

ОБЩИЕ ПРОБЛЕМЫ, ОБЗОРЫ

УДК 577.171.5 :591.16: 599

DOI: 0.25687/1996-6733.prodanimbiol.2021.1.5-25

РОЛЬ МЕЛАТОНИНА В ПРОЦЕССАХ РАЗМНОЖЕНИЯ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ.

ЧАСТЬ 2. ПОСТИМПЛАНТАЦИОННЫЙ ПЕРИОД (обзор)

Унжаков А.Р.

Институт биологии КарНЦ РАН, Петрозаводск, Российская Федерация

В данной части обзора (часть 1 см. № 3, С. 5-26) систематизированы данные о физиологической роли мелатонина (МТ) который является одним из важнейших факторов в регуляции процессов воспроизводства у животных. Основные разделы части 2 обзора – роль МТ в процессе имплантации эмбриона, влияние МТ на беременность, коррекция с использованием МТ при осложнении во время беременности, МТ и роды, эффекты МТ в период лактации. Мелатонин, проявляющий свойства антиоксиданта, иммуномодулятора и регулятора клеточной активности, может выполнять важную функцию в процессах имплантации бластоцисты и формирования плаценты у животных и человека. Как эффективный антиоксидант во время беременности МТ защищает ткани плода и плаценты от окислительных повреждений. Эпифизарный МТ матери выполняет функцию ритмоводителя в становлении суточных ритмов у плода. Благодаря наличию паракринных, аутокринных и интракринных механизмов, плацентарный МТ обеспечивает нормальное развитие плода и стабильность плацентарной функции, что определяет подготовку к родам и рождению здорового потомства. МТ является важным фактором в системе регуляции инициации родов. Показано, что МТ и его рецептор играют важную регулируемую роль в развитии молочных желез и лактации у животных. Учитывая данные о положительных эффектах на процессы размножения, применение МТ следует рассматривать как перспективный препарат для поддержки нормального развития плода, для биомедицинских технологии и для коррекции ряда репродуктивных патологий у продуктивных животных.

Ключевые слова: процессы воспроизводства, млекопитающие, мелатонин, имплантация, беременность, роды, лактация

Проблемы биологии продуктивных животных, 2021, 1: 5-25

Введение

Процесс размножения у животных – это сложно регулируемый процесс, в который вовлечены многие функциональные системы организма. Немаловажную роль в регуляции данного явления играет гормон пинеальной железы – мелатонин (МТ). Установлено, что МТ отвечает за синхронизацию работы органов размножения, регуляцию сезонных и суточных ритмов их физиологической активности, в том числе процессов зачатия, беременности и деторождения, которые зависят от ритма и уровня секреции данного гормона. Все чаще МТ, проявляющий свойства антиоксиданта, иммуномодулятора и регулятора клеточной активности, рассматривают в качестве важнейшего фактора в области физиологии репродукции и эмбриологии животных.

В данной работе рассмотрены некоторые механизмы влияния МТ на процессы имплантации эмбриона, беременности, родов и лактации.

Роль мелатонина в процессе имплантации эмбриона

Имплантация – это ключевой и сложный процесс внедрения и закрепления эмбриона в эндометрии матки, который завершает ряд сложных этапов, происходящих в организме самки: овуляцию, оплодотворение, проход по маточным трубам и попадание в полость матки (Wang, Dey, 2006; Zhang et al., 2017; Carlomagno et al., 2018). У мышей имплантация начинается примерно через 5 суток после оплодотворения. Эмбрион человека проходит имплантацию на 6–8-е сутки развития. Эмбрионы, которые не смогли прикрепиться к стенке матки, останавливаются в развитии и вскоре

погибают (Izmailova et al., 2020). Нарушения, возникающие до-, во время или сразу после имплантации, являются причиной раннего прерывания беременности у животных. Данные о влиянии МТ на процесс имплантации немногочисленны. Есть сведения о том, что МТ может участвовать в подготовке эндометрия, способствуя становлению необходимого гормонального статуса, определять сезонность возрастания и угасания рецептивной способности эндометрия, что особенно ярко выражено на примере сезонно размножающихся животных (Zhang et al., 2017; Carlomagno et al., 2018).

Процесс имплантации характеризуется сложным взаимодействием между эмбрионом и маткой (Wang, Dey, 2006; Zhang et al., 2017). Подобно другим физиологическим процессам, имплантация регулируется многочисленными факторами, включая гормоны, цитокины, хемокины, специфические белки и т.д. (Cha et al., 2012). Для успешности имплантации эмбриона, достигшего в развитии стадии бластоцисты, матка должна находиться в рецептивном состоянии (Wang, Dey, 2006; Zhang et al., 2017). Женские половые гормоны эстроген (E2) и прогестерон (P4) играют важную роль в подготовке эндометрия к имплантации и позволяют «материнским часам» синхронизироваться с часами эмбриона (Paria et al., 2002; Ma et al., 2003). Фактически, после овуляции выработка прогестерона в яичниках способствует дифференцировке клеток эндометрия, благоприятствуя состоянию восприимчивости к имплантату. Женские половые гормоны являются основными регуляторами имплантации, как у самок животных, так и у женщин, определяя рецептивный статус эндометрия матки и способствуя имплантации эмбрионов. У мышей E2 и P4 выполняют свои функции через соответствующие рецепторы эстрогена (ER α) или рецепторы прогестерона (PR-A), и самки, у которых отсутствуют рецепторы ER α и/или PR-A, нефертильны (Conneely et al., 2001). Известно, что такой цитокин, как лейкемия-ингибирующий фактор – ЛИФ (leukemia inhibitory factor, LIF), а также белок p53 являются ключевыми посредниками для успешного внедрения эмбрионов (Hu et al., 2007). Фактор LIF, который содержится в эмбриональных стволовых клетках, действует как мишень для эстрогена и участвует в децидуализации материнского эндометрия для имплантации бластоцисты (Stewart et al., 1992). В свою очередь, белок p53, действующий как транскрипционный фактор клеточного цикла, регулирует как базальную, так и индуцибельную транскрипцию ЛИФ, то есть опосредованно влияет на процесс имплантации эмбриона (Levine et al., 2011).

Имплантацию разделяют на три чётко регулируемых этапа: аппозицию (предимплантационная стадия), адгезию и проникновение. Эти три фазы происходят в течение так называемого «окна имплантации» – периода, когда эндометрий становится восприимчивым к успешному внедрению эмбриона (Zhou et al., 2014; Carlomagno et al., 2018). Исследования *in vivo* на мышах (Psychoyos, 1986) выявили вероятное «окно» восприимчивости эмбриона продолжительностью около 4-х суток, которое происходит примерно через 7-11 дней после пика уровня лютеинизирующего гормона (ЛГ). Во время аппозиции клетки трофобласта плотно прилегают к эпителиальной стенке эндометрия, способствуя правильной ориентации эмбриональных полюсов, что является критическим фактором для развития плаценты. На молекулярном уровне описана стадия до имплантации с идентификацией различных молекул адгезии, таких как интегрины $\alpha V\beta 1$ и молекула внутриклеточной адгезии (ICAM-1). После фазы аппозиции трофобласт и люминальный эпителий образуют прочную связь (адгезию). Эмбриональная адгезия модулируется сигналами микроокружения, которые вызывают активацию адгезионных белков (Carlomagno et al., 2018). Как только происходит адгезия, бластоциста вставляется в эпителиальную ткань и включается в строму, соединяется с материнской сосудистой системой. Во время этой фазы клетки бластоцисты активируют металлопротеиназы, обеспечивающие протеолитическое переваривание внеклеточного матрикса стромы матери, что способствует проникновению и имплантации.

У всех млекопитающих прогестерон необходим для имплантации эмбриона и поддержания беременности, а 17 β -эстрадиол оказывает различное влияние в зависимости от вида и физиологических условий (Wang, Dey, 2006). Оба эти гормона регулируются МТ через ось ГГГ (гипоталамус-гипофиз-гонады). В исследовании Ванга с соавторами показано, что уровень прогестерона в крови не изменился при лечении мелатонином; однако МТ значительно повышал уровень 17 β -эстрадиола. Эти наблюдения не согласуются с результатами, полученными на крысах

(Dair et al., 2008), и это может быть обусловлено межвидовыми различиями. Высокий уровень 17β -эстрадиола способствует процессу имплантации эмбриона, однако при его чрезмерно высоком уровне продолжительность «окна» восприимчивости матки может сократиться (Ma et al., 2003). Показано, что МТ в концентрации от 10^{-5} до 10^{-4} М увеличивает количество сайтов имплантации эмбрионов у беременных самок мышей (Zhang et al., 2017). Во временном окне восприимчивости матки экзогенный МТ повышал уровень сывороточного 17β -эстрадиола. Авторы пришли к выводу, что увеличение размера помёта, вероятно, было достигнуто за счёт стимулирования участков имплантации эмбрионов мыши, индуцированных обработкой экзогенным МТ (Zhang et al., 2017).

В последние годы исследования по идентификации механизмов имплантации позволили лучше понять этот процесс, что необходимо для совершенствования вспомогательной репродуктивной технологии (ВРТ). Несмотря на эти достижения, пока результативность метода ЭКО остается низкой – около 10-15% эмбрионов имплантируются в ходе этой репродуктивной технологии (Carlomagno et al., 2018). Не вызывает сомнения, что именно гиперпродукция АФК, является одним из основных факторов, ответственным за повреждение эмбриона, которое происходит через индукцию апоптоза. Введение МТ в концентрации 10-100 нМ в клетки яичников и бластоцисты вызывает снижение АФК за счёт прямого действия МТ и биосинтеза антиоксидантных ферментов – каталазы и СОД. Кроме того, регуляция апоптоза и усиленная экспрессия белков адгезии с помощью МТ увеличивают скорость имплантации бластоцисты (Carlomagno et al., 2018).

Бразильские исследователи под руководством Даир (Dair et al., 2008) доказали, что эпифизарный МТ необходим для успешной имплантации эмбриона. В эксперименте 40 самок крыс были разделены на 4 группы: I – контроль, II – ложная операция, III – пинеалэктомия и IV – пинеалэктомизированные крысы, получавшие МТ в течение 3 месяцев. В конце опыта животных декапитировали во время эстральной фазы и ткани матки использовали для морфометрического анализа. Выяснилось, что частота имплантации в III группе была самой низкой, в IV группе частота имплантации вначале значительно увеличена, а затем вернулась к норме. Эти данные свидетельствуют о том, что у крыс МТ улучшает процент имплантации эмбрионов (Dair et al., 2008). Следует отметить, что у пинеалэктомизированных крыс механизм такого воздействия может быть двойственным – за счет непосредственного действия МТ на рецепторы или же опосредованно через стероидные гормоны яичника и жёлтого тела. Подавляя секреторную функцию клеток, продуцирующих стероидные гормоны, МТ опосредованно увеличивает концентрацию фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и пролактина. Кроме того, действуя через свои рецепторы, МТ регулирует суточную активность гипоталамо-гипофизарной оси, что в свою очередь синхронизирует развитие фолликула и эндометрия. Отклонение сроков овуляции возможно вследствие недостатка или полного отсутствия МТ в крови, что показано на пинеалэктомизированных крысах. Подтверждением этому служит нормализация ритмики при введении эндогенного МТ. Безусловно, в данных процессах МТ оказывает воздействие на пролиферацию и дифференцировку гранулёзных клеток и клеток эндометрия матки, а также на изменения концентрации эстрадиола, ФСГ, ПРГ в крови (Dair et al., 2008).

Успешность имплантации эмбриона зависит от экспрессии эпидермальных рецепторов факторов роста ErbB (ErbB1, ErbB2, ErbB3, ErbB4) в трофэктодерме бластоцисты, а также от их взаимодействия с лигандами, присутствующими на рецептивных клетках эндометрия (Jeong et al., 2015). Гены *erbB1* и *erbB4* начинают экспрессироваться в бластоцистах до имплантации. У мышей, получавших МТ, продемонстрировано повышение экспрессии генов *erbB1*, *p53* и *mt2* (He et al., 2015). Экспрессия факторов роста ErbB начинается с гепарин-связывающего эпидермального фактора роста (HB-EGF) – раннего молекулярного маркера, синтезируемого в матке и прикрепляющегося к бластоцистам через ErbB1/4. Предварительная обработка МТ мышей, подвергнутых ЭКО и переносу эмбриона (IVFET), показала увеличение экспрессии HB-EGF в эндометрии (Wang et al., 2014; Moghani-Ghoroghi et al., 2018), что повышает вероятность успешной имплантации (He et al., 2015). Таким образом, введение МТ, снижая окислительный стресс, способствует активации этого фактора и успешному внедрению эмбриона (Wang et al., 2013).

Пинеалэктомия и/или постоянное освещение уменьшают количество имплантатов у самок крыс, что указывает на вероятную функцию МТ в поддержании жизнеспособности и имплантации

бластоцисты. Показано, что как пинеалэктомия, так и содержание беременных самок крыс в течение двух месяцев при постоянном освещении вызывают снижение, в сравнении с контрольной группой, количества бластоцист, которые имплантировались в матку животных (Teixeira et al., 2004). Таким образом, МТ может выполнять важную функцию в процессах имплантации бластоцисты и формирования плаценты у этих животных.

У пинеалектомизированных крыс наблюдали низкое содержание уровня МТ, что приводило также к снижению Р4 и его рецепторов, но вызывало повышение количества Е2 (Soares et al., 2003). В матке небеременных пинеалектомизированных крыс МТ повышал уровень рецептора прогестерона (PR), но снижал экспрессию рецептора Е2 – ER (Abd-Allah et al., 2003). В другом исследовании, выполненном на крысах, МТ значительно снижал уровень LH и 17 β -эстрадиола в плазме крови и подавлял экспрессию ER β и PR β , но усиливал экспрессию рецептора МТ1 (Chuffa et al., 2011).

Показано, что МТ участвует в становлении баланса Т-хелперов 1-го и 2-го типа, что крайне необходимо для правильного исполнения первой стадии имплантации, которая схожа с воспалительной реакцией (Molchanov et al., 2014). Для того чтобы плод не был отторгнут в результате развития воспалительной стадии второго типа, необходимо преобладание Т-хелперов первого типа над Т-хелперами второго типа, что является нормальной ситуацией для организма. Нарушения же происходят в том случае, если происходит избыточный выброс простагландинов (что характерно для первых дней цикла) или наблюдается хроническая воспалительная реакция. Мелатонин способствует установлению баланса выработки простагландинов (предотвращая спонтанное сокращение миометрия матки) и влияет на работу лимфоцитов.

Одновременно МТ участвует в поддержании рецептивности эндометрия и жизнеспособности эмбриона за счёт выраженных антиоксидантных свойств, предотвращая агрессивное воздействие активных радикалов на клетки и ткани, ингибируя работу нитрооксид- и супероксид-синтаз (Ayre et al., 1994). Мелатонин в комплексе с другими антиоксидантами подавляет развитие некротических процессов на стадии разрушения эндотелия сосудов матки.

Апоптотическая гибель клеток – ещё один важный фактор, который ставит под угрозу развитие культуры эмбрионов *in vitro* (Wang et al., 2013). Несколько факторов, включая p53, BAX, bcl-2, фактор некроза опухоли-альфа и каспаза-3, вовлечены в механизм клеточного апоптоза. Показало, что внесение в культуру МТ (10^{-7} М) значительно снижает апоптоз у эмбрионов мышей, культивируемых *in vitro* (Wang et al., 2013) за счёт способности МТ подавлять экспрессию проапоптотических генов p53, BAX и каспазы-3, одновременно повышая экспрессию антиапоптотического гена bcl-2. Похоже, что антиоксидантная и антиапоптотическая активность МТ улучшает качество культивируемых эмбрионов и, следовательно, увеличивает эффективность имплантации эмбриона, количество потомства и постнатальную выживаемость детёнышей.

Эффекты мелатонина в системе мать – плацента – плод

На всём протяжении беременности матка обеспечивает снабжение плода кислородом, питательными веществами, ростовыми факторами. Эти функции матки полностью зависят от гормонов, продуцируемых жёлтыми телами яичников, а позднее – и плаценты, а также гипофизарных гормонов матери. Во время беременности питание и стимуляция роста трофобласта обеспечиваются секрецией железами эндометрия комплекса веществ, включающего разнообразные ферменты, факторы роста, цитокины, гормоны, транспортные белки и т.д. Мелатонин играет важную роль во время беременности; будучи эффективным антиоксидантом, он защищает ткани плода и плаценты от окислительных повреждений (Lanoix et al., 2012; Sales et al., 2019). Известно, что дополнительным источником МТ во время беременности являются трофобласты ворсинок плаценты: кроме того, в этом органе были обнаружены трансмембранные рецепторы МТ1 и МТ2 и два фермента, которые превращают предшественник – серотонин в МТ, а именно – арилалкиламино-N-ацетилтрансфераза (AANAT) и ацетилсеротонинметилтрансфераза (ASMT) (Lanoix et al., 2008; Verbets et al., 2020). Учитывая, что ворсинчатые трофобласты, по-видимому, обладают способностью генерировать МТ и их рецепторы, было высказано предположение, что этот МТ локального синтеза может оказывать паракринное, аутокринное и/или внутрикринное действие на плаценту (Lanoix et al., 2008). Мелатонин непосредственно или через рецепторы МТ1 и МТ2

способен улавливать свободные радикалы и уменьшать окислительное повреждение тканей плаценты; это немаловажно с учётом того, что большое количество радикалов нередко вырабатываются в этой ткани, особенно, когда её функция нарушается (Pringle et al., 2010).

Показано, что МТ снижает окислительный стресс и гиперкоагуляцию (Lee et al., 2019). Было предположено, что МТ при введении матери может снизить оксидативный стресс плаценты и гиперкоагуляцию, связанную с воздействием внутриутробного воспаления, и, следовательно, улучшить фето-плацентарный кровоток и общее состояние плода. Подопытных мышей распределили в следующие рандомизированные группы: контроль (С), мелатонин (М), липополисахарид – ЛПС (L) и ЛПС с мелатонином (ML). Экспрессия антиоксидантных медиаторов в плаценте была снижена, тогда как экспрессия провоспалительных медиаторов была значительно увеличена в группах L по сравнению с группами С и ML. Систолическое/диастолическое соотношение, индекс сопротивления и индекс пульсации в маточной артерии и пупочной артерии были значительно увеличены в группе L по сравнению с другими группами при анализе с помощью ультразвуковой доплерографии (Lee et al., 2019). Экспрессия антиоксидантных медиаторов в плаценте значительно снижалась, тогда как экспрессия провоспалительных медиаторов заметно увеличилась в группе L по сравнению с группами С и ML. Наблюдалось повреждение эндотелия сосудов и образование тромбов (об этом свидетельствовало отложение фибрина) в группе L. Введение матери МТ, по-видимому, благодаря его антиоксидантным свойствам, способствовало снижению нарушений перфузии плаценты у матери, сердечно-сосудистой недостаточности плода и нейровоспаления плода, вызванное внутриутробным воспалением.

Кроме того, установлено, что МТ, как антиоксидант и противовоспалительный агент, ингибирует вызванное липополисахаридами (ЛПС, эндотоксины) высвобождение АФК и воспалительных цитокинов и хемокинов (Choi et al., 2011; Lee et al., 2019). Недавние исследования показали, что МТ благодаря своим антиоксидантным и противовоспалительным свойствам защищает самок мышей, которых в модельном опыте подвергали воздействию ЛПС, от гибели плода, задержки внутриутробного роста плода и преэклампсии (Marseglia et al., 2016). При преэклампсии терапия МТ была оценена как безопасная и эффективная адъювантная терапия, улучшающая функции эндотелия и сохраняющая беременность (Hobson et al., 2018). Предварительная обработка МТ мышей, подвергавшихся воздействию ЛПС, приводила к снижению уровня провоспалительных цитокинов в матке и плаценте (Lee et al., 2019b). Предполагается, что МТ, вводимый матери, может уменьшить окислительный стресс, патологические сосудистые изменения плаценты и осложнения у плода, вызванные АФК.

Большое количество исследований *in vitro* и *in vivo* подтвердили, что МТ снижает не только окислительный стресс (Galano, Reiter, 2018) но и, как результат, снижает апоптоз и улучшает метаболический статус и выживаемость клеток (Tan et al., 2016). Существует обширный ряд свидетельств, в которых на клеточном уровне МТ упоминается как мощный поглотитель продуктов окисления кислорода и азота, негативно действующих на функции митохондрий. Сообщалось также, что МТ защищает митохондрии от повреждений, особенно предотвращая окисление кардиолипина – незаменимого фосфолипида, участвующего в ряде биоэнергетических процессах и в процессах апоптоза (Paradies et al., 2010). МТ также способствует митохондриальному биогенезу за счет активации сиртуинов (Mayo et al., 2017) – класса белков, связанных со старением, апоптозом, воспалением и контролем циркадных ритмов.

Окислительный стресс вызывает ряд процессов – сужение сосудов, гиперкоагуляцию и патологическое ремоделирование сосудов, которые вовлечены в патофизиологию акушерских осложнений, включая выкидыш, преэклампсию и задержку развития плода (Duhig et al., 2016; Lee et al., 2019). Кроме того, оксидативный стресс является неизбежным компонентом воспаления, поскольку активируются провоспалительные цитокины – медиаторы окислительного стресса, которые затем дополнительно индуцируют цитокины, образуя порочный круг (Burd et al., 2012; Duhig et al., 2016). Провоспалительный цитокиновый ответ, индуцированный внутриутробным воспалением во время беременности, как полагают, является основной причиной преждевременных родов и повреждений головного мозга плода (Burd et al., 2012). Повреждение головного мозга может привести к ряду неблагоприятных нейроповеденческих нарушений, таких как церебральный паралич, задержка когнитивных функций и др. (Madsen-Bouterse et al., 2010; Eloundou et al., 2019),

а преждевременные роды являются причиной до одной трети перинатальных смертей (Duhig et al., 2016).

Во время беременности МТ продолжает вырабатываться в пинеальной железе, но и плацента начинает действовать как один из важных экстрапинеальных источников МТ (Kivela, 1991; Carlomagno et al., 2018; Lee et al., 2019). Мелатонин легко проникает через гематоэнцефалический барьер и плаценту, он считается необходимым для нормальной плацентарной функции, а также важен для роста плода и развития мозга (Jimenez-Jorge et al., 2007; Voiculescu et al., 2014). Примечательно отметить, что дополнительный приём МТ относительно безопасен и для матери, и для плода (Carrillo-Vico et al., 2005; Wilkinson et al., 2016; Carlomagno et al., 2018).

Благодаря небольшому размеру и липофильным свойствам, молекулы МТ переносятся через плацентарный барьер из крови матери к плоду (Yellon, Longo, 1988). Это означает, что кровообращение эмбриона отражает циркадный ритм МТ, подобный таковому у матери. Известно о наличии рецепторов МТ в ЦНС эмбриона, поэтому предполагается, что МТ участвует в регуляции циркадного ритма плода. В процессе ингибирования МТ у матери активируются ген МТ1 и гены циркадного ритма у плода, что даёт основание предполагать, что МТ матери обладает способностью коррекции функции эмбриональных генов циркадного ритма (Torres-Farfan et al., 2006). Установлено, что для поддержания беременности организм матери нуждается в МТ, и при его недостатке возникают патологические процессы, связанные с нарушением состояния плаценты и развития плода.

Кроме того, окислительный стресс во время беременности вызывает гипоксию плода и замедление роста эмбрионов у сельскохозяйственных животных (Sales et al., 2019). Пероральное введение МТ овцам, начиная с 50-го дня суягности, смягчает последствия гипоксии плода. Проводилось исследование влияния добавки МТ (капсулы 18, 36 мг и контроль) суягным овцам на поступление кислорода и массу плода (Sales et al., 2019). Образцы крови собирали из пупочной вены плода и измеряли парциальное давление кислорода (PO₂) и насыщение гемоглобина кислородом (SatHb). Обнаружено увеличение массы при рождении при дозах 36 и 18 мг МТ по сравнению с контрольной группой. Масса плода положительно коррелировала с содержанием PO₂, SatHb и концентрацией O₂. Эти данные показывают, что имплантаты МТ улучшают снабжение плода кислородом, что способствует выживаемости при рождении. Кроме того, МТ может увеличивать массу плода, улучшая адаптацию плаценты к гипоксии и увеличивая оксигенацию крови плода (Sales et al., 2019).

Проводили исследование влияния обработки МТ на репродуктивные показатели у овец сардинской породы на различных сроках суягности (Staric et al., 2019). Для исследования были выбраны две фермы, расположенные в Северной Сардинии. На двух фермах были сформированы 4 группы лактирующих овец в разные календарные сроки: I – с 20 октября по 20 ноября, II – с 1 по 30 декабря, III – с 1 по 30 января; IV – с 1 по 28 февраля. Все группы была разделены на две подгруппы по 15 голов каждая (МТ и контроль); 1 апреля животным подгруппы МТ вводили имплантат, содержащий 18 мг МТ. Даты ягнения и количество новорожденных ягнят регистрировали до 220 дней после оплодотворения бараном. У обработанных МТ животных были зарегистрированы более высокие показатели фертильности в сравнении с контролем. Наилучшие репродуктивные показатели были обнаружены в I и II группах. Авторы статьи сделали вывод, что для получения оптимальных репродуктивных показателей обработку МТ следует проводить через 3 или 4 месяца после ягнения (Staric et al., 2019).

Известно, что уровень МТ в сыворотке крови у женщин повышен во время беременности, (Nakamura et al., 2001; Tamura et al., 2008), при этом при беременности двойней ночные уровни мелатонина выше, чем при одноплодной беременности (Nakamura et al., 2001). Исследования показали, что назначение МТ бесплодным женщинам снижает окислительное повреждение в фолликулах и повышает уровни оплодотворения и беременности (Tamura et al., 2012). Установлено, что в процессе беременности циркадные колебания уровня МТ увеличиваются, особенно после 24-ой недели, и содержание гормона в сыворотке крови достигает максимальных значений перед родами (Kivela, 1991; Nakamura et al., 2001). При нормально протекающей беременности содержание МТ в I, II и III триместрах составляло 29,7; 39,1 и 76 пМ соответственно (Kivela, 1991; Nakamura et al., 2001). Кроме того, уже на 7-ой неделе беременности у женщин выявляется

экспрессия участвующих в синтезе МТ ферментов NAT и HIOMT, достигающая максимума в III триместре (Soliman et al., 2015).

С наступлением беременности МТ и его циркадный ритм секреции во многом определяют её успешное течение и рождение здорового потомства. Прежде всего, МТ и его метаболиты функционируют как тушители образующихся при беременности свободных радикалов (Galano et al., 2013). Стимулируя антиоксидантные ферменты, МТ обеспечивает устойчивую защиту от АФК в системе мать–плацента–плод (Rodriguez et al., 2004; Lanoix et al., 2013). Обладая способностью подавлять экспрессию гена индуцибельной NO-синтазы и циклооксигеназы, МТ ограничивает продукцию провоспалительных молекул (простаноидов, лейкотриенов, цитокинов и др.), осуществляя тем самым противовоспалительную защиту (Carrillo-Vico et al., 2005; Mauriz et al., 2013).

Благодаря наличию паракринных, аутокринных и интракринных механизмов, плацентарный МТ обеспечивает морфологическое развитие и стабильность плацентарной функции, что определяет оптимальную адаптацию к беременности и подготовку к родам (Iwasaki et al., 2005). Кроме того, в плаценте, особенно в ворсинчатом трофобласте, содержатся мембранные рецепторы к мелатонину – МТ1 и МТ2, благодаря которым осуществляется циклическое влияние МТ, циркулирующего в крови матери (Verbets et al., 2020). В плаценте первичные ворсинчатые трофобласты подразделяются на два типа клеток – моноклеарные ворсинчатые цитотрофобласты (vCTB) и многоядерный синцитиотрофобласт (STB) (Reiter, 2014). Показано, что клетки цитотрофобласта и синцитиотрофобласта не только содержат мембранные рецепторы МТ1 и МТ2, но в них самих синтезируется МТ, оказывающий паракринное, аутокринное и интракринное влияние в плаценте, а также мощный антиоксидантный эффект (Iwasaki et al., 2005; Lanoix et al., 2008). Регулируя процессы апоптоза, МТ сохраняет баланс клеток цитотрофобласта и синцитиотрофобласта, поддерживая тем самым гомеостаз плаценты.

Эпифизарный МТ матери выполняет функцию ритмоводителя в становлении суточных ритмов у плода. Информация о продолжительности дня передаётся за счёт транспорта МТ от матери к плоду, при этом происходит синхронизация ритмов интенсивности дыхания (Reppert, 1985; McMillen et al., 1990) и синтеза гормонов, в том числе пролактина (Parraguez et al., 1996). Японские исследователи изучали передачу МТ от матери к плоду у беременных (Okatani et al., 1998). Концентрацию МТ измеряли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сыворотке крови, взятой из кубитальной (область локтевой ямки) вены матери, а также из пупочной артерии и пупочной вены во время родов. Образцы крови были взяты у 12 женщин, у которых ночью наблюдались спонтанные естественные роды. Кроме того, каждой из 33-х пациенток, перенесших операцию – кесарево сечение, вводили однократно перорально МТ, а образцы крови брали через 1, 2, 3 или 4 часа после введения МТ в процессе родов. Кесарево сечение было выполнено между 13:00 и 15:00 ч. Средние значения концентрации МТ в периферической венозной крови матери, а также в пупочной артериальной и пупочной венозной крови существенно не различались, и между тремя источниками крови наблюдалась положительная корреляция уровней МТ в сыворотке крови. Пероральное введение 3 мг МТ беременным женщинам привело к заметному увеличению уровня МТ в сыворотке крови, при этом максимальные значения наблюдались через 2 часа (22 ± 2 нг/мл) после приёма МТ (Okatani et al., 1998). Изменения уровня МТ в сыворотке крови в пупочной вене и артерии напоминали изменения в материнской вене. Уровни концентрации МТ в сыворотке крови, взятой из кубитальной вены матери и из пупочной вены не различались. Уровень МТ в сыворотке крови пупочной вены после введения МТ коррелировал с уровнем в вене матери. Эти результаты позволяют предположить что у женщин МТ переносится из материнского кровообращения в кровотоки плода достаточно быстро (Okatani et al., 1998). Уровень МТ продолжает оставаться высоким у самки крысы в течение определённого периода после родов, новорожденные же крысята сохраняют ритм синтеза МТ, заданный им материнским организмом в ходе внутриутробного развития, лишь некоторое время, после чего ритмы десинхронизируются (Jimenez-Jorge et al., 2007).

Как мощный антиоксидант, МТ предотвращает неконтролируемую деструкцию и модификацию генетического материала плода, закладывая тем самым потенциал для развития здорового организма (Nakamura et al., 2001). Учитывая, что синтез и секреция МТ в организме

матери приурочены к ночным часам, поддержание правильного режима сна и бодрствования является необходимым фактором, обеспечивающим здоровье плода.

Один из важнейших показателей фертильности является масса тела при рождении. Отмечено, что обработка МТ беременных крыс не повлияла на массу тела при рождении, выживаемость или массу тела при отъёме (Zhang et al., 2017). Но на фоне диеты с низким содержанием питательных веществ средняя масса помёта увеличивалась у крыс, подвергшихся воздействию МТ (Richter et al., 2009). Показано, что МТ влияет на диастолические показатели кровеносных сосудов, повышая эффективность питания плаценты (Richter et al., 2009). Обработка МТ способствовала экспрессии в плаценте антиоксидантных ферментов, в том числе Мп-СОД и пероксидазы (Richter et al., 2009). В другом исследовании на мышах, получавших МТ путём в/м инъекции, наблюдалась повышенная экспрессия генов ErbB1, PRA, p53 и MT2 (He et al., 2015). В целом, можно сделать вывод, что прием МТ, по крайней мере, не оказывает негативного воздействия на потомство.

Недавно проведены исследования по изучению влияния МТ на накопление бурой жировой ткани у плодов во время беременности (Seron-Ferre et al., 2015; Flinn et al., 2020). В процессе рождения (показано на примере ягненка) происходит существенное изменение температуры окружающей среды новорожденного и происходит 15-кратное компенсирующее увеличение эндогенного термогенеза, особенно в холодных условиях, когда потеря тепла усугубляется ветром, высокой влажностью и испарением. При рождении липиды околопочечной и перикардальной бурой жировой ткани являются основным источником энергии ягненка, обеспечивая более 50% общего термогенеза организма новорожденного животного. Известно, что при рождении под влиянием норадреналина (НА) происходит активация бурой жировой ткани. В свою очередь НА высвобождается в ответ на воздействие холода. Установлено, что МТ напрямую подавляет реакцию бурой жировой ткани на НА в матке матери, способствуя накоплению бурой жировой ткани у плода за счёт предотвращения преждевременного липолиза (Torres-Farfan et al., 2008).

Показано, что подавление выработки МТ при содержании овец в условиях режима постоянного освещения (по сравнению с контрольной группой овцематок, содержащимися при режиме 12 часов света: 12 часов темноты) на протяжении всей беременности приводит к снижению запасов бурой жировой ткани у новорожденных примерно на 50% (Seron-Ferre et al., 2015). Кроме того, в бурой жировой ткани у ягнят, рожденных от овцематок, которых содержали при режиме постоянного освещения, выявили более высокую скорость липолиза и отсутствие характерной реакции на НА. Следует отметить, что у ягнят, вынашиваемых овцематками, которых содержали при постоянном освещении, но получавших ежесуточную добавку МТ (12 мг в 17:00 ч), не наблюдали задержки в накоплении бурой жировой ткани во время воздействия холода *in vivo* или анализа тканей *ex vivo*. Кроме того, у ягнят, рожденных от овец, получавших МТ, массу тела была на 11-15% выше, чем у новорожденных ягнят от необработанных овец (Seron-Ferre et al., 2015). Накопление бурой жировой ткани у плодов, по-видимому, зависит от регуляции МТ ключевых адипогенных и термогенных генов, так как неонатальная функция бурой жировой ткани нарушается из-за отсутствия МТ во время беременности и восстанавливается или даже усиливается при повторном введении МТ (Seron-Ferre et al., 2015).

Связь между МТ и накоплением бурой жировой тканью была также продемонстрирована при имплантации овцам на 100-е сутки беременности имплантата МТ фирмы Regulon® в дозе 18 мг; увеличение запасов бурой жировой ткани у плода на 140-е сутки беременности составило 18% и 35% для одиночных плодов и близнецов соответственно (Sales et al., 2017). Это сопровождалось аналогичным увеличением массы плодов (Sales et al., 2017; Flinn et al., 2020). Таким образом, на модели овец показано, что МТ во время беременности через норадреналин способствует накоплению бурой жировой ткани и повышает терморегулирующую способность у новорожденных животных, что имеет решающее значение для выживания в холодных условиях содержания.

Мелатонин и патологии при беременности

В течение беременности нередко наблюдаются различного рода осложнения. Показано, что вероятность их появления увеличивается при нарушенной секреции МТ.

Плодная гипоксия – комплекс изменений в организме плода из-за недостаточного снабжения кислородом, т.е. при кислородном голодании. В тканях, подвергнувшихся гипоксии, формируются разнообразные формы свободных радикалов (активные формы кислорода, азота и др.), которые могут привести к патологиям, включая повреждения нейральной, сердечной и других тканей (Tamura et al., 2008). Показана связь между повышенным уровнем свободных радикалов и перинатальной гипоксией. Для определения перинатальной асфиксии (удушьё, обусловленное кислородным голоданием и избытком углекислоты в крови и тканях) используют показатель маточного артериального кислотнo-щелочного статуса или уровень продукции перекисного окисления липидов. Был проведен сравнительный анализ животных контрольной группы и группы, получавшей МТ (Miller et al., 2005). Показано, что МТ снижает уровень пероксида в матке и пупочной вене при возникновении асфиксии уже в концентрации 1 мг/кг (Miller et al., 2005). В концентрации 10 мг/кг МТ снижает уровень окислительного повреждения липидов, ДНК и митохондрий в мозге у плода до нормального уровня (Watanabe et al., 2004), увеличивает экспрессию антиапоптотических генов группы Bcl2, защищая липиды от пероксидного окисления и последующего апоптоза клеток (Baydas et al., 2007).

Преэклампсия (ПЭ) – одно из самых серьёзных осложнений беременности у женщин (Hannan et al., 2018), является основной причиной материнской и перинатальной смертности (Hobson et al., 2018). Преэклампсия характеризуется гипертензией, вызываемой беременностью и наличием протеинурии, возникающей, как правило, во второй половине беременности. В среднем в мире этим заболеванием страдают 5-7% беременных матерей. Потенциальные последствия этого заболевания для потомства – малый вес, недоразвитость или даже смерть плода. У матери это заболевание проявляет себя почечной недостаточностью, HELLP - синдромом (гемолиз, повышение активности печёночных энзимов, тромбоцитопения), печёночной недостаточностью, церебральным отёком и в редких случаях приводит к летальному исходу (Hannan et al., 2018). Несмотря на всё ещё неполное понимание патофизиологии ПЭ, общепризнано, что во время беременности наблюдаются плацентарные изменения, связанные с дисбалансом между выработкой АФК и системой антиоксидантной защиты, что характеризует оксидативный стресс плаценты, приводящий к повышению уровня провоспалительных цитокинов (Tenoria et al., 2019). Помимо прогрессирующего повреждения эндотелия сосудов, при ПЭ возникает генерализованный воспалительный процесс, что приводит к общей дисфункции плаценты. В литературе нет единого мнения о лучших стратегиях профилактики и лечения заболевания, особенно в отношении контроля окислительного стресса и воспаления (Tenoria et al., 2019). Учитывая, что оксидативный стресс плаценты может быть пусковым механизмом в патогенезе ПЭ, проверяются различные методы лечения с использованием антиоксидантов и витаминов. Поскольку МТ, который является прямым поглотителем свободных радикалов и непрямым антиоксидантом, было проведено исследование *in vitro* (Hannan et al., 2018) с целью уточнить, какие звенья являются мишенью действия МТ: 1) гены элементов антиоксидантного ответа [гемоксигеназа 1, (HO-1), глутамат - цистеинлигаза (GCLC), NAD (P) H: акцептор хинона оксидоредуктаза 1 (NQO1), тиоредоксин (TXN)]; 2) сдвиги в секреции антиангиогенных факторов растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 (sFLT) или растворимого эндоглина (sENG) из первичных трофобластов человека, эксплантатов плаценты и эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVECs) и 3) восстановление индуцированной TNF- α эндотелиальной дисфункции. Выяснилось, что при обработке МТ трофобласта повышается экспрессия антиоксидантного фермента TXN. Экспрессия TXN, GCLC и NQO1 повышалась в ткани плаценты при обработке МТ. В клетках HUVEC, обработанные МТ, наблюдали увеличение как уровня TXN, так и GCLC. Введение МТ не повлияло на экспрессию HO-1 ни в одной из исследованных тканей, МТ снижал секрецию sFLT первичными трофобластами, не влиял на секрецию sFLT или sENG эксплантатами плаценты или HUVEC, МТ не оказал влияния на TNF- α -индуцированную экспрессию VCAM-1 и ET-1 в эндотелиальных клетках. Эти результаты показали, что МТ индуцирует антиоксидантные пути в плаценте и эндотелиальных клетках. Кроме того, он

может оказывать влияние на уровень снижения секреции sFLT трофобластом, но не восстанавливает эндотелиальную дисфункцию (Hannan et al., 2018). Учитывая, что МТ безопасен во время беременности, он может применяться как вспомогательное терапевтическое средство для лечения или предотвращения ПЭ.

Синдром задержки роста плода. Задержка внутриутробного развития является фактором риска заболеваний ЦНС, сердечно-сосудистой систем и болезней обмена веществ. Факторы, приводящие к дефициту массы тела при рождении, нарушают метаболическую стабильность, снижают уровень адаптационных возможностей организма, реализующихся через деятельность эндокринной, иммунной, нервной и сердечно-сосудистой систем. Показано, что при задержке внутриутробного развития введение МТ снижал уровень гипоксии плода, уменьшал окислительный стресс и повреждение головного мозга у новорожденных ягнят (Miller et al., 2012). Установлено, что введение МТ во время тяжелой асфиксии плода, вызванной окклюзией пуповины в конце беременности, МТ предотвращал образование свободных радикалов в мозге плода, уменьшал перекисное окисление липидов и гибель клеток мозга (Miller et al., 2005). Также сообщалось о защитном действии МТ при окислительном повреждении митохондрий в клетках плаценты крыс, вызванном ишемией с последующей реперфузией (Okatani et al., 2001). В модели недостаточности питания у крыс, которая, как известно, способствует окислительному стрессу, обработка МТ улучшает функциональное состояние плаценты (соотношение массы плода/плаценты), повышает массу тела при рождении и индуцирует антиоксидантные ферменты (Richter et al., 2009).

Проведено исследование по изучению экспрессии рецепторов мелатонина 1А и 1В в ткани плаценты человека в случае плацентарной недостаточности, проявляющейся как синдром задержки внутриутробного развития плода (Verbets et al., 2020). Показано, что рецепторы мелатонина 1А и 1В значительно меньше экспрессируются в ткани плаценты в том случае, если беременность осложняется плацентарной недостаточностью, проявляющейся в виде синдрома задержки внутриутробного развития плода (Verbets et al., 2020).

Мелатонин и роды

Процесс родов включают в себя всё более частые и сильные сокращения миометрия, сопровождающиеся сглаживанием шейки матки и изгнанием плода. Хотя эти события, очевидно, происходят в любое время дня или ночи, есть сообщения, в которых отмечается, что начало срочных родов у женщин чаще происходит поздно ночью и рано утром (Lindow et al., 2000). В процессе эволюции у матери и новорожденного были вероятные преимущества в селективном выживании, когда роды у них начинались в ночные часы, поскольку в это время суток вероятность нападения хищников была наиболее низкой (Reiter et al., 2014). Как и у ряда видов, аналогичные суточные колебания при рождении наблюдаются и у человека (Olcese, 2012).

Мелатонин является важным фактором в системе регуляции инициации родов. Во-первых, обнаружены рецепторы к МТ на мембранах клеток миометрия человека, благодаря чему гормон влияет на сократительную активность. Мелатонин в физиологических концентрациях регулирует проницаемость сосудистой стенки и повышает её способность противостоять воздействиям повреждающих факторов, улучшает микроциркуляцию, снижает выработку простагландинов Е (ПГ-Е) и окситоцина. Начиная с 32-й недели, концентрация МТ начинает понижаться, а за сутки до родов достигает предельно низких значений, что, по-видимому, приводит к резкому повышению концентрации ПГ-Е и окситоцина. Простагландин Е увеличивает чувствительность матки к окситоину и, таким образом, стимулирует её сокращение и инициирует роды. У женщин роды чаще всего наступают в период с 01:00 до 7:00. У животных МТ участвует в инициации родов в темное время суток. Роды у крыс происходят в течение светлого времени суток, однако пинеалэктомия нарушает зависимость наступления родов от времени суток, а заместительная терапия МТ восстанавливает вероятность рождения в дневные часы.

Интересно отметить, что МТ в клетках миометрия матки активирует тот же внутриклеточный сигнальный путь, что и окситоцин – пептидный гормон, который обладает способностью селективно повышать тонус и сократительную активность гладкой мускулатуры матки, особенно к концу беременности, в течение родовой деятельности и непосредственно во

время родоразрешения. (Reiter et al., 2014). Окситоцин и мелатонин могут действовать синергетически, поддерживая сильную сократительную активность матки, что способствует инициации родовой деятельности. Это взаимодействие между окситоцином и МТ, уровень которого, как неоднократно отмечено выше, повышается в темноте, что дополнительно объясняет феномен более частых случаев рождений потомства в ночное время суток (Reiter et al., 2014). Тот факт, что МТ действительно сенсibiliзирует матку женщин к окситоцину, подтверждается открытием, что культивируемые клетки миометрия, обработанные окситоцином в концентрации, которая сама по себе не вызывала сокращений, претерпевают сильные сокращения, когда МТ добавляется к среде с низкой концентрацией окситоцина (Sharkey et al., 2010; Reiter et al., 2014).

Кроме того, было показано, что МТ обладает анальгетическим и седативным свойствами (Wilhelmsen et al., 2011). Что лежит в основе обезболивающего действия МТ, пока остаётся предметом изучения. Предполагаются разнообразные механизмы: через NO-аргининовый путь или через ГАМК-рецепторы, μ - и β -эндорфиновые, опиоидные мю-рецепторы ЦНС с последующим снижением уровня тревожности и болевого порога (Golombek et al., 1996; Shavali et al., 2005; Ulugol et al., 2006; Wilhelmsen et al., 2011). Анальгетический эффект МТ, с одной стороны, обособлен и не зависит от других его эффектов, но, с другой стороны, улучшая сон и снижая уровень тревожности, МТ также приводит к снижению выраженности болевого синдрома. Пока рано рассматривать МТ как полноценный анальгетик, тем не менее, обладая хорошим потенциалом в отношении как нейропатической, так и ноцицептивной боли, МТ заслуживает особого внимания и в будущем может стать эффективным дополнением к уже существующим препаратам для снижения уровня тревожности и болевого порога, в том числе при родовых схватках.

Возможные направления применения мелатонина в перинатальной практике

Известно, что перинатальная асфиксия остаётся основной причиной смертности у новорожденных животных и человека (Aridas et al., 2018; Flinn et al., 2020). В результате асфиксии во время родов часто наблюдаются мертворождения и родовые травмы, вероятность которых повышается с увеличением продолжительности родов, и эта патология в 16 раз выше для ягнят-близнецов по сравнению с одиночками (Flinn et al., 2020). В первую очередь асфиксия проявляется как гипоксически-ишемическая энцефалопатия (синдром НIE) – двухфазное состояние, характеризующееся нарушением церебральной оксигенации. Во время начальной фазы (ишемия) снижение церебрального кровотока приводит к снижению клеточной доступности кислорода, уровней глюкозы и АТФ, вызывая усиление анаэробного гликолиза и последующее перепроизводство лактата, отказ работы ионной помпы. Деполяризация нейронов, возникающая в результате отказа работы Na^+/K^+ -АТФ-азы, вызывает высвобождение глутамата и дополнительный внутриклеточный приток ионов Na^+ и Ca^{2+} , перегрузка которыми вызывает повреждение митохондрий, нарушение синтеза белка, фрагментацию ДНК, отёк мозга и, в конечном итоге, приводит к некротическому эффекту. или апоптотической гибели клеток (Ikeda et al., 2000; Flinn et al., 2020). Повреждение клеток во время острой ишемии происходит в основном в мозге из-за высокой скорости потребления кислорода, и тяжесть повреждения пропорциональна продолжительности ишемии. При длительной ишемии клеточное повреждение часто распространяется на миокард, почечные канальцы, ткани печени (Ikeda et al., 2000; Flinn et al., 2020).

Учитывая, что МТ является мощным антиоксидантом, обладает противовоспалительным и антиапоптотическим действием, предлагается его использовать для защиты мозга в перинатальный период. Австралийские исследователи изучали влияние введения МТ (внутривенно или через трансдермальный пластырь) на состояние ЦНС на модели перинатальной асфиксии у ягненка (Aridas et al., 2018). У новорожденных ягнят асфиксию вызывали окклюзией пуповины при рождении. Животным вводили внутривенно (через катетер в бедренную вену) по 5 мг МТ (3,5 мл) через 30 минут после рождения, а затем через каждые 2 часа в течение суток после родов; общая доза МТ составила 60 мг. Магнитно-резонансная спектроскопия головного мозга проводилась через 12 и 72 часа. Животных декапитировали через 72 часа и собирали спинномозговую жидкость и образцы ткани мозга для анализа. Асфиксия приводила к тяжёлому ацидозу (рН 6,9, лактат – 9 ± 2 мМ) и проявлению энцефалопатии. Соотношение лактат/N-ацетил аспарат было в 2,5 раза выше у

ягнят, страдающих асфиксией, по сравнению с контролем через 12 часов и в 3 раза выше через 72 часа. Введение МТ предотвратило это повышение (снижение в 3,5 раза по сравнению с асфиксией). Асфиксия значительно увеличивает апоптотическую гибель клеток белого и серого вещества мозга (активированная каспаза-3), перекисное окисление липидов (4HNE) и нейровоспаление (IBA-1). Эти изменения были значительно уменьшены введением МТ внутривенно или через трансдермальный пластырь, при этом у новорожденных значительно снижалась степень энцефалопатии, связанной с перинатальной асфиксией (Aridas et al., 2018). Таким образом, использование МТ, вводимого вскоре после рождения, может улучшить исход у новорожденных, страдающих асфиксией.

Увеличение уровня АФК в организме часто являются причиной ряда перинатальных заболеваний. Воздействие воспалений, инфекций или высоких концентраций кислорода часто встречается у недоношенных детей, у которых наблюдаемый высокий уровень свободного железа усиливает образование токсичных радикалов и снижает антиоксидантную защиту (D'Angelo et al., 2020). Учитывая особую уязвимость новорожденных к оксидативному стрессу, рекомендуется профилактическое использование МТ для предотвращения или уменьшения заболеваний, опосредованных АФК. В ряде исследований показана эффективность МТ в снижении «кислородно-радикальных заболеваний новорожденных», включая перинатальное повреждение головного мозга, сепсис, бронхо-легочную дисплазию (БЛД) и некротический энтероколит (Burd et al., 2012; Carloni et al., 2017; Tarocco et al., 2019; Al-Mouqdad et al., 2020; D'Angelo et al., 2020). Для проверки терапевтической эффективности МТ в перинатальном периоде и внедрения в практику требуются дальнейшие исследования.

Известно, что недоношенные новорожденные в процессе их лечения в перинатальных центрах испытывают ряд болезненных процедур (Carbajal et al., 2005; Al-Mouqdad et al., 2020). Недоношенные дети очень чувствительны к причиняемой боли из-за незрелости и уязвимости их ЦНС. Многие известные неонатологи для безопасной и эффективной анальгезии рекомендуют непрерывные инфузии морфина (Carbajal et al., 2005; Al-Mouqdad et al., 2020). Морфин снимает длительную боль, уменьшает поведенческие и гормональные стрессовые реакции, вызванные хирургическими вмешательствами у недоношенных детей, улучшает синхронизацию с аппаратом при искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и обеспечивает седативный эффект. Тем не менее, исследователи пришли к выводу, что непрерывные внутривенные вливания морфина не обеспечивают адекватной анальгезии у недоношенных новорожденных, находящихся на ИВЛ, при острой боли, вызванной инвазивными процедурами (Carbajal et al., 2005; Al-Mouqdad et al., 2020). Поэтому необходимы новые исследования для выявления других болеутоляющих подходов, которые были бы эффективными при острой процедурной боли у недоношенных детей. Следует отметить, что морфин до сих пор остаётся наиболее часто используемым анальгетиком в неонатальной интенсивной терапии (Al-Mouqdad et al., 2020).

Показано, что МТ играет роль естественного анальгетика во время процедурной боли у недоношенных детей, особенно при наличии воспалительных процессов. (Gitto et al., 2012). Согласно шкале PIPP (premature infant pain profile – многомерная шкала, применяемая для количественной оценки острой боли у недоношенных новорожденных), боль в группе из 30 недоношенных детей, получавших обычную седацию + МТ во время интубации и ИВЛ, была значительно ниже, чем у тех младенцев, которые проходили только обычную терапию. В последнее время проводятся работы, в которых изучается использование МТ для недоношенных детей, поражённых некротическим энтероколитом, для лечения окислительного повреждения мозга, вызванного гемолитической гипербилирубинемией, бронхолегочной дисплазией (БЛД) и перивентрикулярной лейкомаляцией (Tarocco et al., 2019). Примечательно, что при применении МТ недоношенным детям, родившимся до 31 недели гестационного возраста, не выявлено каких-либо существенных побочных эффектов (Tarocco et al., 2019).

Эффекты применения мелатонина в период лактации

Развитие молочных желез в период беременности у млекопитающих – сложный и строго контролируемый процесс (Xiang et al., 2012; Tian et al., 2020). Выявлен ряд положительных факторов регуляции развития молочных желез и несколько отрицательных регуляторных факторов (Feng et

al., 2007). Установлено, что МТ может замедлять развитие молочных желез (Mediavilla et al., 1992). Однако в этом исследовании не показано, опосредовано ли ингибирующее действие МТ на молочную железу через рецепторы мелатонина МТ1/МТ2 или какие-то другие механизмы. Чтобы определить, влияет ли МТ через свой рецептор, связанный с белком МТ1G, на развитие молочной железы мыши, была создана трансгенная мышь с вирусом опухоли молочной железы (MMTV) с повышенной экспрессией (OE) трансгена МТ (МТ1-mOE). Повышенная экспрессия трансгена наблюдалась в молочных железах половозрелых самок мышей во время беременности и лактации (Xiang et al., 2012). Целые образцы молочных желез мышей с МТ1-mOE показали значительное снижение роста протоков, ветвления протоков и образования терминальных концевых зачатков. Повышенная экспрессия рецептора МТ1 у беременных и кормящих самок мышей МТ1-mOE была связана со снижением лобуло-альвеолярного развития, ингибированием пролиферации эпителиальных клеток молочной железы и значительным уменьшением массы тела детенышей-сосунков. Повышенная экспрессия рецептора МТ1 у беременных и кормящих мышей МТ1-mOE коррелировала со сниженной экспрессией в молочных железах Akt1, фосфор-Stat5, Wnt4, рецептора эстрогена альфа, рецепторов прогестерона А и В, а также белков молока (β -казеина). Стимулируемое эстрогеном и прогестероном развитие молочной железы подавлялось повышенной экспрессией рецептора МТ1 и введением экзогенного МТ (Xiang et al., 2012). Эти исследования показали, что рецептор мелатонина МТ1 и его лиганд МТ играют важную регулируемую роль в развитии молочных желез и лактации у мышей посредством как подавления роста, так и изменения паттернов развития.

Финские учёные изучали соотношение суточных колебаний концентрации МТ в молоке и сыворотке крови коров в зависимости от периода лактации, времени года и молочной продуктивности (Eriksson et al., 1998). У 4-х коров айрширской породы в начале периода лактации наблюдали умеренный ночной подъём уровня МТ в молоке (от 7 пг/мл днём до 27 пг/мл ночью). В то же время у 6 коров в поздней фазе лактации наблюдалось ночное повышение содержания МТ как в сыворотке крови (от 9 пг/мл днём до 26 пг/мл ночью), так и в молоке (12 пг/мл и 26 пг/мл, соответственно). Более детально изучали фармакокинетику МТ в период лактации у коров и молочных коз при внутривенном введении МТ в дозе 270 мкг/кг и 30 мкг/кг. Процесс выведения МТ из организма рассматривали как функцию от трёх показателей, которые для коров и коз составляли: период полувыведения – 27 мин, среднее время пребывания в организме – 24 и 18 мин, объём распределения 1,0 и 0,6 л/кг, клиренс плазмы – 0,044 и 0,035 л/кг/мин, соответственно. В результате инъекции, концентрация МТ в молоке быстро возрастала и через 15-30 мин превышала соответствующий показатель в сыворотке. Повышенный уровень МТ в молоке по сравнению с сывороткой крови сохранялся на протяжении всего периода наблюдения (4 часа). Полученные данные показали наличие суточных ритмов уровня МТ в молоке и сыворотке крови у коров, которые зависели от времени года. Сделан вывод о том, что фармакокинетика МТ у жвачных дозозависима и связана с молочной продуктивностью (Eriksson et al., 1998).

Испанские исследователи (Abecia et al., 2005) провели сравнительное изучение влияния обработки МТ в период лактации на молочную продуктивность овцематок двух пород – лакуна (Lacaune) и ассаф (Assaf). Было проведено два эксперимента. В первом эксперименте использовались овцы породы лакуна с периодом ягнения с 12 сентября по 1 ноября, а во втором – 124 овцы породы ассаф с периодом ягнения с 14 ноября по 11 января. 11 марта подкожный имплант мелатонина вводили подопытным животным. Во втором эксперименте первая запись молока была проведена при отёме (5 января), а 15 февраля овцематки были разделены на две группы – МТ и К (контроль). В обоих экспериментах обработка МТ значительно увеличивала количество полученных ягнят, и не было обнаружено никакого отрицательного воздействия на выработку молока (Abecia et al., 2005). В первом эксперименте не было выявлено значительных различий по плодовитости и размерам помёта в опытной и контрольной группах, но группы существенно различались по количеству ягнят на 100 овец (плодовитость). Животные, получавшие МТ, произвели на 10% больше ягнят, чем контрольные овцы. Во втором эксперименте влияние обработки МТ на количество ягнят, произведенных на одну обработанную овцу, было статистически значимым (Abecia et al., 2005). В заключение авторы отмечают, что за счёт

увеличения количества выращиваемых ягнят использование экзогенного МТ может обеспечить хозяйствам экономическую прибыль.

Установлено, что под воздействием МТ в период лактации у коз белой кашмирской породы происходит стимуляция развития волосяных фолликулов, улучшается качество шерсти. В то же время в этот период кормления у контрольных животных рост волос практически не наблюдается (Yang et al., 2019). Кроме того, в этом исследовании было прослежено влияние МТ не только на качество шерсти, но и на молочную продуктивность коз, а также на развитие волосяных фолликулов у их потомства. С этой целью кормящие козы были разделены на две группы – получавшие добавку МТ и контрольную. Имплантаты МТ были внедрены подкожно за ухом в дозе 2 мг/кг массы тела дважды – 30 апреля и 30 июня. Результаты показали, что добавка МТ лактирующим козам привела к увеличению объёма шерсти и улучшению её качества за счёт большей длины и большей плотности кашемирового волокна (Yang et al., 2019). Содержание жира в молоке было выше в группе МТ по сравнению с контролем. Концентрации МТ в сыворотке крови и молоке была выше в группе МТ по сравнению с контролем. При этом у потомства не было выявлено различий в показателях продуктивности – длине, диаметре и плотности волокна, диаметре волокна, а также в сроках созревания первичных и вторичных волосяных фолликулов. Таким образом, обработка МТ кашмирских коз в период лактации, когда прекращается рост волосяного покрова, является практичным и эффективным способом повышения продуктивности, о чём свидетельствует не только увеличение выхода кашемира и улучшение качества кашемирового волокна у взрослых коз, но и отсутствие ухудшения состояния волос, развития волосяных фолликулов и последующего производства шерсти у их потомства (Yang et al., 2019).

В период лактации серьёзной проблемой в молочном скотоводстве является мастит у коров. Правильное и оперативное назначение лекарственных средств позволяет вернуть животных к нормальной продуктивности и снизить финансовые потери. Заболевание проявляется в повышении количестве соматических клеток (SCC – somatic cell count) и снижении качества молока. Мастит у коров на практике чаще всего лечится антибиотиками, однако длительное использование антибиотиков приводит к росту лекарственной резистентности у животных, а остатки лекарств в молоке наносят ущерб здоровью человека (Martinez, 2009; Fejzic et al., 2014). Китайские исследователи (Yao et al., 2020) предложили оригинальный способ борьбы с этим заболеванием – кормление с использованием МТ в обход рубца (RBMF – rumen bypass melatonin feeding). В препарате МТ для обхода рубца (производство компании Beijing Oriental Tianhe biotechnology LTD) использовалась специальная липидная оболочка для защиты от переваривания в рубце. Коэффициент обхода рубца мелатонином по методике RBMF составлял 83-85%. При использовании этого способа значительно снижался показатель КСК в молоке, и повышалась питательная ценность молока за счёт увеличения содержания белка, жира и сухого вещества, при этом у коров также подавлялись стрессовые и провоспалительные реакции, на что указывало снижение уровня сывороточного кортизола, TNF- α и IL-6 и повышение уровня IL-10. Важно отметить, что положительные эффекты метода RBMF продолжались в течение нескольких суток после прекращения лечения. Влияние МТ на мастит, вероятно, связано с антиоксидантной и противовоспалительной активностью этого гормона. Учитывая отсутствие токсичности МТ для организма и неинвазивный характер этого подхода, авторы рекомендуют широкое использование методики RBMF в молочном скотоводстве для борьбы с маститом коров (Yao et al., 2020).

Перспективы применения мелатонина в биомедицинских технологиях

Мелатонин играет важную роль в контроле репродуктивной функции, в частности, по оси гипоталамус-гипофиз-гонады, и когда уровень МТ снижается с возрастом, происходят значительные изменения в функции гонад, в процессе беременности и метаболизме липидов (Tamura et al., 2014; Chuffa et al., 2019). Учитывая низкую токсичность МТ, рекомендуется расширять клинические испытания с точки зрения защиты репродуктивных тканей от патофизиологических процессов (Reiter et al., 2009; Chuffa et al., 2019). Мелатонин успешно используется как сильнодействующее средство для улучшения овуляции, усиления лютеиновой функции и имплантации эмбриона (Reiter et al., 2009; Tamura et al., 2014). Вероятно, благодаря

антиоксидантному действию, МТ снижает окисление и апоптоз, позволяя получать полноценные ооциты для овуляции (Tamura et al., 2014; Song et al., 2016; Ferreira et al., 2016). Мелатонин также полезен для улучшения низких показателей оплодотворения и беременности при использовании технологии ЭКО (Tamura et al., 2020). Введение МТ беременным мышам приводит к положительному эффекту, включая увеличение размеров и массы помёта за счёт увеличения сайтов имплантации эмбрионов на ранних сроках беременности. Возможный молекулярный механизм заключается в том, что введение МТ увеличивает уровень эстрадиола во время беременности и усиливает экспрессию p53, которая опосредуется активацией рецепторов МТ1/МТ2 в матке мышей. Все эти изменения улучшают микросреду матки и, как следствие, – исход беременности.

Сравнительно давно установлено, что МТ не оказывает каких-либо острых фармакологических эффектов на нервную или сосудистую системы, кроме его мягкого, но активного воздействия при нарушении сна (Barchas et al., 1967). У мышей, получавших чрезвычайно высокие дозы МТ (до 800 мг/кг), не наблюдалось увеличения смертности по сравнению с контрольной группой (Barchas et al., 1967). В рамках клинического испытания, проведенного в Нидерландах, женщины (1400 человек) принимали МТ ежедневно по 75 мг в течение 4-х лет, при этом у них не наблюдалось существенных побочных эффектов от действия препарата (Silman, 1993). Было установлено, что доза, не оказывающая видимого нежелательного эффекта (NOAEL - по observed adverse effect level) у матери для мелатонина составляет 100 мг/кг в сутки. Предельная доза, оказывающая неблагоприятный эффект (LOAEL – lowest observed adverse effect level) на организм беременных женщин не должна превышать 200 мг/кг/сутки (Jahnke et al., 1999).

В настоящее время обостряется проблема так называемого «светового загрязнения», которое неблагоприятно влияет на физиологическое состояние, в том числе на репродуктивный статус животных и человека. В частности, об этом свидетельствуют вышеприведенные результаты о значительном снижении количества сайтов имплантации эмбрионов в матке мышей, которые содержались при длительном постоянном освещении. Эти и другие наблюдения имеют особо важное клиническое значение для беременных женщин репродуктивного возраста, работающих в ночную смену. Если результаты исследования на животных могут быть перенесены на людей, беременным работницам в ночную смену может быть полезна добавка МТ. Однако необходимы дополнительные исследования, как на других видах животных, так и клинические исследования на беременных женщинах-добровольцах.

Заключение

История изучения мелатонина насчитывает свыше 60 лет. Интерес к нему в настоящее время возрастает в связи с тем, что с каждым годом появляются все новые данные о многогранности его влияния на организм животных и человека. Мелатонин – одно из древнейших биохимических веществ, он участвует в регуляции биоритмов у животных и присутствует уже у одноклеточных и растений.

Основой для разработки мероприятий по воспроизводству продуктивных животных и обеспечению оптимальных показателей репродукции является использование в практике результатов фундаментальных исследований, раскрывающих физиологические и биохимические механизмы процессов размножения и способствующих получению здорового потомства.

Мелатонин – липофильный гормон, который синтезируется и секретируется в основном пинеальной (шишковидной) железой, действуя как нейроэндокринный преобразователь фотопериодической информации в ночное время. Систему, адаптирующую организм млекопитающих к изменениям суточного освещения, образуют зрительная система, СХЯ гипоталамуса и эпифиз. Передача сигналов органам и тканям осуществляется мелатонином, рецепторы к которому обнаружены почти во всех органах и тканях. Таким образом, информация о динамике изменений суточной и сезонной фотопериодичности поступает в клетки органов гипоталамо-гипофизарно-гонадальной оси и обеспечивает развитие адаптивных изменений функциональной активности. Мелатонин обладает широким спектром действия. Взаимодействуя с рецепторами на клеточной и ядерной мембране, МТ участвует в регуляции работы клетки и

способен самостоятельно реагировать с мишенью, выполняя антиоксидантную функцию или участвуя в трансдукции сигнала.

Мелатонин участвует в регуляции и координации физиологических процессов на всех уровнях организации – клеточном, органном и на уровне системы органов, в частности, модулируя работу органов репродуктивной системы животных на всех этапах онтогенеза. Мелатонин оказывает множественное влияние на репродуктивные процессы у животных – на половое созревание, гаметогенез, оплодотворение, наступление беременности, имплантацию эмбрионов, роды, лактацию. Снижение концентрации гормона в ночное время и/или нарушение профиля секреции мелатонина в течение суток негативно сказывается на репродуктивной способности – пубертации, имплантации эмбриона, развитии плода и показателях фертильности.

Поддержание достаточного уровня МТ является необходимым условием для обеспечения рождения здорового потомства. Такими условиями могут быть поступление достаточного количества триптофана в головной мозг за счёт сбалансированного поступления с пищей полноценного белка, соблюдение режима сна и бодрствования, отсутствие стрессов и положительный психо-эмоциональный фон, обеспечивающий высокий уровень накопления серотонина – предшественника мелатонина. В конечном счете, основная функция МТ в воспроизводстве заключается в защите организма матери и плода от негативного воздействия окружающей среды за счет мощного антиоксидантного действия и в комплексной регуляции транскрипции генов, обеспечивающих сбалансированное протекание каскада биологических реакций, участвующих в процессе репродукции.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0073).

References

1. Abecia J.A., Forcada F., Valares J.A., Palacin I. et al. Does melatonin treatment during lactation influence milk production in Lacaune and Assaf ewes? *Span. J. Agr. Res.* 2005, 3(4): 396-401. DOI: 10.5424/sjar/2005034-166
2. Abd-Allah A., El-Sayed E., Abdel-Wahab M.H., Hamada F. Effect of melatonin on estrogen and progesterone receptors in relation to uterine contraction in rats. *Pharmacol. Res.* 2003, 47: 349-354.
3. Acunacastroviejo D., Fernandez B., Castillo J.L., Delaguila C.M. Similarity between the effects of suprachiasmatic nuclei lesions and of pinealectomy on gonadotropin-release in ovariectomized, sulpiride-treated and melatonin-replaced rats. *Experientia.* 1993, 49: 797-801.
4. Al-Mouqdad M.M., Khalil T.M., Asfour S.S. Retrospective study of short-term complications associated with early morphine use in intubated premature infants. *Sci Rep.* 2020, 10(1): 10874. DOI: 10.1038/s41598-020-67891-w
5. Aridas J.D.S., Yawno T., Sutherland A.E. et al. Systemic and transdermal melatonin administration prevents neuropathology in response to perinatal asphyxia in newborn lambs. *J. Pineal Res.* 2018, 64 (4): e12479. DOI: 10.1111/jpi.12479
6. Ayre E.A., Pang S.F. 2-[125I] Iodoelatonin bindingsites in the testis and ovaries: putative melatonin receptors in the gonads. *Biol. Signals.* 1994, 3: 71-84. DOI: 10.1159/000109528
7. Barchas J., DaCosta F., Spector S. Acute pharmacology of melatonin. *Nature*, 1967, 214(5091): 919-920.
8. Baydas G., Koz S.T., Tuzcu M., Etem E., Nedzvetsky V.S. Melatonin inhibits oxidative stress and apoptosis in fetal brains of hyperhomocysteinemic rat dams. *J. Pineal Res.* 2007, 43: 225-231.
9. Berbets A.M., Davydenko I.S., Barbe A.M. et al. Melatonin 1A and 1B receptors' expression decreases in the placenta of women with fetal growth restriction. *Reprod. Sci.* 2020. DOI: 10.1007/s43032-020-00285-5
10. Burd I., Balakrishnan B., Kannan S. Models of fetal brain injury, intrauterine inflammation, and preterm birth. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2012, 67(4): 287-294.
11. Carbajal R., Lenclen R., Jugie M., Paupe A. et al. Morphine does not provide adequate analgesia for acute procedural pain among preterm neonates. *Pediatrics.* 2005, 115(6): 1494-500. DOI: 10.1542/peds.2004-1425
12. Carlomagno G., Minini M., Tilotta M., Unfer V. From implantation to birth: insight into molecular melatonin functions. *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19(9): 2802. DOI: 10.3390/ijms19092802
13. Carloni S., Proietti F., Rocchi M., Longini M. et al. Melatonin pharmacokinetics following oral administration in preterm neonates. *Molecules.* 2017, 22: 2115. DOI: 10.3390/molecules22122115
14. Carrillo-Vico A., Guerrero J.M., Lardone P.J., Reiter R.J. A review of the multiple actions of melatonin on the immune system. *Endocrine.* 2005, 27: 189-200. DOI: 10.1385/ENDO:27:2:189

15. Cha J., Sun X., Dey S.K. Mechanisms of implantation: strategies for successful pregnancy. *Nat. Med.* 2012, 18: 1754-1767.
16. Choi E-Y., Jin J-Y., Lee J.Y., Choi J-I. et al. Melatonin inhibits Prevotella intermedia lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide and interleukin-6 in murine macrophages by suppressing NF- κ B and STAT1 activity. *J. Pineal Res.* 2011, 50(2): 197-206.
17. Chuffa L.G., Seiva F.R., Cuciello M.S., Silveira H.S. et al. Mitochondrial functions and melatonin: a tour of the reproductive cancers. *Cell. Mol. Life Sci.* 2019, 76: 837-863. DOI: 10.1007/s00018-018-2963-0
18. Chuffa L.G.A., Seiva F.R.F., Favaro W.J., Teixeira G.R., Amorim J.P.A., Mendes L.O., et al. Melatonin reduces LH, 17 beta-estradiol and induces differential regulation of sex steroid receptors in reproductive tissues during rat ovulation. *Reprod. Biol. Endocrin.* 2011, 9: 108. DOI: 10.1186/1477-7827-9-108
19. Conneely O.M., Mulac-Jericevic B., Lydon J.P., De Mayo F.J. Reproductive functions of the progesterone receptor isoforms: Lessons from knock-out mice. *Mol. Cell Endocrinol.* 2001, 179: 97-103.
20. Dair E.L., Simoes R.S., Simoes M.J., Romeu L.R. et al. Effects of melatonin on the endometrial morphology and embryo implantation in rats. *Fertil. Steril.* 2008, 89: 1299-1305. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2007.03.050
21. D'Angelo G., Chimenz R., Reiter R.J., Gitto E. Use of melatonin in oxidative stress related neonatal diseases. *Antioxidants (Basel)*. 2020, 9(6): 477. DOI: 10.3390/antiox9060477
22. Dardes R.C., Baracat E.C., Simoes M.J. Modulation of estrous cycle and LH, FSH and melatonin levels by pinealectomy and sham-pinealectomy in female rats. *Prog. Neuro-Psychopharm. Biol. Psychiatry*. 2000, 24: 441-453.
23. Eloundou S.N., Lee J.Y., Wu D., Lei J. et al. Placental malperfusion in response to intrauterine inflammation and its connection to fetal sequelae. *PLoS ONE*. 2019, 14(4): e0214951. DOI: 10.1371/journal.pone.0214951
24. Eriksson L., Valtonen M., Laitinen J.T., Paananen M., Kaikkonen M. Diurnal rhythm of melatonin in bovine milk: pharmacokinetics of exogenous melatonin in lactating cows and goats. *Acta Vet. Scand.* 1998, 39(3): 301-310.
25. Fejzic N., Begagic M., Šerić Haračić S., Smajlovic M. Beta lactam antibiotics residues in cow's milk: comparison of efficacy of three screening tests used in Bosnia and Herzegovina. *Bosnian J. Basic Med. Sci.* 2014, 14: 155-159. DOI: 10.17305/bjbms.2014.3.109
26. Ferreira C.S., Carvalho K.C., Maganhin C.C. et al. Does melatonin influence the apoptosis in rat uterus of animals exposed to continuous light? *Apoptosis*. 2016, 21: 155-162. DOI: 10.1007/s10495-015-1195-0
27. Flinn T., Kleemann D.O., Swinbourne A.M. et al. Neonatal lamb mortality: major risk factors and the potential ameliorative role of melatonin. *J. Animal Sci. Biotechnol.* 2020, 11: 107. DOI: 10.1186/s40104-020-00510-w
28. Galano A., Reiter R.J. Melatonin and its metabolites vs oxidative stress: from individual actions to collective protection. *J. Pineal Res.* 2018, 65: e12514. DOI: 10.1111/jpi.12514
29. Gitto E., Aversa S., Salpietro C.D., Barberi I. et al. Pain in neonatal intensive care: role of melatonin as an analgesic antioxidant. *J. Pineal Res.* 2012, 52: 291-295. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2011.00941.x
30. Gupta S., Agarwal A., Banerjee J., Alvarez. J.G. The role of oxidative stress in spontaneous abortion and recurrent pregnancy loss: a systematic review. *Obstet. Gynecol. Surv.* 2007, 62: 335-347.
31. Hannan N.J., Binder N.K., Beard S., Nguyen T.V. et al. Melatonin enhances antioxidant molecules in the placenta, reduces secretion of soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFLT) from primary trophoblast but does not rescue endothelial dysfunction: An evaluation of its potential to treat preeclampsia. *PLoS One*. 2018, 13(4): e0187082. DOI: 10.1371/journal.pone.0187082
32. Hobson S.R., Gurusinghe S., Lim R. et al. Melatonin improves endothelial function in vitro and prolongs pregnancy in women with early-onset preeclampsia. *J. Pineal Res.* 2018, 65(3): e12508. DOI: 10.1111/jpi.12508
33. Hu W., Feng Z., Teresky A.K., Levine A.J. P53 regulates maternal reproduction through LIF. *Nature*. 2007, 450: 721-728.
34. Ikeda T., Murata Y., Quilligan E.J. et al. Histologic and biochemical study of the brain, heart, kidney, and liver in asphyxia caused by occlusion of the umbilical cord in near-term fetal lambs. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2000, 182: 449-457.
35. Iwasaki S., Nakazawa K., Sakai J., Kometani K. et al. Melatonin as a local regulator of human placental function. *J. Pineal Res.* 2005, 39: 261-265. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2005.00244.x
36. Izmailova L.Sh., Vorotelyak E.A., Vasiliev A.V. Modeling of early development of mouse and human embryos in vitro. *Russ. J. Dev. Biol. (Ontogenesis)*. 2020, 51(5): 323-337.
37. Jahnke G., Marr M., Myers C., Wilson R. et al. Maternal and developmental toxicity evaluation of melatonin administered orally to pregnant Sprague-Dawley rats. *Toxicol. Sci.* 1999, 50(2): 271-279.
38. Jeong W., Jung S., Bazer F.W., Song G., Kim J. Epidermal growth factor: Porcine uterine luminal epithelial cell migratory signal during the peri-implantation period of pregnancy. *Mol. Cell Endocrinol.* 2016, 420: 66-74.
39. Jimenez-Jorge S., Guerrero M.M., Jimenez-Caliani, A.J., et al., Evidence for melatonin synthesis in the rat brain during development. *J. Pineal Res.* 2007, 42: 240-246.
40. Kivela A. Serum melatonin during human pregnancy. *Acta Endocrinol. (Copenhagen)*. 1991, 124(3):233-237.

41. Lanoix D., Beghdadi H., Lafond J., Vaillancourt C. Human placental trophoblasts synthesize melatonin and express its receptors. *J. Pineal Res.* 2008, 45: 50-60.
42. Lanoix D., Guérin P., Vaillancourt C. Placental melatonin production and melatonin receptor expression are altered in preeclampsia: new insights into the role of this hormone in pregnancy. *J. Pineal Res.* 2012, 53(4): 417-425.
43. Lanoix D., Lacasse A.A., Reiter R. J., Vaillancourt C. Melatonin: the watchdog of villous trophoblast homeostasis against hypoxia/reoxygenation-induced oxidative stress and apoptosis. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2013, 38(1-2): 35-45.
44. Lee J.Y., Li S., Shin N.E., Na Q., Dong J. et al. Melatonin for prevention of placental malperfusion and fetal compromise associated with intrauterine inflammation-induced oxidative stress in a mouse model. *J. Pineal Res.* 2019, 67: e12591. DOI: 10.1111/jpi.12591
45. Lee J.Y., Song H., Dash O., et al. Administration of melatonin for prevention of preterm birth and fetal brain injury associated with premature birth in a mouse model. *Am. J. Reproduct. Immunol.* 2019, 67: e13151.
46. Levine A.J., Tomasini R., McKeon F.D et al. The p53 family: Guardians of maternal reproduction. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2011, 12: 259-265.
47. Ma W.G., Song H., Das S.K. et al. Estrogen is a critical determinant that specifies the duration of the window of uterine receptivity for implantation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003, 100: 2963-2968.
48. Madsen-Bouterse S.A., Romero R., Tarca A.L. et al. The transcriptome of the fetal inflammatory response syndrome. *Am. J. Reproduct. Immunol.* 2010, 63(1): 73-92.
49. Martinez J.L. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environ. Pollut.* 2009, 157: 2893-2902. DOI: 10.1016/j.envpol.2009.05.051
50. Marseglia L., D'Angelo G., Manti S., Reiter R.J., Gitto E. Potential utility of melatonin in preeclampsia, intrauterine fetal growth retardation, and perinatal asphyxia. *Reproduct Sci.* 2016, 23(8): 970-977. DOI: 10.1177/1933719115612132
51. Mauriz J.L., Collado P.S., Veneraso C., Reiter R.J., Gonzalez-Gallego J. A review of the molecular aspects of melatonin's anti-inflammatory actions: recent insights and new perspectives. *J. Pineal Res.* 2013, 54: 1-14. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2012.01014.x
52. Mayo J.C., Sainz R.M., Gonzalez-Menendez P., Cepas V. et al. Melatonin and sirtuins: a "not-so unexpected" relationship. *J. Pineal Res.* 2017, 62: e12391. DOI: 10.1111/jpi.12391
53. Mediavilla M.D., San Martín M., Alonso-González C. et al. Melatonin inhibits mammary gland development in female mice. *J. Pineal Res.* 1992, 13: 13-19.
54. McMillen I.C., Nowak R., Walker D.W., Young I.R. Maternal pinealectomy alters the daily pattern of fetal breathing in sheep. *Am. J. Physiol.* 1990, 258: R284-R287.
55. Miller S.L., Wallace E.M., Walker D.W. Antioxidant therapies: a potential role in perinatal medicine. *Neuroendocrinology.* 2012, 96(1): 13-23. DOI: 10.1159/000 336378
56. Miller S.L., Yan E.B., Castillo-Melendez M.S. et al. Melatonin provides neuroprotection in the late-gestation fetal sheep brain in response to umbilical cord occlusion. *Dev. Neurosci.* 2005, 27: 200-210.
57. Moghani-Ghoroghi F., Moshkdanian G., Sehat M. et al. Melatonin pretreated blastocysts along with calcitonin administration improved implantation by upregulation of heparin binding-epidermal growth factor expression in murine endometrium. *Cell. J.* 2018, 19: 599-606. DOI:10.22074/cellj.2018.4737
58. Molchanov A.Y., Burlakova O.V., Suprunenko E.S. et al. Melatonin and childbearing: part 2. postimplantation period. *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2014, 69(1): 1-5.
59. Morgan M.A., Silavin S.L., Wentworth R.A., Figueroa J.P., Honnabier B., Fishburne J.I. et al. Different patterns of myometrial activity and 24-h rhythms in myometrial contractility in the gravid baboon during the 2nd-half of pregnancy. *Biol. Reprod.* 1992, 46: 1158-1164.
60. Nakamura N.Y., Tamura H., Kashida S., Takayama H. et al. Changes of serum melatonin level and its relationship to feto-placental unit during pregnancy. *J. Pineal Res.* 2001, 30(1): 29-33.
61. Okatani Y., Wakatsuki A., Shinohara K., Taniguchi K. Melatonin protects against oxidative mitochondrial damage induced in rat placenta by ischemia and reperfusion. *J. Pineal Res.* 2001, 31(2): 173-178.
62. Olcese J. Circadian aspects of mammalian parturition: a review. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2012, 349(1): 62-67. DOI: 10.1016/j.mce.2011.06.041.
63. Paradies G., Petrosillo G., Paradies V., Reiter R.J., Ruggiero F.M. Melatonin, cardiolipin and mitochondrial bioenergetics in health and disease. *J. Pineal. Res.* 2010, 48: 297-310.
64. Parraguez V.H., Valenzuela G.J., Vergara M., Ducsay C.A. et al. Effect of constant light on fetal and maternal prolactin rhythms in sheep. *Endocrinology.* 1996, 137: 2355-2361.
65. Proietti S., Cucina A., Dobrowolny G., D'Anselmi F., Dinicola S., Masiello M.G. et al. Melatonin down-regulates MDM2 gene expression and enhances p53 acetylation in MCF-7 cells. *J. Pineal Res.* 2014, 57: 120-129. DOI: 10.1111/jpi.12150

66. Psychoyos A. Uterine receptivity for nidation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1986, 476: 36-42. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1986.tb20920.x
67. Ramis M.R., Esteban S., Miralles A., Tan D.X., Reiter, R.J. Protective effects of melatonin and mitochondria-targeted antioxidants against oxidative stress: A review. *Curr. Med. Chem.* 2015, 22: 2690-2711. DOI: 10.2174/0929867322666150619104143
68. Reiter R.J., Rosales-Corral S., Tan D.X., Jou M.J. et al. Melatonin as a mitochondria-targeted antioxidant: one of evolution's best ideas. *Cell Mol. Life Sci.* 2017, 74: 3863-3881. DOI: 10.1007/s00018-017-2609-7
69. Reiter R.J., Tan D., Manchester L.C. et al. Melatonin and reproduction revisited. *Biol. Reprod.* 2009, 81: 445-456.
70. Reiter R.J., Tan D.X., Rosales-Corral S.A., Manchester L.C. The universal nature, unequal distribution and antioxidant functions of melatonin. *Mini Rev. Med. Chem.* 2013, 13: 373-384.
71. Reiter R.J., Tan D.X., Korkmaz A., Rosales-Corral S.A. Melatonin and stable circadian rhythms optimize maternal, placental and fetal physiology. *Hum. Reprod. Update.* 2014, 20: 293-307. DOI: org/10.1093/humupd/dmt054
72. Reppert S.M. Maternal entrainment of the developing circadian system. *Ann. NY Acad. Sci.* 1985, 453: 162-169
73. Richter H.G., Hansell J.A., Raut S., Giussani D.A. Melatonin improves placental efficiency and birth weight and increases the placental expression of antioxidant enzymes in undernourished pregnancy. *J. Pineal. Res.* 2009, 46: 357-364.
74. Rodriguez C., Mayo J.C., Sainz R.M., Antolini I. et al. Regulation antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J. Pineal Res.* 2004, 36 (1): 1-9.
75. Santoro R., Marani M., Blandino G., Muti P., Strano S. Melatonin triggers p53(Ser) phosphorylation and prevents DNA damage accumulation. *Oncogene.* 2012, 31: 2931-2942.
76. Santoro R., Mori F., Marani M., Grasso G. et al. Blockage of melatonin receptors impairs p53-mediated prevention of DNA damage accumulation. *Carcinogenesis.* 2013, 34: 1051-1061.
77. Sales F., Parraguez V.H., McCoard S. et al. Fetal brown fat deposition is increased by melatonin implants in sheep. *J. Anim. Sci.* 2017, 95: 152-153.
78. Sales F., Peralta O., Narbona E., McCoard S. et al. Rapid Communication: Maternal melatonin implants improve fetal oxygen supply and body weight at term in sheep pregnancies. *J. Anim. Sci.* 2019, 97(2): 839-845. DOI: 10.1093/jas/sky443
79. Shavali S., Ho B., Govitrapong P. Melatonin exerts its analgesic actions not by binding to opioid receptor subtypes but by increasing the release of beta-endorphin an endogenous opioid. *Brain Res. Bul.* 2005, 64(6): 471-479. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2004.09.008
80. Seron-Ferre M., Reynolds H., Mendez N.A. et al. Impact of maternal melatonin suppression on amount and functionality of brown adipose tissue (BAT) in the newborn sheep. *Front Endocrinol.* 2015, 5: Article 232. 1-11 DOI: 10.3389/fendo.2014.00232
81. Sharkey J.T., Cable C., Olcese J. Melatonin sensitizes human myometrial cells to oxytocin in a PKCa/ERK-dependent manner. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010, 95: 2902-2908.
82. Silman R.E. Melatonin: a contraceptive for the nineties. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 1993, 49(1-2): 3-9.
83. Soares J.M., Simoes M.J., Oshima C., Mora O.A. et al. Pinealectomy changes rat ovarian interstitial cell morphology and decreases progesterone receptor expression. *Gynecol. Endocrinol.* 2003, 17: 115-123.
84. Soliman A., Lacasse A.A., Lanoix D., Sagrillo-Fagundes L. et al. Placental melatonin system is present throughout and regulates villous trophoblast differentiation. *J. Pineal Res.* 2015, 59(1): 38-46. DOI: 10.1111/jpi.12236
85. Song C., Peng W., Yin S. et al. Melatonin improves age-induced fertility decline and attenuates ovarian mitochondrial oxidative stress in mice. *Sci. Rep.* 2016, 6: 35165. DOI: 10.1038/srep35165
86. Staric J., Pulinas L., Stefano, M.V. et al. Reproductive activity in sheep with different lambing period treated with melatonin in April. *JCEA.* 2019, 20(1): 62-75. DOI: 10.5513/JCEA01/20.1.2429
87. Stewart C.L., Kaspar P., Brunet L.J., Bhatt H. et al. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukemia inhibitory factor. *Nature.* 1992, 359: 76-79.
88. Talpur H.S., Chandio I.B., Brohi R.D., Worku T. et al. Research progress on the role of melatonin and its receptors in animal reproduction: A comprehensive review. *Reprod. Dom. Anim.* 2018, 53(4): 831-849. DOI: 10.1111/rda.13188
89. Tamura H., Nakamura Y., Perron M.P., Flares L.J. et al. Melatonin and pregnancy in the human. *Reprod. Toxicol.* 2008, 23: 291-303.
90. Tamura H., Takasaki A., Taketani T. et al. Melatonin and female reproduction. *J. Obstet. Gynecol. Res.* 2014, 40: 1-11.
91. Tamura H., Kawamoto M., Sato S. et al. Long-term melatonin treatment delays ovarian aging. *J. Pineal. Res.* 2017, 62: e12381. DOI: 10.1111/jpi.12381

92. Tamura H., Jozaki M., Tanabe M., Shirafuta Y. et al. Importance of melatonin in assisted reproductive technology and ovarian aging. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21(3): e1135. DOI: 10.3390/ijms21031135
93. Tan D.X., Manchester L.C., Hardeland R., Lopez-Burillo S. et al. Melatonin: a hormone, a tissue factor, an autocoid, a paracoid, and an antioxidant vitamin. *J. Pineal Res.* 2010, 34: 75-78.
94. Tan D.X., Manchester L.C., Qin L., Reiter R.J. Melatonin: a mitochondrial targeting molecule involving mitochondrial protection and dynamics. *Int. J. Mol. Sci.* 2016, 17: e2124. DOI:10.3390/ijms17122124
95. Tarocco A., Caroccia N., Morciano G., Wieckowski M.R. et al. Melatonin as a master regulator of cell death and inflammation: molecular mechanisms and clinical implications for newborn care. *Cell Death Dis.* 2019, 10(4): 317. DOI: 10.1038/s41419-019-1556-7
96. Teixeira A.A., Smit C. Evaluation of the implantation in pinealectomized and/ or submitted to the constant illumination rats. *Int. J. Morphol.* 2004, 3: 189-194.
97. Tenorio F., Simoes Mde J., Teixeira V.W., Teixeira A.A. Effects of melatonin and prolactin in reproduction: review of literature. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 2015, 61(3): 269-274.
98. Tenorio M.B., Ferreira R.C., Moura F.A., Bueno N.B., de Oliveira A.C.M, Goulart M.O.F. Cross-talk between oxidative stress and inflammation in preeclampsia. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019, 4: e8238727. DOI: 10.1155/2019/8238727
99. Tian M., Qi Y., Zhang X. et al. Regulation of the JAK2-STAT5 pathway by signaling molecules in the mammary gland. *Front. Cell. Dev. Biol.* 2020. 8: e604896. DOI: 10.3389/fcell.2020.604896
100. Torres-Farfan C., Rocco V., Monsó C., Valenzuela F.J. et al. Maternal melatonin effects on clock gene expression in a nonhuman primate fetus. *Endocrinology.* 2006, 147: 4618-4626. DOI: 10.1210/en.2006-0628
101. Ulugol A., Dokmeci D., Guray G. et al. Antihyperalgesic, but not antiallodynic, effect of melatonin in nerve-injured neuropathic mice: possible involvements of the L-arginine-NO pathway and opioid system. *Life Sci.* 2006, 78(14): 1592-1597.
102. Voiculescu S.E., Zygouropoulos N., Zahi C.D., Zagrean A.M. Role of melatonin in embryo fetal development. *J. Med. Life.* 2014, 7(4): 488-492.
103. Wang H.B., Dey S.K. Roadmap to embryo implantation: Clues from mouse models. *Nat. Rev. Genet.* 2006, 7: 185-199.
104. Wang F., Tian X., Zhang L., Tan D. et al. Melatonin promotes the in vitro development of pronuclear embryos and increases the efficiency of blastocyst implantation in murine. *J. Pineal Res.* 2013, 55: 267-274.
105. Wang F., Tian X., Zhou Y., Tan D. et al. Melatonin improves the quality of in vitro produced (ivp) bovine embryos: Implications for blastocyst development, cryotolerance, and modifications of relevant gene expression. *PLoS ONE.* 2014, 9: e93641.
106. Watanabe K., Wakatsuki A., Shinohara K., Ikenoue N. et al. Maternally administered melatonin protects against ischemia and reperfusion-induced oxidative mitochondrial damage in premature fetal rat brain. *J. Pineal Res.* 2004, 37: 276-280.
107. Wilhelmsen M., Amirian I., Reiter R.J. Analgetic effects of melatonin: a review of current evidence from experimental and clinical studies. *J. Pineal. Res.* 2011, 51(3): 270-277. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2011.00895.x
108. Wilkinson D., Shepherd E., Wallace E.M. Melatonin for women in pregnancy for neuroprotection of the fetus. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016, 3: CD010527.
109. Xiang S., Mao L., Yuan L. et al. Impaired mouse mammary gland growth and development is mediated by melatonin and its MT1 G protein-coupled receptor via repression of ER α , Akt1, and Stat5. *J. Pineal Res.* 2012, 53: 307-331. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2012.01000.x
110. Yao S., Wu H., Ma H., Fu Y. et al. Effects of rumen bypass melatonin feeding (RBMF) on milk quality and mastitis of Holstein cows. *Peer J.* 2020, 8: e9147. DOI: 10.7717/peerj.9147
111. Yang C., Wu Z.Y., Li Y., Zhang W. Effect of melatonin administration to lactating cashmere goats on milk production of dams and on hair follicle development in their offspring. *Animal.* 2019, 14(6): 1-8. DOI: 10.1017/S1751731119002726
112. Yellon S.M., Longo L.D. Effect of maternal pinealectomy and reverse photoperiod on the circadian melatonin rhythm in the sheep and fetus during the last trimester of pregnancy. *Biol. Reprod.* 1988, 39: 1093-1099. DOI: 10.1095/biolreprod39.5.1093
113. Zhang L., Zhang Z., Wang F. et al. Effects of melatonin administration on embryo implantation and offspring growth in mice under different schedules of photoperiodic exposure. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2017, 15: e78. DOI: 10.1186/s12958-017-0297-7
114. Zhou J., Qu C., Sun Q., Wu L. et al. Sophoricoside fails the embryo implantation by compromising the uterine endometrial receptivity at implantation "window" of pregnant mice. *Chem. Biol. Interact.* 2014, 219, 57-63. DOI:10.1016/j.cbi.2014.05.009

DOI: 0.25687/1996-6733.prodanimbiol.2021.1.5-25

**Role of melatonin in the processes of reproduction in mammals. Part 2.
Post-implantation period: a review**

Unzhakov A.R.

Institute of Biology, KarRC RAS, Petrozavodsk, Russian Federation

ABSTRACT. This part of the review (part 1 see No. 3, pp. 5-26) systematizes data on the physiological role of melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine, MT), which is produced by the pineal gland (corpus pineale, epiphysis cerebri) and is one of the most important factors in the regulation of reproduction processes in animals. The main sections of the review are the role of MT in the process of embryo implantation, the effect of MT on pregnancy, correction with MT in case of complications during pregnancy, MT and parturition, MT effects during lactation, prospects for MT application in perinatal practice and in biomedical technologies. The anti-inflammatory and antioxidant effect of MT is manifested throughout pregnancy, during the periods of development and aging. Melatonin easily crosses the blood-brain barrier and the placenta and is essential for maintaining normal placental function and for fetal growth and brain development. MT supplementation during pregnancy can reduce ischemic-induced oxidative damage to the fetal brain and increase offspring survival in inflammatory conditions. Oxidative stress during pregnancy can cause fetal hypoxia and retardation of embryo growth in farm animals, and oral administration of MT mitigates the effects of oxygen deficiency. Epiphysial MT of the mother performs the function of a pacemaker in the development of circadian rhythms in the fetus. Due to the presence of paracrine, autocrine and intracrine mechanisms, placental MT ensures normal development of the fetus, stability of placental function and the birth of healthy offspring. Considering the data on positive effects on the outcomes of unfavorable pregnancies, the use of MT should be considered as an effective tool to support the development of the fetus, opening up new possibilities for the correction and treatment of a number of reproductive pathologies.

Keywords: mammals, reproductive processes, melatonin, implantation, pregnancy, parturition, lactation

Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology, 2021, 1: 5-25

Поступило в редакцию: 29.11.2020

Получено после доработки: 12.02.2021

Унжаков Алексей Рудольфович. к.б.н., н.с., тел. +7(814)257-31-07; тел. моб. 8(911) 417-75-25;
al.unzhakov@yandex.ru