

УДК: 618.2-085.322:612.017
DOI: 10.24061/2413-4260.X.3.37.2020.7РЕЛАКСИН ТА ІМУННІ ФАКТОРИ ЯК
ПРЕДИКТОРИ БІОЛОГІЧНОЇ ГОТОВНОСТІ
ДО ПОЛОГІВ*М.О. Щербина, Н.В. Шелест*Харківський національний медичний університет
МОЗ України (м. Харків, Україна)**Резюме**

Вступ. Біологічна готовність до пологів відіграє значиму роль у забезпеченні нормального перебігу спонтанних пологів, а також визначає критерії преіндукції та індукції пологів при наявності певних патологічних акушерських ситуацій. Дослідженнями останніх десятиліть встановлено, що пологи є результатом складної взаємодії між факторами матері і плоду, які сприяють дозріванню шийки матки і скороченню міометрію, це обумовлює необхідність пошуку предикторних маркерів, що сприяють ранній ідентифікації загрозованих станів і здатних підвищити точність прогнозування. Таким предиктором може стати гормон релаксин, увага до якого обумовлена доказами його причетності до патогенезу переривання вагітності. Дані різних авторів показують, що важлива роль, яку цей гормон грає в адаптації материнського організму до пологів полягає в реалізації його біологічних ефектів за рахунок перетворення органів-мішеней, насамперед шийки матки, шляхом регуляції процесів деградації компонентів екстрацелюлярного матриксу через активацію протеолітичних ферментів, до яких відносяться матриксні металопротеїнази (ММП), одним з механізмів цього процесу є синтез прозапальних цитокінів, які поряд з релаксином є важливими регуляторами продукції ММП.

Мета дослідження - встановити нові прогностичні критерії дозрівання шийки матки шляхом вивчення взаємозв'язку релаксину, цитокінів і їх ролі в системних механізмах регуляції активності протеолітичних ферментів.

Матеріал і методи дослідження. Обстежено 69 вагітних при терміні вагітності 38-40 тижнів. Всім вагітним проводили стандартизоване клінічне обстеження, імунологічні дослідження - вивчення сироваткової концентрації цитокінів IL-6 та TNF- α , матриксних металопротеїназ - ММП-1 та ММП-9 та рівню релаксину, визначення проводили методом імуноферментного аналізу з використанням комерційних наборів. Статистичну обробку отриманих результатів проводили на персональному комп'ютері з використанням програми «STATISTICA-6». Достовірність відмінностей розраховували за t-критерієм Стьюдента. Між отриманими показниками визначали r-коефіцієнт рангової кореляції Спірмена. Відмінності вважали достовірними при рівні значимості $p \leq 0,05$.

Результати дослідження. Середній вік обстежених вагітних склав 25,7 (18-33) років. Всі пацієнтки обстежених груп були порівняні між собою за віком, особливостям статевої і менструальної функції ($p \leq 0,05$).

Що стосується концентрації релаксину в сироватці крові обстежених вагітних, найнижчий рівень зустрічався в групі жінок з незрілою або недостатньо зрілою шийкою матки і склав $189,7 \pm 34,6$ пг/мл, і $208,9 \pm 27,6$ пг/мл, що дозволяє розцінювати зміст сироваткового релаксину як можливий предиктор біологічної готовності організму до пологів, зміст релаксину може стати прогностичним маркером ефективності індукції і преіндукції пологів. Наведені дані показують, що в групі жінок з «зрілою» шийкою матки рівень ММП-9 і ММП-1 був максимальним і в середньому в 1,8 рази перевищував аналогічний показник в групі з незрілою шийкою матки, таким чином в процесі дозрівання шийки матки відбувається достовірне збільшення концентрації ММП з поступовим підвищенням їх протеолітичної активності. Наші дослідження показали високі концентрації вивчених прозапальних цитокінів в сироватці крові вагітних із зрілою шийкою матки напередодні пологів у порівнянні з жінками з незрілою або недостатньо зрілою шийкою матки. Взаємозв'язок пропорцій вивчених біорегуляторів процесів підготовки організму до пологів підкреслюється результатами проведеного кореляційного аналізу. Виявлено прямий кореляційний зв'язок між рівнем релаксину і матриксних металопротеїназ ($r = 0,78$), а також тенденцію до позитивної кореляції між їх вмістом і вивченими цитокінами.

Висновок. Таким чином результати дослідження дозволяють виявити найбільш прогностично значимі предиктори, що характеризують процеси підготовки організму до пологів, до яких можна віднести «гормон пологів» релаксин, а також імунні механізми регуляції дозрівання шийки матки перед пологами.

Ключові слова: біологічна готовність до пологів; зріла шийка матки; релаксин; інтерлейкіни.

Вступ

Актуальні шляхи вирішення завдань щодо зниження акушерської патології та поліпшення перинатальних наслідків багато в чому визначає необхідність розробки оптимальної тактики прогнозування та ведення пологів, які представляють важливий етап реалізації репродуктивної функції [1]. Біологічна готовність до пологів відіграє значиму роль у забезпеченні нормального перебігу спонтанних пологів, а також визначає критерії преіндукції і індукції пологів при наявності

певних патологічних акушерських ситуацій. Сучасний стан даної проблеми диктує пошук нових шляхів вивчення патофізіологічних механізмів комплексної біологічної та морфологічної трансформації шийки матки в кінці вагітності і початку пологів, згідно з визначенням ВООЗ саме «зрілість» шийки матки є визначальним фактором сприятливого прогнозу пологів [1,2].

Дослідженнями останніх десятиліть встановлено, що пологи є результатом складної взаємодії між факторами матері і плоду, які сприяють до-

зріванню шийки матки і скороченню міометрію, це обумовлює необхідність пошуку предикторних маркерів, з метою ранньої ідентифікації загрозливих станів і здатних підвищити точність прогнозування. Таким предиктором може стати гормон релаксин, увага до якого обумовлена доказами його причетності до патогенезу переривання вагітності. Патолофізіологічною основою цього є широкий спектр біологічних ефектів релаксину, серед них зміни сполучної тканини, розширення судин, збільшення інфільтрації лейкоцитів [4,5]. Релаксин належить до сімейства гормонів IGF (інсуліноподібний фактор росту), за структурою є дволанцюговим поліпептидним гормоном, форма релаксину, що циркулює в крові (RLN H2), синтезується жовтим тілом яєчника як у вагітних так і у невагітних, виявляється в пізній лютеїновій фазі і вагітності, і має лютеїнове походження. Концентрація релаксину досягає свого піку в середині першого триместру вагітності, а потім, після невеликого зниження до 13-14 тижня, залишається стабільною до настання пологів [6]. Експериментальні дослідження демонструють, що у гризунів і свиней релаксин сприяє дозріванню шийки матки, зменшує щільність колагенових волокон, сприяючи пом'якшенню і розтягуванню шийки матки, при цьому тварини з дефіцитом генів рецепторів релаксину демонстрували зниження здатності відтворювати потомство, в основному через дефект дозрівання шийки матки [7,8]. Дані різних авторів показують, що важлива роль, яку цей гормон грає в адаптації материнського організму до пологів полягає в реалізації його біологічних ефектів за рахунок перетворення органів-мішеней, насамперед шийки матки шляхом регуляції процесів деградації компонентів екстрацелюлярного матриксу через активацію протеолітичних ферментів, до яких відносяться матриксні металопротеїнази (ММП) - цинкзалежні ендопептидази, здатні руйнувати білки позаклітинного матриксу [9]. Матриксні металопротеїнази секретуються периферійними нейтрофілами в позаклітинний простір в ділянках ремоделювання тканин і здатні розщеплювати фібрилярні білки, ММП є основними ферментами сполучної тканини, вони беруть участь у багатьох патологічних і фізіологічних процесах, пов'язаних з перебудовою позаклітинного матриксу, в тому числі і з дозріванням шийки матки напередодні пологів. В теперішній час відомо більш 20 матриксних металопротеїназ, які групують відповідно до їх структурних особливостей. Експериментальне вивчення ролі матриксних металопротеїназ підтвердило їх участь в процесах проліферації і апоптозу в клітинних культурах, так наприклад ММП -9 (желатиназа В), зв'язуючись із желатином гідролізує колаген та еластин базальних мембран, що призводить до дестабілізації структури протеогліканів і зміни механічних властивостей шийки матки Підвищення експресії ММП-9 залучено до процесів дозрівання шийки матки і асоційоване з деградацією колагену I типу цервікального позаклітинного матриксу [10-12].

При цьому необхідно враховувати, що дозрівання і ремоделювання шийки матки насамперед результат складного комплексу як ендокринних,

так і імунних взаємодій, і одним з механізмів цього процесу є її інфільтрація клітинами лейкоцитарного ряду напередодні пологів і саме тканинні гранулоцити представляють джерело зростаючого синтезу прозапальних цитокінів, які поряд з релаксином є важливими регуляторами продукції матриксних металопротеїназ [13-15].

Цитокіни представляють регуляторні пептиди, які є медіаторами міжклітинної взаємодії, активовані нейтрофіли, що мігрували в тканини шийки матки, здатні синтезувати ряд прозапальних цитокінів: IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , наявні літературні дані про поступове наростання зазначених цитокінів в цервікальному секреті, а також в нижньому сегменті матки при спонтанній пологової діяльності дозволяє припустити їх можливу роль в процесі дозрівання шийки матки [16-18]. Взаємодія між цитокінами і протеогліканами є ланкою локальної запальної реакції в шийці матки як фрагмента багаторівневого процесу регуляції реконструкції сполучної тканини тощо і доношеною вагітності .

Виходячи із сучасних уявлень, інтерлейкін-1 β (IL-1 β) сприяє активації клітин у вогнищі запалення і підсилює продукцію ними інших цитокінів , IL-1 β і TNF- α стимулюють продукцію один одного і IL-6, можуть запускати синтез матриксних металопротеїназ і регулювати експресію їх тканинних інгібіторів. IL-6 продукується активованими моноцитами або макрофагами, відзначена його роль в активації ММП-9, а також відзначається його роль як важливого міокіна, який в тому числі високо експресують клітини міометрію матки при їх скороченні [19-22]. TNF- α - класичний прозапальний цитокін, пов'язаний з індукцією синтезу простагландинів, імовірно бере участь в підготовці організму до пологів за рахунок стимуляції апоптозу і міграції нейтрофілів в ткани с судинного русла [23-25].

Таким чином, аналіз літературних даних свідчить про те, що процес підготовки організму вагітної до пологів є наслідком комплексу гормональних, імунологічних, гемодинамічних і гуморальних механізмів. Тому безсумнівний інтерес викликають питання вивчення взаємозв'язку регуляторних можливостей релаксину з системною продукцією цитокінів та особливостями протеолітичної активності нейтрофілів на різних етапах дозрівання шийки матки.

Мета дослідження: встановити нові прогностичні критерії дозрівання шийки матки шляхом вивчення взаємозв'язку релаксину, цитокінів і їх ролі в системних механізмах регуляції активності протеолітичних ферментів.

Матеріал і методи дослідження

Відповідно до мети дослідження обстежено 69 вагітних при терміні вагітності 38-40 тижнів. У досліджувані групи включали першовагітних без важкої екстрагенітальної і акушерської патології. У дослідження не були включені жінки з повторною вагітністю та пологами, вагітні, що надійшли для планового оперативного розродження, а також із загостреннями хронічних екстрагенітальних захворювань, підвищеною температурою, важкими

формами прееклампсії.

Обстежені жінки були розділені на 3 клінічні групи при надходженні до стаціонару в залежності від ступеня зрілості шийки матки. Ступінь зрілості шийки матки оцінювалася за шкалою Е.Н. Bishop. Групу I склали 23 пацієнтки зі зрілою шийкою матки (9-13 балів), групу II – 21 вагітна з недостатньо зрілою шийкою матки (6-8 балів), групу III – 25 вагітних з незрілою шийкою матки (0-5 балів). Контрольну групу склали 15 першовагітних при терміні вагітності 35-36 тижнів до початку фізіологічних процесів ремоделювання тканин шийки матки до пологів, у яких не було ознак загрозованих передчасних пологів і порівнянних з жінками I, II і III груп по анамнезу і соматичним даними.

Всім вагітним проводили збір анамнезу, повне клініко-лабораторне обстеження, регламентоване Наказом МОЗ України № 417 від 15.07.2011 р., вивчення стан внутрішньоутробного плода з використанням ультразвукового дослідження та кардіотокографії.

Імунологічні дослідження проводили одноразово при надходженні до стаціонару. Сироваткову концентрацію цитокінів IL-6 та TNF- α визначали методом твердо фазного імуноферментного аналізу з використанням комерційних наборів (ЗАТ «Вектор Бест», Росія), рівень релаксину – імуноферментним методом з використанням набору Human RLN2 ELISA (Elabscience, США). Для визначення змісту MMP-9 в сироватці периферичної крові використовували імуноферментний аналіз з використанням набору Human MMP-9 ELISA (Bendermedsystems, Австрія).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили на персональному комп'ютері з використанням програми «STATISTICA-6». Достовірність відмінностей розраховували за t-критерієм Стьюдента. Між отриманими показниками визначали r-коефіцієнт рангової кореляції Спірмена. Відмінності вважали достовірними при рівні значимості $p \leq 0,05$.

Роботу проведено за згодою Комісії з питань біомедичної етики Харківського національного медичного університету.

Результати досліджень та їх обговорення

Середній вік обстежених вагітних склав 25,7 (18-33) років. Всі пацієнтки обстежених груп були можна порівняти між собою за віком, особливостям статевої і менструальної функції ($p \leq 0,05$). В анамнезі у обстежених жінок виявлено високий відсоток гінекологічних захворювань, серед яких переважали запальні захворювання жіночих статевих органів - 49,4 %, 57 % і 64,6 % в I, II і III групах відповідно, ектопія шийки матки - 38,5 %, 51,6 % і 47,7 % відповідно, за цими параметрами групи також можна було порівняти ($p \leq 0,05$). Особливості виявленої екстрагенітальної патології показали що в III групі в порівнянні з I групою достовірно частіше зустрічалися дитячі інфекції та гострі респіраторні захворювання, нейроциркуляторні розлади, а також патологія щитоподібної залози - 48,5 %, 10,2 % і 16,8 % в III групі в порівнянні з 15,4 %, 1,7 % і 3,3 % в I групі ($p \leq 0,05$). Ускладнення поточної вагітності зустріча-

лися приблизно з однаковою частотою, достовірні відмінності між I і III групами виявлені в частоті загрози переривання вагітності в I триместрі яка склала у пацієток I групи 3,6 % і 21 % в III групі ($p \leq 0,05$).

Що стосується концентрації релаксину в сироватці крові обстежених вагітних (рис. 1), як показали проведені дослідження, найнижчий рівень зустрічався в групі жінок з незрілою або недостатньо зрілою шийкою матки і склав $189,7 \pm 34,6$ пг/мл, і $208,9 \pm 27,6$ пг/мл. У жінок з ознаками зрілої шийки матки рівень релаксину склав $269,6 \pm 24,8$ пг/мл. Рівень релаксину у жінок I групи в 1,4 рази перевищував аналогічний результат в III групі пацієток. Достовірні ($p \leq 0,05$) відмінності в змісті релаксину між I і III групами можуть дозволити розцінювати зміст сироваткового релаксину як можливий предиктор біологічної готовності організму до пологів, по всій видимості зміст релаксину може служити прогностичним маркером ефективності індукції і преіндукції пологів.

Аналіз вмісту MMP у обстежених вагітних (рис. 2) показав вірогідне підвищення концентрації MMP-9 і MMP-1 у жінок I клінічної групи - $11,4 \pm 4,63$ нг/мл і $6,8 \pm 1,25$ нг/мл відповідно, в порівнянні з показниками в III групі - $5,2 \pm 1,31$ нг/мл і $4,3 \pm 0,41$ нг/мл ($p \leq 0,05$), у II групі спостерігалася тенденція до підвищення зазначених показників - $7,1 \pm 2,43$ нг/мл і $6,2 \pm 0,6$ нг/мл.

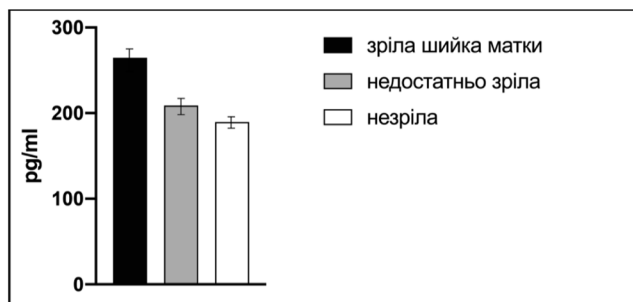


Рис. 1. Рівень релаксину в периферичній крові обстежених вагітних

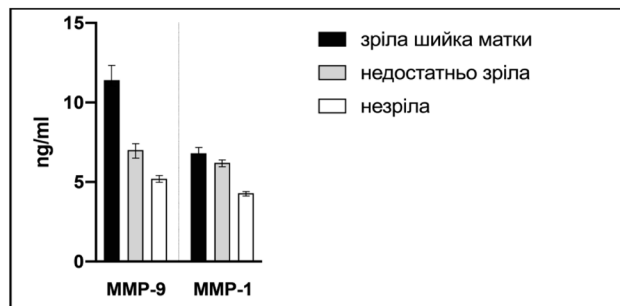


Рис. 2. Вміст MMP-9 та MMP-1 в периферичній крові обстежених вагітних

Оцінка характеру продукції основних цитокінів, що беруть участь в підготовці організму до пологів - IL-1 β , IL-6 та TNF- α (рис. 3). Отримані результати показали високі концентрації вивчених прозапальних цитокінів в сироватці крові вагітних із зрілою шийкою матки напередодні пологів у порівнянні з жінками з незрілою або недостатньо зрілою шийкою матки. Так у вагітних I

групи концентрація ІЛ-6 перевищувала аналогічний показник в групах II і III ($79,8 \pm 4,13$ пг/мл проти $22,6 \pm 1,4$ і $20,5 \pm 1,8$ пг/мл, $p \leq 0,05$) більш ніж в 3,5 рази. Рівень ІЛ-1 β в I клінічній групі в 2,9 рази перевищував значення в групах II і III ($197,4 \pm 15,5$ пг/мл проти $64,7 \pm 7,5$ і $62,9 \pm 4,4$ пг/мл, $p \leq 0,05$). Зміст TNF- α коливався від 0,2 до 3,3 пг/мл, при цьому напередодні пологів у вагітних з достатнім ступенем дозрівання шийкою матки відзначалися максимальні середні показники по відношенню до інших клінічних груп ($2,8 \pm 0,13$ пг/мл проти $1,01 \pm 0,02$ і $0,8 \pm 0,11$ пг/мл, $p \leq 0,05$). При розгляді отриманих даних слід зазначити, що сироваткове зміст вивчених цитокінів було статистично значимо вище у жінок, у яких спонтанна пологова діяльність розвивалася протягом 36-48 годин після дослідження.

Взаємозв'язок пропорцій вивчених біорегуляторів процесів підготовки організму до пологів підкреслювався результатами проведеного кореляційного аналізу. Виявлено тісний прямий кореляційний зв'язок між рівнем релаксину і матриксних металопротеїназ ($r = 0,78$), а також тенденцію до позитивної кореляції між їх вмістом і вивченими цитокінами.

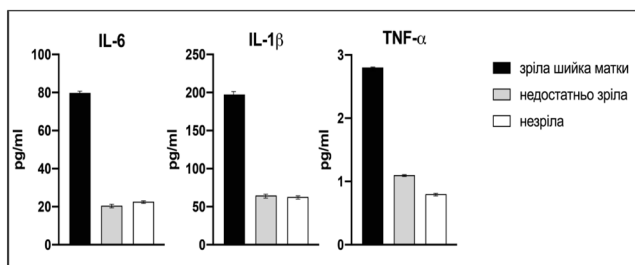


Рис. 3. Вміст протизапальних цитокінів у периферичній крові обстежених вагітних

Таким чином, результати дослідження дозволяють виявити найбільш прогностично значимі молекулярні предиктори, що характеризують процеси підготовки організму до пологів, до яких можна віднести «гормон пологів» релаксин, а також імунні механізми регуляції дозрівання шийки матки перед пологами. Підвищені концентрації цього гормону в сироватці периферичної крові у вагітних з зрілою шийкою матки напередодні пологів і виявлена кореляційна взаємозв'язок з рівнем змісту матриксних металопротеїназ дозволяють розцінювати релаксин як позитивний регулятор вироблення основних типів ММП, які впливають на колаген I типу. Така позитивна регуляція ММП-1 і ММП-9 через підвищених рівнів релак-

сину може мати унікальне значення для розвитку процесів ре моделювання сполучної тканини шийки матки.

З огляду на дані літератури про роль фагоцитарних клітин, інфільтруючих тканину шийки матки і продукованих ними цитокінів в процесі підготовки шийки матки до пологів [26,27], отримані в результаті дослідження дані дозволяють говорити про те, що зміни активності циркулюючого пулу нейтрофілів регулює деградацію колагену, як важливого структурного компонента позаклітинного матриксу тканин шийки матки, що визначають її зрілість. Прогресивне підвищення сироваткового вмісту основних видів прозапальних цитокінів у міру підготовки до пологів мабуть веде до зростання протеолітичної активності периферичних імунних клітин, що в підсумку визначає зміни генного остова шийки матки за рахунок посилення вироблення ММП. Пацієнтки, що мають «зрілу» шийку матки мали високі рівні основних прозапальних цитокінів та активованих регуляторних матриксних металопротеїназ у сироватці крові і навпаки відсутність готовності шийки матки до пологів характеризувався достовірно меншими показниками, що дозволяє визначити імовірно високу прогностичну цінність даних імунних маркерів, щодо своєчасного настання спонтанних пологів, а також ефективності преіндукції і індукції пологової діяльності.

Висновки

Релаксин є важливим фактором в підготовці організму вагітної до пологів, прогресивне збільшення сироваткового вмісту релаксину, мабуть є одним з механізмів, що регулюють продукцію протеолітичних ферментів, матриксних металопротеїназ, наприкінці гестаційного процесу.

Процеси ремоделювання шийки матки перед пологами проявляються максимальними значеннями сироваткового вмісту прозапальних цитокінів, а також матриксних металопротеїназ у жінок зі зрілою шийкою матки, характеризуються посиленням протеолітичної активності периферичних нейтрофілів.

Досліджені фактори можуть служити надійними імунобіологічними маркерами предикторів настання пологів, а також ефективності комплексних терапевтичних заходів по індукції пологів

Конфлікт інтересів. Автори декларують про відсутність конфлікту інтересів.

Джерела фінансування. Стаття опублікована без будь-якої фінансової підтримки.

Література

1. Вдовиченко ЮП, Жилка НЯ, Жук СИ, Прядко НГ. Современные подходы к преиндукции и индукции родов, основанные на доказательствах. Здоровье женщины. 2016;3:24-8.
2. World Health Organization DoRHAR. WHO recommendations for induction of labour [Internet]. 2011[update 2018; cited 2020 May 15]. Available from: https://www.who.int/reproductivehealth/publications/maternal_perinatal_health/9789241501156/en/
3. Menon R, Torloni MR, Voltolini C, Torricelli M, Meriardi M, Betrán AP, et al. Biomarkers of spontaneous preterm birth: an overview of the literature in the last four decades. *Reprod Sci.* 2011;18(11):1046-70, doi:10.1177/1933719111415548.
4. Sherwood OD. Relaxin's physiological roles and other diverse actions. *Endocr Rev.* 2004;25(2):205-34, doi:10.1210/er.2003-0013.
5. Goldsmith LT, Weiss G, Palejwala S, Plant TM, Wojtczuk A, Lambert WC, et al. Relaxin regulation of endometrial structure and function in the rhesus monkey. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101(13):4685-9. doi:10.1073/pnas.0400776101.
6. Weiss G, Goldsmith LT. Mechanisms of relaxin-mediated premature birth. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1041:345-50, doi:10.1196/annals.1282.055.

7. Zhao L, Samuel CS, Tregear GW, Beck F, Wintour EM. Collagen studies in late pregnant relaxin null mice. *Biol Reprod.* 2000;63(3):697-703. doi:10.1095/biolreprod63.3.697.
8. Luque EH, Muñoz de Toro MM, Ramos JG, Rodriguez HA, Sherwood OD. Role of relaxin and estrogen in the control of eosinophilic invasion and collagen remodeling in rat cervical tissue at term. *Biol Reprod.* 1998;59(4):795-800. doi:10.1095/biolreprod59.4.795.
9. Curry Jr TE, Osteen KG. The Matrix Metalloproteinase System: changes, regulation, and impact throughout the ovarian and uterine reproductive cycle. *Endocr Rev.* 2003;24(4):428-65. doi:10.1210/er.2002-0005.
10. Uzui H, Lee JD, Shimizu H, Tsutani H, Ueda T. The role of protein-tyrosine phosphorylation and gelatinase production in the migration and proliferation of smooth muscle cells. *Atherosclerosis.* 2000;149(1):51-9. doi:10.1016/s0021-9150(99)00295-6.
11. Никитина ЛА, Демидова ЕМ, Радзинский ВЕ, Демидов БС, Самоходская ЛМ. Роль матриксных белков, цитокинов и факторов ангиогенеза маточно-плацентарного комплекса в регуляции имплантации и плацентации. *Акушерство и гинекология.* 2007;3:5-10.
12. Winkler M, Rath W. Changes in the cervical extracellular matrix during pregnancy and parturition. *J Perinat Med.* 1999;27(1):45-60. doi:10.1515/jpm.1999.006.
13. Кореновский ЮВ, Синельникова ЛМ, Фильчакова ОН, Шабалина ЮВ, Ершова ЕГ, Фадеева НИ, и др. Матриксные металлопротеиназы и тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ при беременности и родах. *Acta Biomedica Scientifica.* 2012;5(Ч 2):146-9.
14. Stjernholm-Vladic Y, Stygar D, Mansson C, Masironi B, Akerberg S, Wang H, et al. Factors involved in the inflammatory events of cervical ripening in humans. *Reprod Biol Endocrinol* [Internet]. 2004[cited 2020 Apr 29];2:74. Available from: <https://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7827-2-74> doi: 10.1186/1477-7827-2-74.
15. Osman I, Young A, Ledingham MA, Thomson AJ, Jordan F, Greer IA, et al. Leukocyte density and pro-inflammatory cytokine expression in human fetal membranes, decidua, cervix and myometrium before and during labour at term. *Mol Hum Reprod.* 2003;9(1):41-5. doi:10.1093/molehr/gag001.
16. Keelan JA, Blumenstein M, Helliwell RJ, Sato TA, Marvin KW, Mitchell MD. Cytokines, prostaglandins and parturition- a review. *Placenta.* 2003;24(Suppl A):S33-46. doi:10.1053/plac.2002.0948.
17. Bowen JM, Chamley L, Keelan JA, Mitchell MD. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: roles and regulation during human pregnancy and parturition. *Placenta.* 2002;23(4):257-73. doi:10.1053/plac.2001.0782.
18. Gustafsson C, Hummerdal P, Matthiesen L, Berg G, Ekerfelt C, Ernerudh J. Cytokine secretion in decidual mononuclear cells from term human pregnancy with or without labour: ELISPOT detection of IFN-gamma, IL-4, IL-10, TGF-beta and TNF-alpha. *J Reprod Immunol.* 2006;71(1):41-56. doi:10.1016/j.jri.2005.12.009.
19. Dealtry GB, O'Farrell MK, Fernandez N. The Th2 cytokine environment of the placenta. *Int Arch Allergy Immunol.* 2000;123(2):107-19. doi:10.1159/000024441.
20. Mitchell MD, Goodwin V, Mesnage S, Keelan JA. Cytokine-induced coordinate expression of enzymes of prostaglandin biosynthesis and metabolism: 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA).* 2000;62(1):1-5. doi: 10.1054/plef.1999.0117.
21. Kameda T, Matsuzaki N, Sawai K, Okada T, Saji F, Matsuda T, et al. Production of interleukin-6 by normal human trophoblast. *Placenta.* 1990;11(3):205-13. doi:10.1016/s0143-4004(05)80266-8.
22. Gomez-Lopez N, Laresgoiti-Servitje E, Olson DM, Estrada-Gutiérrez G, Vadillo-Ortega F. The role of chemokines in term and premature rupture of the fetal membranes: a review. *Biol Reprod.* 2010;82(5):809-14. doi: 10.1095/biolreprod.109.080432.
23. Pu J, Zeng WY. Gene polymorphism of tumor necrosis factor-alpha promoter region in -308 site and premature births in Chinese Han populations. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2007;38(6):984-6.
24. Kumar D, Fung W, Moore RM, Pandey V, Fox J, Stetzer B, et al. Proinflammatory cytokines found in amniotic fluid induce collagen remodeling, apoptosis, and biophysical weakening of cultured human fetal membranes. *Biol Reprod.* 2006;74(1):29-34. doi:10.1095/biolreprod.105.045328.
25. Dubicke A, Fransson E, Centini G, Andersson E, Byström B, Malmström A, et al. Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in human preterm and term cervical ripening. *J Reprod Immunol.* 2010;84(2):176-85. doi:10.1016/j.jri.2009.12.004.
26. Winkler M, Fischer DC, Ruck P, Horny HP, Kemp B, Rath W. Cytokine concentrations and expression of adhesion molecules in the lower uterine segment during parturition at term: relation to cervical dilatation and duration of labor. *Z Geburtshilfe Neonatol.* 1998;202(4):172-5.
27. Maul H, Mackay L, Garfield RE. Cervical ripening: biochemical, molecular, and clinical considerations. *Clin Obstet Gynecol.* 2006;49(3):551-63. doi:10.1097/00003081-200609000-00015.

**РЕЛАКСИН И ИММУННЫЕ ФАКТОРЫ КАК
ПРЕДИКТОРЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ГОТОВНОСТИ
К РОДАМ**

Н.А. Щербина, Н.В. Шелест

**Харьковский национальный медицинский
университет МОЗ Украины
(г. Харьков, Украина)**

**RELAXIN AND IMMUNE FACTORS
AS PREDICTORS OF BIOLOGICAL PREPARATION
FOR LABOUR**

N.O. Shcherbina, N.V. Shelest

**Kharkiv National
Medical University
(Ministry of Health of Ukraine)**

Резюме

Вступление. Биологическая готовность к родам играет значимую роль в обеспечении нормального течения спонтанных родов, а также определяет критерии преиндукции и индукции родов при наличии определенных патологических акушерских ситуаций. Исследованиями последних десятилетий установлено, что роды являются результатом сложного взаимодействия между факторами матери и плода, которые способствуют созреванию шейки матки и сокращению миометрия, это обуславливает необходимость поиска предикторных маркеров, способствуют ранней идентификации угрожающих состояний и способных повысить точность прогнозирования.

Таким предиктором может стать гормон релаксин, вни-

Summary

Introduction. Biological preparedness for childbirth plays an important role in ensuring the normal course of spontaneous labour, as well as determining the criteria for preinduction and induction of labour with obstetrics pathologies. Recent studies have shown that labour involves a complex interaction between maternal and fetal factors that contribute to cervical maturation and myometrial contraction. In its turn it prompts the search for predictors that allow early identification of pathologies and improve the prognosis.

The Relaxin hormone may function as one of the aforementioned predictors due to the emerging evidence for its involvement in the pathogenesis of abortion. Studies show that Relaxin plays a key role in the adaptation of a female

мание к которому обусловлено доказательствами его причастности к патогенезу прерывания беременности. Данные различных авторов показывают, что важная роль, которую этот гормон играет в адаптации материнского организма к родам, заключается в реализации его биологических эффектов за счет преобразования органов-мишеней, прежде всего шейки матки путем регуляции процессов деградации компонентов экстрацеллюлярного матрикса через активацию протеолитических ферментов, к которым относятся матриксные металлопротеиназы (ММП). При этом необходимо учитывать, что созревание и ремоделирование шейки матки прежде всего результат сложного комплекса как эндокринных, так и иммунных взаимодействий, и одним из механизмов этого процесса является ее инфильтрация клетками лейкоцитарного ряда накануне родов и именно тканевые гранулоциты представляют источник растущего синтеза провоспалительных цитокинов, рядом с релаксином является важным регулятором продукции матриксных металлопротеиназ.

Таким образом несомненный интерес вызывают вопросы изучения взаимосвязи регуляторных возможностей релаксину с системной продукцией цитокинов и особенностями протеолитической активности нейтрофилов на разных этапах созревания шейки матки.

Цель исследования - установить новые прогностические критерии созревания шейки матки путем изучения взаимосвязи релаксину, цитокинов и их роли в системных механизмах регуляции активности протеолитических ферментов.

Материал и методы исследования. Обследовано 69 беременных при сроке беременности 38-40 недель. Обследованы женщины были разделены на 3 клинические группы при поступлении в стационар в зависимости от степени зрелости шейки матки. Степень зрелости шейки матки оценивалась по шкале EH Bishop. Группу I составили 23 пациентки с зрелой шейкой матки (9-13 баллов), группу II - 21 беременная с недостаточно зрелой шейкой матки (6-8 баллов), группу III - 25 беременных с незрелой шейкой матки (0-5 баллов). Контрольную группу составили 15 первобеременных при сроке беременности 35-36 недель до начала физиологических процессов ремоделирования тканей шейки матки к родам, у которых не было признаков угрожающих преждевременных родов и сопоставимых с женщинами I, II и III групп по анамнезу и соматическим данными.

Всем беременным проводили стандартизованное клиническое обследование, иммунологические исследования - изучение сывороточной концентрации цитокинов IL-6 и TNF- α , ММП-1 и ММП-9 и уровню релаксину определяли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов. Статистическую обработку полученных результатов проводили на персональном компьютере с использованием программы «STATISTICA-6». Достоверность различий рассчитывали по t-критерию Стьюдента. Между полученными показателями определяли коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Различия считали достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты исследования. Средний возраст обследованных беременных составил 25,7 (18-33) лет. Все пациентки обследованных групп были сопоставимы и между собой по возрасту, особенностям половой и менструальной функции ($p \leq 0,05$).

Что касается концентрации релаксина в сыворотке крови обследованных беременных, как показали проведенные исследования, низкий уровень встречался в группе женщин с незрелой или недостаточно зрелой шейкой матки и составил $189,7 \pm 34,6$ пг/мл, и $208,9 \pm 27,6$ пг/мл, что позволяет расценивать содержание сывороточного релаксина как возможный предиктор биологической готовности организма к родам, очевидно содержание релаксина может служить прогностическим маркером эффективности индукции и преиндукции родов.

Приведенные данные показывают, что в группе женщин с «зрелой» шейкой матки уровень матриксных металлопротеиназ ММП-9 и ММП-1 был максимальным и в среднем в 1,8 раза превышал аналогичный показатель в группе с незрелой шейкой матки, таким образом в процессе созревания шейки матки происходит достоверное увеличение концентрации матриксных металлопротеиназ периферийными нейтрофилами с постепенным повышением их протеолитической активности.

Приведенные данные показывают, что в группе женщин

body by targeting the cervix among other organs. Relaxin acts on the cervix by degrading extracellular matrix components through activation of proteolytic enzymes, known as matrix metalloproteinases (MMPs). Remodeling of the cervix is a combination of endocrine and immune interactions. One of the hallmarks of cervix remodeling is infiltration of leukocytes prior to labour. These tissue granulocytes become the source of proinflammatory cytokines that upregulate MMPs. Relaxin controls the local inflammatory response by modulating matrix metalloproteinases.

Thus, understanding the regulatory role of Relaxin in systemic production of cytokines and its effect on neutrophils at different stages of cervical maturation is of great interest.

Aim: characterise the interplay between Relaxin, cytokines and their joint role in regulation of proteolytic enzymes to establish new criteria for prognosis of cervical maturation.

Materials and methods. 69 pregnant women of gestational age 38-40 weeks were examined. The examined women were divided into 3 clinical groups, depending on the degree of cervix maturity at the time of hospitalisation. The degree of cervix maturity was assessed by the EH Bishop scale. Group I consisted of 23 patients with a mature cervix (9-13 points), group II included 21 pregnant women with an immature cervix (6-8 points), group III contained 25 pregnant women with a completely immature cervix (0-5 points). The control group consisted of 15 women of gestational age 35-36 weeks, who were pregnant for the first time. Women of the control group were examined prior to the start of physiological processes of remodeling of cervical tissues before labour and displayed no signs of premature labour. Control group was compared to women from the I, II and III groups by disease history and somatic data.

All pregnant women underwent standardized clinical examination and immunological testing. Serum concentration of cytokines IL-6 and TNF- α , MMP-1 and MMP-9, and Relaxin levels were determined by enzyme-linked immunosorbent assay using commercial kits. Statistical analysis of the results was performed using the program "STATISTICA-6". Statistical significance was calculated by Student's t-test. Spearman's rank correlation coefficient was determined between the obtained parameters. The differences were considered accurate with a significance level of $p < 0.05$.

Results. The average age of the examined pregnant women was 25 years 7 months (18-33). All patients of the examined groups could be compared to each other by their age, genital features and menstrual function ($p \leq 0.05$).

The study has shown that the lowest serum concentration of Relaxin was found in women with immature or completely immature cervix, which accounted to 189.7 ± 34.6 pg / ml and $208,9 \pm 27.6$ pg / ml, respectively. This suggests that serum concentration of Relaxin could serve as a possible predictor of biological readiness of the body for labour. Furthermore, serum Relaxin concentration can serve as a prognostic marker of the effectiveness of induction and preinduction of labour.

The data presented shows that women with mature cervix display maximum levels of matrix metalloproteinases MMP-9 and MMP-1. Specifically, the concentration was 1.8 times higher than in the group of women with immature cervix. Thus, maturation of the cervix uterus involves a significant increase in the concentration of matrix metalloproteinases by peripheral neutrophils with a gradual increase in their proteolytic activity.

Our study showed that high serum concentrations of the proinflammatory cytokines in pregnant women with a mature cervix before labour were higher compared to women with an immature or completely immature cervix. The interplay between proinflammatory cytokines and other modulators presented here during the preparation of the body for labour was evident from the observed correlation. We observed a strong correlation between the level of Relaxin and matrix metalloproteinases ($r = 0,78$), as well as positive correlation between their content and the cytokines of interest.

Conclusion. The study allowed to identify the most prognostically significant molecular predictors that characterize the body's preparation for labour, which include the "birth hormone" Relaxin. Furthermore, our analysis implicates immune mechanisms in regulating cervical maturation before labour.

Key words: Biological Preparation for Labour; Mature Cervix; Relaxin; Cytokines.

с «зрелой» шейкой матки уровень матриксных металлопротеиназ ММП-9 и ММП-1 был максимальным и в среднем в 1,8 раза превышал аналогичный показатель в группе с незрелой шейкой матки, таким образом в процессе созревания шейки матки происходит достоверное увеличение концентрации матриксных металлопротеиназ периферийными нейтрофилами с постепенным повышением их протеолитической активности. Наши исследования касались показали высокие концентрации изученных провоспалительных цитокинов в сыворотке крови беременных с зрелой шейкой матки накануне родов по сравнению с женщинами с незрелой или недостаточно зрелой шейкой матки. Взаимосвязь пропорций изученных биорегуляторов процессов подготовки организма к родам подчеркивалась результатами проведенного корреляционного анализа. Выявлена тесная прямая корреляционная связь между уровнем релаксину и матриксных металлопротеиназ ($r = 0,78$), а также тенденцию к положительной корреляции между их содержанием и изученными цитокинами.

Выводы. Таким образом результаты исследования позволяют выявить наиболее прогностически значимые молекулярные предикторы, характеризующие процессы подготовки организма к родам, к которым можно отнести «гормон родов» релаксин, а также иммунные механизмы регуляции созревания шейки матки перед родами.

Ключевые слова: биологическая готовность к родам; зрелая шейка матки; релаксин; интерлейкины.

Контактна інформація:

Щербина Микола Олександрович - д.мед.н., професор, завідувач кафедри акушерства та гінекології № 1 Харківського національного медичного університету МОЗ України (м. Харків, Україна).

Контактна адреса: 61022, Україна, Харків, пр-т Науки, 4.

Контактний телефон: +38 (067) 5773031.

E-mail: hnm_u_akusherstvo1@ukr.net

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-3605-7204>

Resercher ID: <http://www.researcherid.com/rid/K-8872-2017>

Ідентифікатор Scopus: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701819770>

Шелест Наталія Валеріївна – аспірант кафедри акушерства та гінекології № 1 Харківського національного медичного університету МОЗ України (м. Харків, Україна).

Контактна адреса: 61022, Україна, Харків, пр-т Науки, 4.

Контактний телефон: +38 (067) 5773031.

E-mail: hnm_u_akusherstvo1@ukr.net

Контактная информация:

Щербина Николай Александрович - д.мед.н., профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии № 1 Харьковского национального медицинского университета МОЗ Украины (г. Харьков, Украина).

Контактный адрес: 61022, Украина, Харьков, пр-т Науки, 4.

Контактный телефон: +38 (067) 5773031.

E-mail: hnm_u_akusherstvo1@ukr.net

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-3605-7204>

Resercher ID: <http://www.researcherid.com/rid/K-8872-2017>

Идентификатор Scopus: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701819770>

Шелест Наталия Валерьевна – аспирант кафедры акушерства и гинекологии № 1 Харьковского национального медицинского университета МОЗ Украины (г. Харьков, Украина).

Контактный адрес: 61022, Украина, Харьков, пр-т Науки, 4.

Контактный телефон: +38 (067) 5773031.

E-mail: hnm_u_akusherstvo1@ukr.net

Contact Information:

Mykola Shcherbyna – MD, Professor, Head of the Department of obstetrics and gynecology №1 Kharkiv National Medical University (Kharkiv, Ukraine).

Contact Address: Pr-t Nauki, 4, Kharkiv, 61022, Ukraine.

Phone: +38 (067) 5773031

E-mail: hnm_u_akusherstvo1@ukr.net

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-3605-7204>

Resercher ID: <http://www.researcherid.com/rid/K-8872-2017>

Scopus ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701819770>

Nataliia Shelest – Phd student, Department of obstetrics and gynecology №1 Kharkiv National Medical University (Kharkiv, Ukraine).

Contact Address: Pr-t Nauki, 4, Kharkiv, 61022, Ukraine.

Phone: +38 (067) 5773031

E-mail: hnm_u_akusherstvo1@ukr.net