

УДК 618.36-008.64:612.826.33.015.22:612.017.1
DOI 10.11603/24116-4944.2018.1.7502

© А. М. Бербець

Буковинський державний медичний університет, Чернівці

ПЛАЦЕНТАРНА НЕДОСТАТНІСТЬ, МЕЛАТОНІН, ПРО- ТА ПРОТИЗАПАЛЬНІ ЦИТОКІНИ

Мета дослідження – шляхом дослідження рівнів мелатоніну, прозапальних та протизапальних цитокінів у вагітних із плацентарною недостатністю встановити можливий взаємозв'язок між плацентарною недостатністю та роботою імунної системи.

Матеріали та методи. Обстежено 46 вагітних із плацентарною недостатністю, реалізованою у вигляді затримки внутрішньоутробного росту плода в III триместрі. Контрольну групу склали 20 жінок із неускладненою вагітністю. Вивчали рівні мелатоніну та прозапальних цитокінів, зокрема TNF- α , IL-1- β та IL-6, а також протизапальних цитокінів IL-4 та IL-10 в плазмі крові вагітних. Для вивчення концентрації мелатоніну в крові використовували набір Melatonin ELISA виробництва IBL, Німеччина. Рівні цитокінів визначали в крові за допомогою реактивів виробництва фірми «Вектор-Бест», Україна.

Результати дослідження та їх обговорення. Встановлено, що концентрація мелатоніну вірогідно знижується, якщо вагітність ускладнена затримкою внутрішньоутробного росту плода (дослідна група – $(126,87 \pm 14,87)$ pg/ml, контрольна група – $(231,25 \pm 21,56)$ pg/ml, $p < 0,001$). Рівні прозапальних цитокінів у дослідній групі були вірогідно вищими порівняно з контролем (TNF- α : дослідна група – $(10,05 \pm 1,35)$ pg/ml, контрольна група – $(5,60 \pm 1,50)$ pg/ml, $p < 0,05$; IL-1- β : дослідна група – $(14,67 \pm 2,13)$ pg/ml, контрольна група – $(3,96 \pm 0,92)$ pg/ml, $p < 0,001$; IL-6: дослідна група – $(6,91 \pm 0,99)$ pg/ml, контрольна група – $(2,69 \pm 0,99)$ pg/ml, $p < 0,05$). Це ж стосується і протизапальних цитокінів (IL-4: дослідна група – $(5,97 \pm 0,50)$ pg/ml, контрольна група – $(3,74 \pm 0,62)$ pg/ml, $p < 0,05$; IL-10: дослідна група – $(11,40 \pm 1,50)$ pg/ml, контрольна група – $(4,70 \pm 3,20)$ pg/ml, $p < 0,001$).

Висновки. Рівень мелатоніну в крові вірогідно знижується при плацентарній недостатності, реалізованій у вигляді затримки внутрішньоутробного розвитку плода. При даній патології також спостерігається активізація прозапальної ланки імунітету, що проявляється підвищенням у крові рівнів TNF- α , IL-1- β та IL-6. Зростання концентрацій у плазмі крові протизапальних цитокінів, а саме IL-4 та IL-10, як ми вважаємо, пояснюється залученням компенсаторних можливостей організму, за допомогою яких знижується ризик передчасних пологів.

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

ПЛАЦЕНТАРНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ, МЕЛАТОНИН, ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ

Цель исследования – путем исследования уровней мелатонина, про- и противовоспалительных цитокинов у беременных с плацентарной недостаточностью установить взаимосвязь между плацентарной недостаточностью, про- и противовоспалительным звеньями иммунитета.

Материалы и методы. Обследовано 46 беременных женщин с плацентарной недостаточностью, реализованной в виде задержки внутриутробного развития плода в III триместре. Контрольную группу составили 20 беременных с неосложненной беременностью. Изучали уровни мелатонина и провоспалительных цитокинов, в частности TNF- α , IL-1- β и IL-6, а также противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 в плазме крови беременных. Для изучения концентрации мелатонина в крови использовали набор Melatonin ELISA производства IBL, Германия. Уровни цитокинов определяли в крови при помощи реактивов фирмы «Вектор-Бест» (Украина).

Результаты исследования и их обсуждение. Установлено, что концентрация мелатонина достоверно снижается, если беременность осложнена задержкой внутриутробного развития плода (основная группа – $(126,87 \pm 14,87)$ pg/ml, контрольная группа – $(231,25 \pm 21,56)$ pg/ml, $p < 0,001$). Уровни провоспалительных цитокинов в основной группе были достоверно выше в сравнении с контролем (TNF- α : основная группа – $(10,05 \pm 1,35)$ pg/ml, контрольная группа – $(5,60 \pm 1,50)$ pg/ml, $p < 0,05$; IL-1- β : основная группа – $(14,67 \pm 2,13)$ pg/ml, контрольная группа – $(3,96 \pm 0,92)$ pg/ml, $p < 0,001$; IL-6: основная группа – $(6,91 \pm 0,99)$ pg/ml, контрольная группа – $(2,69 \pm 0,99)$ pg/ml, $p < 0,05$). Это же касается и противовоспалительных цитокинов (IL-4: основная группа – $(5,97 \pm 0,50)$ pg/ml, контрольная группа – $(3,74 \pm 0,62)$ pg/ml, $p < 0,05$; IL-10: основная группа – $(11,40 \pm 1,50)$ pg/ml, контрольная группа – $(4,70 \pm 3,20)$ pg/ml, $p < 0,001$).

Выводы. Уровень мелатонина в крови беременных достоверно снижается при плацентарной недостаточности, реализованной в виде задержки внутриутробного развития плода. При данной патологии также наблюдается активизация провоспалительного звена иммунитета, что проявляется повышением в крови уровней TNF- α , IL-1- β и IL-6. Возрастание концентраций в плазме крови противовоспалительных цитокинов, а именно IL-4 и IL-10, по нашему мнению, объясняется задействованием компенсаторных возможностей организма, при помощи которых снижается риск преждевременных родов.

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

PLACENTAL INSUFFICIENCY, MELATONIN, PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES

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

Materials and Methods. 46 pregnant women with placental insufficiency were examined. The placental insufficiency manifested as the intrauterine growth restriction syndrome of fetus (IUGR) in the 3rd pregnancy trimester. Control group consisted of 20 women with uncomplicated pregnancy in the same term. The studying of the blood concentrations of melatonin, pro-inflammatory cytokines, such as tumor necrotizing factor- α (TNF- α), interleukin-1- β (IL-1- β), interleukin-6 (IL-6), and anti-inflammatory cytokines, such as interleukin-4 (IL-4) and interleukin-10 (IL-10), was conducted. The kit of reagents Melatonin ELISA, manufactured by IBL, Germany, was used for studying of the blood concentrations of melatonin. The levels of cytokines were determined in the blood using reagents manufactured by "Vektor-Best" (Ukraine).

Results and Discussion. It has been established that concentration of melatonin significantly decreases, if the pregnancy is complicated by intrauterine fetal growth restriction (study group – (126.87±14.87) pg/ml, control group – (231.25±21.56) pg/ml, p<0.001). The levels of pro-inflammatory cytokines in the study group were significantly higher, comparing with the control group (TNF-α: study group – (10.05±1.35) pg/ml, control group – (5.60±1.50) pg/ml, p<0.05; IL-1-β: study group – (14.67±2.13) pg/ml, control group – (3.96±0.92) pg/ml, p<0.001; IL-6: study group – (6.91±0.99) pg/ml, control group – (2.69±0.99) pg/ml, p<0.05). The same is true about anti-inflammatory cytokines (IL-4: study group – (5.97±0.50) pg/ml, control group – (3.74±0.62) pg/ml, p<0.05; IL-10: study group – (11.40±1.50) pg/ml, control group – (4.70±3.20) pg/ml, p<0.001).

Conclusions. The blood level of melatonin significantly decreases in case of placental insufficiency, manifested as intrauterine fetal growth restriction. The strengthening of the pro-inflammatory immunity, shown as the increasing of the levels of TNF-α, IL-1-β and IL-6, is also present in case of IUGR. The rising of the plasma concentration of the anti-inflammatory cytokines, such as IL-4 and IL-10, in our opinion, can be explained by activation of the mechanisms of compensation, which decrease the risk of premature labor.

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

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

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

Вплив мелатоніну на імунну систему, зокрема на її цитокінову ланку, також зараз активно вивчається. Роботи О. Ф. Esroy et al. (2016) показують, що даний гормон дещо «пом'якшує» запальну імунну відповідь при сепсисі шляхом зниження рівня інтерлейкіну-6 (IL-6) та підвищення рівня протизапального інтерлейкіну-10 (IL-10) [9], також відомо, що він (в експерименті на мишах) зменшує стрес-індуковане запалення (Woo-Jin Yi, Tae Sung Kim, 2017) [10]. Як вважається, реалізація впливу мелатоніну на цитокінову ланку імунітету здійснюється шляхом гальмування транскрипційного фактора «каппа-бі» NF-κB, що викликає зниження рівнів прозапальних цитокінів [11]. Враховуючи це, можна припустити, що

мелатонін відіграє неабияку роль у встановленні фізіологічних взаємозв'язків між імунною системою матері і вагітністю, як на етапі імплантації, так і в більш пізніх термінах гестації. Втім, ця ланка патогенезу нормальної і ускладненої вагітності потребує подальшого вивчення.

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

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Обстежено 46 вагітних (дослідна група) з плацентарною недостатністю, що була реалізована у вигляді синдрому затримки внутрішньоутробного розвитку плода II-III ступеня в терміні вагітності 30–36 тижнів. Контрольну групу склали 20 жінок із неускладненим перебігом вагітності в тому ж терміні. Жінки з важкою екстрагенітальною патологією, імунними конфліктами та ознаками внутрішньоутробного інфікування плода були виключені з дослідження. Рівні мелатоніну і цитокінів відстежували у венозній крові, яку забирали шляхом однократної венепункції периферійної вени натще о 8 годині ранку. Для вивчення концентрації мелатоніну використовували набір Melatonin ELISA виробництва IBL, Німеччина. Прозапальні цитокіни, зокрема фактор некрозу пухлин-α (TNF-α), інтерлейкін-1-β (IL-1-β), інтерлейкін-6 (IL-6), а також протизапальні цитокіни – інтерлейкін-4 (IL-4) та інтерлейкін-10 (IL-10) – визначали за допомогою реактивів виробництва фірми «Вектор-Бест», Україна. Дослідження проводили на апаратному комплексі StatFax 2000 (імуноферментний аналізатор + термошейкер). Результати оброблені статистично за допомогою програмного пакета MedCalc, з використанням Welch-test для неоднакових вибірок.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ІХ ОБГОВОРЕННЯ. Результати вивчення рівнів мелатоніну та цитокінів представлені в таблиці 1.

Як видно з таблиці 1, у вагітних жінок із плацентарною недостатністю, що була реалізована у вигляді затримки внутрішньоутробного розвитку плода, спостерігалось вірогідне (p<0,001) зменшення концентрації мелатоніну в

Таблиця 1. Рівні мелатоніну, TNF-α, IL-1-β та IL-6 у вагітних жінок із плацентарною недостатністю

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

Примітка. * – p<0,05; ** – p<0,001.

плазмі крові порівняно зі здоровими вагітними. Крім того, в дослідній групі відзначено вірогідне ($p < 0,001$) підвищення рівня IL-1- β порівняно з контролем. Інші прозапальні цитокіни, а саме TNF- α та IL-6, також були підвищені в крові жінок дослідної групи ($p < 0,05$), порівняно з нормою. Ми вважаємо, що отримані результати можна пояснити наступним чином. По-перше, як вже було згадано, мелатонін продукується плацентою [3], отже, при плацентарній недостатності його продукція знижена. По-друге, мелатонін модує імунну відповідь, зокрема знижує продукцію прозапальних цитокінів [11], тому при плацентарній недостатності спостерігаємо їх підвищення порівняно з тими ж показниками у здорових вагітних. Стосовно TNF- α наші дані збігаються з даними літератури, адже відомо, що рівні даного фактора зростають за наявності затримки внутрішньоутробного росту плода та прееклампсії [12, 13].

Результати вивчення рівнів протизапальних цитокінів представлені в таблиці 2.

Наведені в таблиці 2 результати свідчать про те, що рівні протизапальних цитокінів у жінок із плацентарною недостатністю також підвищені порівняно зі здоровими вагітними.

Наші результати підтверджуються даними літератури [14]. Робота М. Al-Azemi та співавторів (2017) також виявила у вагітних із затримкою внутрішньоутробного розвитку плода підвищення рівнів прозапальних цитокінів, а саме IL-6, TNF- α , IL-12, однак рівень IL-10 знижувався. Тому виявленому нами феномену у вигляді вірогідного підвищення рівнів протизапальних цитокінів (IL-4, IL-10) ще потрібно знайти пояснення. Як ми вважаємо, це є ознакою залучення компенсаторних можливостей організму, за допомогою яких знижується ризик передчасних пологів.

Таблиця 2. Рівні IL-4 та IL-10 у вагітних жінок із плацентарною недостатністю

	Дослід (n=46)	Контроль (n=20)
IL-4 (pg/ml)	5,97 \pm 0,50*	3,74 \pm 0,62
IL-10 (pg/ml)	11,40 \pm 1,50**	4,70 \pm 3,20

Примітка. * – $p < 0,01$; ** – $p < 0,001$.

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

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

3. При плацентарній недостатності, реалізованій у вигляді затримки внутрішньоутробного розвитку плода,

також відбувається вірогідне підвищення рівнів протизапальних цитокінів (IL-4, IL-10), завдяки чому, на нашу думку, знижується ризик передчасних пологів.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ. Враховуючи отримані результати, цікавим, з наукової точки зору, буде дослідження репродуктивних гормонів у вагітних із плацентарною недостатністю, а також співвідношення гормональних показників, цитокінів та мелатоніну, з метою подальшого розкриття патогенетичних механізмів дисфункції плаценти при затримці внутрішньоутробного розвитку плода.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

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

7. Melatonin and stable circadian rhythms optimize maternal, placental and fetal physiology / Russel J. Reiter, Dun Xian Tan, Ahmet Korkmaz, Sergio A. Rosales-Corral // *Human Reprod. Update*. – 2013. – Vol. 20, No. 2. – P. 293–307.
8. Potential utility of melatonin in preeclampsia, intrauterine fetal growth retardation, and perinatal asphyxia / L. Marseglia, G. D'Angelo, S. Manti [et al.] // *Reproductive Sciences*. – Vol. 23, Issue 8. – P. 970–977.
9. Effects of melatonin on cytokine release and healing of colonic anastomoses in an experimental sepsis model / Ömer Faik Ersoy, Namık Özkan, Zeki Özsoy [et al.] // *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* – 2016. – Vol. 22, No. 4. – P. 315–321.
10. Woo-Jin Yi. Melatonin protects mice against stress-induced inflammation through enhancement of M2 macrophage polarization / Woo-Jin Yi, Tae Sung Kim // *Int. Immunopharmacol.* – 2017. – Vol. 48. – P. 146–158.
11. Melatonin as an anti-inflammatory agent in radiotherapy / M. Najafi, A. Shirazi, E. Motevaseli [et al.] // *Inflammopharmacol.* – 2017. – Vol. 25, Issue 4. – P. 403–413.
12. Peraçoli J. C. Tumor necrosis factor-alpha in gestation and puerperium of women with gestational hypertension and pre-eclampsia / J. C. Peraçoli, M. V. C. Rudge, M. Peraçoli // *Am. Journ. Reprod. Immunol.* – 2007. – Vol. 57. – P. 177–185.
13. Tumor necrosis factor-alpha and pregnancy: focus on

biologics. An updated and comprehensive review / J. Aljotas-Reig, E. Esteve-Valverde, R. Ferrer-Oliveras [et al.] // *Clinic Rev. Allerg. Immunol.* – 2017. – Vol. 53, Issue 1. – P. 40–53. DOI: 10.1007/s12016-016-8596-x.

REFERENCES

1. Grishchenko, V.I. (1979). *Rol epifiza v fiziologii i patologii zhenskoy polovoy sistemy [The role of epiphysis in the physiology and pathology of the female reproductive system]*. Kharkiv: Vyshcha shkola [in Russian].
2. Shimada, M., Seki H., Samejima, M., Hayase, M., & Shirai, F. (2016). Salivary melatonin levels and sleep-wake rhythms in pregnant women with hypertensive and glucose metabolic disorders: A prospective analysis. *BioSci. Trends*, 10 (1), 34-41. DOI: 10.5582/bst.2015.01123.
3. Soliman, A., Lacasse, A., Lanoix, D., Sagrillo-Fagundes, L., Boulard, V., & Vaillancourt, C. (2015). Placental melatonin system is present throughout pregnancy and regulates villous trophoblast differentiation. *J. Pineal. Res.*, 59 (1), 38-46. DOI: 10.1111/jpi.12236.
4. Takayama, H., Nakamura, Y., & Tamura, H. Pineal gland (melatonin) affects the parturition time but not luteal function and fetal growth, in pregnant rats. *Endocr. J.*, 50 (1), 37-43. DOI: 10.1507/endocrj.50.37.
5. Teixeira, A.A., Simoes, M.J., Wanderley Teixeira, V., & Soares, J.Jr. (2004). Evaluation of the implantation in pinealectomized and/or submitted to the constant illumination rats. *Int. J. Morphol.*, 22 (3), 189-194.
6. Richter, H.G., Hansell, J.A., Raut Sh., & Giussani, D.A. (2009). Melatonin improves placental efficiency and birth weight and increases the placental expression of antioxidant enzymes in undernourished pregnancy. *J. Pineal. Res.*, 46, 357-364. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2009.00671.x.
7. Reiter, R.J., Dun Xian Tan, Korkmaz, A., & Rosales-Corral, S.A. (2013). Melatonin and stable circadian rhythms optimize maternal, placental and fetal physiology. *Hum. Reprod. Update*, 20 (2), 293-307. DOI: 10.1093/humupd/dmt054.
8. Marseglia, L., D'Angelo, G., Manti, S., Reiter, R.J., & Gitto, E. (2016). Potential Utility of melatonin in preeclampsia, intrauterine fetal growth retardation, and perinatal asphyxia. *Reprod. Sci.*, 23 (8), 970-977. DOI: 10.1177/1933719115612132.
9. Esroy, O.F., Özkan, N., & Özsoy, Z. (2016). Effects of melatonin on cytokine release and healing of colonic anastomoses in an experimental sepsis model. *Ulus Travma Acil. Cerrahi Derg.*, 22 (4), 315-321. DOI: 10.5505/tjtes.2015.49465.
10. Woo-Jin Yi, & Tae Sung Kim (2017). Melatonin protects mice against stress-induced inflammation through enhancement of M2 macrophage polarization. *Int. Immunopharmacol.*, 48, 146-158. DOI: 10.1016/j.intimp.2017.05.006.
11. Najafi, M., Shirazi, A., & Motevaseli, E. (2017). Melatonin as an anti-inflammatory agent in radiotherapy. *Inflammopharmacol.*, 25 (4), 403-413. DOI: 10.1007/s10787-017-0332-5.
12. Peraçoli, J.C., Rudge, M.V.C., & Peraçoli, M. (2007). Tumor necrosis factor-alpha in gestation and puerperium of women with gestational hypertension and pre-eclampsia. *Am. Journ. Reprod. Immunol.*, 57, 177-185. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2006.00455.x.
13. Aljotas-Reig, J., Esteve-Valverde, E., Ferrer-Oliveras, R., Llurba, E., & Maria Gris, J. (2017). Tumor necrosis factor-alpha and pregnancy: focus on biologics. An updated and comprehensive review. *Clinic Rev. Allerg. Immunol.*, 53 (1), 40-53. DOI: 10.1007/s12016-016-8596-x.
14. Al-Azemi, M., Raghupathy, R., & Azizieh F. (2017) Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine profiles in fetal growth restriction. *Clin. and Exp. Obst. and Gyn.*, 44(1), 98-103.

Отримано 03.01.18