

©А. М. Бербець

Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», Чернівці

МЕЛАТОНІН, ПРОЗАПАЛЬНІ ЦИТОКИНИ ТА ПЛАЦЕНТАРНА НЕДОСТАТНІСТЬ

Мета дослідження – шляхом дослідження рівнів мелатоніну і прозапальних цитокінів у вагітних із плацентарною недостатністю встановити можливий взаємозв'язок між плацентарною недостатністю та прозапальною ланкою імунітету.

Матеріали та методи. Обстежено 46 вагітних (дослідна група) з плацентарною недостатністю, що була реалізована у вигляді синдрому затримки внутрішньоутробного розвитку плода II–III ступенів у термін вагітності 30–36 тижнів. Контрольну групу становили 20 жінок з неускладненим перебігом вагітності в той же термін. Для вивчення концентрації мелатоніну в крові використовували набір Melatonin ELISA виробництва IBL (Німеччина). Прозапальні цитокіни, зокрема фактор некрозу пухлин- α (TNF- α), інтерлейкін-1- β (IL-1- β), інтерлейкін-6 (IL-6), визначали в крові за допомогою реактивів виробництва фірми «Вектор-Бест» (Україна).

Результати дослідження та їх обговорення. Встановлено, що концентрація мелатоніну вірогідно знижується, якщо вагітність ускладнена затримкою внутрішньоутробного розвитку плода (дослідна група – $(126,87 \pm 14,87)$ pg/ml, контрольна група – $(231,25 \pm 21,56)$ pg/ml, $p < 0,001$). Рівні прозапальних цитокінів у дослідній групі були вірогідно вищими порівняно з контролем (TNF- α : дослідна група – $(10,05 \pm 1,35)$ pg/ml, контрольна група – $(5,60 \pm 1,50)$ pg/ml, $p < 0,05$; IL-1- β : дослідна група – $(14,67 \pm 2,13)$ pg/ml, контрольна група – $(3,96 \pm 0,92)$ pg/ml, $p < 0,001$; IL-6: дослідна група – $(6,91 \pm 0,99)$ pg/ml, контрольна група – $(2,69 \pm 0,99)$ pg/ml, $p < 0,05$).

Висновки. Рівень мелатоніну в крові вірогідно знижується при плацентарній недостатності, що реалізована у вигляді затримки внутрішньоутробного розвитку плода. При даній патології також спостерігається активізація прозапальної ланки імунітету, що проявляється підвищенням у крові рівнів TNF- α , IL-1- β та IL-6.

Ключові слова: мелатонін; плацента; цитокіни; затримка внутрішньоутробного розвитку плода.

МЕЛАТОНИН, ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ И ПЛАЦЕНТАРНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ

Цель исследования – путем исследования уровней мелатонина и провоспалительных цитокинов у беременных с плацентарной недостаточностью установить взаимосвязь между плацентарной недостаточностью и провоспалительным звеном иммунитета.

Материалы и методы. Обследовано 46 беременных (опытная группа) с плацентарной недостаточностью, реализованной в виде синдрома задержки внутриутробного развития плода II–III степеней в срок беременности 30–36 недель. Контрольную группу составили 20 женщин с неосложненным течением беременности в тот же срок. Для изучения концентрации мелатонина в крови использовали набор Melatonin ELISA производства IBL (Германия). Провоспалительные цитокины, а именно фактор некроза опухоли- α (TNF- α), интерлейкин-1- β (IL-1- β), интерлейкин-6 (IL-6), определяли в крови при помощи реактивов фирмы «Вектор-Бест» (Украина).

Результаты исследования и их обсуждение. Установлено, что концентрация мелатонина достоверно снижается, если беременность осложнена задержкой внутриутробного развития плода (опытная группа – $(126,87 \pm 14,87)$ pg/ml, контрольная группа – $(231,25 \pm 21,56)$ pg/ml, $p < 0,001$). Уровни провоспалительных цитокинов в опытной группе были достоверно более высокими в сравнении с контролем (TNF- α : опытная группа – $(10,05 \pm 1,35)$ pg/ml, контрольная группа – $(5,60 \pm 1,50)$ pg/ml, $p < 0,05$; IL-1- β : опытная группа – $(14,67 \pm 2,13)$ pg/ml, контрольная группа – $(3,96 \pm 0,92)$ pg/ml, $p < 0,001$; IL-6: опытная группа – $(6,91 \pm 0,99)$ pg/ml, контрольная группа – $(2,69 \pm 0,99)$ pg/ml, $p < 0,05$).

Выводы. Уровень мелатонина в крови достоверно снижается при плацентарной недостаточности, реализованной в виде задержки внутриутробного развития плода. При данной патологии также наблюдается активизация провоспалительного звена иммунитета, проявляющаяся повышением в крови уровней TNF- α , IL-1- β и IL-6.

Ключевые слова: мелатонин; плацента; цитокины; задержка внутриутробного развития плода.

MELATONIN, PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES AND PLACENTAL INSUFFICIENCY

The aim of the study – to establish the correlation between the placental insufficiency and pro-inflammatory part of the immune system by studying of the levels of melatonin and pro-inflammatory cytokines in pregnant women with placental insufficiency.

Materials and Methods. 46 pregnant women with placental insufficiency were examined. The placental insufficiency manifested as the intrauterine growth restriction syndrome (IUGR) of the II-III degree in pregnancy terms 30–36 weeks. Control group consisted of 20 women with uncomplicated pregnancy in the same term. The kit of reagents Melatonin ELISA, manufactured by IBL, Germany, was used for studying of the blood concentrations of melatonin. Pro-inflammatory cytokines, such as tumor necrotizing factor- α (TNF- α), interleukin-1- β (IL-1- β), interleukin-6 (IL-6) were determined in the blood using reagents manufactured by “Vektor-Best” (Ukraine).

Results and Discussion. We established that concentration of melatonin significantly decreases, if the pregnancy is complicated by intrauterine fetal growth restriction (study group – $(126,87 \pm 14,87)$ pg/ml, control group – $(231,25 \pm 21,56)$ pg/ml, $p < 0,001$). The levels of pro-inflammatory cytokines in the study group were significantly higher, comparing with the control group (TNF- α : study group – $(10,05 \pm 1,35)$ pg/ml, control group – $(5,60 \pm 1,50)$ pg/ml, $p < 0,05$; IL-1- β : study group – $(14,67 \pm 2,13)$ pg/ml, control group – $(3,96 \pm 0,92)$ pg/ml, $p < 0,001$; IL-6: study group – $(6,91 \pm 0,99)$ pg/ml, control group – $(2,69 \pm 0,99)$ pg/ml, $p < 0,05$).

Conclusions. The blood level of melatonin significantly decreases in case of placental insufficiency, manifested as intrauterine fetal growth restriction. The strengthening of the pro-inflammatory immunity, shown as the increasing of the levels of TNF- α , IL-1- β and IL-6, is also present in case of IUGR.

Key words: melatonin; placenta; cytokines; intrauterine fetal growth restriction.

ВСТУП. На даному етапі розвитку акушерства та гінекології загальноновизнаним вважають факт, що сприятливий перебіг вагітності та її результат безпосередньо залежать від стану здоров'я матері, зокрема її ендокринної системи. Однією з важливих складових цієї системи є шишкоподібна залоза, або епіфіз (pineal gland). Ендокринна функція епіфіза полягає у виділенні мелатоніну та серотоніну. Мелатонін (5-метокси-N-ацетилтриптамін) є сполукою, що належить до класу індолів. Біологічний попередник мелатоніну – незамінна амінокислота триптофан. Мелатонін, на відміну від серотоніну, легко проникає крізь гематоенцефалічний бар'єр [1, 2]. Існує припущення, що цей гормон секретується з епіфіза переважно в спинномозкову рідину [3].

Відомо, що мелатонін відіграє значну роль у розвитку нормальної вагітності: сприяє успішній імплантації плідного яйця [3], впливає на пологовий акт [4], активно продукується трофобластом та плацентою [3, 5], знижує оксидативний стрес [6], зокрема при прееклампсії [2, 7, 8] тощо. Пероральне застосування мелатоніну у вагітних із затримкою внутрішньоутробного розвитку плода покращує перинатальні результати [8]. Водночас взаємовідносини між шишкоподібною залозою і трофобластом/плацентою як продуцентом мелатоніну залишаються не до кінця з'ясованими. Також невідомо, чи секретує плацента мелатонін у циркадіанному режимі, чи ні [8].

Вплив мелатоніну на імунну систему, зокрема на її цитокінову ланку, також зараз активно вивчають. Роботи О. Ф. Esroy та ін. (2016) показують, що даний гормон дещо «пом'якшує» запальну імунну відповідь при сепсисі шляхом зниження рівня інтерлейкіну-6 (IL-6) та підвищення рівня протизапального інтерлейкіну-10 (IL-10) [9], також відомо, що він (в експерименті на мишах) зменшує стресіндуковане запалення (Woo-Jin Yi, Tae Sung Kim, 2017) [10]. Реалізація впливу мелатоніну на цитокінову ланку імунітету здійснюється шляхом гальмування транскрипційного фактора «каппа-бі» NF- κ B, що викликає зниження рівнів прозапальних цитокінів [11]. Враховуючи це, можна припустити, що мелатонін відіграє неабияку роль у встановленні фізіологічних взаємозв'язків між імунною системою матері й вагітністю як на етапі імплантації, так і в більш пізні терміни гестації. Втім, дана ланка патогенезу нормальної та ускладненої вагітності потребує подальшого вивчення.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ – вивчити рівні мелатоніну і прозапальних цитокінів у вагітних із плацентарною недостатністю.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Обстежено 46 вагітних (дослідна група) з плацентарною недостатністю, що була реалізована у вигляді синдрому затримки внутрішньо-

утробного розвитку плода II–III ступенів у термін вагітності 30–36 тижнів. Контрольну групу становили 20 жінок з неускладненим перебігом вагітності в той же термін. Жінки з тяжкою екстрагенітальною патологією, імунними конфліктами та ознаками внутрішньоутробного інфікування плода були виключені з дослідження. Рівні мелатоніну і цитокінів відстежували у венозній крові, яку забирали шляхом однократної венепункциї периферійної вени натще о 8 год ранку. Для вивчення концентрації мелатоніну використовували набір Melatonin ELISA виробництва IBL (Німеччина). Прозапальні цитокіни, зокрема фактор некрозу пухлин- α (TNF- α), інтерлейкін-1- β (IL-1- β), інтерлейкін-6, визначали за допомогою реактивів виробництва фірми «Вектор-Бест» (Україна). Дослідження проводили на апаратному комплексі StatFax 2000 (імуноферментний аналізатор+термошейкер). Результати оброблено статистично за допомогою програмного пакета MedCalc із використанням Welch-test для неоднакових вибірок.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. Результати вивчення рівнів мелатоніну та цитокінів наведено в таблиці 1.

Як видно з таблиці, у вагітних жінок із плацентарною недостатністю, що була реалізована у вигляді затримки внутрішньоутробного розвитку плода, спостерігалось вірогідне ($p < 0,001$) зменшення концентрації мелатоніну в плазмі крові порівняно зі здоровими вагітними. Крім того, в дослідній групі відзначено вірогідне ($p < 0,001$) зростання рівня IL-1- β порівняно з контролем. Рівні інших прозапальних цитокінів, а саме TNF- α та IL-6, також були підвищені в крові жінок дослідної групи ($p < 0,05$) порівняно з нормою. Отримані результати можна пояснити таким чином. По-перше, як уже було згадано, мелатонін продукується плацентою [3], отже, при плацентарній недостатності його продукція знижена. По-друге, мелатонін модує імунну відповідь, зокрема зменшує продукцію прозапальних цитокінів [11], тому при плацентарній недостатності спостерігається їх підвищення порівняно з тими ж показниками у здорових вагітних. Отримані стосовно TNF- α дані збігаються з даними літератури, адже відомо, що рівні даного фактора зростають за наявності затримки внутрішньоутробного розвитку плода та прееклампсії [12, 13].

ВИСНОВКИ. 1. Можна вважати встановленим фактом те, що рівень мелатоніну в крові вагітних жінок вірогідно знижується при плацентарній недостатності, що реалізована у вигляді затримки внутрішньоутробного розвитку плода.

2. При даній патології також спостерігається активізація прозапальної ланки імунітету, що проявляється у вигляді підвищення рівнів TNF- α , IL-1- β та IL-6.

Таблиця 1. Рівні мелатоніну, фактора некрозу пухлин- α , інтерлейкіну-1- β та інтерлейкіну-6 у вагітних жінок із плацентарною недостатністю

Показник, pg/ml	Дослід, n=46	Контроль, n=20
Мелатонін	126,87 \pm 14,87**	231,25 \pm 21,56
TNF- α	10,05 \pm 1,35*	5,60 \pm 1,50
IL-1- β	14,67 \pm 2,13**	3,96 \pm 0,92
IL-6	6,91 \pm 0,99*	2,69 \pm 0,99

Примітка. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ полягають у подальшому вивченні рівнів цитокінів та репродуктивних гормонів при плацентарній недостатності, а також

у пошуку шляхів корекції даної патології, спрямованих на нормалізацію показників, що вивчаються, результатом чого буде покращення перинатальних результатів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Грищенко В. И. Роль эпифиза в физиологии и патологии женской половой системы / В. И. Грищенко. – Харьков : Вища школа, 1979. – 248 с.
2. Salivary melatonin levels and sleep-wake rhythms in pregnant women with hypertensive and glucose metabolic disorders: A prospective analysis / M. Shimada, H. Seki, M. Samejima [et al.] // *BioSci. Trends.* – 2016. – Vol. 10 (1). – P. 34–41. DOI: 10.5582/bst.2015.01123.
3. Placental melatonin system is present throughout pregnancy and regulates villous trophoblast differentiation / A. Soliman, A. Lacasse, D. Lanoix [et al.] // *J. Pineal Res.* – 2015. – Vol. 59 (1). – P. 38–46. DOI: 10.1111/jpi.12236.
4. Takayama H. Pineal gland (melatonin) affects the parturition time but not luteal function and fetal growth, in pregnant rats / H. Takayama, Y. Nakamura, H. Tamura // *Endocr. J.* – 2003. – Vol. 50 (1). – P. 37–43. DOI: 10.1507/endocrj.50.37.
5. Evaluation of the implantation in pinealectomized and/or submitted to the constant illumination rats / A. A. Teixeira, M. J. Simoes, V. Wanderley Teixeira, J. Jr. Soares // *Int. J. Morphol.* – 2004. – Vol. 22 (3). – P. 189–194.
6. Melatonin improves placental efficiency and birth weight and increases the placental expression of antioxidant enzymes in undernourished pregnancy / H. G. Richter, J. A. Hansell, Sh. Raut, D. A. Giussani // *J. Pineal Res.* – 2009. – Vol. 46. – P. 357–364. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2009.00671.x.
7. Melatonin and stable circadian rhythms optimize maternal, placental and fetal physiology / R. J. Reiter, Dun Xian Tan,

- A. Korkmaz, S. A. Rosales-Corral // *Hum. Reprod. Update.* – 2013. – Vol. 20 (2). – P. 293–307. DOI: 10.1093/humupd/dmt054.
8. Potential utility of melatonin in preeclampsia, intrauterine fetal growth retardation, and perinatal asphyxia / L. Marseglia, G. D'Angelo, S. Manti [et al.] // *Reprod. Sci.* – 2016. – Vol. 23 (8). – P. 970–977. DOI: 10.1177/1933719115612132.
9. Esroy O. F. Effects of melatonin on cytokine release and healing of colonic anastomoses in an experimental sepsis model / O. F. Esroy, N. Özkan, Z. Özsoy // *Ulus Travma Acil. Cerrahi Derg.* – 2016. – Vol. 22 (4). – P. 315–321. DOI: 10.5505/tjtes.2015.49465.
10. Woo-Jin Yi. Melatonin protects mice against stress-induced inflammation through enhancement of M2 macrophage polarization / Woo-Jin Yi, Tae Sung Kim // *Int. Immunopharmacol.* – 2017. – Vol. 48. – P. 146–158. DOI: 10.1016/j.intimp.2017.05.006.
11. Najafi M. Melatonin as an anti-inflammatory agent in radiotherapy / M. Najafi // *Inflammopharmacol.* – 2017. – Vol. 25 (4). – P. 403–413. DOI: 10.1007/s10787-017-0332-5.
12. Peraçoli J. C. Tumor necrosis factor-alpha in gestation and puerperium of women with gestational hypertension and pre-eclampsia / J. C. Peraçoli, M. V. C. Rudge, M. Peraçoli // *Am. Journ. Reprod. Immunol.* – 2007. – Vol. 57. – P. 177–185. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2006.00455.x.
13. Tumor necrosis factor-alpha and pregnancy: focus on biologics. An updated and comprehensive review / J. Alijotas-Reig, E. Esteve-Valverde, R. Ferrer-Oliveras [et al.] // *Clinic Rev. Allerg. Immunol.* – 2017. – Vol. 53 (1). – P. 40–53. DOI: 10.1007/s12016-016-8596-x.

REFERENCES

1. Grishchenko, V.I. (1979). *Rol epifiza v fiziologii i patologii zhenskoy polovoy sistemy [Role of a pineal gland in physiology and pathology of woman's reproductive system]*. Kharkiv: Vyscha shkola [in Russian].
2. Shimada, M., Seki, H., Samejima, M., Hayase, M., & Shirai, F. (2016). Salivary melatonin levels and sleep-wake rhythms in pregnant women with hypertensive and glucose metabolic disorders: A prospective analysis. *BioSci. Trends*, 10 (1), 34-41. DOI: 10.5582/bst.2015.01123.
3. Soliman, A., Lacasse, A., Lanoix, D., Sagrillo-Fagundes, L., Boulard, V., & Vaillancourt, C. (2015). Placental melatonin system is present throughout pregnancy and regulates villous trophoblast differentiation. *J. Pineal Res.*, 59 (1), 38-46. DOI: 10.1111/jpi.12236.
4. Takayama, H., Nakamura, Y., & Tamura, H. (2003). Pineal gland (melatonin) affects the parturition time but not luteal function and fetal growth, in pregnant rats. *Endocr. J.*, 50 (1), 37-43. DOI: 10.1507/endocrj.50.37.
5. Teixeira, A.A., Simoes, M.J., Wanderley Teixeira, V., & Soares, J.Jr. (2004). Evaluation of the implantation in pinealectomized and/or submitted to the constant illumination rats. *Int. J. Morphol.*, 22 (3), 189-194.
6. Richter, H.G., Hansell, J.A., Raut, Sh., & Giussani, D.A. (2009). Melatonin improves placental efficiency and birth weight and increases the placental expression of antioxidant enzymes in undernourished pregnancy. *J. Pineal Res.*, 46, 357-364. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2009.00671.x.
7. Reiter, R.J., Dun Xian Tan, Korkmaz, A., & Rosales-Corral, S.A.

- (2013). Melatonin and stable circadian rhythms optimize maternal, placental and fetal physiology. *Hum. Reprod. Update*, 20 (2), 293-307. DOI: 10.1093/humupd/dmt054.
8. Marseglia, L., D'Angelo, G., Manti, S., Reiter, R.J., & Gitto, E. (2016). Potential utility of melatonin in preeclampsia, intrauterine fetal growth retardation, and perinatal asphyxia. *Reprod. Sci.*, 23 (8), 970-977. DOI: 10.1177/1933719115612132.
9. Esroy, O.F., Özkan, N., & Özsoy, Z. (2016). Effects of melatonin on cytokine release and healing of colonic anastomoses in an experimental sepsis model. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.*, 22 (4), 315-321. DOI: 10.5505/tjtes.2015.49465.
10. Woo-Jin, Yi., & Tae Sung Kim (2017). Melatonin protects mice against stress-induced inflammation through enhancement of M2 macrophage polarization. *Int. Immunopharmacol.*, 48, 146-158. DOI: 10.1016/j.intimp.2017.05.006.
11. Najafi, M., Shirazi, A., & Motevaseli, E. (2017). Melatonin as an anti-inflammatory agent in radiotherapy. *Inflammopharmacol.*, 25 (4), 403-413. DOI: 10.1007/s10787-017-0332-5.
12. Peraçoli, J.C., Rudge, M.V.C., & Peraçoli, M.T. (2007). Tumor necrosis factor-alpha in gestation and puerperium of women with gestational hypertension and pre-eclampsia. *Am. Journ. Reprod. Immunol.*, 57, 177-185. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2006.00455.x.
13. Alijotas-Reig, J., Esteve-Valverde, E., Ferrer-Oliveras, R., Llurba, E., & Maria Gris J. (2017). Tumor necrosis factor-alpha and pregnancy: focus on biologics. An updated and comprehensive review. *Clinic Rev. Allerg. Immunol.*, 53 (1), 40-53. DOI: 10.1007/s12016-016-8596-x.

Отримано 30.03.18