

СВІТЛО І ВАГІТНІСТЬ: РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТУ

А.М. Бербець, А.М. Барбе, О.М. Юзько

Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Мета роботи - встановити наявність взаємозв'язку між функціонуванням шишкоподібної залози, імунною системою та вагітністю.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на 20 статевозрілих нелінійних білих щурах *Rattus Norvegicus Wistar* жіночої статі, які не народжували (дослідна група). Контрольну групу поповнили (складали) 16 щурів жіночої статі з такими ж параметрами. Після настання вагітності тварини дослідної групи піддавалися освітленню в режимі 24 години на добу за допомогою галогенних ламп "білого" світла, щурі контрольної групи перебували в режимі "12 годин світла/ 12 годин темряви". Після 21 дня з моменту підтвердження вагітності щурів забивали. У тварин вивчали рівень у крові мелатоніну та інтерлейкінів. Матки забитих щурів піддавалися патогістологічному дослідженню.

Результати. У всіх щурів дослідної групи при гістологічному дослідженні виявлено припинення розвитку вагітності, тоді як у контрольній групі вагітності розвивалися нормально. У крові щурів дослідної групи спостерігали вірогідне, порівняно з контролем, зниження концентрації мелатоніну ($74,79 \pm 14,51$ pg/ml, у контрольній групі $245,00 \pm 32,26$ pg/ml, $p < 0,01$), та підвищення рівня ІЛ-6 ($5,59 \pm 1,02$ pg/ml, у контрольній групі $1,28 \pm 0,54$ pg/ml, $p < 0,05$).

Висновки. Пригнічення функції шишкоподібної залози, викликане освітленням, безпосередньо впливає на процес вагітності і може викликати навіть його переривання, при цьому спостерігається активація прозапальної ланки імунітету.

Ключові слова:

шишкоподібна залоза, вагітність, мелатонін, цитокіни.

Клінічна та експериментальна патологія Т.16, №4 (62). С.13-17.

DOI:10.24061/1727-4338.XVI.4.62.2017.46

E-mail: andriy.berbets@gmail.com

СВЕТ И БЕРЕМЕННОСТЬ: РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА

А.Н. Бербец, А.М. Барбе, А.М. Юзько

Цель работы - установить наличие взаимосвязи между функционированием шишковидной железы, иммунной системой и беременностью.

Материал и методы. Исследование проведено на 20 половозрелых нерожавших нелинейных белых крысах *Rattus Norvegicus Wistar* женского пола (основная группа). Контрольную группу составили 16 крыс женского пола с такими же параметрами. После наступления беременности животные основной группы подвергались освещению в режиме 24 часа в сутки при помощи галогенных ламп "белого" света, крысы контрольной группы находились в режиме "12 часов освещения/12 часов темноты". После 21 дня с момента подтверждения беременности крыс забивали. У животных изучали уровень в крови мелатонина и интерлейкинов. Матки забитых крыс подвергались патогистологическому исследованию.

Результаты. У всех крыс основной группы при гистологическом исследовании обнаружено прекращение беременности, в то время как в контрольной группе беременности развивались нормально. В крови крыс основной группы наблюдалось достоверное, в сравнении с контролем, снижение концентрации мелатонина ($74,79 \pm 14,51$ pg/ml, в контрольной группе $245,00 \pm 32,26$ pg/ml, $p < 0,01$), и повышение уровня ІЛ-6 ($5,59 \pm 1,02$ pg/ml, в контрольной группе $1,28 \pm 0,54$ pg/ml, $p < 0,05$).

Выводы. Угнетение функции шишковидной железы, вызванное освещением, непосредственно влияет на процесс беременности, вплоть до ее прерывания, при этом наблюдается активизация провоспалительного звена иммунитета.

Ключевые слова:

шишковидная железа, беременность, мелатонин, цитокины.

Клиническая и экспериментальная патология Т.16, №4 (62). С.13-17.

LIGHT AND PREGNANCY: THE RESULTS OF EXPERIMENT

А.М. Berbets, А.М. Barbe, О.М. Yuzko

Objective - to establish the presence of interrelation between the functioning of the pineal gland, immune system and progress of pregnancy.

Material and methods. The study was conducted on 20 sexually mature nonlinear female white rats *Rattus Norvegicus Wistar*, which had not given birth (study group). The control group consisted of 16 female rats with the same parameters. After pregnancy occurrence the animals of the study group were exposed to light in regimen 24 hours by halogenic lamps of "white" light; the rats of control group were kept in regimen "12

Key words: pineal gland, pregnancy, melatonin, cytokines.

Clinical and experimental pathology. Vol.16, №4 (62). P.13-17.

hours of light/12 hours of darkness". In 21 days after confirmation of pregnancy the rats were slayed. The concentrations of melatonin and interleukines in the blood of animals were studied. The uteruses of the slayed animals were histologically examined.

Results. *The termination of pregnancy was found at histological examination in all rats of study group, whereas in the control group the pregnancies were developed normally. The significant decreasing of the melatonin concentration was found in the blood of the rats of the group under study, comparing to the control (74,79±14,51 pg/ml, in the control group 245,00±32,26 pg/ml, $p<0,01$), as well as the increasing of the level of IL-6 (5,59±1,02 pg/ml, in control group 1,28±0,54 pg/ml, $p<0,05$).*

Conclusions. *The depression of the functioning of the pineal gland, caused by light, has the direct influence on pregnancy process, and may even be a reason for pregnancy termination; the activation of pro-inflammatory immunity has been noticed in this case.*

Вступ

Епіфіз (шишкоподібна залоза, pineal gland) уже тривалий час привертає пильну увагу дослідників. Однак вивчення ролі епіфіза в фізіології та патології проводилось (і дотепер проводиться) переважно в умовах експерименту. Порівняно незначна (невелика) кількість робіт присвячена вивченню ролі епіфіза в клініці [1, 2]. Вважають, що у людини, як і у інших ссавців, епіфіз виконує роль нейро-ендокринного "перетворювача", що відповідає продукцією гормонів (в першу чергу, мелатоніну) на нервові імпульси [1, 2, 3]. Активність залози залежить від періодичного освітлення: світло пригнічує біохімічні процеси в епіфізі, а в темряві вони, навпаки, посилюються. Водночас (Разом з тим) останніми роками помітно зростає кількість наукових публікацій, присвячених (прив'язаних) основному гормону шишкоподібної залози - мелатоніну. Це стосується і ролі мелатоніну при вагітності [4, 5]. Відомо, що мелатонін сприяє успішній імплантації плідного яйця [6], впливає на пологовий акт [7], активно продукується трофобластом та плацентою [8], знижує оксидативний стрес, зокрема при прееклампсії [9] і т.ін. Водночас взаємовідносини між шишкоподібною залозою і трофобластом/плацентою, як продуцентом мелатоніну, залишаються не до кінця з'ясованими.

Вплив мелатоніну на імунну систему, зокрема на її цитокінову ланку, також зараз активно вивчається. Роботи О.Ф. Esroу et al (2016) показують, що даний гормон дещо "пом'якшує" запальну імунну відповідь при сепсисі шляхом зниження рівня інтерлейкіну-6 (IL-6) та підвищення рівня інтерлейкіну-10 (IL-10) [10]; також відомо, що він (в експерименті на мишах) зменшує стрес-індуковане запалення (Woo-Jin Yi, Tae Sung Kim, 2017) [11]. Враховуючи це, можна припустити, що мелатонін відіграє неабияку роль у встановленні фізіологічних взаємозв'язків між імунною системою матері і вагітністю як на етапі імплантації, так і в процесі формування трофобласту/плаценти.

Мета роботи

Встановити наявність взаємозв'язку між роботою шишкоподібної залози, імунної системи та вагітністю.

Завдання. Шляхом експерименту на дослідних тваринах (щурях) продемонструвати, що пригнічення функції шишкоподібної залози, досягнуте шляхом без-

перервного освітлення, безпосередньо впливає на процес вагітності. Відстежити показники мелатоніну і цитокінів у піддослідних тварин.

Матеріал і методи дослідження

Проведено експеримент на 20 статевозрілих нелінійних білих щурах *Rattus Norvegicus Wistar* жіночої статі масою 200-280г, віком 17 - 24 тижні, які не народжували (дослідна група). Контрольну групу поповнили (склали) 16 щурів жіночої статі тієї ж лінії, з такими ж параметрами маси тіла та віку. Усі маніпуляції з тваринами виконувались відповідно до (згідно) рекомендацій Міжурядового комітету з біоетики UNESCO. Щури утримувались в умовах віварію по 4 особини в одній клітці, при середній температурі повітря +20...+24 0С та відносній вологості повітря 60-75%. Забезпечували харчування та пиття тварин *ad libitum*. Після 3-денної адаптації тварин у вказаних умовах проводили спарювання самок дослідної та контрольної груп із самцями репродуктивного віку (20-28 тижнів) шляхом підсаджування 1 самця до клітки з 4 самками. Настання вагітності у самок щурів підтверджували за допомогою мікроскопії мазків з піхви та виявлення в них сперматозоонів [12]. Тварини дослідної групи піддавалися освітленню в режимі 24 години на добу за допомогою галогенних ламп "білого" світла Philips потужністю 20W (кольорова температура 6500 К, світловий потік 1200 lm), з відстані 50 см від клітки, щури контрольної групи перебували в режимі "12 годин світла/ 12 годин темряви". Після 21 дня з моменту підтвердження вагітності щурів обох груп забивали шляхом декапітації з використанням тіопенталового знечуження. Кров 14 тварин дослідної групи та 10 тварин контрольної групи забрано для вивчення рівнів мелатоніну (використовувався набір Melatonin ELISA, виробництва IBL, Німеччина), IL-6 та IL-10 (за допомогою реактивів виробництва фірми "Вектор-Бест", Україна). Результати оброблені статистично за допомогою програмного пакету MedCalc, з використанням Welch-test для неоднакових вибірок. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез у даному дослідженні вважали (приймали) рівним 0,05. Матки забитих щурів піддавалися патогістологічному дослідженню з використанням забарвлення гематоксилін-еозином. Виконували мікрофотографування зі збільшенням x200 з використанням

мікроскопа Evolution-100 виробництва DELTA Optical Corp. та цифрової камери Olympus SD-550 UltraZoom.

Результати та їх обговорення

У всіх щурів дослідної групи виявлено припинення розвитку вагітності. Макроскопічно в рогах матки виявлено потовщення та крововиливи в місцях, де відбувалася імплантація (у щурів кількість вагітностей може доходити до 4-6 у кожному розі матки). Макроскопічна картина представлена на рис. 1.

Як бачимо на зображенні, правий ріг матки щура мобілізовано, візуалізуються 4 місця імплантації. Пов-

нокрів'я матки не спостерігається. Це, можливо, пояснюється тим, що вагітність зупинилася на ранній стадії розвитку (до 7 дня), і від цього моменту до забиття щура пройшло більше двох тижнів. Подібні явища спостерігали у всіх щурів дослідної групи, які знаходились під дією освітлення.

З метою уточнення діагнозу проведено патогістологічне дослідження та мікрофотографування маток щурів дослідної групи, яке виявило ознаки, характерні для вагітності, як-от: децидуалізація ендометрію (рис. 2) та феномен Arias-Stella (рис. 3).

Децидуалізація ендометрію полягає в появі збільше-



Рисунок 1. Макроскопічна картина маткового рогу щура дослідної групи

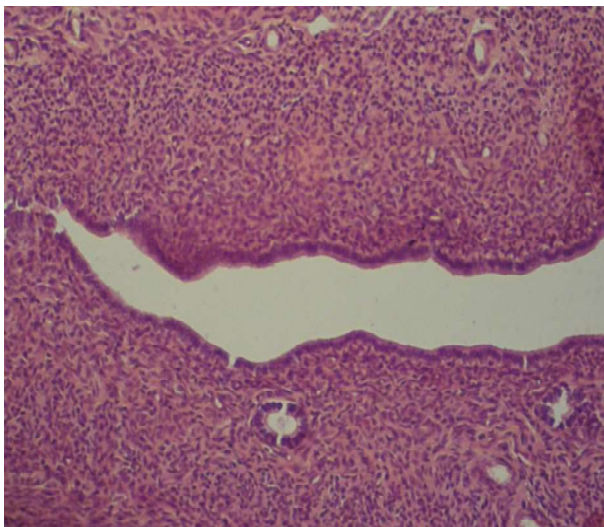


Рисунок 2. Децидуалізація ендометрію у щура дослідної групи. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення x200

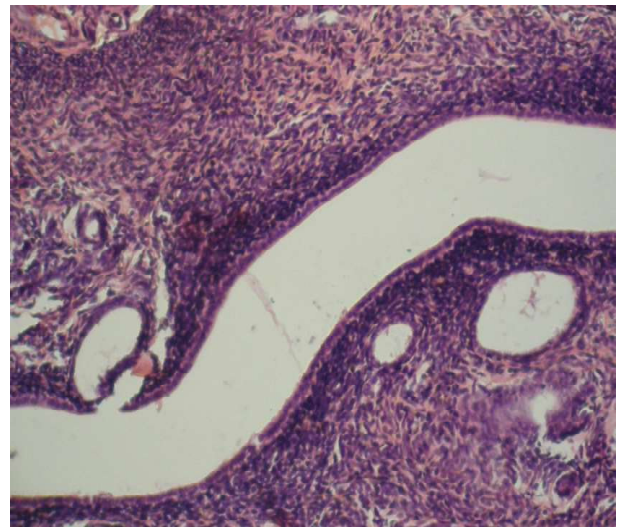


Рисунок 3. Феномен Arias-Stella в ендометрії щура дослідної групи

них полігональних клітин строми з вираженими ядрами [13], а також в активному рості нових судин. Клітини яскраво забарвлені та формують скупчення, що засвідчує про високу мітотичну активність.

Феномен Arias-Stella, який проявляється у вигляді поліморфізму, фрагментації та гіпертрофії ядер клітин ендометрію, а також у вигляді вакуолізації їх цитоплазми [13], добре видимий на даному зображенні. Цей феномен проявляється у ссавців лише під час вагітності.

У всіх щурів контрольної групи знайдено вагітність 4-8 плодами.

Результати вивчення рівнів мелатоніну, ІЛ-6 та ІЛ-10 представлені в таблиці.

Як видно з таблиці, спостерігалася вірогідна ($p < 0,01$) різниця концентрацій мелатоніну між групами тварин, що пояснюється впливом світла. Крім того, відзначено вірогідну ($p < 0,05$) відмінність рівнів ІЛ-6 між двома групами, причому рівень даного цитокіну вищий у тварин дослідної групи. Відомо, що ІЛ-6 є переважно проза-

Рівні мелатоніну, ІЛ-6 та ІЛ-10 в крові вагітних щурів

	Дослід (n=14)	Контроль (n=10)
Мелатонін (pg/ml)	74,79±14,51**	245,00±32,26
ІЛ-6 (pg/ml)	5,59±1,02*	1,28±0,54
ІЛ-10 (pg/ml)	17,80±3,12	17,66±3,34
* - p <0,05, ** - p<0,01		

пальним цитокином, який продукується антиген-презентуючими клітинами та макрофагами, при цьому він стимулює ріст та диференціацію В-клітин та вироблення ними антитіл; крім того, ІЛ-6 виступає важливим модулятором функції CD-4+ Т-лімфоцитів, зокрема зберігає їх від апоптозу та підсилює їхню проліферацію, а також стимулює перетворення "наївних" CD-4+ Т-лімфоцитів в клітини-ефектори [14]. Підвищення концентрації вказаного (даного) цитокину у тварин дослідної групи, як ми вважаємо, може засвідчити про активацію прозапальної ланки імунітету. Різниця в показниках ІЛ-10 між групами тварин не виявлено (не було).

Висновки

Пригнічення функції шишкоподібної залози, викликане надмірним освітленням, безпосередньо впливає на процес вагітності і може викликати навіть його переривання, що продемонстровано в експерименті. Дане явище супроводжується активізацією прозапальної ланки імунітету, зокрема підвищенням рівня ІЛ-6.

Перспективи подальших досліджень

Порушення взаємодії між імунною та гормональною системами під час вагітності, що виражаються, зокрема в змінах секреції мелатоніну та продукції цитокінів, можуть, як ми вважаємо, лежати в основі розвитку пізніших ускладнень гестації, таких як плацентарна недостатність.

Список літератури

1. Грищенко ВІ. Роль епіфіза в фізіології і патології жінської половий системи. Харків: Вища школа; 1979. 248 с.
2. Пішак ВП. Шишкоподібне тіло: місце і роль у хроноритмологічній організації фізіологічних функцій. Буковинський медичний вісник. 2002;6(3-4):4-6.
3. Пішак ВП, Булик РЄ. Механізми участі шишкоподібної залози в забезпеченні циркадианної ритмічності фізіологічних функцій. Буковинський медичний вісник. 2006;10(4):4-7.
4. Richter HG, Hansell JA, Raut Sh, Giussani DA. Melatonin improves placental efficiency and birth weight and increases the placental expression of antioxidant enzymes in undernourished pregnancy. *J Pineal Res.* 2009;46(4):357-64. doi: 10.1111/j.1600-079X.2009.00671.x.
5. Shimada M, Seki H, Samejima M, Hayase M, Shirai F. Salivary melatonin levels and sleep-wake rhythms in pregnant women with hypertensive and glucose metabolic disorders: A prospective analysis. *BioSci Trends.* 2016;10(1):34-41. doi: 10.5582/bst.2015.01123.
6. Soliman A, Lacasse A, Lanoix D, Sagrillo-Fagundes L, Boulard V, Vaillancourt C. Placental melatonin system is present throughout pregnancy and regulates villous trophoblast differentiation. *J Pineal Res.* 2015;59(1):38-46. doi: 10.1111/jpi.12236.
7. Takayama H, Nakamura Y, Tamura H, Yamagata Y, Harada A, Nakata M, et al. Pineal gland (melatonin) affects the parturition time but not luteal function and fetal growth, in pregnant rats.

Endocr J. 2003;50(1):37-43. doi: 10.1507/endocrj.50.37.

8. Teixeira AA, Simoes MJ, Wanderley Teixeira V, Soares J Jr. Evaluation of the implantation in pinealectomized and/or submitted to the constant illumination rats. *Int J Morphol [Internet].* 2004 [cited 2017 Sep 29];22(3):189-94. Available from: <http://www.scielo.cl/pdf/ijmorphol/v22n3/art03.pdf>

9. Reiter RJ, Tan DX, Korkmaz A, Rosales-Corral SA. Melatonin and stable circadian rhythms optimize maternal, placental and fetal physiology. *Hum Reprod Update.* 2013;20(2):293-307. doi: 10.1093/humupd/dmt054.

10. Esroy OF, Özkan N, Özsoy Z, Kayaoglu HA, Yenidogan E, Çelik A, et al. Effects of melatonin on cytokine release and healing of colonic anastomoses in an experimental sepsis model. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2016;22(4):315-21. doi: 10.5505/tjtes.2015.49465.

11. Yi WJ, Kim TS. Melatonin protects mice against stress-induced inflammation through enhancement of M2 macrophage polarization. *Int Immunopharmacol.* 2017;48:146-58. doi: 10.1016/j.intimp.2017.05.006.

12. Западнюк ІП, Западнюк ВІ, Захарія ЕА, Западнюк БВ. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. 3-е изд., перераб. и допол. Киев: Вища школа; 1984. 383 с.

13. Милованов АП. Патология системы мать-плацента-плод. Руководство для врачей. Москва: Медицина; 1999. 448 с.

14. Dienz O, Rincon M. The effects of IL-6 on CD4 T cell responses (a review). *Clin Immunol.* 2009;130(1):27-33. doi: 10.1016/j.clim.2008.08.018.

References

1. Grishchenko VI. Rol' epifiza v fiziologii i patologii zhenskoy polovoy sistemy [Role of a pineal gland in physiology and pathology of woman's reproductive system]. Khar'kov: Vishcha shkola; 1979. 248 s. (in Russian).
2. Pishak VP. Shyshkopodibne tilo: mistse i rol' u khronorytmolohichnii orhanizatsii fiziolohichnykh funktsii [Pineal gland and its role and place in chrono-rhythmic organization of physiologic functions]. *Bukovyns'kyi medychnyi visnyk.* 2002;6(3-4):4-6. (in Ukrainian).
3. Pishak VP, Bulyk Rle. Mekhanizmy uchasti shyshkopodibnoi zalozy v zabezpechenni tsyrkadiannoii rytmichnosti fiziolohichnykh funktsii [Mechanisms of participation of a pineal gland in the maintenance of circadian rhythmicity of the physiological functions]. *Bukovyns'kyi medychnyi visnyk.* 2006;10(4):4-7. (in Ukrainian).
4. Richter HG, Hansell JA, Raut Sh, Giussani DA. Melatonin improves placental efficiency and birth weight and increases the placental expression of antioxidant enzymes in undernourished pregnancy. *J Pineal Res.* 2009;46(4):357-64. doi: 10.1111/j.1600-079X.2009.00671.x.
5. Shimada M, Seki H, Samejima M, Hayase M, Shirai F. Salivary melatonin levels and sleep-wake rhythms in pregnant women with hypertensive and glucose metabolic disorders: A prospective analysis. *BioSci Trends.* 2016;10(1):34-41. doi: 10.5582/bst.2015.01123.
6. Soliman A, Lacasse A, Lanoix D, Sagrillo-Fagundes L, Boulard V, Vaillancourt C. Placental melatonin system is present throughout pregnancy and regulates villous trophoblast differentiation. *J Pineal Res.* 2015;59(1):38-46. doi: 10.1111/jpi.12236.
7. Takayama H, Nakamura Y, Tamura H, Yamagata Y, Harada A, Nakata M, et al. Pineal Gland (Melatonin) Affects the Parturition Time but not Luteal Function and Fetal Growth, in Клінічна та експериментальна патологія. 2017. Т.16, №4 (62)

Pregnant Rats. *Endocr J.* 2003;50(1):37-43. doi: 10.1507/endocrj.50.37.

8. Teixeira AA, Simoes MJ, Wanderley Teixeira V, Soares J Jr. Evaluation of the implantation in pinealectomized and/or submitted to the constant illumination rats. *Int J Morphol* [Internet]. 2004 [cited 2017 Sep 29];22(3):189-94. Available from: <http://www.scielo.cl/pdf/ijmorphol/v22n3/art03.pdf>

9. Reiter RJ, Dun Xian Tan, Korkmaz A, Rosales-Corral SA. Melatonin and stable circadian rhythms optimize maternal, placental and fetal physiology. *Hum Reprod Update.* 2013;20(2):293-307. doi: 10.1093/humupd/dmt054.

10. Esroy OF, Özkan N, Özsoy Z, Kayaoglu HA, Yenidogan E, Çelik A, et al. Effects of melatonin on cytokine release and healing of colonic anastomoses in an experimental sepsis model. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2016;22(4):315-21. doi: 10.5505/tjtes.2015.49465.

tjtes.2015.49465.

11. Yi WJ, Kim TS. Melatonin protects mice against stress-induced inflammation through enhancement of M2 macrophage polarization. *Int Immunopharmacol.* 2017;48:146-58. doi: 10.1016/j.intimp.2017.05.006.

12. Zapadnyuk IP, Zapadnyuk VI, Zakhariya EA, Zapadnyuk BV. *Laboratornye zhivotnye. Razvedenie, sodержanie, ispol'zovanie v eksperimente* [Laboratory animals: breeding, keeping, use in experiment]. 3-e izd., pererab. i dopol. Kiev: Vishcha shkola; 1984. 382 s. (in Russian).

13. Milovanov AP. *Patologiya sistemy Mat'-platsenta-plod. Rukovodstvo dlya vrachey* [Pathology of the system mother-placenta-fetus. A guide for doctors]. Moskov: Meditsina; 1999. 448 s. (in Russian).

14. Dienz O, Rincon M. The effects of IL-6 on CD4 T cell responses (a review). *Clin Immunol.* 2009;130(1):27-33. doi: 10.1016/j.clim.2008.08.018.

Відомості про авторів:

Бербець А.М., к.мед.н., доцент кафедри акушерства та гінекології Вищого державного навчального закладу України "Буковинський державний медичний університет"

Барбе А.М., аспірант кафедри акушерства та гінекології Вищого державного навчального закладу України "Буковинський державний медичний університет"

Юзько О.М., д.мед.н., професор, завідувач кафедри акушерства та гінекології Вищого державного навчального закладу України "Буковинський державний медичний університет"

Сведения об авторах:

Бербец А.Н., к.мед.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии Высшего государственного учебного заведения Украины "Буковинский государственный медицинский университет"

Барбе А.М., аспирант кафедры акушерства и гинекологии Высшего государственного учебного заведения Украины "Буковинский государственный медицинский университет"

Юзько А.М., д.мед.н., профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии Высшего государственного учебного заведения Украины "Буковинский государственный медицинский университет"

Information about authors:

Berbets A.M., Candidate of Medical Science, Docent of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Barbe A.M., post-graduate of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Yuzko O.M., Doctor of Medical Science, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Стаття надійшла до редакції 11.11.2017

Рецензент – проф. О.В. Кравченко

© А.М. Бербець, А.М. Барбе, О.М. Юзько, 2017