

О роли мелатонина в оптимизации исходов вспомогательных репродуктивных технологий

В. Е. Радзинский¹, К. С. Ермоленко^{1, 2}, Р. С. Рапопорт³

¹ Российский университет дружбы народов, г. Москва

² Городская клиническая больница № 81 Департамента здравоохранения города Москвы

³ Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова

Цель исследования: улучшение эффективности ВРТ за счет коррекции гормонального гомеостаза экзогенным мелатонином на прегра-видарном этапе.

Дизайн: сравнительное проспективное исследование.

Материалы и методы. Обследованы 92 пациентки позднего репродуктивного возраста с трубно-перитонеальным бесплодием, которые были разделены на две группы в зависимости от факта приема препарата экзогенного мелатонина перед осуществлением программы ЭКО. Всем женщинам проводили общеклиническое, специальное гинекологическое обследование, определяли уровни сульфата мелатонина в моче, антимюллеровского (АМГ), фолликулостимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего (ЛГ) гормонов методом ИФА, содержание $\alpha 2$ -микроглобулина фертильности (АМГФ) в менструальной крови также с помощью ИФА на тест-системах с использованием моноклональных антител к АМГФ.

Результаты. У всех обследованных пациенток выявлены разнонаправленные нарушения секреции мелатонина. Установлено, что прием экзогенного мелатонина не оказывает влияния на уровни АМГ, ФСГ и ЛГ, но способствует статистически значимому увеличению содержания прогестерона и АМГФ, что приводит к повышению качества имплантации. Это определяет более успешный исход наступившей беременности: ранние репродуктивные потери в группе приема мелатонина диагностировали статистически значимо реже — в 2,8 раза, у 17,6% против 50,0% среди женщин, не принимавших мелатонин.

Ключевые слова: ЭКО (экстракорпоральное оплодотворение), поздний репродуктивный возраст, мелатонин.

Melatonin's Role in Improving Outcomes of Assisted Reproductive Technologies

V. E. Radzinsky¹, K. S. Ermolenko^{1, 2}, R. S. Rapoport³

¹ Peoples' Friendship University of Russia, Moscow

² City Clinical Hospital No. 81, Moscow Department of Health Care

³ I. M. Sechenov First Moscow State Medical University

Study Objective: To increase the efficacy of assisted reproductive technologies by using exogenous melatonin therapy to improve hormonal balance, as part of pre-conception care programs.

Study Design: This was a comparative prospective study.

Materials and Methods: We examined 92 women of older reproductive age who had known infertility due to tubal/peritoneal factors. They were divided into two groups, depending on whether they had had exogenous melatonin therapy prior to in-vitro fertilization (IVF). The study assessments included basic clinical examinations; special gynecological examinations; measurements of melatonin sulfate in urine, anti-Müllerian hormone (AMH), follicle-stimulating hormone (FSH), and leutinizing hormone (LH) (by ELISA); and progesterone-associated endometrial protein (PAEP) in menstrual blood (by ELISA using test systems with monoclonal antibodies to PAEP).

Study Results: The examination showed that all study subjects had different changes in melatonin secretion. Exogenous melatonin doesn't affect levels of AMH, FSH or LH but leads to a statistically significant rise in progesterone and PAEP levels, which improves the quality of implantation. This accounted for successful pregnancy outcomes. In women who had received melatonin, the rate of early reproductive losses was lower than in women who hadn't received this treatment (17.6% vs. 50%); this difference was statistically significant (2.8-fold).

Keywords: in-vitro fertilization (IVF), older reproductive age (ORA), melatonin.

Частота бесплодных браков в последнее время увеличилась с 10–15 до 25–30%, и, по всей видимости, тенденция к их снижению наметится не скоро [2, 9]. Именно поэтому важнейшим этапом в лечении бесплодия стали разработка и внедрение в клиническую практику методов ЭКО. В то же время наблюдается рост числа женщин старшего репродуктивного возраста, обращающихся в центры ЭКО с целью лечения бесплодия [4]. Доля таких пациенток составляет около 40%, но частота наступления беременности у них — не более 15% [3].

В последние годы продолжает возрастать интерес к изучению роли гормона мелатонина в синхронизации работы всех органов и систем организма, в том числе репродуктивной оси. Хотя существование функциональной взаимосвязи мелатонина с половыми железами доказано, вопросы об уровне и характере продукции гормона и патогенетическом значении разнонаправленных нарушений его секреции в нарушении функции яичников остаются спорными. С одной стороны, в литературе приводятся данные, что мелатонин опосредованно регулирует ритм

Ермоленко Кристина Станиславовна — врач отделения ЭКО филиала № 2 ГБУЗ «ГКБ № 81 ДЗМ»; аспирант РУДН. 117198, г. Москва, ул. 800-летия Москвы, д. 22. E-mail: k.s.ermolenko@yandex.ru

Радзинский Виктор Евсеевич — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии с курсом перинатологии РУДН. 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6. E-mail: radzinsky@mail.ru

Рапопорт Семен Исаакович — д. м. н., профессор, заведующий лабораторией «Хрономедицина и новые технологии в клинике внутренних болезней» ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова» Минздрава России. 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. E-mail: sirap@list.ru

и уровень выброса фолликулостимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего (ЛГ) гормонов, снижает уровень эстрадиола [5]. Другими исследователями в эксперименте на животных не выявлено воздействие мелатонина на созревание фолликула и функцию яичника [6]. В то же время у женщин с низкой концентрацией мелатонина сульфата в суточной моче установлено значительное повышение уровней гонадотропных гормонов (как ФСГ, так и ЛГ) [1].

Данные о влиянии мелатонина на секрецию прогестерона также неоднозначны. Показано, что мелатонин снижает концентрации ЛГ и эстрадиола, но не оказывает такого влияния на ФСГ и прогестерон [5]. А работа E. Toffol и соавт. [13] демонстрирует, что мелатонин модулирует секрецию прогестерона и эстрадиола. Наряду с этим имеются сведения, что мелатонин существенно увеличивает синтез прогестерона и количество рецепторов к нему в тканях яичника в лютеиновую фазу цикла [10], это косвенно подтверждает выводы об уменьшении уровня прогестерона после пиелозктомии [7].

Попытки использовать мелатонин в лечении бесплодия предпринимались рядом исследователей [8, 12]. L. M. Seko и соавт. [11] оценили пять контролируемых рандомизированных исследований о влиянии мелатонина на контролируемую стимуляцию яичников при ВРТ. Авторы отмечают, что в этих исследованиях отсутствуют сообщения о частоте живорождения или врожденных аномалий, оценки являются слишком неточными для определения эффекта и пользы мелатонина. По мнению авторов, необходимо дополнительно изучить роль мелатонина в преодолении бесплодия, прежде чем рекомендовать его использование в клинической практике.

Актуальность выбранной темы обусловлена прежде всего тем, что до настоящего времени, несмотря на усовершенствование методов ВРТ, проблема бесплодия далека от своего окончательного разрешения. В связи с этим, учитывая важную роль мелатонина в нейроэндокринной регуляции репродуктивной системы, необходимо исследовать особенности экскреции мелатонина у женщин позднего репродуктивного возраста и возможности использования его препаратов в прегравидарной подготовке таких женщин в рамках программ ЭКО.

Целью нашей работы явилось улучшение эффективности ВРТ за счет коррекции гормонального гомеостаза экзогенным мелатонином на прегравидарном этапе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в 2010–2014 гг. на кафедре акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Российского университета дружбы народов (заведующий кафедрой — профессор В. Е. Радзинский), в городском родильном доме № 17 (г. Москва, главный врач — С. Ф. Торубаров), в лаборатории «Хрономедицина и новые технологии в клинике внутренних болезней» Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова (заведующий лабораторией — профессор С. И. Рапопорт).

Обследованы 92 пациентки позднего репродуктивного возраста (от 35 до 42 лет, средний возраст — $39,13 \pm 1,37$ года) с трубно-перитонеальным бесплодием. В зависимости от факта приема препарата экзогенного мелатонина они были разделены на две группы: *первая группа* — 58 пациенток, принимавших мелатонин на этапе подготовки к программе ЭКО в дозе 3 мг в день за 30 минут до сна в течение 4 месяцев; *вторая группа* — 34 пациентки, не принимавшие мелатонин перед ЭКО.

Программа исследования предусматривала клинко-статистическую характеристику состояния соматического и репродуктивного здоровья женщин; УЗИ, включавшее фолликулометрию, оценку эндометрия; измерение концентрации антимюллеровского гормона (АМГ), ФСГ и ЛГ в сыворотке крови методом ИФА. Для определения содержания $\alpha 2$ -микроглобулина фертильности (АМГФ) в менструальной крови проводили ИФА на тест-системах с использованием моноклональных антител к АМГФ, созданных в лаборатории клеточной иммунопатологии и биотехнологии НИИ морфологии человека РАМН.

Концентрацию метаболита мелатонина — мелатонина сульфата — в моче определяли методом ИФА с использованием тест-системы IBL: melatonin sulfate 6-sulfatoxymelatonin (ELISA, Гамбург). Работу проводили в лабораторно-диагностическом отделении Университетской клинической больницы № 2 Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова (заведующий лабораторией — к. м. н. Е. П. Гитель).

Стимуляция суперовуляции велась по «короткому» протоколу: гонадотропные препараты вводили со 2–3-го дня менструального цикла, антагонисты гонадотропин-рилизинг-гормона — по достижении диаметра лидирующего фолликула 14 мм. Остальные этапы процедуры ЭКО, включавшие трансвагинальную пункцию, культивирование, перенос эмбрионов в полость матки, а также наблюдение после имплантации эмбрионов, осуществляли по общепринятым методикам.

Для создания базы данных и обработки статистического материала использовали персональный компьютер на базе процессора Intel Core i7-2600S. В качестве основного выбран пакет программного обеспечения для статистической обработки данных Statistica 6.0 компании StatSoft Inc. Критическое значение уровня значимости (p) равнялось 5%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ структуры сопутствующих заболеваний репродуктивной системы показал, что, как правило, обследуемые пациентки имели одновременно несколько гинекологических заболеваний. Так, 76,1% женщин сообщали о наличии хронических воспалительных заболеваний придатков, по поводу чего им неоднократно проводили амбулаторное и стационарное лечение; миома матки диагностирована у 13,0% обследованных, статистически значимых различий между группами не выявлено. Указания на наружный генитальный эндометриоз в анамнезе встречались у 11,9% женщин.

При изучении репродуктивного анамнеза пациенток выявлено, что длительность бесплодия у них варьировала от 1 до 17 лет и составила в среднем $7,17 \pm 3,0$ года. Первичным бесплодием страдали 43 (46,7%) пациентки, вторичным — 49 (53,3%). Большая продолжительность заболевания была обусловлена безуспешным предыдущим лечением. В среднем на одну женщину, страдавшую вторичным бесплодием, приходилось по $1,07 \pm 0,97$ беременностей. Лишь каждая третья беременность (32,6%) завершилась родами. Более чем у каждой второй (53,1%) женщины был в анамнезе искусственный аборт, при этом 30,8% указывали на перенесенный послеабортный эндометрит.

Всем обследованным неоднократно делали УЗИ. Эхографическая картина поликистозных яичников обнаружена примерно у каждой седьмой женщины (14,1%), статистически значимых различий между группами не было. У этих женщин динамическая фолликулометрия выявила картину хронической ановуляции. Большинство пациенток имели

нормальный фолликулярный запас (в первой группе — 38 (65,5%), во второй — 22 (64,7%) женщины), в то время как скудный фолликулярный запас диагностирован примерно у каждой пятой больной (в первой группе — у 12 (20,7%), во второй — у 7 (20,6%) женщин). Статистически значимых различий между группами по соотношению пациенток с нормальным и низким фолликулярным запасом не выявлено.

Измерение содержания основных маркеров состояния фолликулярного аппарата показало, что средний уровень ФСГ был выше 10 мЕд/мл и составил $14,6 \pm 7,39$ мЕд/мл. Уровень еще одного маркера фолликулярного запаса, АМГ, находился на нижней границе допустимых значений (в среднем $1,0 \pm 0,69$ нг/мл). У 36,9% пациенток концентрация АМГ была ниже 1,0 нг/мл (в первой группе — у 21 (36,2%), во второй группе — у 13 (38,2%) женщин). Полученные показатели свидетельствуют о скудном фолликулярном запасе в изучаемых группах и предполагаемом «бедном» ответе на стимуляцию суперовуляции. Концентрация ЛГ находилась в пределах референсных значений.

Уровень прогестерона измеряли во II фазу менструального цикла (22–24-й день), он был низким (в среднем $10,3 \pm 4,6$ нмоль/л).

У всех инфертильных женщин определяли содержание АМГФ в менструальной крови. В целом средний уровень АМГФ в изучаемых группах был статистически значимо ниже нормативных показателей 16–70 тыс. нг/мл при двухфазном менструальном цикле) и составил в первой группе $4026,5 \pm 2801,2$ нг/мл, а во второй — $3868,9 \pm 3372,9$ нг/мл. Статистически значимых различий между группами не выявлено.

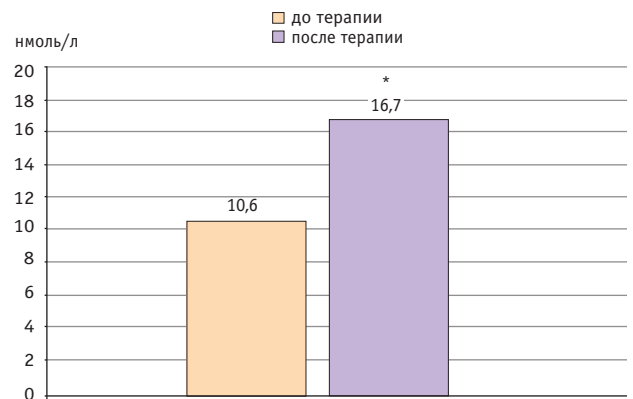
Овуляторный менструальный цикл имел место у каждой седьмой-восьмой обследованной, группы по этому показателю статистически значимо не различались. Ановуляция (АМГФ менее 2000 нг/мл) диагностирована у каждой третьей пациентки с трубно-перитонеальным бесплодием; более чем у половины участниц, несмотря на овуляцию, II фаза менструального цикла была неполноценной (АМГФ — 2–12 тыс. нг/мл), также без статистически значимых различий между группами. Сопоставление уровней АМГФ и прогестерона во II фазу менструального цикла подтвердило, что продукция АМГФ зависит от концентрации прогестерона.

При изучении содержания мелатонина сульфата в моче у всех участниц исследования обнаружены разнонаправленные нарушения секреции мелатонина. В связи с нарушениями секреции мелатонина пациенткам было предложено принимать препарат экзогенного мелатонина на этапе подготовки к программе ЭКО в дозе 3 мг в день за 30 минут до сна в течение 4 месяцев.

Через 4 месяца приема мелатонина перед программой ЭКО была повторно проведена оценка гормонального гомеостаза. Сопоставление уровней изучаемых гормонов до и после лечения продемонстрировало, что существует тенденция к снижению концентраций ФСГ и ЛГ на фоне приема мелатонина, статистически значимых различий не выявлено. Уровень АМГ статистически значимо не менялся.

Определение содержания прогестерона во II фазу менструального цикла (22–24-й день) показало, что его уровень у женщин, принимавших мелатонин, был статистически значимо выше, чем у не принимавших. Сопоставление значений концентрации прогестерона в сыворотке крови у пациенток первой группы до и после терапии мелатонином выявило ее статистически значимый рост (*рис.*). На этом фоне происходило статистически значимое увеличение количества

Рис. Содержание прогестерона до и после терапии мелатонином, нмоль/л.
* $P < 0,05$



полноценных двухфазных менструальных циклов: с 13,8 до 29,3%, т. е. более чем в 2 раза.

Уровень АМГФ в менструальной крови у пациенток, принимавших мелатонин, статистически значимо увеличился: с $4026,5 \pm 2801,2$ до $8387,9 \pm 4986,9$ нг/мл (в 2,1 раза, $p < 0,05$). Увеличение концентрации АМГФ напрямую коррелировало с ростом содержания прогестерона во II фазу менструального цикла на фоне терапии мелатонином. Это подтвердило известный факт, что АМГФ является прогестеронзависимым эндометриальным белком. Очевидно, выраженный дефицит продукции АМГФ, свидетельствующий о дисфункции эндометриальных желез, может являться одним из патогенетических механизмов имплантационных неудач при ЭКО.

Содержание мелатонина сульфата в моче на фоне проводимой терапии статистически значимо возрастало как в дневное, так и в ночное время. Среднесуточная концентрация мелатонина сульфата увеличилась в 2,3 раза, составив в среднем $61,9 \pm 43,0$ нг/мл ($p < 0,05$). Дневной уровень мелатонина вырос в 2,2 раза — с $13,3 \pm 7,4$ до $29,4 \pm 9,9$ нг/мл ($p < 0,05$); ночной уровень — с $38,9 \pm 21,1$ до $94,6 \pm 37,3$ нг/мл, т. е. в 2,4 раза ($p < 0,05$).

У женщин, получавших мелатонин, прослеживалась тенденция к увеличению частоты наступления беременности: она была в 1,2 раза выше, чем у не принимавших данный препарат (29,3 против 23,5% соответственно). Однако статистически значимых различий не выявлено.

В структуре ранних репродуктивных потерь преобладала неразвивающаяся беременность, статистически значимо чаще диагностированная у пациенток, не принимавших мелатонин (37,5%). В подавляющем большинстве случаев (82,4%) у участниц первой группы беременность, наступившая после ЭКО, завершилась родами живым плодом. У женщин, не принимавших мелатонин, роды живым плодом имели место лишь в половине случаев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резкое снижение секреции мелатонина у женщин позднего репродуктивного возраста является отражением расстройства гипоталамо-гипофизарного звена репродуктивной системы.

У всех обследованных пациенток были выявлены разнонаправленные нарушения секреции мелатонина: как нару-

шения ритма продукции мелатонина, так и снижение его уровня.

Применение препарата мелатонина на этапе подготовки к ЭКО позволяет повысить результативность программ ВРТ. Вероятнее всего, это связано с нормализацией уровня мелатонина в организме женщины и восстановлением функций гипоталамо-гипофизарной оси. Прием экзогенного мелатонина не оказывает влияния на концентрации антимюллеровского, фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов, но способствует статистически значимому увеличению содержания прогестерона и прогестеронзависимого

эндометриального белка $\alpha 2$ -микроглобулина фертильности, что приводит к повышению качества имплантации. Это определяет более успешный исход наступившей беременности: в представленном исследовании ранние репродуктивные потери в группе приема мелатонина диагностировали статистически значимо реже — в 2,8 раза, у 17,6% против 50,0% среди женщин, не принимавших препарат.

Полученные данные свидетельствуют о целесообразности и перспективности назначения экзогенного мелатонина пациенткам позднего репродуктивного возраста, страдающим бесплодием.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов В. Н., Виноградова И. А. *Старение женской репродуктивной системы и мелатонин*. СПб.: Система, 2008. 44 с.
2. Вартамян Э. В. *Преодоление повторных неудач ВРТ: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 2012. 34 с.*
3. Мишиева Н. Г. *Бесплодие у женщин позднего репродуктивного возраста: принципы диагностики и лечения в зависимости от овариального резерва: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 2008. 46 с.*
4. Назаренко Т. А., Краснополянская К. В. «Бедный ответ». Тактика ведения пациенток со сниженной реакцией на стимуляцию гонадотропинами в программах ЭКО. М.: МЕДпресс-информ, 2012. 80 с.
5. Chuffa L. G., Seiva F. R., Fávoro W. J., Teixeira G. R. et al. *Melatonin reduces LH, 17 beta-estradiol and induces differential regulation of sex steroid receptors in reproductive tissues during rat ovulation // Reprod. Biol. Endocrinol. 2011. Vol. 9. P. 108.*
6. Farahavar A., Shahne A. Z., Kohram H., Vahedi V. *Effect of melatonin on in vitro maturation of bovine oocytes // Af. J. Biotechnol. 2010. Vol. 9. N 17. P. 2579–2583.*
7. Manca M. E., Manunta M. L., Spezzigu A., Torres-Rovira L. et al. *Melatonin deprivation modifies follicle and corpora lutea growth dynamics in a sheep model // Reproduction. 2014. Vol. 147. N 6. P. 885–895.*
8. 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. Vol. 20. N 2. P. 293–307.*
9. Ried K., Alfred A. *Quality of life, coping strategies and support needs of women seeking Traditional Chinese Medicine for infertility and viable pregnancy in Australia: a mixed methods approach // BMC Womens Health. 2013. Vol. 13. N 1. P. 17.*
10. Romeu L. R. G., Motta E. L. A., Maganhin C. C., Oshima C. T. et al. *Effects of melatonin on histomorphology and on the expression of steroid receptors, VEGF, and PCNA in ovaries of pinealectomized female rats // Fertil. Steril. 2011. Vol. 95. N 4. P. 1379–1384.*
11. Seko L. M., Moroni R. M., Leitao V. M., Teixeira D. M. et al. *Melatonin supplementation during controlled ovarian stimulation for women undergoing assisted reproductive technology: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials // Fertil. Steril. 2014. Vol. 101. N 1. P. 154–161.e4.*
12. Tamura H., Takasaki A., Miwa I., Taniguchi K. et al. *Oxidative stress impairs oocyte quality and melatonin protects oocytes from free radical damage and improves fertilization rate // J. Pineal. Res. 2008. Vol. 44. N 3. P. 280–287.*
13. Toffol E., Kalleinen N., Haukka J., Vakkuri O. et al. *Melatonin in perimenopausal and postmenopausal women: associations with mood, sleep, climacteric symptoms, and quality of life // Menopause. 2013. Vol. 21. N 15. P. 493–500. D*