворювання, як лейоміома матки, залишається не до кінця вивченою. За останні роки в спеціалізованій літературі з'явилося багато наукових праць, присвячених цьому питанню [7, 8]. Серед гормонів, які виділяються іншими, окрім гонад, ендокринними залозами, пильну увагу науковців привертає мелатонін [9]. Дотепер остаточно не розкрито взаємозв'язки між шишкоподібною залозою, що виділяє мелатонін, і репродуктивною системою жінки. Деякі науковці вважають, що використання мелатоніну може бути перспективним напрямком в лікуванні захворювань жіночої статевої сфери, зокрема, лейоміоми матки. Проте, питання вираженості дії цього гормону на міоматозні вузли при лейоміомі матки залишається відкритим.

**Метою дослідження** було встановити рівень експресії мелатонінових рецепторів типу MT1 в тканині лейоміоми матки та в міометрії у жінок, хворих на лейоміому матки.

**Завдання дослідження:**

1. Описати скарги, анамнез та провести клініко-статистичний аналіз в групі жінок, хворих на лейоміому матки.
2. Дослідити експресію мелатонінових рецепторів типу MT1 в інтактному міометрії.
3. Вивчити оптичну щільність мелатонінових рецепторів типу MT1 в міоматозних вузлах та в перинодальній зоні у жінок, хворих на лейоміому матки.

**Об'єкт дослідження:** патологія жіночої статеві системи у жінок, хворих на лейоміому матки.

**Предмет дослідження:** експресія рецепторів типу MT1 в міометрії та міоматозних вузлах у жінок, хворих на лейоміому матки.

**Методи дослідження:** загальноклінічні, біофізичні, імуногістохімічні, статистичні.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше описано експресію мелатонінових рецепторів типу MT1 в лейоміомі матки шляхом імуногістохімічного дослідження. Вперше проведено порівняння оптичної щільності мелатонінових рецепторів типу MT1 в інтактному міометрії та в лейоміоматозних вузлах. Вперше зроблено висновок щодо можливої ефективності впливу мелатоніну на тканину лейоміоматозного вузла.

**Практичне значення отриманих результатів.** Результати даної роботи матимуть практичне значення при лікуванні пацієток, хворих на лейоміому матки.

**Зв'язок магістерської з науковою роботою кафедри.** Магістерська робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри акушерства і гінекології Буковинського державного медичного університету

«Збереження та відновлення репродуктивного здоров'я жінок та дівчат при акушерській і гінекологічній патології». Державний реєстраційний номер: 0121U110020. Термін виконання: 01.2021–12.2025 рр.

**Особистий внесок магістранта.** Магістрант, сумісно з науковим керівником, д.мед.н., доцентом, професором кафедри акушерства та гінекології Буковинського державного медичного університету А.М. Бербецем, сформульовано ідею та мету роботи, а також розробку завдань дослідження. Автором особисто здійснено розробку основних теоретичних та практичних положень роботи, проведено аналіз літературних джерел, в тому числі в базах наукових публікацій Scopus та Web of Science. Магістрант самостійно здійснила набір пацієнток до груп обстеження, забір біологічного матеріалу, клінічні та спеціальні інструментальні обстеження, статистичну обробку, аналіз та узагальнення отриманих наукових даних, формулювання висновків роботи.

**Структура та обсяг роботи.** Магістерська робота викладена на 69 сторінках машинописного тексту, включаючи 2 таблиці та 10 рисунків, і складається із вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», розділу власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел, що містить 187 джерел (181 латиницею, 6 кирилицею). Бібліографічний опис джерел літератури і додатки викладено на 24 сторінках.

## РОЗДІЛ 1 ЛЕЙОМІОМА МАТКИ ТА МЕЛАТОНІН: СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

(огляд літератури)

### 1.1. Проблема лейоміоми матки.

Лейоміома матки є доброякісною пухлиною міометрію, що вражає більше 70% жінок протягом життя [10]. Приблизно 25–50% жінок відчують серйозні клінічні симптоми, такі як рясні маткові кровотечі, тазовий біль [11, 12]. Ця пухлина (лейоміома) не тільки значно впливає на якість життя жінок, а і являється на сьогоднішній день найпоширенішою причиною гістеректомії [12]. В Сполучених Штатах виконується приблизно 300 000 міомектомій і 200 000 гістеректомій для видалення пухлини лейоміоми або всієї матки щороку [13, 14]. Незважаючи на важливість впливу лейоміоми матки на здоров'я жінки, на даний момент не існує специфічних терапевтичних засобів для її лікування. Крім того, наше розуміння походження та розвитку лейоміоматозних вузлів продовжує розвиватися.

Захворюваність на лейоміому матки досягає свого максимуму у 40–45-річних жінок [15]. Патогістологічний аналіз показав наявність лейоміоми матки (ЛМ) в 77% видалених під час гістеректомій [15, 16].

У багатьох жінок ЛМ може перебігати безсимптомно і діагностується випадково при клінічному обстеженні або візуалізації. Проте, міоми можуть проявлятися клінічно, в тому числі шляхом болю, проблем фертильності та у вигляді менструальних порушень: наприклад, тяжкі, нерегулярні і тривалі маткові кровотечі, наслідком чого є залізодефіцита анемія. Також

лейоміома матки може маніфестувати у вигляді менш поширених симптомів, наприклад, стиснення органів малого таза – кишечника, сечового міхура (обструктивні симптоми) [17]. Специфічні терапевтичні заходи щодо лікування і профілактики ЛМ матки поки що знаходяться на початковій стадії розвитку. Саме тому, поглиблено вивчати фактори ризику, що призводять до появи та проліферації ЛМ, дасть нам змогу пришвидшити процес пошуку консервативного впливу.

До факторів ризику, які призводять до виникнення лейоміоми є: раннє чи пізнє менархе, рясні менструації, велика кількість медичних абортів, наявність екстрагенітальної патології (особливо серцево-судинної), ендокринопатії, гіперестрогенія, гінекологічні захворювання (ендометріоз, аденоміоз, запальні захворювання статевих органів), тривала антибіотикотерапія, використання різних гормональних препаратів, внутрішньоматкова контрацепція, зниження імунітету [17, 18]. Простежується спадкова схильність до розвитку цього захворювання [21, 22]. Існує кілька клінічних та епідеміологічних спостережень, які вказують на те, що генетичні чи хромосомні зміни відіграють значну роль у розвитку лейоміоми матки. Наприклад, жінки з обтяженим спадковим анамнезом мають більший ризик розвитку лейоміом порівняно з жінками з необтяженим спадковим анамнезом. Крім того, було повідомлено, що монозиготні близнюки мають більше шансів розвитку ЛМ по-рівняно з різнояйцевими близнюками [23].

Як відомо, симптомні міоми мають значний вплив на якість життя жінок: в одному з досліджень у понад 21000 жінок з 8 країн, у тому числі 2500 з Канади, ці симптоми мали негативний вплив на сексуальне життя (43%), працездатність (28%) і стосунки у родині (27%) [20-23].

У всьому світі найбільш поширеним показом до гістеректомії в є міома матки. Якщо говорити про Канаду, то лейоміома складає 30% серед усіх гістеректомій і є другою найбільш поширеною гінекологічною



операцією, тоді як перше займає кесарський розтин [23]. У зв'язку із значною захворюваністю та рівнем смертності гістеректомія є тягарем в економічному плані для охорони здоров'я. Відповідно до статистичних даних, кожна четверта канадська жінка віком старше 45 років була прооперована з приводу ЛМ матки [24].

## **1.2. Патофізіологія лейоміоми матки.**

Основна частина цих доброякісних новоутворень складається з міофібробластів, що розміщені неупорядковано у значній кількості позаклітинного матриксу, який в свою чергу складає доволі вагомий об'єм самої пухлини. [25]. Пускові механізми, які призводять до генезу міоми наразі є недостатньо вивченими. Як відомо, ріст клітин залежить від статевих гормонів, а саме: естрогену та прогестерону. Саме цим можна пояснити зменшення розміру міом після настання менопаузального віку [26]. Так, біологічно потужний гормон естрадіол стимулює вироблення як рецепторів до прогестерону (progesterone receptors, PR), так і рецепторів до естрогену «альфа» (estrogene reseprors-alpha, ER- $\alpha$ ). В свою чергу, гладком'язева тканина міометрію є чутливою до прогестерону, що виділяється яєчниками за рахунок PR. Збільшення рівня проліферації і тривалості життя клітини, синтез позаклітинного матриксу, є неможливими без прогестерону і його рецепторів. Самих лише естрогену та ER- $\alpha$  для росту міоматозного вузла недостатньо [27].

За своїми морфологічними характеристиками, міоми матки бувають за кількістю поодинокими чи множинними, також різняться за своєю локалізацією та розміром. В залежності від їх розташування виділяють три підгрупи: субсерозні, що виступають за межі матки, інтрамуральні, які локалізуються в товщі міометрію, та субсерозні, що виходять в маткову порожнину.

Система класифікації міом під назвою FIGO була рекомендована і розроблена для детальнішої топічної діагностики цих доброякісних новоутворень [28]. До факторів, які пов'язують із розвитком міоми матки відносять раннє менархе, дисменорею, відсутність пологів в репродуктивному анамнезі, короткий менструальний цикл, обтяжений сімейний анамнез, африканська раса, вік та ожиріння. Існують клінічні стани, що значно підвищують ризики виникнення міоми, до яких належать цукровий діабет та артеріальна гіпертензія.

### **1.3. Міома та фертильність.**

Вплив ЛМ на фертильну функцію реалізується на декількох рівнях. По-перше, це механічний вплив об'єму пухлини на транспорт та імплантацію статевих клітин, а також структури децидуальної оболонки та фетоплацентарного комплексу. По-друге, це вплив на судинну систему матки та на процеси мікроциркуляції за рахунок стимуляції продукції факторів ангіогенезу та ремоделювання міометрія у зоні розташування ЛМ [31]. Нарешті, доведеною є індукція тканиною ЛМ прозапальних цитокінів та наявність прямого впливу на експресію деяких генів (НОХА10, НОХА11, LIF, IL11, BMPR2, ВТЕВ1, ITGB3 та ін.) під час «вікна імплантації» [31, 32]. Не виключено також, що водночас можуть реалізовуватися одразу декілька з цих механізмів [32].

Той факт, що у жінок із міомою знижується фертильність, був встановлений давно. У ретроспективному дослідженні породіль, що мали міому матки, встановлено, що 43 % жінок мали принаймні дворічну історію безпліддя. Що ще важливіше, частота спонтанних вагітностей після виконання міомектомії значно зростає [33]. Втім, часто у жінок, оперованих з приводу міоми, виникають інші проблеми, що впливають на фертильну функцію – адже ж формування рубця на матці також може суттєво вплинути на перебіг вагітності, від моменту імплантації до пологів [33, 34, 35].

Ще одна проблема – вплив ЛМ на успішність екстракорпорального запліднення. Незважаючи на прогрес у галузі допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ), успішність імплантації ембріонів при ЛМ досі залишається відносно низькою. Міома матки є одним із факторів, які можуть негативно вплинути на результати імплантації та допоміжних репродуктивних технологій [36]. У дослідженні, що включало пацієток, яким було виконано екстракорпоральне запліднення (ЕКЗ) / інтрацитоплазматична ін'єкція сперми (ICSI), повідомлялося про достатньо високу частоту захворюваності на міому матки – 26,7 % [36, 37]. Можливий несприятливий вплив міоми на результат допоміжних репродуктивних технологій можна пояснити зміною судинної перфузії матки, функції ендометрія, скоротливості міометрія, перешкоджанням міграції гамет, зміною експресії генів міометрія/ендометрія, а також зменшенням продукції життєво важливих біологічно активних сполук для сприйнятливості ендометрія [38, 39]. Крім того, інтенсивність впливу ЛМ на результати допоміжних репродуктивних технологій залежить від її типу, розміру та кількості міоматозних вузлів [40].

Фіброміома матки асоціюється зі збільшенням частоти спонтанних абортів (41%), кількість яких зменшується після консервативної міомектомії (19%) [41]. Причинами можуть бути порушення маткового кровотоку, зменшення кровопостачання ендометрія, дисторсія порожнини матки, швидкий ріст або дегенерація міоми матки під час вагітності, порушення механізмів збільшення порожнини матки внаслідок міоми, гірші умови для імплантації заплідненої яйцеклітини [41, 42].

#### **1.4. Міома і гормональні порушення.**

Без сумніву, лейоміома матки є гормонозалежною пухлиною. Гормональні порушення в організмі жінки відіграють велику роль в етіології цього захворювання. Естрогени, прогестерон та їхні рецептори мають доведений вплив на процес утворення міоматозних вузлів [43].

Тривалий час ключову роль у рості міоматозних вузлів відводили естрогенам. Проте результати останніх досліджень вказують на важливу роль прогестерону в патогенезі міом [44]. Доказами є дані про пришвидшений ріст ЛМ та збільшення експресії Кі-67 (антиген клітинної проліферації) у лютеїновій фазі менструального циклу. Деякі автори розглядають розвиток міом із позицій апоптозу. В багатьох роботах доведено вплив статевих гормонів не лише на проліферативні процеси, а також і на регуляцію апоптозу в міометрії [45]. У реалізації впливу статевих гормонів беруть участь місцеві ауто- та паракринні фактори (цитокіни, фактори росту та ін.), продукція яких контролюється впливом естрогенів та прогестерону. Встановлено, що протеїн Bcl-2, який гальмує апоптоз, значно менше експресується при ЛМ порівняно з нормальним міометрієм. До того ж естрадіол, який пригнічує експресію цього протеїну, знижує апоптоз [45, 46].

Мітогенна дія естрогенів опосередкована місцевими регулюючими факторами росту. Результатом їх надлишкової продукції є гіпертрофія клітин, пришвидшення клітинної проліферації, збільшення об'єму міжклітинного матриксу та поєднання цих явищ. Найвагомим фактором росту для міоматозних вузлів вважають трансформуючий фактор росту- $\beta$  (ТФР- $\beta$ ), стимулюючий вплив на продукцію якого здійснює прогестерон. Естрогени впливають на міжклітинний матрикс, здійснюючи прямий вплив на колаген I і III типу та протеїн коннексин-43 міжклітинних зв'язків. Основними модуляторами клітинного росту, що володіють вираженою мітогенною активністю на міометрії та тканину пухлини є ППФР-1, епідермальний фактор росту, ТФР- $\beta$  і група ангіогенних факторів росту.

На даний час дослідники розглядають роль ангіогенезу в патогенезі ЛМ. Основними індукторами ангіогенезу є судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF), ангіогенін та основний фактор росту фіброblastів (FGF) [47]. Процеси ангіогенезу в міомах нерозривно пов'язані з

морфогенезом пухлин та значною мірою визначають характер росту та клініко-морфологічні варіанти ЛМ. Одним з ключових гормонів, які впливають на процеси ангиогенезу, є мелатонін [47, 48].

### **1.5. Мелатонін та жіноча репродуктивна система.**

Науковий інтерес до гормону шишкоподібної залози – мелатоніну – набув надзвичайних масштабів з моменту його відкриття в 1958 році. Незважаючи на величезну кількість фундаментальних клінічних досліджень, проведених для вивчення властивостей та біологічних ефектів мелатоніну, точна його роль у фізіологічних процесах організму людини залишається недостатньо вивченою сучасною наукою.

Мелатонін – це нейрогормон, який виробляється в пінеалоцитах шишкоподібної залози. На сьогоднішній день він відомий не лише як регулятор циркадних ритмів, але й як один із найефективніших імуномодуляторів та антиоксидантів [49].

Окрім шишкоподібної залози, мелатонін активно синтезується в периферичних тканинах та органах, таких як сітківка [50], шлунково-кишковий тракт, шкіра, лімфоцити та кістковий мозок [51, 52, 53, 54]. Однак функція мелатоніну, що виробляється поза епіфізом, не відіграє великої ролі в організмі людини та є лише ферментативним результатом метаболізму серотоніну [55].

Синтез і секреція контролюються освітленістю і темрявою, при чому синтез активізується за відсутності світла. Таким чином, мелатонін також відомий як «гормон темряви» [56]. Мелатонін і його аналоги, які зв'язуються з рецепторами мелатоніну, грають важливу роль у лікуванні депресії, безсоння, епілепсії, хвороби Альцгеймера, цукрового діабету, ожиріння, алопеції, мігрені, раку, а також імунних і серцевих розладів.

Роль мелатоніну полягає не лише у регуляції циркадних ритмів, він має більш широкий спектр біологічної дії на організм людини. Останні дослідження підтверджують його значення як потужного антиоксиданта

[57]. Антиоксиданти – це сполуки, які захищають клітини від дії вільних радикалів, що можуть пошкодити ДНК, білки та ліпіди, спричиняючи розвиток різних захворювань, таких як рак та серцево-судинні захворювання. Мелатонін виявляє антиоксидантну дію через кілька механізмів. Він не лише нейтралізує вільні радикали, але й стимулює активність інших антиоксидантних ферментів, таких як супероксиддисмутаза та глутатіонпероксидаза. Дослідження показали, що мелатонін може бути корисним у профілактиці та лікуванні різних захворювань, пов'язаних з окиснювальним стресом, включаючи рак, серцево-судинні захворювання, захворювання нервової системи та старіння. Отже, регулярне споживання продуктів, багатих на мелатонін, таких як вишні, гранати, овес та інші, може сприяти підтримці оптимального рівня антиоксидантного захисту організму [58]. Нічний прийом мелатоніну може навіть покращити глікемічний контроль у пацієнтів з цукровим діабетом [59]. Нещодавно великий мета-аналіз підтвердив позитивний вплив прийому мелатоніну на рівень глюкози натщесерце, інсулінорезистентність та рівень глікованого гемоглобіну у хворих на цукровий діабет як у низьких, так і у високих дозах [60].

Окрім своєї ролі циркадного регулятора фізіологічних функцій, гормон епіфіза гормон шишкоподібної залози мелатонін виявляє клітинно-протекторну активність, беручи участь у таких процесах, як проліферація та диференціація, антиоксидантний захист, апоптоз та мітохондріальний гомеостаз [61, 62]. Показано, що гормон здатний впливати як на вроджену, так і на адаптивну імунну відповідь, впливаючи на проліферацію імунокомпетентних клітин, секрецію цитокінів [63] та збільшувати масу імунних органів за нормальних та імуносупресивних станів [64].

На сьогоднішній день відомі два високоафінних рецептора мелатоніну людини: MT1 і MT2. Дані рецептори були ідентифіковані, клоновані та віднесені до сімейства G-білокспряжених рецепторів (GPCR),

котрі відповідають за передачу сигналу зовні всередину клітини. Два типи рецепторів активують білки G<sub>i</sub> та M<sub>T</sub>2, які з'єднуються додатково з білками G<sub>q</sub>, модулюючи внутрішньоклітинні процеси [65]. Індивідуальні ефекти активації рецепторів M<sub>T</sub>1 і M<sub>T</sub>2 різноманітні та доповнюються їх здатністю утворювати гомо- та гетеродимери, функціональне значення яких ще не з'ясовано [66, 67].

Нещодавно було виявлено кілька генетичних поліморфізмів рецепторів мелатоніну, які, як виявилось, причетні до патогенезу таких захворювань, як цукровий діабету 2 типу, автоімунні захворювання тощо [68]. Продемонстровано зв'язки рецепторів мелатоніну, які активують клітинну передачу сигналів у фізіології та патології, з розвитком деяких захворювань, включаючи рак [69].

Дослідження останніх сорока років однозначно встановили, що сезонний репродуктивний цикл у тварин знаходиться під регуляцією мелатоніну. Проте точність дії мелатоніну на органи-мішені, що потім відображається на репродуктивній системі, не ясна. Теоретично, мішенню мелатоніну можуть бути гіпоталамус, гіпофіз, статеві залози, чоловічі і жіночі статеві шляхи, молочні залози. Дія мелатоніну на дані органи-мішені і відображає в кінцевому результаті свій гормональний ефект на репродуктивну систему [70, 71, 72]. Цей факт схилив деяких науковців до гіпотези, яка говорить нам про те, що існують кілька органів-мішеней в організмі, на які діє мелатонін [73].

Є чимало доказів того, що мелатонін чинить вагомий вплив на репродуктивну здатність організму. Доведено, що гормон має прямий вплив на функцію яєчників і менструальний цикл, а це означає, що існує зв'язок із найбільш поширеними патофізіологічними процесами, що завдають шкоди репродуктивній функції. Маються на увазі такі гінекологічні захворювання як ендометріоз, полікістоз яєчників синдромом (СПКЯ) і передчасна недостатність яєчників [74, 75, 76].

Загальновідомо, що регуляторна дія мелатоніну на репродуктивну систему реалізується через його дію саме в гіпоталамусі та передній долі гіпофіза [77, 78], шляхом його регуляторного впливу на вісь гіпоталамус-гіпофіз-яєчники.

Експресія рецепторів MT1 і MT2 була виявлена в багатьох тканинах і органах, включаючи репродуктивну систему. Присутність рецепторів мелатоніну була продемонстрована в гранульозних клітинах фолікулів яєчників і, крім того, виявлено вищі концентрації мелатоніну у преовуляторній фолікулярній рідині людини, ніж у плазмі. Ці дані свідчать про безпосередню участь гормону в оваріальних процесах [79, 80]. У яєчниках мелатонін має прямий вплив на стероїдогенез у гранульозних клітинах, а також на фолікулогенез [81-84].

Проліферація та диференціація гранулематозних клітин мають надзвичайне значення для таких процесів у яєчнику як: регуляції росту фолікулів, овуляції та лютеїнізації [84, 85]. Рецептори, що зв'язують мелатонін, присутні в мембранній структурі гранулематозних клітин людини [86]. Було ідентифіковано MT1 і MT2 у гранулезолютеїнових клітинах людини за допомогою полімеразної ланцюгової реакції [87, 88]. Доведено наявність рецепторів мелатоніну у гранульозних клітинах яєчників [89], а в преовуляторних фолікулярних рідинах було виявлено вищий рівень мелатоніну порівняно з концентрацією в периферичній крові [90]. Ці дані припускають можливу пряму дію мелатоніну на функцію яєчників [91-93].

Є дані, що гормон епіфіза мелатонін стимулює вироблення прогестерону та андростендіону [95] без впливу на рівень естрогену та на естроген-перетворюючого ферменту ароматази, який відповідає за перетворення андрогенів в естрогени в гранульозних клітинах [95, 96]. Роль мелатоніну в фолікулярному стероїдогенезі водночас вагома і складна і може бути різною залежно від типу клітин-мішеней



(фолікулярні/стромальні), способу лікування, виду та дози [97]. Крім того, було показано, що мелатонін стимулює вироблення прогестерону гранулематозними клітинами, але не впливає на рівень естрогену [98].

Важливо відзначити, що під час прийому мелатоніну у вигляді біодобавки імунофлюоросціюючі сигнали від MT1 і MT2 рецепторів мелатоніну були експресовані на більш високому рівні саме в гранулематозних клітинах яєчника, які якраз і відповідають за таких процеси у ньому як: регуляція росту фолікулів, овуляцію та лютеїнізацію [99]. Ці дані нашоувхують на думку, що мелатонін можна назвати не лише гормоном циркадних ритмів, а й гормоном, який безпосередньо впливає на репродуктивну функцію. Втім, вплив мелатоніну на таку тканину, як міометрій, та роль рецепторів до даного гормону в розвитку патологічних змін в м'язовому шарі матки, станом на зараз, залишається нез'ясованою.

#### **1.6.Вплив мелатоніну на нейроімуномодуляцію та онкогенез.**

Вважається, що специфічна відповідь імунної системи на дію мелатоніну тісно залежить від рівня та циркадних змін експресії MT-рецепторів. Використовуючи різні підходи *in vivo* та *in vitro* для дослідження адаптивних фізіологічних реакцій у лабораторних гризунів під час постійного впливу глюкокортикоїдів, було продемонстровано, що мелатонін відіграє важливу роль у нейроіmunній адаптації та здатен стимулювати стрес-протекторну імунну відповідь *in vivo* завдяки наявності високоафінних специфічних мембранних рецепторів [100].

Низький рівень мелатоніну в організмі в літньому віці корелює з підвищеним ризиком розвитку злоякісних новоутворень, що узгоджується з уявленням про те, що «рак – це хвороба старості» [101]. Тривале перебування під штучним синім світлом до пізнього вечора може призвести до порушення синтезу мелатоніну, що також підвищує ризик розвитку різних онкологічних захворювань, включаючи рак молочної залози, товстої кишки, печінки та легенів [102-105].

Протипухлинний ефект мелатоніну пов'язаний з його здатністю пригнічувати проліферацію, ангіогенез і міграцію ракових клітин, а також самостійно або шляхом потенціювання антипроліферативних, антиінвазивних та проапоптотичних ефектів різних біохімічних процесів стимулювати їх апоптоз [106-108]. У клітинах раку молочної залози ці ефекти є МТ1-опосередкованими і включаються пригнічення фосфорилування Akt, ERK та PKC [109-112]. Інгібуючі ефекти також були раку яєчників, де пінеальний гормон інгібує Akt, p38 MAPK і mTOR сигналізацію [113-115].

Мелатонін може чинити онкостатичну дію на гормонозалежні та гормононезалежні пухлини [116-120]. Більшість досліджень зосереджені на секреції мелатоніну та сигналізації при раку молочної залози. Мелатонін може пригнічувати ріст раку молочної залози за допомогою своїх антиоксидантних, імуномодуючих, антиестрогенних, антиангіогенних, антипроліферативних та проапоптотичних ефектів, причому багато з цих ефектів опосередковуються через рецептор МТ1 [121-123]. Останній інгібує гени відповіді на естрогени та транскрипційну активність естрогенового рецептора- $\alpha$  транскрипційну активність, знижує активність ароматази та модулює фактори росту і протоонкогени в клітинах пухлин молочної залози [124-125]. Таким чином, стимуляція як МТ1, так і МТ2 може мати важливий вплив на пригнічення пухлинних процесів, зокрема, раку, як показано в різних дослідженнях на тваринах і людях [125-130].

### **1.7. Рецептори до мелатоніну.**

Перша фармакологічна характеристика функціонального рецептора мелатоніну ссавців [131-134] і клонування першого людського рецептора мелатоніну [135, 136] відбулося через 25 і 36 років, відповідно, після відкриття самого гормону мелатоніну. Близько 2000 року рецептори мелатоніну, асоційовані з G-білками, були клоновані у різних видів ссавців, включаючи рибу, амфібій, птахів, мишей, овець і людей [137].

Як виявилось, рецептори мелатоніну експресуються у високій концентрації у супрахіазматичних ядрах гіпоталамуса, що допомогло пояснити зворотний модулюючий ефект індоламіну на фізіологічні ритми організму [138]. У людини рецептори до мелатоніну широко представлені в центральній частині нервової системи і в різних периферичних органах [139-142].

**1.7.1. Рецептор MT1.** У головному мозку людини рецептор MT1 (він же в деяких джерелах – рецептор 1A) міститься переважно в гіпоталамусі, мозочку, гіпокампі, чорній субстанції та вентральній тегментальній ділянці [30]. Периферійний розподіл MT1 включає серцево-судинну систему (включаючи периферичні кровоносні судини, аорту і серце), імунну систему, включаючи селезінку та лімфатичні вузли, яєчка, яєчники, шкіру, печінку, нирки, кору надниркових залоз, плаценту, молочні залози та підшлункову залозу [143-149].

Мелатонін може пригнічувати ріст раку молочної залози через свою антиоксидантну, імуномодулюючу, антиестрогенну, антиангіогенну, антипроліферативну та проапоптотичну дію, причому багато з цих ефектів опосередковуються через рецептор MT1 [144, 145-150]. Останній інгібує гени відповіді на естрогени та транскрипційну активність естрогенового рецептора- $\alpha$  транскрипційну активність, знижує активність ароматази та модулює фактори росту і протоонкогени в клітинах пухлин молочної залози [151-156].

**1.7.2. Рецептор MT2.** Поширеність рецептора MT2 (він же в деяких джерелах – рецептор 1B), на відміну від рецептора MT1, менш значна. Проте не виключено, що його експресія виявлена в багатьох тканинах і органах, включаючи імунну і репродуктивну система [158], гіпоталамусі, в корі головного мозку, супрахіазматичному ядрі (SCN), сітківка, гіпофіз, кровоносні судини, репродуктивні клітини та тканини [157] яєчка, нирок, шлунково-кишкового тракту, молочної залози, жирової тканини та шкіри

[158-160]. Виявлення десять років тому гена MTNR1B, що кодує білок рецептора MT2, як важливого діабетичного гена, пов'язаного з дисфункцією бета-клітин підшлункової залози, дало величезний поштовх дослідженням, зосередженим на зв'язку між сигналізацією гормонів епіфізу та поліморфізмами рецепторів, з одного боку, та порушеннями вуглеводного обміну, з іншого [161-165].

## РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

### 2.1 Формування клінічної групи, етичні вимоги.

Наукове дослідження здійснювалося на базі кафедри акушерства та гінекології Буковинського державного медичного університету в 2024 році. Для вирішення поставлених у роботі завдань було обстежено 21 пацієнтку. Жінки перебували на лікуванні у гінекологічному відділенні ОКНП «Чернівецька обласна клінічна лікарня» та колективного закладу охорони здоров'я «Yuzko Medical Center», де було проведено обстеження, виконано клінічні, лабораторні, функціональні методи дослідження. Лабораторні дослідження методом імуногістохімічного аналізу здійснювалися на базі кафедри патологічної анатомії Буковинського державного медичного університету. При виконанні роботи керувалися основними нормативно-правовими директивними документами: з дотриманням основних положень GCP (Good Clinical Practice, 1996); Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.); основними принципами Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964-2013 рр.). Обстеження та лікування пацієнток, хворих на лейоміому матки, здійснювалось згідно Наказу МОЗ України від 25.01.2023р. № 147, стандарти медичної допомоги «Лейоміома матки». Всі пацієнтки підписували відповідні інформовані згоди щодо участі в дослідженні.

Вік жінок дослідної групи коливався від 34 до 65 років та в середньому складав 43 роки. Жінки з тяжкою екстрагенітальною патологією не були включені до дослідження.

## **2.2. Визначення мелатонінових рецепторів в тканині міометрію.**

Після оперативного лікування від кожної пацієнтки були забрані 2 випадково відібрані шматочки тканини міометрію, які зберігались у нейтральному 10% розчині формаліну, забуферованому згідно Lillie [167], протягом 24 годин; потім їх зневоднювали через етаноловий ряд і поміщали в парафін при температурі 58°C. Гістологічні зрізи товщиною 5 мкм використовували для проведення методу імуногістохімії на основі первинних антитіл проти мелатонінових рецепторів MT1. Патологи, які досліджували зразки міометрію, були «засліплені» щодо клінічних діагнозів пацієнтів.

Ідентифікацію рецепторів мелатоніну MT1 у тканині міометрію проводили за допомогою діагностичних наборів імуноферментного аналізу на основі антитіл, специфічних для згаданих рецепторів (виробник Abcam PLC, Кембридж, Великобританія). Візуалізацію антитіл проводили за допомогою системи виявлення полімерів DAKO за допомогою діамінобензиминових барвників [168]. Клітинні ядра додатково фарбували розчином гематоксиліну Майєра. Насиченість мелатоніновими рецепторами MT1 оцінювали на основі оптичної щільності специфічного імуногістохімічного забарвлення, виміряного за імуногістохімічною шкалою зображень (комп'ютерна мікроденситометрія: 0 – відсутність фарбування, абсолютна прозорість, 1 – максимальна забарвлення, абсолютна відсутність прозорості). Для оцінки було використано комп'ютерне програмне забезпечення ImageJ (версія 1.50v, безкоштовна ліцензія) з його плагіном “IHC Profiler” [168], в який вбудована згадана шкала; для обчислень виконано логарифмічне перетворення середньої яскравості кожного зразка. Для візуалізації відбирали зразки тканин, що містять рецептори мелатоніну MT1. Середній результат оцінки оптичної густини мелатонінових рецепторів розраховували для кожної пацієнтки, як середнє значення для 2 зразків тканини. Структурно подібні ділянки

тканини міометрію на мікроскопічних зображеннях були обрані для розрахунку оптичної щільності мелатонінових рецепторів в досліджуваних групах. Для оптичної мікроскопії використовувався світловий мікроскоп MICROmed SEO SCAN; зображення були зроблені за допомогою цифрової камери Vision CCD (мікроскоп та камера виготовлені Ningbo Shengheng Optics & Electronics Co, Ltd, Чжецзян, Китай).

### **2.3. Статистична обробка отриманих результатів.**

Виконувалася за допомогою безкоштовної Web-версії програмного пакету MedCalc (Ostende, Бельгія). Дані подано у вигляді середнього арифметичного з вказанням стандартного відхилення для кожної вибірки. Порівняння результатів дослідження виконувалось за t-критерієм Стьюдента. Різниця в результатах вважалася достовірною при дотриманні умови для t-критерію  $p < 0,05$ .

### РОЗДІЛ 3. ЕКСПРЕСІЯ МЕЛАТОНІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ В НЕЗМІНЕНОМУ МІОМЕТРІЇ ТА В МІОМАТОЗНИХ ВУЗЛАХ

#### 3.1. Клініко-статистична характеристика обстежених пацієнок.

Нами було проаналізовано особливості загального та репродуктивного анамнезу групи обстежених жінок, хворих на лейоміому матки. Результати викладено в таблиці 1.

Таблиця 1.

#### Особливості анамнезу жінок, хворих на лейоміому матки, включених до групи обстеження

	Дослідна група (n=21)
Вік, роки	43
Самовільні викидні, n (%)	4 (4,5%)
Медичні аборти, n (%)	10 (11,4%)
Гінекологічні операції в анамнезі	0
Вагітності, n (%)	44 (50%)
Кесарів розтин в анамнезі	2
Пологи 1, n (%)	8 (9%)
Пологи 2, n (%)	22 (25%)

Як видно з таблиці 1, середній вік пацієнок, хворих на лейоміому матки складає 43 роки. У пацієнок з лейоміомою матки в 4,5 відсотках випадків присутні в анамнезі самовільні викидні, в 11,4 відсотках – медичні аборти.



Розподіл скарг у пацієток обстежених груп наведено нами в таблиці 2.

Таблиця 2.

**Частота скарг у жінок з лейоміомою матки, включених до групи обстеження**

Скарги	Дослідна група (n=21)
Біль під час менструацій, % (n)	26,0% (11)
Рясні кров'яністі виділення, % (n)	28,5% (12)
Тривалість менструації більше 7 днів, % (n)	9,5% (4)
Дискомфорт внизу живота, % (n)	11,9% (5)
Міжменструальні кров'яністі виділення, % (n)	9,5% (4)
Часті позови до сечопуску, % (n)	7,1% (3)
Нерегулярні менструації, % (n)	7,1% (3)

У жінок з діагностованою лейоміомою матки відмічалися такі скарги, як біль під час менструацій, рясні кров'яністі виділення під час менструацій (більше трьох прокладок з максимальною абсорбтивною здатністю на день протягом щонайменше п'яти днів), менструації тривалістю довше, ніж 7 днів, наявність міжменструальних кров'янистих виділень, наявність дискомфорту в гіпогастрії, закріпів, частих позовів до сечопуску та нерегулярних менструацій. У 18 випадках (85,7%) жінки висловлювали більше, ніж одну скаргу.

Найчастіше пацієтки, хворі на лейоміома матки скаржились на рясні кров'яністі виділення – у 28,5%, друге місце займає біль під час менструацій, який становить 26,0%.

### 3.2. Результати імуногістохімічного аналізу та візуалізації рецепторів до мелатоніну.

Результати вимірювання середньої оптичної щільності імуногістохімічного забарвлення рецепторів мелатоніну MT1 у тканині міометрію обстежених жінок представлені в даному розділі.

Враховуючи неможливість, з етичних причин, формування контрольної групи зі здорових жінок, нами було використано зону інтактного міометрію, як найближчий до норми референс. Відповідно, ми проводили порівняння отриманих результатів, орієнтуючись на значення оптичної щільності мелатонінових рецепторів в зоні інтактного міометрію, як на контрольне.

На рисунку 1 подано графічне порівняння оптичної щільності імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу MT1 в лейоміоцитах жінок, хворих на лейоміому матки.

Згідно результатів імуногістохімічного аналізу, нами було виявлено, що оптична щільність імуногістохімічного забарвлення мелатонінових рецепторів MT1 в лейоміоцитах в трьох досліджуваних зонах різниться за своїми числовими значеннями. Так, в лейоміоцитах міоматозних вузлів оптична щільність рецепторів склала  $0,102 \pm 0,0009$  балів ІНС, а у відповідних клітинах інтактного міометрію –  $0,284 \pm 0,0014$  балів ІНС ( $p < 0,0001$ ). Різниця склала 2,78 рази.

В лейоміоцитах перинодальної зони оптична щільність імуногістохімічного забарвлення мелатонінових рецепторів склала  $0,148 \pm 0,0021$  балів ІНС, що в 1,92 рази нижче, ніж в інтактному міометрії при  $p < 0,0001$ .

При порівнянні оптичної щільності імуногістохімічного забарвлення мелатонінових рецепторів в лейоміоцитах міоматозних вузлів та перинодальної зони ми встановили, що даний показник в перинодальній зоні вищий, порівняно з міоматозними вузлами, в 1,45 рази при  $p < 0,01$ .

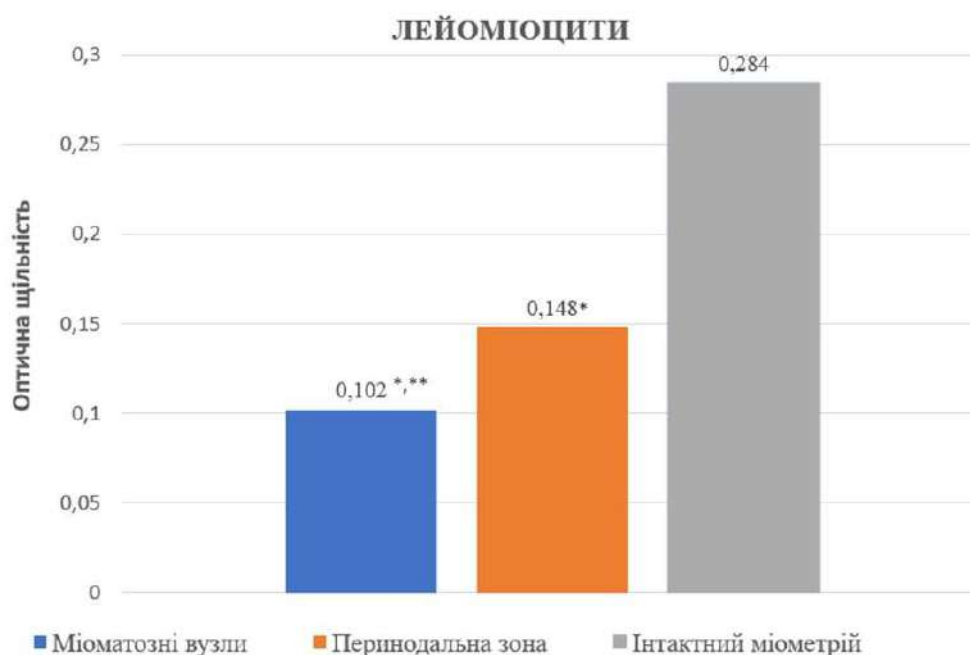


Рисунок 1. Оптична щільність імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу MT1 в лейоміоцитах жінок, хворих на лейоміому матки (оцінка зображення в балах ІНС).

Примітка 1. Дані отримані із зображень світлової мікроскопії та проаналізовані цифровою оцінкою за допомогою програмного забезпечення ImageJ. Проведено порівняння за t-критерієм Стьюдента.

Примітка 2. \* –  $p < 0,0001$ , порівняно з інтактним міометрієм, 2. \*\* –  $p < 0,0001$ , порівняно з перинодальною зоною.

На рисунку 2 подано графічне порівняння оптичної щільності імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу MT1 в клітинах ендотелію жінок, хворих на лейоміому матки.

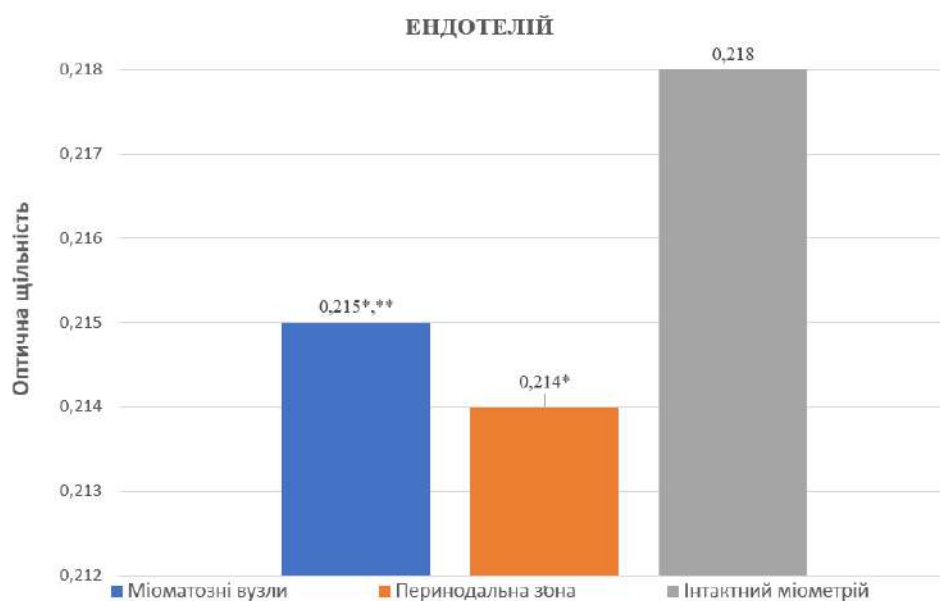


Рисунок 2. Оптична щільність імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу МТ1 в ендотеліоцитах жінок, хворих на лейоміому матки (оцінка зображення в балах ІНС).

Примітка 1. Дані отримані із зображень світлової мікроскопії та проаналізовані цифровою оцінкою за допомогою програмного забезпечення ImageJ. Проведено порівняння за t-критерієм Стьюдента.

Примітка 2. \* –  $p < 0,0001$ , порівняно з інтактним міометрієм, 2. \*\* –  $p < 0,075$ , порівняно з перинодальною зоною.

Нами було встановлено, що оптична щільність імуногістохімічного забарвлення мелатонінових рецепторів МТ1 в ендотеліоцитах в трьох досліджуваних зонах є наступною: в ендотеліоцитах міоматозних вузлів оптична щільність рецепторів склала  $0,215 \pm 0,0012$  балів ІНС, а у відповідних клітинах інтактного міометрію –  $0,218 \pm 0,0012$  балів ІНС ( $p < 0,0001$ ). В ендотеліоцитах перинодальної зони оптична щільність імуногістохімічного забарвлення мелатонінових рецепторів склала  $0,214 \pm 0,0011$  балів ІНС, що також вірогідно нижче, ніж в інтактному міометрії ( $p < 0,0001$ ).

При порівнянні оптичної щільності імуногістохімічного забарвлення мелатонінових рецепторів в ендотеліоцитах міоматозних вузлів та перинодальної зони ми встановили, що даний показник в перинодальній зоні дещо нижчий, порівняно з міоматозними вузлами, при  $p < 0,075$ .

На рисунку 3 подано графічне порівняння оптичної щільності імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу МТ1 в стромальних клітинах міометрію жінок, хворих на лейоміому матки.



Рисунок 3. Оптична щільність імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу МТ1 в стромальних клітинах міометрію жінок, хворих на лейоміому матки (оцінка зображення в балах ІНС).

Примітка 1. Дані отримані із зображень світлової мікроскопії та проаналізовані цифровою оцінкою за допомогою програмного забезпечення ImageJ. Проведено порівняння за t-критерієм Стьюдента.

Примітка 2. \* –  $p < 0,0001$ , порівняно з інтактним міометрієм, 2. \*\* –  $p < 0,0001$ , порівняно з перинодальною зоною.

Як видно з рисунку 3, оптична щільність імуногістохімічного забарвлення мелатонінових рецепторів MT1 в стромальних клітинах міометрію була наступною: в стромальних клітинах міоматозних вузлів оптична щільність рецепторів склала  $0,116 \pm 0,0017$  балів ІНС, а у відповідних клітинах інтактного міометрію –  $0,242 \pm 0,0013$  балів ІНС ( $p < 0,0001$ ). Різниця склала 2,08 рази.

В стромальних клітинах міометрію перинодальної зони оптична щільність імуногістохімічного забарвлення мелатонінових рецепторів склала  $0,244 \pm 0,0015$  балів ІНС, що дещо вище, ніж у відповідних клітинах інтактного міометрію та в 2,1 рази вище, ніж у відповідних клітинах міоматозних вузлів при  $p < 0,0001$ .

Таким чином, проаналізувавши дані трьох гістограм, в яких відображений рівень експресії рецептора MT1 в трьох різних типах клітин (лейоміоцитах, ендотеліоцитах, стромальних) і порівнявши числові дані оптичної густини кожної із зон (міоматозного вузла, перинодальної зони, інтактного міометрію), можна зробити висновок, що оптична щільність рецепторів мелатоніну MT1 в інтактному міометрії, отриманому від жінок, хворих на лейоміому матки, була значно вищою, ніж оптична густина рецептора мелатоніну MT1 в міоматозних вузлах і перинодальній зоні. Це стосувалося усіх типів обстежених клітин: лейоміоцитів, клітин ендотелію і стромальних клітин. Іншими словами, нами встановлено безсумнівний факт, що експресія рецепторів до мелатоніну типу MT1 зменшується в міоматозних вузлах і перинодальній зоні у жінок, хворих на лейоміому матки, порівняно з інтактним міометрієм, в якому експресія рецепторів до мелатоніну MT1 є найвищою.

Середнє арифметичне значення показника оптичної щільності рецептора до мелатоніну MT1 в трьох досліджених зонах (міоматозний вузол, перинодальна зона, інтактний міометрій) представлено на рисунку 4.



Рисунок 4. Оптична щільність імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу MT1 в стромальних клітинах міометрію жінок, хворих на лейоміому матки (оцінка зображення в балах ІНС).

Примітка 1. Дані отримані із зображень світлової мікроскопії та проаналізовані цифровою оцінкою за допомогою програмного забезпечення ImageJ. Проведено порівняння за t-критерієм Стюдента.

Примітка 2. \* –  $p < 0,0001$ , порівняно з інтактним міометрієм, 2. \*\* –  $p < 0,0001$ , порівняно з перинодальною зоною.

Як показано на рисунку 4, найвища середня оптична щільність рецепторів до мелатоніну типу MT1 спостерігалася в інтактному міометрії.

Окрім того, ми вирішили порівняти оптичну щільність рецепторів до мелатоніну типу MT1 між різними типами клітин, розташованих в обстежених зонах. Результати наведені нижче.

На рисунку 5 подано графічне порівняння оптичної щільності імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу МТ1 між різними типами клітин, присутніх в міоматозних вузлах жінок, хворих на лейоміому матки.

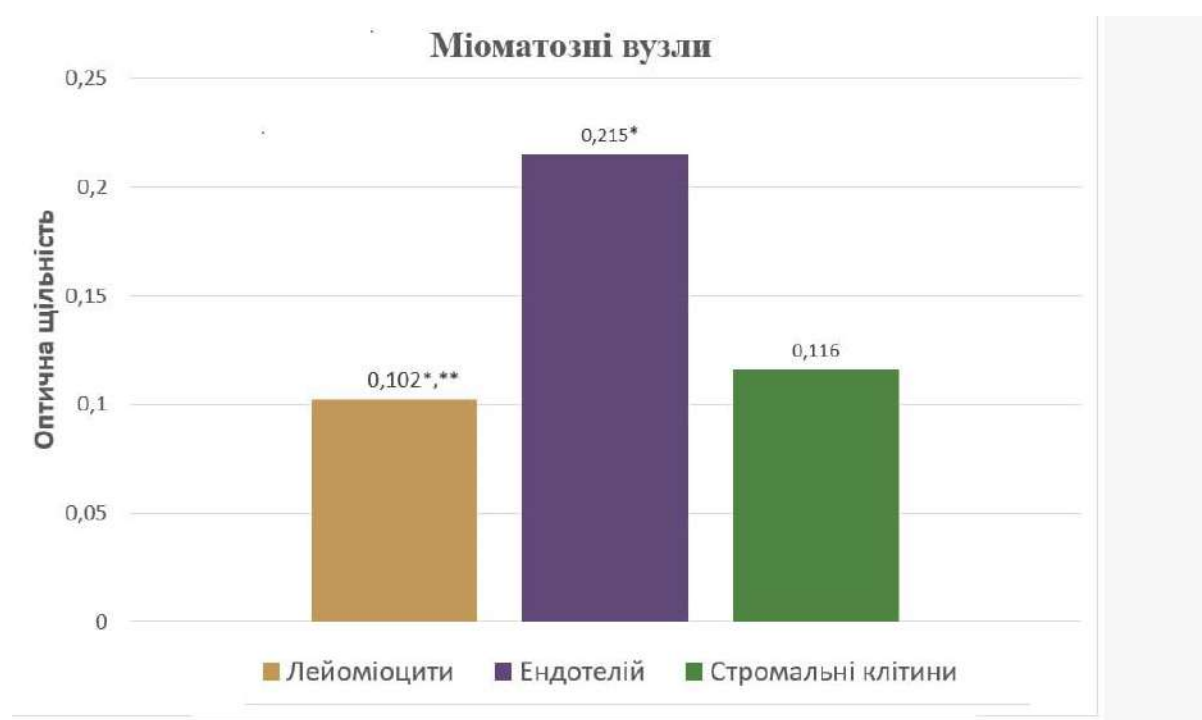


Рисунок 5. Оптична щільність імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу МТ1 в різних типах клітин міоматозних вузлів жінок, хворих на лейоміому матки (оцінка зображення в балах ІНС).

Примітка 1. Дані отримані із зображень світлової мікроскопії та проаналізовані цифровою оцінкою за допомогою програмного забезпечення ImageJ. Проведено порівняння за t-критерієм Стьюдента.

Примітка 2. \* –  $p < 0,0001$ , порівняно зі стромальними клітинами, 2. \*\* –  $p < 0,0001$ , порівняно з ендотеліоцитами.

Згідно результатів імуногістохімічного аналізу, нами було виявлено, що оптична щільність імуногістохімічного забарвлення мелатонінових рецепторів МТ1 в міоматозних вузлах різниться за своїми числовими значеннями в різних типах клітин: найвищий показник щільності



досліджуваних рецепторів спостерігався в клітинах ендотелію ( $p < 0,0001$ , порівняно з обома іншими типами клітин, в яких досліджувалися рецептори). В міоматозних вузлах оптична щільність імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу МТ1 між стромальними клітинами та лейоміоцитами відрізнялась значно менше, хоча різниця також була достовірною ( $p < 0,0001$ ), причому рецепторів більше саме в стромальних клітинах.

На рисунку 6 подано графічне порівняння оптичної щільності імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу МТ1 між різними типами клітин в перинодальній зоні міометрію жінок, хворих на лейоміому матки.

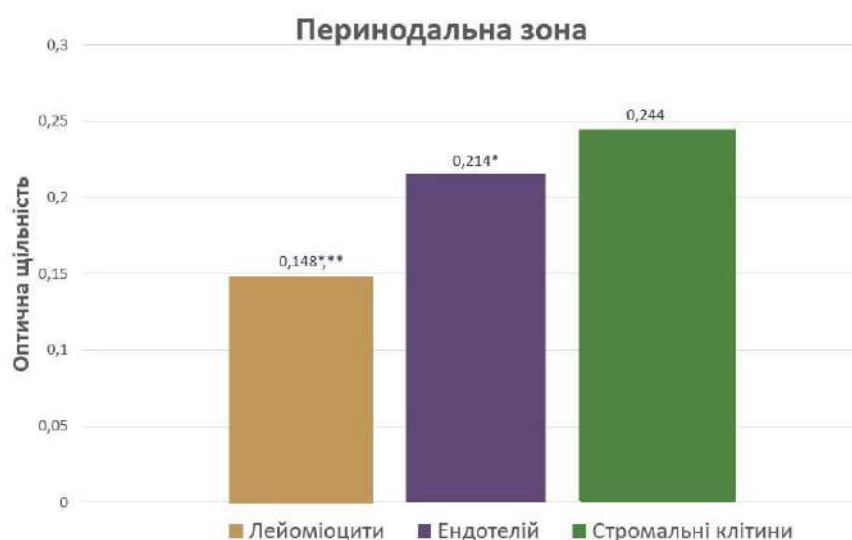


Рисунок 6. Оптична щільність імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу МТ1 в різних типах клітин в перинодальній зоні міометрію у жінок, хворих на лейоміому матки (оцінка в балах ІНС).

Примітка 1. Дані отримані із зображень світлової мікроскопії та проаналізовані цифровою оцінкою за допомогою програмного забезпечення ImageJ. Проведено порівняння за t-критерієм Стьюдента.

Примітка 2. \* –  $p < 0,0001$ , порівняно зі стромальними клітинами, 2. \*\* –  $p < 0,0001$ , порівняно з ендотеліоцитами.

Як видно з рисунку 6, оптична щільність імуногістохімічного забарвлення мелатонінових рецепторів MT1 в перинодальній зоні була найбільш вираженою в стромальних клітинах ( $p < 0,0001$ , порівняно з іншими типами клітин для цієї зони), а на другому місці за експресією досліджених рецепторів знаходилися ендотеліоцити ( $p < 0,0001$ , порівняно з лейоміоцитами).

На рисунку 7 наведено графічне порівняння оптичної щільності імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу MT1 між різними типами клітин в зоні інтактного міометрію жінок, хворих на лейоміому матки.

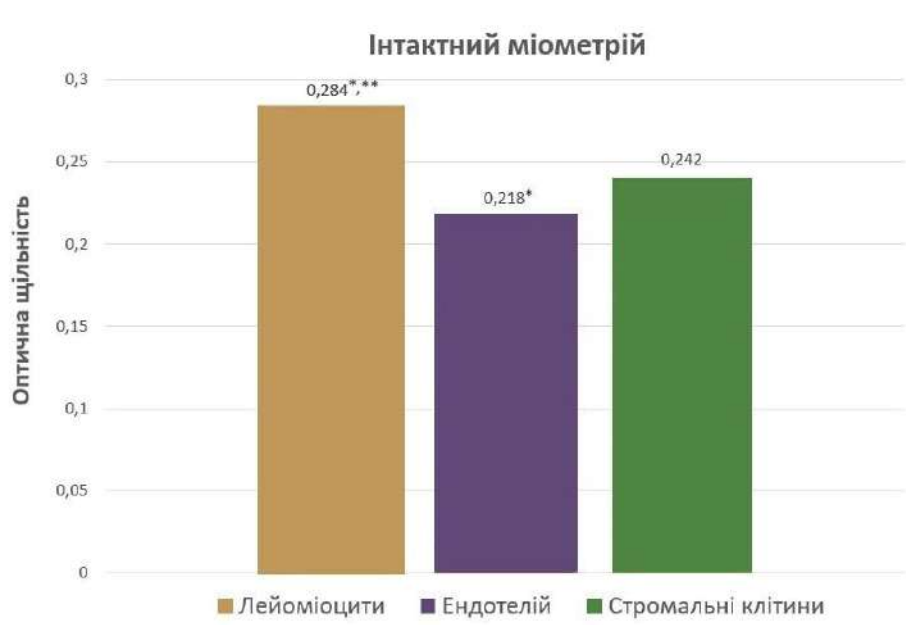


Рисунок 7. Оптична щільність імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу MT1 в різних типах клітин в інтактному міометрії жінок, хворих на лейоміому матки (оцінка зображення в балах ІНС).

Примітка 1. Дані отримані із зображень світлової мікроскопії та проаналізовані цифровою оцінкою за допомогою програмного забезпечення ImageJ. Проведено порівняння за t-критерієм Стьюдента.

Примітка 2. \* –  $p < 0,0001$ , порівняно зі стромальними клітинами, 2. \*\* –  $p < 0,0001$ , порівняно з ендотеліоцитами.

Дані, наведені на рисунку 7, свідчать, що в зоні інтактного міометрію оптична щільність імуногістохімічного забарвлення мелатонінових рецепторів MT1 є найвищою в лейоміоцитах ( $p < 0,0001$ , порівняно з обома іншими типами клітин у вказаній зоні). На другому місці за даним показником знаходилися стромальні клітини ( $p < 0,0001$ , порівняно з ендотеліоцитами).

Для ілюстрації отриманих нами даних наводимо імуногістохімічні зображення рецепторів мелатоніну MT1 в міоматозних вузлах, перинодальній зоні та інтактному міометрії у жінок, хворих на лейоміому матки.

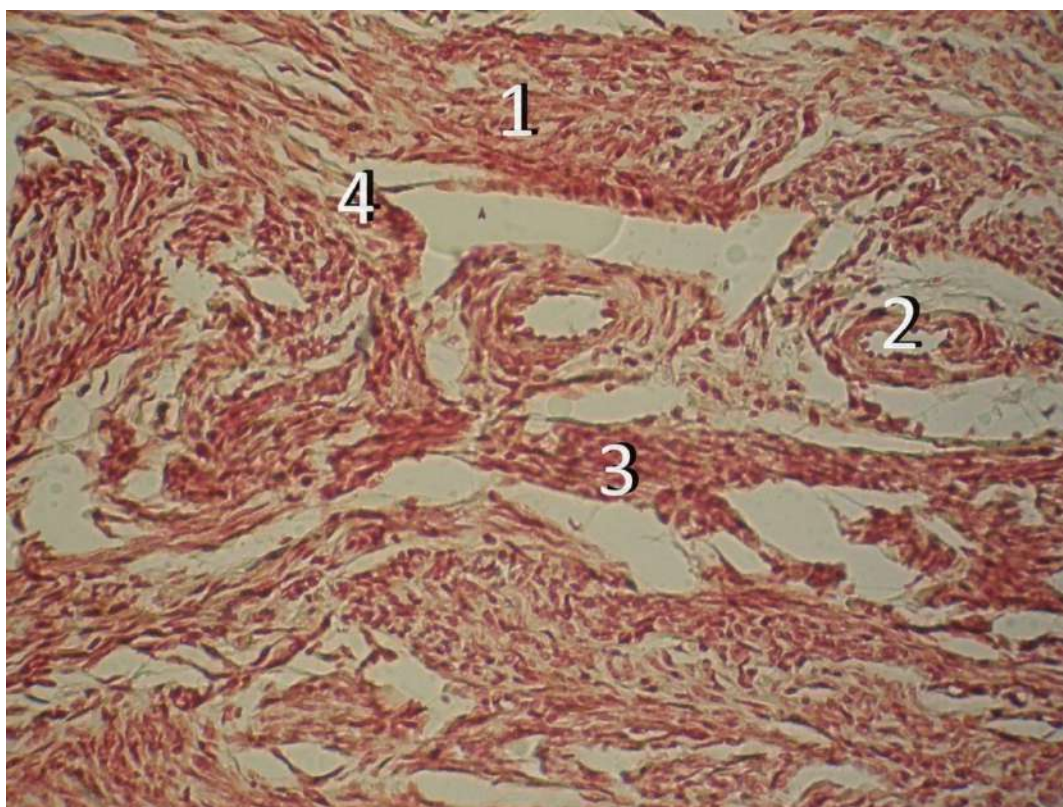


Рисунок 8. – Візуалізація імуногістохімічного забарвлення рецепторів мелатоніну MT1 в інтактному міометрії у жінок, хворих на лейоміому матки: світлова мікроскопія.

1. Міоцити (гладком'язові клітини).
2. Судини.
3. Рецептори мелатоніну MT1.
4. Стромальні клітини. (Збільшення x400.)

На рисунку 8 видно імуногістохімічно забарвлені рецептори до мелатоніну типу MT1, що виглядають, як яскраво-червоні скупчення позануклеарного барвнику, і відмічаються здебільшого в лейоміоцитах.

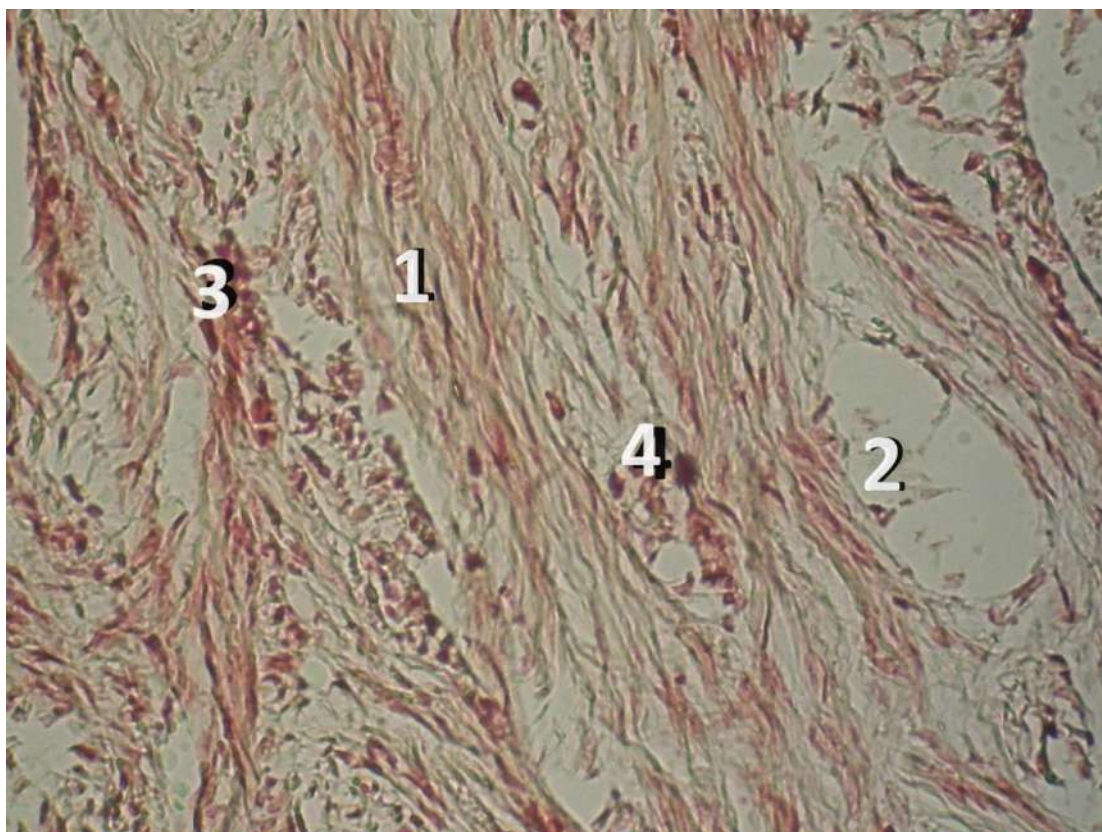


Рисунок 9. – Візуалізація імуногістохімічного забарвлення рецепторів мелатоніну MT1 в перинодальній зоні у жінок, хворих на лейоміому матки: світлова мікроскопія.

1. Міоцити (гладком'язові клітини).
2. Судини.
3. Рецептори мелатоніну MT1.
4. Стромальні клітини. (Збільшення x400.)

На рисунку 9 імуногістохімічно забарвлені рецептори до мелатоніну типу MT1, що виглядають, як яскраво-червоні скупчення позануклеарного барвнику, в найбільшій кількості присутні в стромальних клітинах.



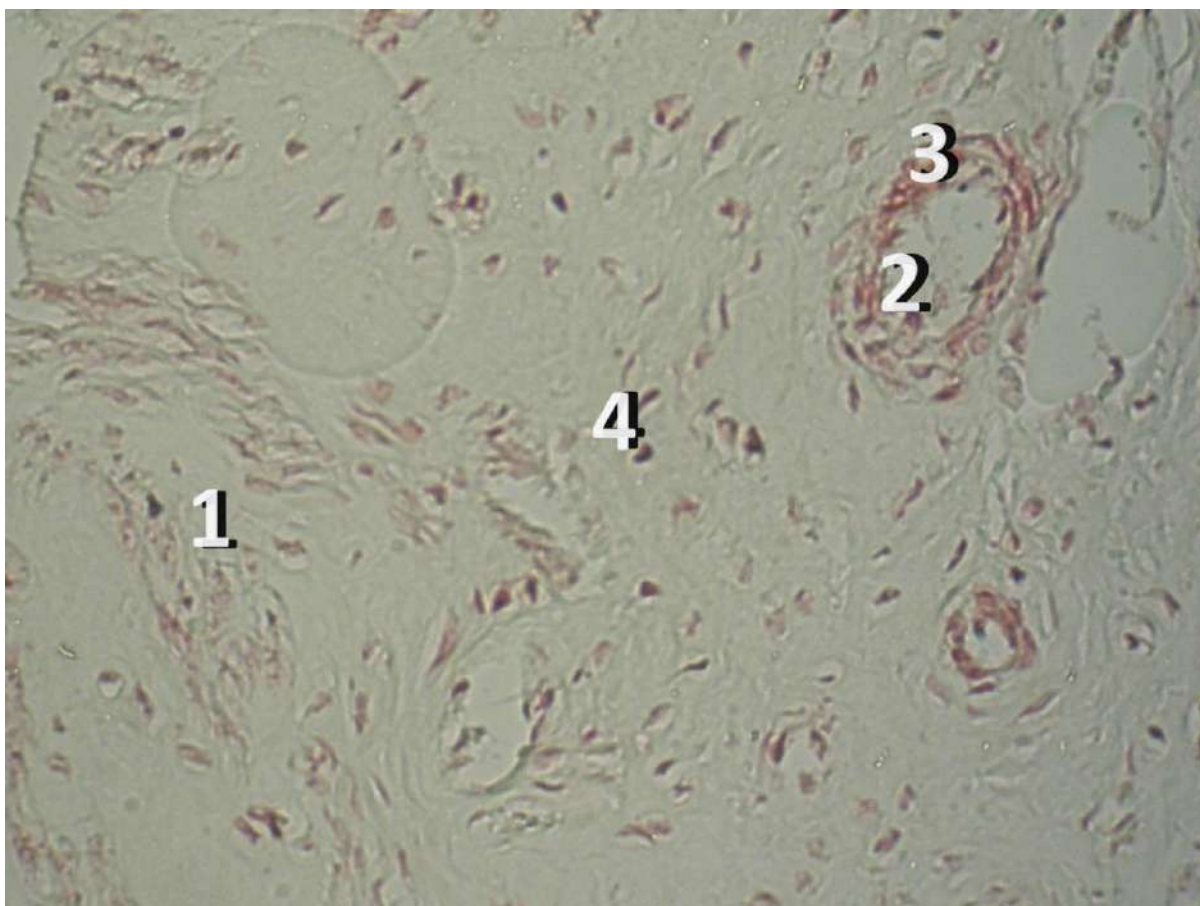


Рисунок 10. – Візуалізація імуногістохімічного забарвлення рецепторів мелатоніну MT1 в лейоміоматозному вузлі у жінок, хворих на лейоміому матки: світлова мікроскопія.

1. Міоцити (гладком'язові клітини). 2. Судини. 3. Рецептори мелатоніну MT1. 4. Стромальні клітини. (Збільшення x400.)

На рисунку 10 видно імуногістохімічно забарвлені рецептори до мелатоніну типу MT1, що виглядають, як яскраво-червоні скупчення позануклеарного барвнику, і візуалізуються переважно в клітинах ендотелію судин.

Таким чином, рисунки 8–10 наочно демонструють різницю в експресії рецепторів між різними зонами міометрію у жінок, хворих на лейоміому матки. Детальніше значення викладених фактів розкрито в розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження».

## АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Мелатонінові рецептори утворені сімома трансмембранними доменами, з'єднаними з високоафінним білком G, що називається рецептором мелатоніну MT1 (також відомий як MTNR1A) та рецептором мелатоніну MT2 (також званий MTNR1B) [169]. В нашому дослідженні ми вивчали експресію мелатонінових рецепторів типу MT1.

Лейоміома матки, без сумніву, є гормонозалежною пухлиною, ріст якої переважно зумовлений впливом жіночих репродуктивних гормонів, зокрема, естрогенів та прогестерону [170]. Ці гормони викликають проліферацію гладком'язевих клітин. Однак, ця пухлина складається не тільки з гладком'язевих клітин, але також і з позаклітинного матриксу, в який ці клітини занурені [171]. На цей позаклітинний матрикс значно складніше вплинути, оскільки він практично не реагує на зміни гормонального фону організму жінки [172]. Необхідні додаткові дослідження, щоб краще зрозуміти механізм утворення позаклітинного матриксу в лейоміомі та механізм передачі сигналів за допомогою стероїдних гормонів не тільки до клітин, що складають пухлину, але і до позаклітинних структур [173].

У розвитку патологічного процесу при формуванні лейоміоми матки значну роль відіграють процеси перекисного окиснення ліпідів клітинних мембран [174] та патологічного ангіонеогенезу [175]. При пошкодженні міометрію, що, зазвичай, може бути зумовлено інфекційним процесом при інфекціях, що передаються статевим шляхом, або механічною травмою тканини міометрію, запускаються процеси, що дають поштовх до розвитку лейоміоми матки шляхом ушкодження клітинних мембран активними формами кисню [176]. Наслідком цього є пошкодження вільними радикалами ниток ДНК в гладком'язевих клітинах міометрію та активізація

під впливом жіночих стероїдних гормонів патологічної проліферації. Поруч з проліферацією лейоміоцитів відбувається надмірне продукування позаклітинного матриксу в осередкові лейоміоми матки, внаслідок чого формується зона гіпоксії у міоматозному вузлі [177]. Гіпоксія, в свою чергу, запускає процеси ангіонеогенезу, що робить можливим ріст міоматозного вузла [178].

Активні форми кисню та оксидативний стрес зараз інтенсивно досліджуються, зокрема, при лейоміомі матки; водночас, науковцями ведеться пошук таких біохімічних молекул, які могли б протидіяти оксидативному стресу [170]. Однією з молекул, що викликає найбільше зацікавлення з боку вчених, є мелатонін [180]. Проте проблема полягає не тільки у наявності гормону в тканині, але і в спроможності цієї тканини сприйняти дію цього гормону, що прямо залежить від наявності рецепторів до гормону в осередкові патологічного процесу. Втім, в цьому аспекті мелатонін володіє унікальними властивостями, оскільки цей гормон впливає на клітини як із залученням рецепторного апарату, так і позарецепторним шляхом [181, 182]. Так, антиоксидантна дія мелатоніну, про яку широко відомо, реалізується, на думку більшості сучасних дослідників, при безпосередньому проникненні мелатоніну крізь ліпідний шар клітинних мембран шляхом дифузії [183]. Натомість, нас з клінічної точки зору цікавить інша здатність мелатоніну, а саме – спроможність модерувати процеси патологічного ангіогенезу, для реалізації якої необхідні рецептори до мелатоніну та їхня експресія в досліджуваній тканині, в нашому випадку, в міометрії. На нашу думку, вивчення цих процесів дозволить розкрити терапевтичні можливості застосування мелатоніну при лейоміомі матки.

Не слід також забувати про те, що експресія рецепторів до певного гормону в тканині опосередковано свідчить про кількість даного гормону в цій тканині, оскільки процес експресії рецепторів вимагає наявності

молекули гормону як стимулятора [184]. Тому за кількістю рецепторів в тканині можна оцінювати потенційний терапевтичний або патологічний вплив гормону при тій чи іншому захворюванні, в нашому випадку – мелатоніну при лейоміомі матки.

Відомо, що стимуляція рецепторів до мелатоніну типу MT1 пригнічує патологічну проліферацію, зокрема, при деяких формах раку [184]. Окрім того, стимуляція даного рецептора відповідним гормоном пригнічує патологічний ангіонеогенез [185]. Саме це зумовило наш вибір цього рецептора для вивчення.

Як показали результати наших досліджень, експресія мелатонінового рецептору типу MT1 у міометрії жінок, хворих на лейоміому матки, вірогідно відрізняється, залежно від зони дослідження в тканині (вузол, перинодальна ділянка, інтактний міометрій), а також від того, які саме клітини залучені в процес. Так, ми встановили, що безпосередньо в ділянках тканин, взятих із середини лейоміоматозного вузла, експресія мелатонінових рецепторів типу MT1 найнижча в лейоміоцитах. Це, на нашу думку, вказує на те, що терапевтичний вплив даного гормону на ці клітини, що формують тканинну основу лейоміоми матки, досить обмежений, а отже, не виключено, що в міоматозному вузлі триватиме патологічна проліферація, стимульована іншими гормонами, зокрема, естрогенами та прогестероном. Натомість, згідно наших даних, в ендотеліоцитах, що розташовані в судинах всередині лейоміоматозного вузла, експресія рецепторів до мелатоніну типу MT1 є значною, практично такою ж, як і в інтактному міометрії. Не виключено, що цей факт залишає певні можливості для лікувального впливу мелатоніну на лейоміому матки, зокрема, на процеси ангіогенезу безпосередньо в міоматозному вузлі. Для остаточного з'ясування цього факту необхідні подальші дослідження.

В інтактному міометрії, згідно результатів проведених нами досліджень, ситуація протилежна: найбільш виражена експресія



мелатонінових рецепторів типу MT1 спостерігається в гладком'язевих клітинах, а саме, в лейоміоцитах. Отже, можна з високою імовірністю припустити, що терапевтична дія мелатоніну на інтактний міометрій шляхом взаємодії з його рецепторним апаратом цілком можлива, внаслідок чого можна буде уникнути патологічної проліферації лейоміоцитів у жінок, що належать до групи ризику з формування лейоміоми матки (це жінки, що мають спадкову схильність до даного захворювання, ановуляторні менструальні цикли та ожиріння). Таким чином, ми обґрунтовуємо профілактичне призначення мелатоніну пацієнткам, що ще не мають сформованих лейоміоматозних вузлів, але належать до групи ризику за таким захворюванням, як лейоміома матки.

Нами також встановлено, що оптична щільність мелатонінових рецепторів типу MT1 в стромальних клітинах міометрію також, як і в лейоміоцитах, значно (більше ніж в 2 рази) вища в інтактній зоні міометрію, порівняно з лейоміоматозними вузлами при  $p < 0,0001$ . Таким чином, відзначаємо той факт, що інтактний міометрій в цілому краще зберігає чутливість до мелатоніну, порівняно з лейоміоматозними вузлами.

Велику цікавість становлять наші результати щодо оптичної щільності рецептора до мелатоніну типу MT1 в перинодальній (розташованій навколо міоматозного вузла) зоні міометрію. В цій зоні констатуємо різку втрату лейоміоцитами рецепторів до мелатоніну (показник оптичної щільності рецепторів типу MT1 в лейоміоцитах в 1,92 рази нижчий, порівняно з інтактним міометрієм), натомість збереження рецепторного апарату як в ендотеліоцитах, так і в стромальних клітинах. Припускаємо, що завдяки цьому факту залишається можливість для терапевтичного впливу мелатоніну на ангіонеогенез та формування екстрацелюлярного матриксу на початковій стадії формування міоматозного вузла.

Існують дані, що мелатонін є активним стимулятором апоптозу [186], тобто, програмованої загибелі клітин, що запобігає формуванню пухлинної тканини. Для запуску процесів апоптозу необхідна взаємодія мелатоніну з рецепторним апаратом клітини, зокрема, з рецепторами типу MT1 [187]. Таким чином, як ми вважаємо, найефективніше апоптоз стимулюватиметься мелатоніном в лейоміоцитах, розташованих в інтактному міометрії, і значно меншою мірою – в перинодальній зоні та безпосередньо в самому міоматозному вузлі. Це ще один раз підтверджує висунуту нами раніше тезу щодо можливої ефективності профілактичного призначення мелатоніну жінкам з групи ризику стосовно лейоміоми матки.

**Перспективи подальших досліджень** полягають в оцінці ефективності призначення мелатоніну жінкам різних клінічних груп: як пацієнткам зі сформованими лейоміоматозними вузлами, так і практично здоровим жінкам, що належать до групи ризику стосовно даного захворювання, причому інтерес становитимуть не тільки безпосередньо симптоми, але і експресія мелатонінових рецепторів різних типів під впливом призначеного лікування.

## ВИСНОВКИ

1. Середня оптична щільність імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу MT1 у жінок, хворих на лейоміому матки, найвища в інтактному міометрії, порівняно з тканиною всередині лейоміоматозного вузла та в перинодальній зоні.
2. Серед досліджених типів клітин найбільша різниця в оптичній щільності імуногістохімічного забарвлення рецепторів до мелатоніну типу MT1 між зонами міометрію у жінок, хворих на лейоміому матки, спостерігається в лейоміоцитах: даний показник в 2,78 рази нижчий в лейоміоцитах, розташованих всередині лейоміоматозних вузлів, порівняно з лейоміоцитами, що локалізуються в інтактному міометрії.
3. В ендотеліоцитах спостерігається найменша різниця в експресії мелатонінових рецепторів типу MT1, залежно від локалізації тканини відносно лейоміоматозних вузлів.
4. Профілактичне призначення мелатоніну жінкам, що належать до групи ризику щодо захворювання на лейоміому матки, може бути обґрунтованим, враховуючи наявність рецепторів до мелатоніну типу MT1 в інтактному міометрії.

## **ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ**

В практичній діяльності лікаря-гінеколога консервативне лікування та профілактика лейоміоми матки посідають значне місце. Результати нашої роботи обґрунтовують профілактичне призначення мелатоніну жінкам, що належать до групи ризику стосовно лейоміоми матки, оскільки в інтактному міометрії збережено рецепторний апарат, чутливий до даного гормону, завдяки чому уповільнюються процеси патологічної проліферації, що лежать в основі формування лейоміоматозних вузлів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. TEXTY.ORG.UA. (2024, 29 березня). Демографи спрогнозували, як може скоротитися населення України до 2040 року. Available from: <https://texty.org.ua/fragments/112124/demohrafy-sprohnozuvaly-yak-mozhe-skorotyty-sya-naselennya-ukrayiny-do-2040-roku/>
2. Infertility Workup for the Women's Health Specialist: ACOG Committee Opinion, Number 781. *Obstet Gynecol.* 2019 Jun;133(6):e377-e384.
3. Wise LA, Laughlin-Tommaso SK. Epidemiology of uterine fibroids: from menarche to menopause. *Clin Obstet Gynecol.* 2016;59(1):2-24.
4. Gunther V., Otte S.V., Freytag D., Maass N., Alkatout I. Recurrent implantation failure-an overview of current research. *Gynecol.*
5. Al-Hendy A, Myers ER, Stewart E. Uterine fibroids: burden and unmet medical need. *Semin Reprod Med.* 2017;35(6):473-480.
6. Wise LA, Laughlin-Tommaso SK. Epidemiology of uterine fibroids: from menarche to menopause. *Clin Obstet Gynecol.* 2016;59(1):2-24.
7. Greathouse KL, Bredfeldt T, Everitt JI, et al.. Environmental estrogens differentially engage the histone methyltransferase EZH2 to increase risk of uterine tumorigenesis. *Mol Cancer Res.* 2012;10(4):546-557.
8. Asano R, Asai-Sato M, Matsukuma S, et al.. Expression of erythropoietin messenger ribonucleic acid in wild-type MED12 uterine leiomyomas under estrogenic influence: new insights into related growth disparities. *Fertil Steril.* 2019;111(1):178-185.
9. Sagrillo-Fagundes L, Bienvenue-Pariseault J, Vaillancourt C. Melatonin: the smart molecule that differentially modulates autophagy in tumor and normal placental cells. *PLoS ONE.* (2019) 14:e0202458  
10.1371/journal.pone.0202458

10. Borahay MA, Asoglu MR, Mas A, Adam S, Kilic GS, Al-Hendy A. Estrogen receptors and signaling in fibroids: role in pathobiology and therapeutic implications. *Reprod Sci.* 2017;24(9):1235-1244.
11. Giuliani E., As-Sanie S., Marsh E.E. Epidemiology and management of uterine fibroids. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2020;149:3–9.  
doi: 10.1002/ijgo.13102.
12. Jeng C.J., Ou K.Y., Long C.Y., Chuang L., Ker C.R. 500 Cases of High-intensity Focused Ultrasound (HIFU) Ablated Uterine Fibroids and Adenomyosis. *Taiwan J. Obs. Gynecol.* 2020;59:865–871.  
doi: 10.1016/j.tjog.2020.09.013.
13. Dolmans, M. M., Petraglia, F., Catherino, W. H., & Donnez, J. (2024). Pathogenesis of uterine fibroids: current understanding and future directions. *Fertility and sterility*, S0015-0282(24)00169-9. Advance online publication.
14. Stewart, E. A., Laughlin-Tommaso, S. K., Catherino, W. H., Lalitkumar, S., Gupta, D., & Vollenhoven, B. (2016). Uterine fibroids. *Nature reviews. Disease primers*, 2, 16043.
15. Styer, A. K., & Rueda, B. R. (2016). The Epidemiology and Genetics of Uterine Leiomyoma. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*, 34, 3–12.
16. Harris, H. R., Petrick, J. L., & Rosenberg, L. (2022). The epidemiology of uterine fibroids: Where do we go from here?. *Fertility and sterility*, 117(4), 841–842.
17. Pritts, E. A., Parker, W. H., & Olive, D. L. (2009). Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence. *Fertility and sterility*, 91(4), 1215–1223.
18. Siristatidis, C., Vaidakis, D., Rigos, I., Chrelias, G., & Papantoniou, N. (2016). Leiomyomas and infertility. *Minerva ginecologica*, 68(3), 283–296.

- 19.Loddo, A., Djokovic, D., Drizi, A., De Vree, B. P., Sedrati, A., & van Herendael, B. J. (2022). Hysteroscopic myomectomy: The guidelines of the International Society for Gynecologic Endoscopy (ISGE). *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*, 268, 121–128.
- 20.Ngan, T. Y. T., Zakhari, A., Czuzoj-Shulman, N., Tulandi, T., & Abenhaim, H. A. (2018). Laparoscopic and Robotic-Assisted Hysterectomy for Uterine Leiomyomas: A Comparison of Complications and Costs. *Journal of obstetrics and gynaecology Canada : JOGC = Journal d'obstetrique et gynecologie du Canada : JOGC*, 40(4), 432–439.
- 21.Mlodawska, O. W., Saini, P., Parker, J. B., Wei, J. J., Bulun, S. E., Simon, M. A., & Chakravarti, D. (2022). Epigenomic and enhancer dysregulation in uterine leiomyomas. *Human reproduction update*, 28(4), 518–547.
22. Ahmad, A., Kumar, M., Bhoi, N. R., Badruddeen, Akhtar, J., Khan, M. I., Ajmal, M., & Ahmad, M. (2023). Diagnosis and management of uterine fibroids: current trends and future strategies. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 34(3), 291–310.
- 23.Stewart, E. A., Laughlin-Tommaso, S. K., Catherino, W. H., Lalitkumar, S., Gupta, D., & Vollenhoven, B. (2016). Uterine fibroids. *Nature reviews. Disease primers*, 2, 16043.
- 24.Pavone, D., Clemenza, S., Sorbi, F., Fambrini, M., & Petraglia, F. (2018). Epidemiology and Risk Factors of Uterine Fibroids. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*, 46, 3–11.
- 25.Parker W. H. (2007). Etiology, symptomatology, and diagnosis of uterine myomas. *Fertility and sterility*, 87(4), 725–736.  
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.01.093>
- 26.Laughlin-Tommaso, S. K., Hesley, G. K., Hopkins, M. R., Brandt, K. R., Zhu, Y., & Stewart, E. A. (2017). Clinical limitations of the International

- Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) classification of uterine fibroids. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*, 139(2), 143–148.
27. Reis, F. M., Bloise, E., & Ortiga-Carvalho, T. M. (2016). Hormones and pathogenesis of uterine fibroids. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*, 34, 13–24.
28. Tian, Y. C., Wang, Q., Wang, H. M., Wu, J. H., & Dai, Y. M. (2022). Change of uterine leiomyoma size during pregnancy and the influencing factors: A cohort study. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*, 157(3), 677–685.
29. Konarska, M., Wrona, A. N., Aleksandrovych, V., Bereza, T., Sajewicz, M., Gach-Kuniewicz, B., Lis, M., Komnata, K., Paziewski, M., Maleszka, A., Depukat, P., Solewski, B., & Warchoł, Ł. (2016). Angiogenesis and pro-angiogenic factors in uterine fibroids - facts and myths. *Folia medica Cracoviensia*, 56(2), 37–43.
30. Coutinho, L. M., Assis, W. A., Spagnuolo-Souza, A., & Reis, F. M. (2022). Uterine Fibroids and Pregnancy: How Do They Affect Each Other?. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 29(8), 2145–2151.
31. Van Heertum, K., & Barmat, L. (2014). Uterine fibroids associated with infertility. *Women's health (London, England)*, 10(6), 645–653.
32. Малоінвазивна хірургія міоми матки у. Wang, S. Zhang, C. Li [et al.] // *Ginekol. пол.* – 2020. – Вип. 91 (3). – С. 149–157.
33. Железов Д. м. Повертаючись до особливостей перебігу вагітності та пологів у жінок із синдромом рубцевих змін на матці / Д.М. Железов, Г. С. Манасова, Н. В. Кузьмін // *Лікарська справа.* – 2020. – № 1-2. – С. 50–56.



- 34.Парацціні Ф. Вагітність і міома матки / Ф. Парацціні, Л. Тоцці, С. Бьянкі // Новітня практика. Рез. Клін. Обстет. Гінекол. – 2016. – Том. 34. – С. 74–84.
- 35.Сторожук М. С. Клінічна характеристика жінок репродуктивного віку, хворих на міому матки / М. С. Сторожук, О. О. Проценко, О. Б. Мартинишин // Здорові жінки. – 2012. – No 7 (73). – С. 16–157.
- 36.Сучасні погляди на етіологію, патогенез та лікування лейоміоми матки у жінок репродуктивного віку (огляд літератури) / А. Г. Корнацька, І. І. Ракша, І. С. Колесниченко, Г. В. Чубей // Здоровые женщины. – 2015. – No 1 (97). – С. 10–13.
- 37.Deligdish L. (2014). Endometrial changes associated with myomata of uterus No. 23. – P. 67-70.
- 38.Islam, M. S., Protic, O., Giannubilo, S. R., Toti, P., Tranquilli, A. L., Petraglia, F., Castellucci, M., & Ciarmela, P. (2013). Uterine leiomyoma: available medical treatments and new possible therapeutic options. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 98(3), 921–934.
- 39.Calaf, J., Arqué, M., Porta, O., & D'Angelo, E. (2013). El mioma como problema clínico [The fibroid as clinical problem]. *Medicina clinica*, 141 Suppl 1, 1–6.
- 40.Сидорова І. С. Міома матки (сучасні аспекти етіології, патогенезу, класифікації та профілактики) / Міома матки; за ред. І. С. Сидорової. – М.: МІА, 2013. – С. 5–66.
41. MacLean, J. A., 2nd, & Hayashi, K. (2022). Progesterone Actions and Resistance in Gynecological Disorders. *Cells*, 11(4), 647.
42. Kim, J. J., Kurita, T., & Bulun, S. E. (2013). Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocrine reviews*, 34(1), 130–162.
- 43.Suzuki, A., Kariya, M., Matsumura, N., Baba, T., Yagi, H., Mandai, M., Konishi, I., & Fujii, S. (2012). Expression of p53 and p21(WAF-1),

- apoptosis, and proliferation of smooth muscle cells in normal myometrium during the menstrual cycle: implication of DNA damage and repair for leiomyoma development. *Medical molecular morphology*, 45(4), 214–221.
44. Mauro, A., Martelli, A., Berardinelli, P., Russo, V., Bernabò, N., Di Giacinto, O., Mattioli, M., & Barboni, B. (2014). Effect of antiprogestosterone RU486 on VEGF expression and blood vessel remodeling on ovarian follicles before ovulation. *PloS one*, 9(4), e95910.
45. Cetin, E., Al-Hendy, A., & Ciebiera, M. (2020). Non-hormonal mediators of uterine fibroid growth. *Current opinion in obstetrics & gynecology*, 32(5), 361–370.
46. Islam, M. S., Greco, S., Janjusevic, M., Ciavattini, A., Giannubilo, S. R., D'Adderio, A., Biagini, A., Fiorini, R., Castellucci, M., & Ciarmela, P. (2016). Growth factors and pathogenesis. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*, 34, 25–36.
47. Zhao, D., Yu, Y., Shen, Y., Liu, Q., Zhao, Z., Sharma, R., & Reiter, R. J. (2019). Melatonin Synthesis and Function: Evolutionary History in Animals and Plants. *Frontiers in endocrinology*, 10, 249.  
<https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00249>Pandi-Perumal, S.R.; Tpxxt, I.;
48. Slominski, R. M., Reiter, R. J., Schlabritz-Loutsevitch, N., Ostrom, R. S., & Slominski, A. T. (2012). Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: distribution and functions. *Molecular and cellular endocrinology*, 351(2), 152–166.
49. Ng, K. Y., Leong, M. K., Liang, H., & Paxinos, G. (2017). Melatonin receptors: distribution in mammalian brain and their respective putative functions. *Brain structure & function*, 222(7), 2921–2939.
50. Adekeye, A. O., & Fafure, A. A. (2022). Assessment of the cellular integrity and expression of melatonin receptor (MTNR1A) in the retina

- assaulted by ethanol and acetaminophen. *Human & experimental toxicology*, 41, 9603271221149010.
51. Turgut, M., & Kaplan, S. (2011). Effects of melatonin on peripheral nerve regeneration. *Recent patents on endocrine, metabolic & immune drug discovery*, 5(2), 100–108.
52. Bellastella, A., De Bellis, A., Bellastella, G., & Esposito, K. (2014). Opposite influence of light and blindness on pituitary-gonadal function. *Frontiers in endocrinology*, 4, 205.
53. Hardeland, R., Pandi-Perumal, S. R., & Cardinali, D. P. (2006). Melatonin. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 38(3), 313–316.
54. Vasey, C., McBride, J., & Penta, K. (2021). Circadian Rhythm Dysregulation and Restoration: The Role of Melatonin. *Nutrients*, 13(10), 3480.
55. Chitimus, D. M., Popescu, M. R., Voiculescu, S. E., Panaitescu, A. M., Pavel, B., Zagrean, L., & Zagrean, A. M. (2020). Melatonin's Impact on Antioxidative and Anti-Inflammatory Reprogramming in Homeostasis and Disease. *Biomolecules*, 10(9), 1211.
56. Meng, X., Li, Y., Li, S., Zhou, Y., Gan, R. Y., Xu, D. P., & Li, H. B. (2017). Dietary Sources and Bioactivities of Melatonin. *Nutrients*, 9(4), 367.
57. Patel, R., Parmar, N., Pramanik Palit, S., Rathwa, N., Ramachandran, A. V., & Begum, R. (2022). Diabetes mellitus and melatonin: Where are we?. *Biochimie*, 202, 2–14.
58. Xiong, Y., Ma, C., Li, Q., Zhang, W., Zhao, H., Ren, P., Zhang, K., & Lei, X. (2023). Melatonin ameliorates simulated-microgravity-induced mitochondrial dysfunction and lipid metabolism dysregulation in hepatocytes. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 37(9), e23132.

59. Yanar, K., Simsek, B., & Çakatay, U. (2019). Integration of Melatonin Related Redox Homeostasis, Aging, and Circadian Rhythm. *Rejuvenation research*, 22(5), 409–419.
60. Park, W. R., Choi, B., Kim, Y. J., Kim, Y. H., Park, M. J., Kim, D. I., Choi, H. S., & Kim, D. K. (2022). Melatonin Regulates Iron Homeostasis by Inducing Hepcidin Expression in Hepatocytes. *International journal of molecular sciences*, 23(7), 3593.
61. Acuña Castroviejo, D., Escames, G., Carazo, A., León, J., Khaldy, H., & Reiter, R. J. (2002). Melatonin, mitochondrial homeostasis and mitochondrial-related diseases. *Current topics in medicinal chemistry*, 2(2), 133–151.
62. Calvo, J. R., González-Yanes, C., & Maldonado, M. D. (2013). The role of melatonin in the cells of the innate immunity: a review. *Journal of pineal research*, 55(2), 103–120.
63. Liu, J., Clough, S. J., Hutchinson, A. J., Adamah-Biassi, E. B., Popovska-Gorevski, M., & Dubocovich, M. L. (2016). MT1 and MT2 Melatonin Receptors: A Therapeutic Perspective. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 56, 361–383.
64. Gobbi, G., & Comai, S. (2019). Differential Function of Melatonin MT<sub>1</sub> and MT<sub>2</sub> Receptors in REM and NREM Sleep. *Frontiers in endocrinology*, 10, 87.
65. Oishi, A., & Jockers, R. (2022). Measuring Protein-Protein Interactions of Melatonin Receptors by Bioluminescence Resonance Energy Transfer (BRET). *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 2550, 207–218.
66. Pandi-Perumal, S. R., Trakht, I., Srinivasan, V., Spence, D. W., Maestroni, G. J., Zisapel, N., & Cardinali, D. P. (2008). Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Progress in neurobiology*, 85(3), 335–353.

67. Danielczyk, K., & Dziegiel, P. (2009). Receptory melatoninowe MT1 oraz ich rola w onkostatycznym działaniu melatoniny [MT1 melatonin receptors and their role in the oncostatic action of melatonin]. *Postępy higieny i medycyny doświadczalnej (Online)*, 63, 425–434.
68. Olcese J. M. (2020). Melatonin and Female Reproduction: An Expanding Universe. *Frontiers in endocrinology*, 11, 85.
69. Brzezinski, A., Rai, S., Purohit, A., & Pandi-Perumal, S. R. (2021). Melatonin, Clock Genes, and Mammalian Reproduction: What Is the Link?. *International journal of molecular sciences*, 22(24), 13240.
70. Yong, W., Ma, H., Na, M., Gao, T., Zhang, Y., Hao, L., Yu, H., Yang, H., & Deng, X. (2021). Roles of melatonin in the field of reproductive medicine. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 144, 112001.
71. Cipolla-Neto, J., & Amaral, F. G. D. (2018). Melatonin as a Hormone: New Physiological and Clinical Insights. *Endocrine reviews*, 39(6), 990–1028.
72. Park, S., Ham, J., Yang, C., Park, W., Park, H., An, G., Song, J., Hong, T., Park, S. J., Kim, H. S., Song, G., & Lim, W. (2023). Melatonin inhibits endometriosis development by disrupting mitochondrial function and regulating tiRNAs. *Journal of pineal research*, 74(1), e12842.
73. Sharifi, M., Rajabpoor Nikoo, N., Badehnoosh, B., Shafabakhsh, R., Asemi, R., Reiter, R. J., & Asemi, Z. (2023). Therapeutic effects of melatonin on endometriosis, targeting molecular pathways: Current knowledge and future perspective. *Pathology, research and practice*, 243, 154368.
74. Wang, F., Xie, N., Wu, Y., Zhang, Q., Zhu, Y., Dai, M., Zhou, J., Pan, J., Tang, M., Cheng, Q., Shi, B., Guo, Q., Li, X., Xie, L., Wang, B., Yang, D., Weng, Q., Guo, L., Ye, J., Pan, M., ... Qu, F. (2021). Association

- between circadian rhythm disruption and polycystic ovary syndrome. *Fertility and sterility*, 115(3), 771–781.
75. Claustrat, B., & Leston, J. (2015). Melatonin: Physiological effects in humans. *Neuro-Chirurgie*, 61(2-3), 77–84.
76. Amaral, F. G. D., & Cipolla-Neto, J. (2018). A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Archives of endocrinology and metabolism*, 62(4), 472–479.
77. Tamura, H., Nakamura, Y., Korkmaz, A., Manchester, L. C., Tan, D. X., Sugino, N., & Reiter, R. J. (2009). Melatonin and the ovary: physiological and pathophysiological implications. *Fertility and sterility*, 92(1), 328–343.
78. Sánchez-Ajofrín, I., Martín-Maestro, A., Medina-Chávez, D. A., Laborda-Gomariz, J. Á., Peris-Frau, P., Garde, J. J., & Soler, A. J. (2022). Melatonin rescues the development and quality of oocytes and cumulus cells after prolonged ovary preservation: An ovine in vitro model. *Theriogenology*, 186, 1–11.
79. Genario, R., Morello, E., Bueno, A. A., & Santos, H. O. (2019). The usefulness of melatonin in the field of obstetrics and gynecology. *Pharmacological research*, 147, 104337.
80. Al-Shahat, A., Hulail, M. A. E., Soliman, N. M. M., Khamis, T., Fericean, L. M., Arisha, A. H., & Moawad, R. S. (2022). Melatonin Mitigates Cisplatin-Induced Ovarian Dysfunction via Altering Steroidogenesis, Inflammation, Apoptosis, Oxidative Stress, and PTEN/PI3K/Akt/mTOR/AMPK Signaling Pathway in Female Rats. *Pharmaceutics*, 14(12), 2769.
81. Otsuka F. (2018). Modulation of bone morphogenetic protein activity by melatonin in ovarian steroidogenesis. *Reproductive medicine and biology*, 17(3), 228–233.

82. Riaz, H., Yousuf, M. R., Liang, A., Hua, G. H., & Yang, L. (2019). Effect of melatonin on regulation of apoptosis and steroidogenesis in cultured buffalo granulosa cells. *Animal science journal = Nihon chikusan Gakkaiho*, *90*(4), 473–480.
83. Cipolla-Neto, J., Amaral, F. G., Soares, J. M., Jr, Gallo, C. C., Furtado, A., Cavaco, J. E., Gonçalves, I., Santos, C. R. A., & Quintela, T. (2022). The Crosstalk between Melatonin and Sex Steroid Hormones. *Neuroendocrinology*, *112*(2), 115–129.
84. Tamura, I., Tamura, H., Kawamoto-Jozaki, M., Shirafuta, Y., Fujimura, T., Doi-Tanaka, Y., Mihara, Y., Taketani, T., & Sugino, N. (2022). Effects of Melatonin on the Transcriptome of Human Granulosa Cells, Fertilization and Blastocyst Formation. *International journal of molecular sciences*, *23*(12), 6731.
85. Fang, L., Li, Y., Wang, S., Yu, Y., Li, Y., Guo, Y., Yan, Y., & Sun, Y. P. (2019). Melatonin induces progesterone production in human granulosa-lutein cells through upregulation of StAR expression. *Aging*, *11*(20), 9013–9024.
86. Rai, S., & Ghosh, H. (2021). Modulation of human ovarian function by melatonin. *Frontiers in bioscience (Elite edition)*, *13*(1), 140–157.
87. Niles, L. P., Wang, J., Shen, L., Lobb, D. K., & Younglai, E. V. (1999). Melatonin receptor mRNA expression in human granulosa cells. *Molecular and cellular endocrinology*, *156*(1-2), 107–110.
88. Cruz, M. H., Leal, C. L., Cruz, J. F., Tan, D. X., & Reiter, R. J. (2014). Essential actions of melatonin in protecting the ovary from oxidative damage. *Theriogenology*, *82*(7), 925–932.
89. Bódis, J., Koppán, M., Kornya, L., Tinneberg, H. R., & Török, A. (2001). Influence of melatonin on basal and gonadotropin-stimulated progesterone and estradiol secretion of cultured human granulosa cells

- and in the superfused granulosa cell system. *Gynecologic and obstetric investigation*, 52(3), 198–202.
90. Srinivasan, V., Spence, W. D., Pandi-Perumal, S. R., Zakharia, R., Bhatnagar, K. P., & Brzezinski, A. (2009). Melatonin and human reproduction: shedding light on the darkness hormone. *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 25(12), 779–785.
91. Shi, L., Li, N., Bo, L., & Xu, Z. (2013). Melatonin and hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *Current medicinal chemistry*, 20(15), 2017–2031.
92. Wu, D., Zhao, D., Huang, D., Sun, X., Li, K. X., Feng, Y., Yan, Q. X., Li, X. Y., Cui, C. P., Li, H. D., & Li, B. Y. (2022). Estrogen-dependent depressor response of melatonin via baroreflex afferent function and intensification of PKC-mediated  $\text{Na}_v1.9$  activation. *Acta pharmacologica Sinica*, 43(9), 2313–2324.
93. Cui, L., Xu, F., Jiang, Z., Wang, S., Li, X., Ding, Y., Zhang, Y., & Du, M. (2021). Melatonin regulates proliferation and apoptosis of endometrial stromal cells via MT1. *Acta biochimica et biophysica Sinica*, 53(10), 1333–1341.
94. Cos, S., González, A., Martínez-Campa, C., Mediavilla, M. D., Alonso-González, C., & Sánchez-Barceló, E. J. (2008). Melatonin as a selective estrogen enzyme modulator. *Current cancer drug targets*, 8(8), 691–702.
95. Greendale, G. A., Witt-Enderby, P., Karlamangla, A. S., Munmun, F., Crawford, S., Huang, M., & Santoro, N. (2020). Melatonin Patterns and Levels During the Human Menstrual Cycle and After Menopause. *Journal of the Endocrine Society*, 4(11), bvaal115.
96. Cheng, J. C., Fang, L., Li, Y., Wang, S., Li, Y., Yan, Y., Jia, Q., Wu, Z., Wang, Z., Han, X., & Sun, Y. P. (2020). Melatonin stimulates aromatase expression and estradiol production in human granulosa-lutein cells: relevance for high serum estradiol levels in patients with ovarian



- hyperstimulation syndrome. *Experimental & molecular medicine*, 52(8), 1341–1350.
97. Liu, S., Jia, Y., Meng, S., Luo, Y., Yang, Q., & Pan, Z. (2023). Mechanisms of and Potential Medications for Oxidative Stress in Ovarian Granulosa Cells: A Review. *International journal of molecular sciences*, 24(11), 9205.
98. Paulino, L. R. F. M., Barroso, P. A. A., Silva, B. R., Barroso, L. G., Barbalho, E. C., Bezerra, F. T. G., Souza, A. L. P., Monte, A. P. O., Silva, A. W. B., Matos, M. H. T., & Silva, J. R. V. (2022). Immunolocalization of melatonin receptors in bovine ovarian follicles and in vitro effects of melatonin on growth, viability and gene expression in secondary follicles. *Domestic animal endocrinology*, 81, 106750.
99. Arjoune, A., & Sirard, M. A. (2022). The genomic response of human granulosa cells (KGN) to melatonin and specific agonists/antagonists to the melatonin receptors. *Scientific reports*, 12(1), 17539.
100. Xu, D., Liu, L., Zhao, Y., Yang, L., Cheng, J., Hua, R., Zhang, Z., & Li, Q. (2020). Melatonin protects mouse testes from palmitic acid-induced lipotoxicity by attenuating oxidative stress and DNA damage in a SIRT1-dependent manner. *Journal of pineal research*, 69(4), e12690.
101. Proietti, S., Cucina, A., Minini, M., & Bizzarri, M. (2017). Melatonin, mitochondria, and the cancer cell. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 74(21), 4015–4025.
102. Ngai, Z. N., Chok, K. C., Ng, K. Y., Koh, R. Y., & Chye, S. M. (2022). Potential role of melatonin in prevention and treatment of lung cancer. *Hormone molecular biology and clinical investigation*, 43(4), 485–503.
103. Samanta S. (2020). Melatonin: an endogenous miraculous indolamine, fights against cancer progression. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 146(8), 1893–1922.

104. Rodríguez-Santana, C., Florido, J., Martínez-Ruiz, L., López-Rodríguez, A., Acuña-Castroviejo, D., & Escames, G. (2023). Role of Melatonin in Cancer: Effect on Clock Genes. *International journal of molecular sciences*, *24*(3), 1919.
105. Farhood, B., Goradel, N. H., Mortezaee, K., Khanlarkhani, N., Najafi, M., & Sahebkar, A. (2019). Melatonin and cancer: From the promotion of genomic stability to use in cancer treatment. *Journal of cellular physiology*, *234*(5), 5613–5627.
106. Fernández, A., Ordóñez, R., Reiter, R. J., González-Gallego, J., & Mauriz, J. L. (2015). Melatonin and endoplasmic reticulum stress: relation to autophagy and apoptosis. *Journal of pineal research*, *59*(3), 292–307.
107. Florido, J., Martinez-Ruiz, L., Rodriguez-Santana, C., López-Rodríguez, A., Hidalgo-Gutiérrez, A., Cottet-Rousselle, C., Lamarche, F., Schlattner, U., Guerra-Librero, A., Aranda-Martínez, P., Acuña-Castroviejo, D., López, L. C., & Escames, G. (2022). Melatonin drives apoptosis in head and neck cancer by increasing mitochondrial ROS generated via reverse electron transport. *Journal of pineal research*, *73*(3), e12824.
108. He, R., Cui, M., Lin, H., Zhao, L., Wang, J., Chen, S., & Shao, Z. (2018). Melatonin resists oxidative stress-induced apoptosis in nucleus pulposus cells. *Life sciences*, *199*, 122–130.
109. Kubatka, P., Zubor, P., Busselberg, D., Kwon, T. K., Adamek, M., Petrovic, D., Opatrilova, R., Gazdikova, K., Caprnda, M., Rodrigo, L., Danko, J., & Kruzliak, P. (2018). Melatonin and breast cancer: Evidences from preclinical and human studies. *Critical reviews in oncology/hematology*, *122*, 133–143.
110. Sadoughi, F., Dana, P. M., Asemi, Z., Shafabakhash, R., Mohammadi, S., Heidar, Z., Mirzamoradi, M., Targhazeh, N., & Mirzaei,

- H. (2022). Molecular and cellular mechanisms of melatonin in breast cancer. *Biochimie*, 202, 26–33.
111. Ahabrach, H., El Mlili, N., Errami, M., & Cauli, O. (2021). Circadian Rhythm and Concentration of Melatonin in Breast Cancer Patients. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets*, 21(10), 1869–1881.
112. González-González, A., Mediavilla, M. D., & Sánchez-Barceló, E. J. (2018). Melatonin: A Molecule for Reducing Breast Cancer Risk. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(2), 336.
113. Zare, H., Shafabakhsh, R., Reiter, R. J., & Asemi, Z. (2019). Melatonin is a potential inhibitor of ovarian cancer: molecular aspects. *Journal of ovarian research*, 12(1), 26.
114. Poole, E. M., Schernhammer, E., Mills, L., Hankinson, S. E., & Tworoger, S. S. (2015). Urinary melatonin and risk of ovarian cancer. *Cancer causes & control : CCC*, 26(10), 1501–1506.
115. Cuciello, M. S., Cesário, R. C., Silveira, H. S., Gaiotte, L. B., Dos Santos, S. A. A., de Campos Zuccari, D. A. P., Seiva, F. R. F., Reiter, R. J., & de Almeida Chuffa, L. G. (2022). Melatonin Reverses the Warburg-Type Metabolism and Reduces Mitochondrial Membrane Potential of Ovarian Cancer Cells Independent of MT1 Receptor Activation. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(14), 4350.
116. Targhazeh, N., Reiter, R. J., Rahimi, M., Qujeq, D., Yousefi, T., Shahavi, M. H., & Mir, S. M. (2022). Oncostatic activities of melatonin: Roles in cell cycle, apoptosis, and autophagy. *Biochimie*, 202, 34–48.
117. Bu, S., Wang, Q., Sun, J., Li, X., Gu, T., & Lai, D. (2020). Melatonin suppresses chronic restraint stress-mediated metastasis of epithelial ovarian cancer via NE/AKT/ $\beta$ -catenin/SLUG axis. *Cell death & disease*, 11(8), 644.

118. Jin, Y., Choi, Y. J., Heo, K., & Park, S. J. (2021). Melatonin as an Oncostatic Molecule Based on Its Anti-Aromatase Role in Breast Cancer. *International journal of molecular sciences*, 22(1), 438.
119. Li, Y., Li, S., Zhou, Y., Meng, X., Zhang, J. J., Xu, D. P., & Li, H. B. (2017). Melatonin for the prevention and treatment of cancer. *Oncotarget*, 8(24), 39896–39921.
120. Targhazeh, N., Hutt, K. J., Winship, A. L., Reiter, R., & Yousefi, B. (2022). Melatonin as an oncostatic agent: Review of the modulation of tumor microenvironment and overcoming multidrug resistance. *Biochimie*, 202, 71–8
121. Nikolaev, G., Robeva, R., & Konakchieva, R. (2021). Membrane Melatonin Receptors Activated Cell Signaling in Physiology and Disease. *International journal of molecular sciences*, 23(1), 471.
122. K., Pula, B., Zemla, A., Kobierzycki, C., Kedzia, W., Nowak-Markwitz, E., Spaczynski, M., Zabel, M., Podhorska-Okolow, M., & Dziegiel, P. (2014). Expression of the MT1 melatonin receptor in ovarian cancer cells. *International journal of molecular sciences*, 15(12), 23074–23089.
123. Treeck, O., Haldar, C., & Ortmann, O. (2006). Antiestrogens modulate MT1 melatonin receptor expression in breast and ovarian cancer cell lines. *Oncology reports*, 15(1), 231–235.
124. Goyal, R., Gupta, T., Bal, A., Sahni, D., & Singh, G. (2020). Role of Melatonin in Breast Carcinoma: Correlation of Expression Patterns of Melatonin-1 Receptor With Estrogen, Progesterone, and HER2 Receptors. *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM*, 28(7), 518–523.
125. Ahmad, S. B., Ali, A., Bilal, M., Rashid, S. M., Wani, A. B., Bhat, R. R., & Rehman, M. U. (2023). Melatonin and Health: Insights of

- Melatonin Action, Biological Functions, and Associated Disorders. *Cellular and molecular neurobiology*, 43(6), 2437–2458.
126. Tabecka-Lonczynska, A., Mytych, J., Solek, P., Kulpa-Greszta, M., & Koziorowski, M. (2018). Melatonin receptors subtypes (MT1 and MT2) in the uterus masculinus of mature male european bison. Biological and seasonal reproductive role. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*, 69(1), 67–73.
127. Kinker, G. S., Ostrowski, L. H., Ribeiro, P. A. C., Chanoch, R., Muxel, S. M., Tirosh, I., Spadoni, G., Rivara, S., Martins, V. R., Santos, T. G., Markus, R. P., & Fernandes, P. A. C. M. (2021). MT1 and MT2 melatonin receptors play opposite roles in brain cancer progression. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*, 99(2), 289–301.
128. Osanai, K., Kobayashi, Y., Otsu, M., Izawa, T., Sakai, K., & Iwashita, M. (2017). Ramelteon, a selective MT1/MT2 receptor agonist, suppresses the proliferation and invasiveness of endometrial cancer cells. *Human cell*, 30(3), 209–215.
129. Samanta S. (2022). Melatonin: A Potential Antineoplastic Agent in Breast Cancer. *Journal of environmental pathology, toxicology and oncology : official organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer*, 41(4), 55–84.
130. Deming, S. L., Lu, W., Beeghly-Fadiel, A., Zheng, Y., Cai, Q., Long, J., Shu, X. O., Gao, Y. T., & Zheng, W. (2012). Melatonin pathway genes and breast cancer risk among Chinese women. *Breast cancer research and treatment*, 132(2), 693–699.
131. Stauch, B., Johansson, L. C., & Cherezov, V. (2020). Structural insights into melatonin receptors. *The FEBS journal*, 287(8), 1496–1510.
132. Zee P. C. (2004). Melatonin receptors. An overview for physicians. *Postgraduate medicine*, 116(6 Suppl Primary), 10–13.

133. Kulsoom, K., Ali, W., Saba, Z., Hussain, S., Zahra, S., Irshad, M., & Ramzan, M. S. (2024). Revealing Melatonin's Mysteries: Receptors, Signaling Pathways, and Therapeutics Applications. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme*, 56(6), 405–418.
134. Olcese, J., & Beesley, S. (2014). Clinical significance of melatonin receptors in the human myometrium. *Fertility and sterility*, 102(2), 329–335.
135. Li, D. Y., Smith, D. G., Hardeland, R., Yang, M. Y., Xu, H. L., Zhang, L., Yin, H. D., & Zhu, Q. (2013). Melatonin receptor genes in vertebrates. *International journal of molecular sciences*, 14(6), 11208–11223.
136. Cruz-Sanabria, F., Carmassi, C., Bruno, S., Bazzani, A., Carli, M., Scarselli, M., & Faraguna, U. (2023). Melatonin as a Chronobiotic with Sleep-promoting Properties. *Current neuropharmacology*, 21(4), 951–987.
137. Lewandowska, K., Małkiewicz, M. A., Siemiński, M., Cubała, W. J., Winklewski, P. J., & Mędrzycka-Dąbrowska, W. A. (2020). The role of melatonin and melatonin receptor agonist in the prevention of sleep disturbances and delirium in intensive care unit - a clinical review. *Sleep medicine*, 69, 127–134.
138. Li, P., Hu, F., Cao, X., Luo, L., & Tu, Q. (2020). Melatonin receptor protects cardiomyocyte against oxidative stress-induced apoptosis through the MAPK-ERK signaling pathway. *Journal of receptor and signal transduction research*, 40(2), 117–125.
139. Ocak, Ö., Silan, F., & Şahin, E. M. (2022). Melatonin receptor gene polymorphisms as a risk factor in patients with diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 38(8), e3573.

140. Jockers, R., Delagrangé, P., Dubocovich, M. L., Markus, R. P., Renault, N., Tosini, G., Cecon, E., & Zlotos, D. P. (2016). Update on melatonin receptors: IUPHAR Review 20. *British journal of pharmacology*, 173(18), 2702–2725.
141. Boutin, J. A., Logez, C., Damian, M., Wagner, R., Banères, J. L., & Ferry, G. (2022). MT1 Melatonin Receptor Reconstitution in Nanodiscs. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 2550, 171–178.
142. Klosen P. (2024). Thirty-seven years of MT1 and MT2 melatonin receptor localization in the brain: Past and future challenges. *Journal of pineal research*, 76(3), e12955.
143. Bonnaud, A., Dupré, C., Legros, C., & Boutin, J. A. (2022). MT1 Receptor Signaling Pathways by Impedance Measurement. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 2550, 201–206.
144. Yasuo, S., Yoshimura, T., Ebihara, S., & Korf, H. W. (2009). Melatonin transmits photoperiodic signals through the MT1 melatonin receptor. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 29(9), 2885–2889.
145. Oishi, A., Gbahou, F., & Jockers, R. (2021). Melatonin receptors, brain functions, and therapies. *Handbook of clinical neurology*, 179, 345–356.
146. Dupré, C., Legros, C., & Boutin, J. A. (2022). Functionality of Melatonin Receptors: Recruitment of  $\beta$ -Arrestin at MT1. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 2550, 195–199.
147. Kaneko, Y., Hayashi, T., Yu, S., Tajiri, N., Bae, E. C., Solomita, M. A., Chheda, S. H., Weinbren, N. L., Parolini, O., & Borlongan, C. V. (2011). Human amniotic epithelial cells express melatonin receptor MT1, but not melatonin receptor MT2: a new perspective to neuroprotection. *Journal of pineal research*, 50(3), 272–280.

148. Lai, L., Yuan, L., Cheng, Q., Dong, C., Mao, L., & Hill, S. M. (2009). Alteration of the MT1 melatonin receptor gene and its expression in primary human breast tumors and breast cancer cell lines. *Breast cancer research and treatment*, *118*(2), 293–305.
149. de Castro, T. B., Mota, A. L., Bordin-Junior, N. A., Neto, D. S., & Zuccari, D. A. P. C. (2018). Immunohistochemical Expression of Melatonin Receptor MT1 and Glucose Transporter GLUT1 in Human Breast Cancer. *Anti-cancer agents in medicinal chemistry*, *18*(15), 2110–2116.
150. Hill, S. M., Cheng, C., Yuan, L., Mao, L., Jockers, R., Dauchy, B., & Blask, D. E. (2013). Age-related decline in melatonin and its MT1 receptor are associated with decreased sensitivity to melatonin and enhanced mammary tumor growth. *Current aging science*, *6*(1), 125–133.
151. Dincer, B., Yildiztekin, G., & Cinar, I. (2023). Unlocking Synergistic Potential: Agomelatine Enhances the Chemotherapeutic Effect of Paclitaxel in Breast Cancer Cell Through MT1 Melatonin Receptors and ER-alpha Axis. *Chemistry & biodiversity*, *20*(10), e202301093.
152. Ezzati, M., Velaei, K., & Kheirjou, R. (2021). Melatonin and its mechanism of action in the female reproductive system and related malignancies. *Molecular and cellular biochemistry*, *476*(8), 3177–3190.
153. Hill, S. M., Belancio, V. P., Dauchy, R. T., Xiang, S., Brimer, S., Mao, L., Hauch, A., Lundberg, P. W., Summers, W., Yuan, L., Frasch, T., & Blask, D. E. (2015). Melatonin: an inhibitor of breast cancer. *Endocrine-related cancer*, *22*(3), R183–R204.
154. Jablonska, K., Pula, B., Zemla, A., Owczarek, T., Wojnar, A., Rys, J., Ambicka, A., Podhorska-Okolow, M., Ugorski, M., & Dziegiel, P. (2013). Expression of melatonin receptor MT1 in cells of human invasive ductal breast carcinoma. *Journal of pineal research*, *54*(3), 334–345.



155. Oishi, A., Cecon, E., & Jockers, R. (2018). Melatonin Receptor Signaling: Impact of Receptor Oligomerization on Receptor Function. *International review of cell and molecular biology*, 338, 59–77.
156. Boutin, J. A., Bonnaud, A., Brasseur, C., Bruno, O., Lepretre, N., Oosting, P., Coumailleau, S., Delagrangé, P., Nosjean, O., & Legros, C. (2017). New MT<sub>2</sub> Melatonin Receptor-Selective Ligands: Agonists and Partial Agonists. *International journal of molecular sciences*, 18(7), 1347.
157. Posa, L., De Gregorio, D., Gobbi, G., & Comai, S. (2018). Targeting Melatonin MT<sub>2</sub> Receptors: A Novel Pharmacological Avenue for Inflammatory and Neuropathic Pain. *Current medicinal chemistry*, 25(32), 3866–3882.
158. Feng, Y., Jiang, X., Liu, W., & Lu, H. (2023). The location, physiology, pathology of hippocampus Melatonin MT<sub>2</sub> receptor and MT<sub>2</sub>-selective modulators. *European journal of medicinal chemistry*, 262, 115888.
159. Karamitri, A., Renault, N., Clement, N., Guillaume, J. L., & Jockers, R. (2013). Minireview: Toward the establishment of a link between melatonin and glucose homeostasis: association of melatonin MT<sub>2</sub> receptor variants with type 2 diabetes. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, 27(8), 1217–1233.
160. Karamitri, A., Vincens, M., Chen, M., & Jockers, R. (2013). Implication des mutations du récepteur de la mélatonine MT<sub>2</sub> dans la survenue du diabète de type 2 [Involvement of melatonin MT<sub>2</sub> receptor mutants in type 2 diabetes development]. *Medecine sciences : M/S*, 29(8-9), 778–784.
161. Zhu, H., Zhao, Z. J., Liu, H. Y., Cai, J., Lu, Q. K., Ji, L. D., & Xu, J. (2023). The melatonin receptor 1B gene links circadian rhythms and

- type 2 diabetes mellitus: an evolutionary story. *Annals of medicine*, 55(1), 1262–1286.
162. Karamitri, A., & Jockers, R. (2019). Melatonin in type 2 diabetes mellitus and obesity. *Nature reviews. Endocrinology*, 15(2), 105–125.
163. Zhang, X., Xie, L., Zhong, M., Yang, B., Yang, Q., Yang, H., & Xie, C. (2020). The association between melatonin receptor 1B gene polymorphisms and type 2 diabetes mellitus (T2DM) in Chinese populations: a meta-analysis. *Annals of palliative medicine*, 9(3), 957–966.
164. Ferreira T, Rasband. W. ImageJ . User Guide. New York: National Institute of Health; 2012. 187 p.
165. Lillie RD. Histopathologic technic and practical histochemistry. Philadelphia: Blackiston Co Inc; 1954. 456 p.
166. Boenisch T, Farmilo AJ, Stead RH. Immunochemical staining methods 3rd ed. Carpinteria: DAKO Co; 2001.
167. Cecon, E., Oishi, A., & Jockers, R. (2018). Melatonin receptors: molecular pharmacology and signalling in the context of system bias. *British journal of pharmacology*, 175(16), 3263–3280.
168. Islam, M. S., Protic, O., Stortoni, P., Grechi, G., Lamanna, P., Petraglia, F., Castellucci, M., & Ciarmela, P. (2013). Complex networks of multiple factors in the pathogenesis of uterine leiomyoma. *Fertility and sterility*, 100(1), 178–193.
169. Petraglia F. (2016). Uterine fibroid: from pathogenesis to clinical management. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*, 34, 1–2.
170. Segars, J. H., & Al-Hendy, A. (2017). Uterine Leiomyoma: New Perspectives on an Old Disease. *Seminars in reproductive medicine*, 35(6), 471–472.

171. Islam, M. S., Ciavattini, A., Petraglia, F., Castellucci, M., & Ciarmela, P. (2018). Extracellular matrix in uterine leiomyoma pathogenesis: a potential target for future therapeutics. *Human reproduction update*, 24(1), 59–85.
172. Don, E. E., Middelkoop, M. A., Hehenkamp, W. J. K., Mijatovic, V., Griffioen, A. W., & Huirne, J. A. F. (2023). Endometrial Angiogenesis of Abnormal Uterine Bleeding and Infertility in Patients with Uterine Fibroids-A Systematic Review. *International journal of molecular sciences*, 24(8), 7011.
173. AlAshqar, A., Lulseged, B., Mason-Otey, A., Liang, J., Begum, U. A. M., Afrin, S., & Borahay, M. A. (2023). Oxidative Stress and Antioxidants in Uterine Fibroids: Pathophysiology and Clinical Implications. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12(4), 807.
174. Markowska, A., Mardas, M., Gajdzik, E., Zagrodzki, P., & Markowska, J. (2015). Oxidative stress markers in uterine fibroids tissue in pre- and postmenopausal women. *Clinical and experimental obstetrics & gynecology*, 42(6), 725–729.
175. Asare, G. A., Akuffo, G., Doku, D., Asiedu, B., & Santa, S. (2016). Dynamics of urinary oxidative stress biomarkers: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and 8-isoprostane in uterine leiomyomas. *Journal of mid-life health*, 7(1), 8–14.
176. Pejić, S., Kasapović, J., Todorović, A., Stojiljković, V., & Pajović, S. B. (2006). Lipid peroxidation and antioxidant status in blood of patients with uterine myoma, endometrial polypus, hyperplastic and malignant endometrium. *Biological research*, 39(4), 619–629.
177. Pejić, S., Todorović, A., Stojiljković, V., Kasapović, J., & Pajović, S. B. (2009). Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in endometrium of patients with polyps, myoma, hyperplasia and

- adenocarcinoma. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, 7, 149.
178. Galano, A., & Reiter, R. J. (2018). Melatonin and its metabolites vs oxidative stress: From individual actions to collective protection. *Journal of pineal research*, 65(1), e12514.
179. Mańka, S., & Majewska, E. (2016). Immunoregulatory action of melatonin. The mechanism of action and the effect on inflammatory cells. *Postepy higieny i medycyny doswiadczałnej (Online)*, 70(0), 1059–1067.
180. Reiter, R. J., Tan, D. X., & Galano, A. (2014). Melatonin: exceeding expectations. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 29(5), 325–333.
181. Reiter, R. J., Mayo, J. C., Tan, D. X., Sainz, R. M., Alatorre-Jimenez, M., & Qin, L. (2016). Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. *Journal of pineal research*, 61(3), 253–278.
182. Witt-Enderby, P. A., & Li, P. K. (2000). Melatonin receptors and ligands. *Vitamins and hormones*, 58, 321–354.
183. Ma, Q., Reiter, R. J., & Chen, Y. (2020). Role of melatonin in controlling angiogenesis under physiological and pathological conditions. *Angiogenesis*, 23(2), 91–104.
184. Bicer, E., Bese, T., Tuzun, D. D., Ilvan, S., Kayan, B. O., & Demirkiran, F. (2024). The Relationship Between Melatonin 1-2 Receptor Expression in Patients With Epithelial Ovarian Cancer and Survival. *International journal of gynecological pathology : official journal of the International Society of Gynecological Pathologists*, 43(2), 190–199.
185. Jablonska, K., Nowinska, K., Piotrowska, A., Partynska, A., Katnik, E., Pawelczyk, K., Glatzel-Plucinska, N., Podhorska-Okolow, M., & Dziegiel, P. (2019). Prognostic Impact of Melatonin Receptors MT1 and MT2 in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). *Cancers*, 11(7), 1001.

186. Wang, L., Wang, C., Li, X., Tao, Z., Zhu, W., Su, Y., & Choi, W. S. (2023). Melatonin and erastin emerge synergistic anti-tumor effects on oral squamous cell carcinoma by inducing apoptosis, ferroptosis, and inhibiting autophagy through promoting ROS. *Cellular & molecular biology letters*, 28(1), 36.
187. Zlotos, D. P., Jockers, R., Cecon, E., Rivara, S., & Witt-Enderby, P. A. (2014). MT1 and MT2 melatonin receptors: ligands, models, oligomers, and therapeutic potential. *Journal of medicinal chemistry*, 57(8), 3161–3185.