

УДК 618.14-002-076:57.083.3:577.171.6
DOI: 10.24061/1727-0847.23.3.2024.50

Б. Ю. Тофан

Кафедра акушерства та гінекології (зав. – проф. А. М. Бербець) закладу вищої освіти Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ НА РЕЦЕПТОРИ ДО МЕЛАТОНІНУ 1А В РІЗНИХ ОБ’ЄКТАХ ПРИ ЕНДОМЕТРІОЗІ

Резюме. Мелатонін (N-ацетил-5-метокситриптамін) – гормон, який синтезується в шишкоподібній залозі, регулює циркадний ритм, має антиоксидантні властивості, підсилює протипухлинний імунітет, блокує ріст новоутворень, уповільнює процеси старіння. Позитивний вплив мелатоніну можна охарактеризувати антиоксидантним ефектом, виробництва стероїдних гормонів, антиклітинна проліферація, проапоптоз, антиклітинна адгезія, антиінвазія та регуляція імунної системи. Ендометріоз – це наявність схожої на ендометрій тканини за межами матки. Патогенез якого ще повністю не вивчений. До основних проявів ендометріозу відноситься, безпліддя, дисменорея, хронічний тазовий біль. Основна мета лікування ендометріозу – це полегшення проявів ендометріозу та підвищення репродуктивної функції у жінок. Гормональні препарати та симптоматична терапія є основними ліками для лікування ендометріозу. Оскільки більшість ліків мають побічний ефект, такий як зниження функції яєчників, відповідно не можна їх рекомендувати жінкам, які бажають отримати вагітність. Як наслідок, дуже важливо розробити альтернативне лікування, яке не буде пагубно впливати на настання вагітності. Враховуючи те, що не можна пояснити патофізіологію ендометріозу, препарати повинні бути багатоцільовими. З цього приводу мелатонін може стати ідеальним препаратом для лікування симптомів ендометріозу та безпліддя. Мета дослідження: Імуногістохімічним методом встановити якісні та кількісні характеристики експресії рецепторів до мелатоніну 1А в різних клітинах ектопічного ендометрію, в клітинах очеревини та яєчника при ендометріозі та без нього. Шляхом лапароскопії було висічено шматочки тканини (поверхневий ендометріоз, глибокий ендометріоз, фрагменти здорової очеревини, фрагменти капсули ендометріюїдних кіст та фрагменти яєчника), 24 взірці, яким виконано імуногістохімічне дослідження. Найбільша експресія рецепторів до мелатоніну 1А у середньому відмічається в ендометріальних епітеліальних клітинах при поверхневому ендометріозі. Однак, при спостереженнях з глибоким проростанням в цих же клітинах експресія рецепторів до мелатоніну 1А є значно меншою, ніж при спостереженнях поверхневого ендометріозу. Така ж сама закономірність відмічається і для стромальних клітин ектопічного ендометрію. У тека-клітинах яєчників при ендометріозі експресія рецепторів до мелатоніну 1 дуже різниться від спостереження до спостереження. Стосовно клітин кровоносних судин (ендотелій та лейоміоцити) незалежно від локалізації (очеревина, яєчник) відмічена доволі стала картина і кількісні параметри експресії рецепторів до мелатоніну 1А.

Ключові слова: ендометріоз, мелатонін, рецептори до мелатоніну, безпліддя, лапароскопія, очеревина, яєчник, кіста.

Мелатонін (N-ацетил-5-метокситриптамін) – гормон, який синтезується в шишкоподібній залозі, регулює циркадний ритм, має антиоксидантні властивості, підсилює протипухлинний імунітет, блокує ріст новоутворень, уповільнює процеси старіння. В останні роки було показано, що цей гормон може вироблятися в інших тканинах для локального здійснення своїх біологічних функцій [1]. Кілька досліджень показало позитивний вплив на субфертильних пацієнтів [2]. Позитивний вплив мелатоніну можна охарактеризувати антиоксидантним ефектом, виробництва стероїдних гормонів, анти-

клітинна проліферація, проапоптоз, антиклітинна адгезія, антиінвазія та регуляція імунної системи [3].

Ендометріоз – це наявність схожої на ендометрій тканини за межами матки [4]. Патогенез якого ще повністю не вивчений. Незважаючи на кількість теорій щодо етіології ендометріозу, жодна з них не може повністю пояснити патогенез даного захворювання. Незалежно від цього, досить багато прихильників теорії, що ретроградно, фрагменти ендометрію, через маткові труби попадають в черевну порожнину під час менструації. Тим часом імунні, ендокринні, генетичні, прозапальні можуть сприяти розвитку ен-

дометріозу [5, 6]. Було показано, що багато аномальних клітинних функцій, включаючи інвазію/міграцію та проліферацію клітин, індуюють процес [7].

Ендометріоз вражає близько 190 мільйонів, 10 %, жінок у всьому світі [8]. Однак справжня поширеність ендометріозу невідома, оскільки остаточної діагноз вимагає хірургічного втручання, перевага надається лапароскопії [9]. До основних проявів ендометріозу відноситься, безпліддя, дисменорея, хронічний тазовий біль. Також прояви та симптоматика буде залежати від розповсюдження та розташування ендометрію проростань, які органи втягнуті в процес [10].

За допомогою додаткових методів досліджень, таких як ультразвукова діагностика, магнітно-резонансна томографія та лапароскопія, ендометріоз можна поділити на типи, такі як: поверхневий паріетальний ендометріоз, глибокий ендометріоз, ендометріоз яєчників, позаочеревенний ендометріоз, ятрогенний ендометріоз. Поверхневий ендометріоз – найчастіше трапляється у жінок, близько 80 % ендометріозу, зазвичай він розростається на поверхні очеревини, не проростає в глибину. Глибокий ендометріоз – проростання вогнищ ендометріозу з поверхні очеревини в товщу тканин, може вражати суміжні структури та утворювати вузли. Ендометріоз яєчників – ураження тканини яєчника з подальшим утворення кіст (ендометріом). Позаочеревенний ендометріоз – рідкісні випадки, коли тканина розповсюджується поза черевною порожниною (наприклад грудний, мозковий ендометріоз). Ятрогенний ендометріоз – поширення ендометрію після операції (ендометріоз післяопераційного рубця) [11].

Основна мета лікування ендометріозу це полегшення його проявів та підвищення репродуктивної функції у жінок [12]. Гормональні препарати та симптоматична терапія є основними ліками для лікування ендометріозу, включаючи нестероїдні протизапальні, агоністи гормону, що вивільняє гонадотропін, антагоністи гонадотропіну, прогестини та комбіновані оральні контрацептиви [13]. Оскільки більшість ліків мають побічний ефект, такий як приглушення функцій яєчників, жінки які страждають від ендометріозу та безпліддя спровоковане ним, обмежуються виключно знеболювальним, з метою полегшення проявів та можливістю отримати вагітність [12].

Як наслідок, дуже важливо розробити альтернативне лікування, яке не буде пагубно впливати на настання вагітності. Враховуючи те, що не можна пояснити патофізіологію ендометріозу, препарати повинні бути багатоцільовими [14]. З цього приводу мелатонін може стати ідеальним препаратом для лікування симптомів ендометріозу та безпліддя. Першочергово

необхідно дослідити чутливість ендометріозу до мелатоніну, шляхом визначення рецепторів.

Мета дослідження: імуногістохімічним методом встановити якісні та кількісні характеристики експресії рецепторів до мелатоніну 1A в різних клітинах ектопічного ендометрію, в клітинах очеревини та яєчника при ендометріозі та без нього.

Матеріал і методи. Шляхом лапароскопії було висічено шматочки тканини (поверхневий ендометріоз, глибокий ендометріоз, фрагменти здорової очеревини, фрагменти капсули ендометріюїдних кіст та фрагменти яєчника), 24 взірці фіксували 22-24 години в 10 %-му розчині формаліну за Ліллі (pH=7,4) [15]. Після вирізки проводили зневоднювання у висхідних концентраціях етанолу і через хлороформ просочували в парафін-воску при 580C упродовж 30 хвилин, після чого виготовляли парафінові блоки. З них на санному мікроскопі MC-2 виготовляли гістологічні зрізи 5 мкм завтовшки, на яких виконували імуногістохімічну методику. Зокрема, відповідно до протоколів виробників, використовували первинні антитіла проти рецепторів до мелатоніну 1A (Abcam, Великобританія), які виявляли полімерним методом (DACS, Данія) з міченням лужною фосфатазою, яку візуалізували барвником міцним гранатовим із застосуванням адекватного субстрату. Використання мітки лужною фосфатазою та барвника міцного гранатового дозволяло уникати несправжньо-позитивного забарвлення, яке могло би з'явитися в разі застосування пероксидазної мітки з візуалізацією діамінобензидином з причини характерних для ендометріозу давніх крововиливів, які супроводжуються утворенням коричневого пігменту гемосидерину, подібного за кольором до діамінобензидину. З імуногістохімічних препаратів отримували цифрові копії оптичних зображень за допомогою цифрової камери Olympus 550SP (Японія) та мікроскопа з планахроматичними об'єктивами 40x (Польща). Далі цифрові копії оптичних зображень аналізували за допомогою спеціалізованої комп'ютерної програми ImageJ v1.52 (США) [16] з отриманням кількісного показника «Яскравість» методом комп'ютерної мікроденситометрії у 256 градаціях, яку логарифмічним методом перетворювали у величину «відносна оптична густина забарвлення» у в.од.опт.густини з діапазоном 0-1 («0» – абсолютна прозорість, «1» – абсолютна непрозорість). Відносну оптичну густина обчислювали для кожного типу клітин з обрахуванням середньої арифметичної та її похибки у середовищі комп'ютерної програми PAST 14.4 (Норвегія) [17]. Перевірку на нормальність розподілу у статистичних вибірках здійснювали за допомогою критерію

Шапіро–Вілкі [17], що дало змогу застосувати параметричний критерій порівняння – непарний двобічний критерій Стьюдента [17].

Результати дослідження та їх обговорення.

При вивченні препаратів з поверхневою локалізацією ектопічного ендометрію в очеревині, встанов-

лено, що позитивне імуногістохімічне забарвлення відмічається в ендометріальному епітелії, стромальних клітинах ектопічного ендометрію та в стромальних клітинах очеревини (рис. 1). Кровоносних судин знайдено недостатньо для аналізу, зокрема, вони не були представлені у всіх препаратах.

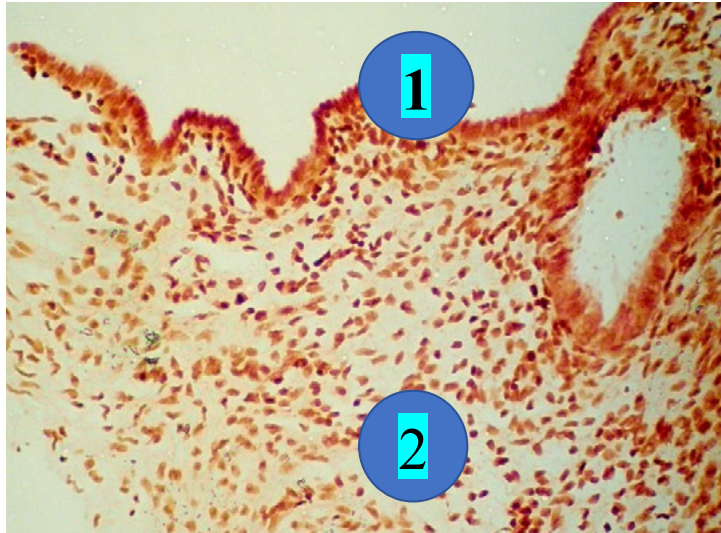


Рис. 1. Ектопічний ендометрій при поверхневому ендометріозі очеревини: 1 – ендометріальний епітелій; 2 – зона розташування стромальних клітин ектопічного ендометрію. Імуногістохімічна методика з використанням первинних антитіл проти рецепторів до мелатоніну 1А з візуалізацією полімерним методом з міченням лужною фосфатазою і застосуванням барвника міцного гранатового та субстрату. Об.40х. Ок.10х. (Оптичне збільшення – 400)

Унаслідок застосування комп'ютерної мікроденситометрії, встановлено що оптична густина імуногістохімічного забарвлення на рецептори до мелатоніну 1А у середньому становила: в ендометріальному епітелії – $0,314 \pm 0,0021$ (в.од.опт.густини), в стромальних клітинах ектопічного ендометрію – $0,284 \pm 0,0019$ (в.од.опт.густини), в стромальних клітинах очеревини – $0,202 \pm 0,0014$ (в.од.опт.густини).

Для глибокого ектопічного ендометрію, в очеревині, виявлено, що, як і в поверхневому, позитивне імуногістохімічне забарвлення відмічається в ендометріальному епітелії, стромальних клітинах ектопічного ендометрію та в стромальних клітинах очеревини. Кровоносних судин також знайдено мало для аналізу, хоча можна було відмітити, що ендотелій в них не забарвлювався на рецептори до мелатоніну 1А (рис. 2).

Відмінністю глибокого ендометріозу було те, що ендометріальний епітелій був плоским, а не кубічним чи циліндричним, як у поверхневому ендометріозі, а строма ектопічного ендометрію була виражена значно слабше, ніж у поверхневому (див. рис. 2).

При вимірюваннях за допомогою комп'ютерної денситометрії встановлені такі середні показники: ендометріальний епітелій – $0,211 \pm 0,0016$ (в.од.опт.густини), стромальні клітини ектопічно-

го ендометрію – $0,208 \pm 0,0014$ (в.од.опт.густини), стромальні клітини очеревини – $0,201 \pm 0,0015$ (в.од.опт.густини).

При ендометріозі яєчників (капсула ендометріодної кісти) в ектопічному ендометрію позитивне імуногістохімічне забарвлення відмічається в ендометріальному епітелії, стромальних клітинах ектопічного ендометрію та в тека-клітинах яєчника (рис. 3). Кровоносних судин в ектопічному ендометрію знайдено недостатньо для аналізу, зокрема, вони не були представлені у всіх препаратах. Проте, вони були присутні в тканині яєчника, кількісні показники, були аналогічними до звичайного яєчника (кількісні дані наводяться далі, де описується тканина яєчника).

Застосування комп'ютерної мікроденситометрії дало наступні середні результати: ендометріальний епітелій – $0,289 \pm 0,0018$ (в.од.опт.густини), стромальні клітини ектопічного ендометрію – $0,280 \pm 0,0016$ (в.од.опт.густини), тека-клітини яєчника $0,164 \pm 0,0038$ (в.од.опт.густини). Звертає на себе увагу помітно більший, ніж в інших вимірюваннях, більш значний розкид даних по тека-клітинам яєчників, тобто при ендометріозі яєчників були як спостереження із низькою експресією рецепторів до мелатоніну 1А, так спостереження із високою експресією рецепторів до мелатоніну 1А.

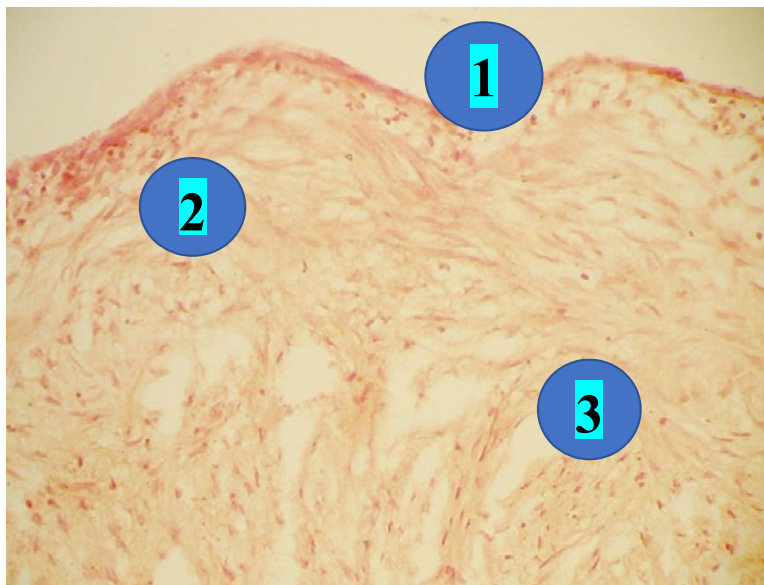


Рис. 2. Ектопічний ендометрій при глибокому ендометріозі очеревини:
1 – ендометріальний епітелій; 2 – зона розташування стромальних клітин ектопічного ендометрію;
3 – кровоносні судини. Імуногістохімічна методика з використанням первинних антитіл проти рецепторів до мелатоніну 1А з візуалізацією полімерним методом з міченням лужною фосфатазою і застосуванням барвника міцного гранатового та субстрату. Об.40х. Ок.10х. (Оптичне збільшення – 400)

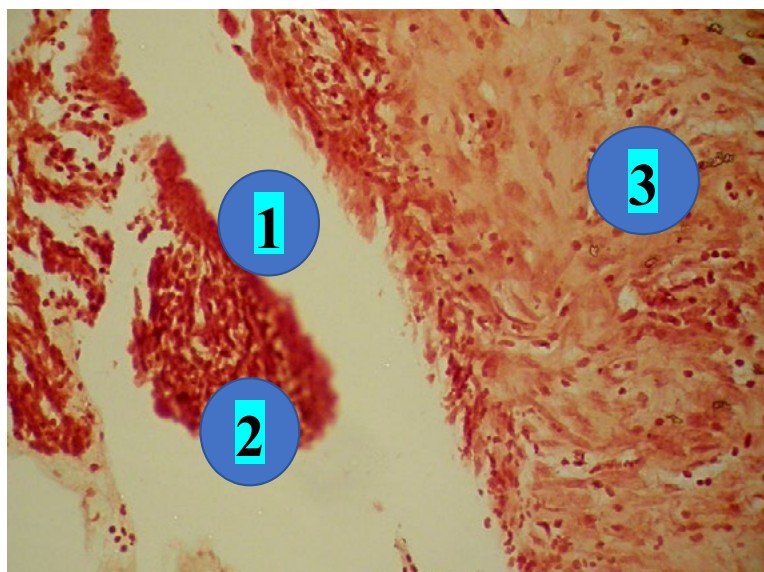


Рис. 3. Ектопічний ендометрій при ендометріозі яєчника:
1 – ендометріальний епітелій; 2 – зона розташування стромальних клітин ектопічного ендометрію; 3 – тека-клітини. Імуногістохімічна методика з використанням первинних антитіл проти рецепторів до мелатоніну 1А з візуалізацією полімерним методом з міченням лужною фосфатазою і застосуванням барвника міцного гранатового та субстрату. Об.40х. Ок.10х. (Оптичне збільшення – 400)

У тканині очеревини без ендометріозу позитивне імуногістохімічне забарвлення відмічається в мезотелії, стромальних клітинах очеревини, в ендотелії кровоносних судин (всі типи кровоносних судин), в лейкоцитатах кровоносних судин (артеріоли, артерії, венули, вени). Вищевказане проілюстровано за допомогою рисунка 4.

Згідно проведеного мікроденситометричного аналізу оптична густина імуногістохімічного забарвлення на рецептори до мелатоніну 1А

у середньому становила: мезотелій очеревини – $0,186 \pm 0,0015$ (в.од.опт.густини), стромальні клітини очеревини – $0,116 \pm 0,0011$ (в.од.опт.густини), ендотелій кровоносних судин – $0,242 \pm 0,0014$ (в.од.опт.густини), лейкоцитатах кровоносних судин – $0,223 \pm 0,0017$ (в.од.опт.густини).

У тканині яєчника без ендометріозу позитивне імуногістохімічне забарвлення відмічається в тека-клітинах, в ендотелії кровоносних судин, в лейкоцитатах кровоносних судин. Це показано на рисунку 5.

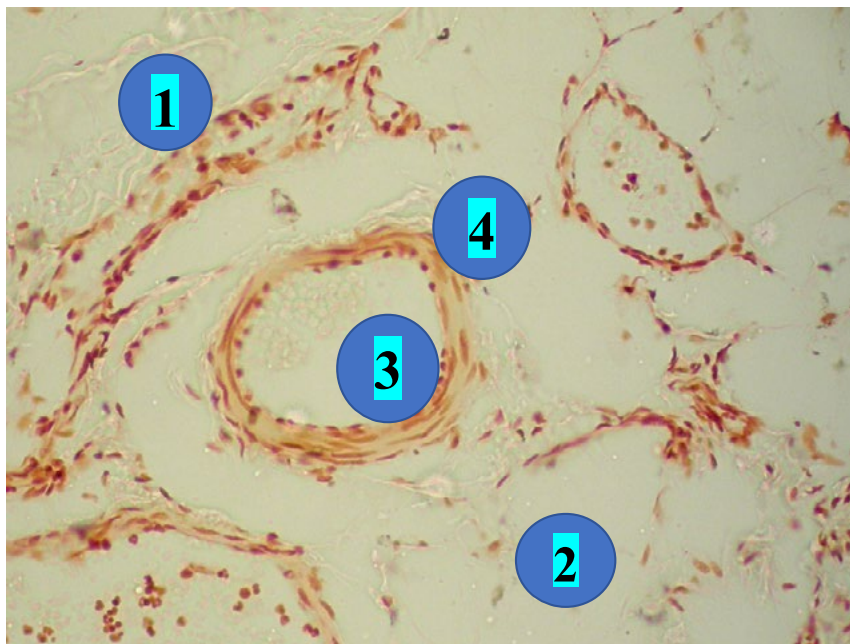


Рис. 4. Очеревина в її поверхневих відділах (з присутністю мезотелію): 1 – мезотелій; 2 – стромальні клітини; 3 – ендотелій; 4 – лейоміоцити. Імуногістохімічна методика з використанням первинних антитіл проти рецепторів до мелатоніну 1А з візуалізацією полімерним методом з міченням лужною фосфатазою і застосуванням барвника міцного гранатового та субстрату. Об.40х. Ок.10х. (Оптичне збільшення – 400)

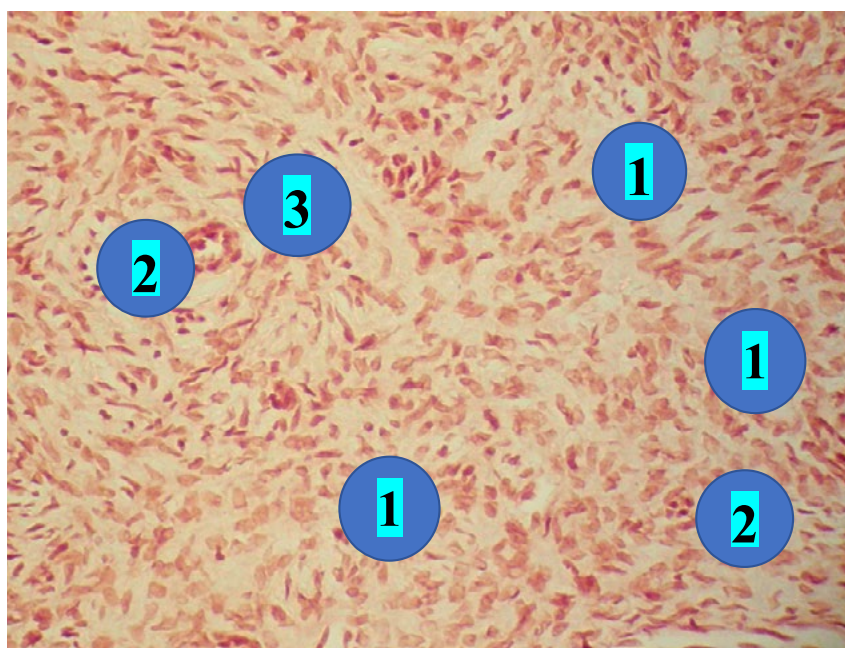


Рис. 5. Яєчник без ендометріозу: 1 – тека-клітини; 2 – ендотелій; 3 – лейоміоцити. Імуногістохімічна методика з використанням первинних антитіл проти рецепторів до мелатоніну 1А з візуалізацією полімерним методом з міченням лужною фосфатазою і застосуванням барвника міцного гранатового та субстрату. Об.40х. Ок.10х. (Оптичне збільшення – 400)

Відповідно до мікроденситометричного аналізу оптична густина імуногістохімічного забарвлення на рецептори до мелатоніну 1А у середньому складала: тека-клітини $0,288 \pm 0,0021$ (в.од.опт.густини), ендотелій кровоносних судин – $0,247 \pm 0,0015$ (в.од.опт.густини), лейоміоцити кровоносних судин – $0,207 \pm 0,0016$ (в.од.опт.густини).

Проведені імуногістохімічні дослідження рецепторів до мелатоніну 1А в різних об'єктах дозволяють встановити, що вказані рецептори присутні в різних типах клітин як при ендометріозі так і без нього. Однак, кількісні параметри експресії рецепторів до мелатоніну 1А помітно різняться залежно від типу клітин та наявності чи відсутності ендометріозу.

Зокрема, згідно комп'ютерної мікроденситометрії, найбільша експресія рецепторів до мелатоніну 1A у середньому відмічається в ендометріальних епітеліальних клітинах при ендометріозі. Однак, при спостереженнях з глибоким проростанням в цих же клітинах експресія рецепторів до мелатоніну 1A є значно меншою ($p < 0,01$), ніж при спостереженнях з поверхневим ендометріозом. Така ж сама закономірність відмічається і для стромальних клітин ектопічного ендометрію. Це може означати, що має місце рецепторна основа для більш значної реакції поверхневого ектопічного ендометрію у порівнянні з глибоким ектопічним ендометрієм на будь-які впливи щодо гормону мелатоніну.

Важливим є й особливість експресії рецепторів до мелатоніну 1A в тека-клітинах яєчників, яка полягає в тому, що при ендометріозі вона дуже різниться від спостереженні до спостереження, отже, можливо, що тека-клітини яєчника при ендометріозі можуть повести себе непрогнозовано у порівнянні з тека-клітинами яєчника без ендометріозу.

Стосовно клітин кровоносних судин (ендотелій та лейоміоцити), на відміну від тека-клітин яєчника, незалежно від локалізації (очеревина, яєчник) відмічена доволі стала картина і кількісні параметри експресії рецепторів до мелатоніну 1A,

що можна розцінити, як певні умови для стабільної реакції кровоносних судин на будь-які впливи щодо гормону мелатоніну.

Висновки. 1. Найбільша експресія рецепторів до мелатоніну 1A у середньому відмічається в ендометріальних епітеліальних клітинах при поверхневому ендометріозі. Однак, при спостереженнях з глибоким проростанням в цих же клітинах експресія рецепторів до мелатоніну 1A є значно меншою, ніж при спостереженнях поверхневого ендометріозу. Така ж сама закономірність відмічається і для стромальних клітин ектопічного ендометрію. 2. У тека-клітинах яєчників при ендометріозі експресія рецепторів до мелатоніну 1 дуже різниться від спостереженні до спостереження. 3. Стосовно клітин кровоносних судин (ендотелій та лейоміоцити) незалежно від локалізації (очеревина, яєчник) відмічена доволі стала картина і кількісні параметри експресії рецепторів до мелатоніну 1A.

Перспектива подальших досліджень. Враховуючи отримані дані, можна судити те, що мелатоніном можна впливати на ендометріюдану тканину, в більшій мірі на поверхневий ендометріоз, в меншій мірі на глибокий та ендометріоз яєчника з утворенням кіст, що потребує подальших досліджень та спостережень.

Список використаної літератури

1. Acuña-Castroviejo D, Escames G, Venegas C, Díaz-Casado ME, Lima-Cabello E, López LC, et al. Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions. *Cell Mol Life Sci.* 2014 Aug;71(16):2997-3025. doi: 10.1007/s00018-014-1579-2.
2. Showell MG, Mackenzie-Proctor R, Jordan V, Hart RJ. Antioxidants for female subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020 Aug 27;8(8): CD007807. doi: 10.1002/14651858.CD007807.pub4.
3. Hardeland R, Cardinali DP, Srinivasan V, Spence DW, Brown GM, Pandi-Perumal SR. Melatonin-a pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Prog Neurobiol.* 2011 Mar;93(3):350-84. doi: 10.1016/j.pneurobio.2010.12.004.
4. Zondervan KT, Becker CM, Koga K, Missmer SA, Taylor RN, Viganò P. Endometriosis. *Nat Rev Dis Primers.* 2018 Jul 19;4(1):9. doi: 10.1038/s41572-018-0008-5.
5. Horne AW, Saunders PTK. SnapShot: Endometriosis. *Cell.* 2019 Dec 12;179(7):1677.e1. doi: 10.1016/j.cell.2019.11.033.
6. Zondervan KT, Becker CM, Missmer SA. Endometriosis. *N Engl J Med.* 2020 Mar 26;382(13):1244-56. doi: 10.1056/NEJMra1810764.
7. Vercellini P, Viganò P, Somigliana E, Fedele L. Endometriosis: pathogenesis and treatment. *Nat Rev Endocrinol.* 2014 May;10(5):261-75. doi: 10.1038/nrendo.2013.255.
8. Shafrir AL, Farland LV, Shah DK, Harris HR, Kvaskoff M, Zondervan K, et al. Risk for and consequences of endometriosis: A critical epidemiologic review. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018 Aug;51:1-15. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2018.06.001.
9. Agarwal SK, Chapron C, Giudice LC, Laufer MR, Leyland N, Missmer SA, et al. Clinical diagnosis of endometriosis: a call to action. *Am J Obstet Gynecol.* 2019 Apr;220(4):354.e1-354.e12. doi: 10.1016/j.ajog.2018.12.039.
10. Horne AW, Missmer SA. Pathophysiology, diagnosis, and management of endometriosis. *BMJ.* 2022 Nov 14;379: e070750. doi: 10.1136/bmj-2022-070750.
11. Andres MP, Arcoverde FVL, Souza CCC, Fernandes LFC, Abrão MS, Kho RM. Extrapelvic Endometriosis: A Systematic Review. *J Minim Invasive Gynecol.* 2020 Feb;27(2):373-89. doi: 10.1016/j.jmig.2019.10.004.

12. Ferrero S, Evangelisti G, Barra F. Current and emerging treatment options for endometriosis. *Expert Opin Pharmacother*. 2018 Jul;19(10):1109-25. doi: 10.1080/14656566.2018.1494154.
13. Becker CM, Bokor A, Heikinheimo O, Horne A, Jansen F, Kiesel L, et al; ESHRE Endometriosis Guideline Group. ESHRE guideline: endometriosis. *Hum Reprod Open*. 2022 Feb 26;2022(2):hoac009. doi: 10.1093/hropen/hoac009.
14. Hung SW, Zhang R, Tan Z, Chung JPW, Zhang T, Wang CC. Pharmaceuticals targeting signaling pathways of endometriosis as potential new medical treatment: A review. *Med Res Rev*. 2021 Jul;41(4):2489-564. doi: 10.1002/med.21802.
15. Багрії ММ, Діброва ВА, редактори. *Методики морфологічних досліджень: монографія*. Вінниця: Нова книга; 2016. 328 с.
16. Ferreira T, Rasband W. *Image J. User Guide*. New York: National Institute of Health; 2012. 187 p.
17. Hammer Ø. *PAST: Paleontological Statistics, Version 4.14. Reference manual*. Oslo: Natural History Museum University of Oslo; 2023. 311 p.

References

1. Acuña-Castroviejo D, Escames G, Venegas C, Díaz-Casado ME, Lima-Cabello E, López LC, et al. Extrapeineal melatonin: sources, regulation, and potential functions. *Cell Mol Life Sci*. 2014 Aug;71(16):2997-3025. doi: 10.1007/s00018-014-1579-2.
2. Showell MG, Mackenzie-Proctor R, Jordan V, Hart RJ. Antioxidants for female subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020 Aug 27;8(8): CD007807. doi: 10.1002/14651858.CD007807.pub4.
3. Hardeland R, Cardinali DP, Srinivasan V, Spence DW, Brown GM, Pandi-Perumal SR. Melatonin-a pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Prog Neurobiol*. 2011 Mar;93(3):350-84. doi: 10.1016/j.pneurobio.2010.12.004.
4. Zondervan KT, Becker CM, Koga K, Missmer SA, Taylor RN, Viganò P. Endometriosis. *Nat Rev Dis Primers*. 2018 Jul 19;4(1):9. doi: 10.1038/s41572-018-0008-5.
5. Horne AW, Saunders PTK. SnapShot: Endometriosis. *Cell*. 2019 Dec 12;179(7):1677.e1. doi: 10.1016/j.cell.2019.11.033.
6. Zondervan KT, Becker CM, Missmer SA. Endometriosis. *N Engl J Med*. 2020 Mar 26;382(13):1244-56. doi: 10.1056/NEJMra1810764.
7. Vercellini P, Viganò P, Somigliana E, Fedele L. Endometriosis: pathogenesis and treatment. *Nat Rev Endocrinol*. 2014 May;10(5):261-75. doi: 10.1038/nrendo.2013.255.
8. Shafir AL, Farland LV, Shah DK, Harris HR, Kvaskoff M, Zondervan K, et al. Risk for and consequences of endometriosis: A critical epidemiologic review. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018 Aug;51:1-15. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2018.06.001.
9. Agarwal SK, Chapron C, Giudice LC, Laufer MR, Leyland N, Missmer SA, et al. Clinical diagnosis of endometriosis: a call to action. *Am J Obstet Gynecol*. 2019 Apr;220(4):354.e1-354.e12. doi: 10.1016/j.ajog.2018.12.039.
10. Horne AW, Missmer SA. Pathophysiology, diagnosis, and management of endometriosis. *BMJ*. 2022 Nov 14;379: e070750. doi: 10.1136/bmj-2022-070750.
11. Andres MP, Arcoverde FVL, Souza CCC, Fernandes LFC, Abrão MS, Kho RM. Extrapelvic Endometriosis: A Systematic Review. *J Minim Invasive Gynecol*. 2020 Feb;27(2):373-89. doi: 10.1016/j.jmig.2019.10.004.
12. Ferrero S, Evangelisti G, Barra F. Current and emerging treatment options for endometriosis. *Expert Opin Pharmacother*. 2018 Jul;19(10):1109-25. doi: 10.1080/14656566.2018.1494154.
13. Becker CM, Bokor A, Heikinheimo O, Horne A, Jansen F, Kiesel L, et al; ESHRE Endometriosis Guideline Group. ESHRE guideline: endometriosis. *Hum Reprod Open*. 2022 Feb 26;2022(2):hoac009. doi: 10.1093/hropen/hoac009.
14. Hung SW, Zhang R, Tan Z, Chung JPW, Zhang T, Wang CC. Pharmaceuticals targeting signaling pathways of endometriosis as potential new medical treatment: A review. *Med Res Rev*. 2021 Jul;41(4):2489-564. doi: 10.1002/med.21802.
15. Bahriy MM, Dibrova VA, redaktory. *Metodyky morfolohichnykh doslidzhen': monohrafiya*. Vinnytsya: Nova knyha; 2016. 328 s. [in Ukrainian].
16. Ferreira T, Rasband W. *Image J. User Guide*. New York: National Institute of Health; 2012. 187 p.
17. Hammer Ø. *PAST: Paleontological Statistics, Version 4.14. Reference manual*. Oslo: Natural History Museum University of Oslo; 2023. 311 p.

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF MELATONIN RECEPTOR 1A IN VARIOUS TISSUES IN ENDOMETRIOSIS

Abstract. Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) is a hormone synthesized in the pineal gland that regulates circadian rhythms, has antioxidant properties, enhances antitumor immunity, inhibits tumor growth, and slows aging processes. The positive effects of melatonin can be characterized by its antioxidant effect, steroid hormone production, anti-cell proliferation, pro-apoptotic action, anti-cell adhesion, anti-invasion, and immune system regulation. Endometriosis is the presence of tissue similar to the endometrium outside the uterus, with its pathogenesis not yet fully understood. Key manifestations of endometriosis include infertility, dysmenorrhea, and chronic pelvic pain. The primary goal of endometriosis treatment is to alleviate its symptoms and improve reproductive function in women. Hormonal medications and symptomatic therapy are the main treatments for endometriosis. Since most medications have side effects, such as suppressing ovarian function, they cannot be recommended for women who wish to become pregnant. Consequently, it is crucial to develop alternative treatments that do not adversely affect pregnancy. Given that the pathophysiology of endometriosis cannot be fully explained, treatments should be multifunctional. In this regard, melatonin could become an ideal treatment for endometriosis symptoms and infertility. Objective: To determine the qualitative and quantitative characteristics of melatonin receptor 1A expression in different cells of ectopic endometrium, peritoneum, and ovaries in endometriosis and without endometriosis using immunohistochemical methods. Tissue samples (superficial endometriosis, deep endometriosis, fragments of healthy peritoneum, fragments of endometriotic cyst capsules, and fragments of ovaries) were obtained through laparoscopy. A total of 24 samples underwent immunohistochemical analysis. The highest expression of melatonin receptor 1A is observed on average in the endometrial epithelial cells in superficial endometriosis. However, in the case of deep infiltration, these same cells show significantly lower melatonin receptor 1A expression compared to superficial endometriosis observations. The same pattern is observed for stromal cells of ectopic endometrium. In ovarian theca cells with endometriosis, melatonin receptor 1A expression varies significantly between observations. Regarding blood vessel cells (endothelial cells and leiomyocytes), regardless of localization (peritoneum, ovary), a relatively stable pattern and quantitative parameters of melatonin receptor 1A expression are noted.

Key words: endometriosis, melatonin, melatonin receptors, infertility, laparoscopy, peritoneum, ovary, cyst.

Відомості про автора:

Тофан Богдан Юрійович – аспірант кафедри акушерства та гінекології Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці.

Information about the author:

Tofan Bohdan Yu. – Postgraduate Student of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Bukovinian State Medical University, Chernivtsi.

Надійшла 30.08.2024 р.