

На правах рукописи

Ермоленко Кристина Станиславовна

**КОРРЕКЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ МЕЛАТОНИНА
В ПРОГРАММАХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ
РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ**

14.01.01 - Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

МОСКВА

2014

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования "Российский университет дружбы народов".

Научные руководители:

Зав. кафедрой акушерства и гинекологии
с курсом перинатологии РУДН,
доктор медицинских наук, профессор

В.Е. Радзинский

Зав. лабораторией «Хрономедицина
и новые технологии в клинике внутренних
болезней» ГБОУ ВПО «Первый Московский
государственный медицинский университет
им. И.М. Сеченова» Минздрава России
доктор медицинских наук, профессор

С.И. Рапопорт

Официальные оппоненты:

Генеральный директор Центра лечения бесплодия
«ЭКО», доктор медицинских наук, профессор

В.М. Здановский

Руководитель отделения вспомогательных
технологий в лечении бесплодия ФГБУ «Научный
центр акушерства, гинекологии и перинатологии
им.В.И. Кулакова» Минздрава России,
доктор медицинских наук

Е.А. Калинина

Ведущая организация: ГБУЗ МО "Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии".

Защита диссертации состоится «21» октября 2014г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета Д.212.203.01 в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования "Российский университет дружбы народов" по адресу: 117333, г.Москва, ул.Фотиевой, д.6.

С диссертационной работой можно ознакомиться в Научной библиотеке РУДН (117198, г.Москва, ул.Миклухо-Маклая, д.6).

Автореферат разослан «__» _____ 2014г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент

М.Г. Лебедева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ.

Актуальность проблемы. В наступившем третьем тысячелетии проблема бесплодия в браке во всем мире все еще далека от окончательного решения и продолжает привлекать внимание клиницистов и организаторов здравоохранения (Вартанян Э.В., 2012; Chandra A. et al., 2014). По данным ряда исследований, частота бесплодного брака составляет 10-18% и имеет четкую тенденцию к росту. На долю женского бесплодия приходится 40%, мужского – 40%, а сочетание женского и мужского факторов выявляют у 20% бесплодных пар (Mosalanejad L., 2013; Török P., Major T., 2013). Среди причин женской инфертильности наряду с эндокринным фактором и эндометриозом лидирующие позиции традиционно занимает трубно-перитонеальное бесплодие (Читанава Ю.С. и соавт., 2012).

Особенностями брачно-репродуктивного поведения современных женщин во всем мире являются увеличение возраста вступления в брак и отсроченное деторождение (Троицкая И.А., Авдеева А.А., 2011). В то же время для россиянок не характерны планирование беременности и контрацепция, что влечет за собой высокий риск нарушений репродуктивного здоровья и репродуктивной функции в будущем (Радзинский В.Е., Оразмурадов А.А., 2009). В последние годы наблюдается увеличение числа обращений в центры ЭКО с целью лечения бесплодия женщин в возрасте старше 35 лет, доля таких пациенток достигает 40% (Назаренко Т.А., Краснопольская К.В., 2012). Вместе с тем частота наступления беременности у пациенток старшего репродуктивного возраста не превышает 15% (Мишиева Н.Г., 2008).

Ухудшение эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) у женщин старшего возраста многие исследователи связывают с формированием дискоординации гипоталамо-гипофизарной системы, снижением «овариального резерва», ухудшением качества яйцеклеток (Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., 2010). Однако на практике эти функциональные изменения зачастую недооцениваются

клиницистами, особенно у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием. Отсутствие комплексного дифференцированного подхода в преодолении бесплодия, эмпирический характер последующего лечения, а также неприемлемость самой идеи рациональной подготовительной терапии перед применением ВРТ многие специалисты-репродуктологи считают важной результативной составляющей низкой эффективности ВРТ (Амирова А.А. и соавт., 2010).

В последние годы пристальное внимание исследователей привлекают эпифиз и продуцируемый им гормон мелатонин, роль которых в синхронизации суточных и сезонных биоритмов, в антистрессовой защите, а также в нейроэндокринной регуляции репродуктивной системы в настоящее время не подлежит сомнению. Попытки использовать мелатонин в лечении бесплодия с целью улучшения качества ооцитов, увеличения частоты оплодотворения и наступления беременности, предпринимались рядом исследователей (Reiter R.J. et al., 2009; Tamura H. et al., 2012), однако полных данных о влиянии мелатонина на репродуктивную функцию человека пока нет. Возможности применения мелатонина с целью улучшения репродуктивной функции у пациенток позднего репродуктивного возраста в клиниках ВРТ, с учетом его потенциального влияния на качество яйцеклеток, бластоцист, имплантации, изучены недостаточно. Все вышеизложенное позволило определить цель настоящего исследования.

Цель исследования: улучшить исходы программ ВРТ у женщин позднего репродуктивного возраста с трубно-перитонеальным бесплодием, включая в прегравидарную коррекцию нормализацию содержания мелатонина.

Задачи исследования.

1. Оценить состояние здоровья и эндокринной системы женщин позднего репродуктивного возраста с трубно-перитонеальным бесплодием и возможность прогнозирования результатов восстановления фертильности.
2. Определить особенности экскреции мелатонина у женщин позднего

репродуктивного возраста с трубно-перитонеальным бесплодием.

3. Установить возможные механизмы влияния приема экзогенного мелатонина на репродуктивную систему.

4. Определить возможность и результативность использования препаратов мелатонина в предгравидарной подготовке женщин позднего репродуктивного возраста с трубно-перитонеальным бесплодием в программах ЭКО.

5. Разработать рекомендации дифференцированного подхода к осуществлению ВРТ в зависимости от уровня мелатонина у женщин позднего репродуктивного возраста трубно-перитонеальным бесплодием и оценить их эффективность.

Научная новизна. Расширены представления о патогенетических механизмах формирования неудач ВРТ у женщин позднего репродуктивного возраста с трубно-перитонеальным бесплодием, дополнены имеющиеся данные о состоянии их репродуктивного здоровья. Впервые у женщин позднего репродуктивного возраста, страдающих трубно-перитонеальным бесплодием, на основании клинико-лабораторных методов исследования получены сведения о содержании мелатонина в различные фазы менструального цикла, определены уровни мелатонина в разное время суток и составлена «мелатониновая кривая», дана оценка влияния мелатонина на репродуктивную систему, а также влияния прегравидарного приема препарата мелатонина на показатели раннего эмбриогенеза, частоту наступивших беременностей и живорождений. В результате выполненной работы получены данные, дополняющие существующие теоретические представления о роли эпифизарного гормона мелатонина в репродукции, в частности, его влиянии на гормональный гомеостаз, уровень эндометриального белка $\alpha 2$ -микроглобулина фертильности (АМГФ), показатели раннего эмбриогенеза, полноту и глубину имплантации.

Практическая значимость. В результате исследования определены дополнительные характеристики состояния репродуктивной системы и

возможности восстановления фертильности с помощью ЭКО у женщин позднего репродуктивного возраста, страдающих трубно-перитонеальным бесплодием. Научно обоснована необходимость коррекции уровня мелатонина в крови перед ВРТ, рекомендованы методы восполнения его недостаточной экскреции для прегравидарном этапе в программах ЭКО. Включение нормализации содержания мелатонина в алгоритм прегравидарной подготовки женщин изучаемой когорты позволило ($p < 0,05$) в 2,8 раза снизить частоту ранних репродуктивных потерь и в 1,6 раза увеличить частоту живорождений.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ.

1. Нарушения гомеостаза женского организма, помимо основной причины бесплодия как основания для включения в программу ЭКО, гетерогенны и полиморфны. Основными причинами инфертильности являются не диагностированные ранее болезни эндометрия (25%); гидросальпинксы (17,4%), синдром поликистозных яичников (14,1%).
2. Для женщин позднего репродуктивного возраста с трубно-перитонеальным бесплодием характерно не только снижение содержания мелатонина в крови, но и десинхроноз его секреции: вместо 2- 4 часов пик выброса мелатонина смещается на 3-6 часов; концентрация в ночное время превышает дневные показатели лишь в 2,5 раза (в норме в 5-10 раз).
3. Прегравидарная коррекция содержания мелатонина у пациенток позднего репродуктивного возраста с трубно-перитонеальным бесплодием повышает коэффициент имплантации, снижает частоту ранних репродуктивных потерь с 50% до 17,6% ($p < 0,05$) и увеличивает частоту рождения живых детей с 50% до 82,4% ($p < 0,05$).

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ, ВНЕДРЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

ИССЛЕДОВАНИЯ И ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРА:

Данная работа проведена в рамках основного направления научной деятельности кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии

Российского университета дружбы народов «Репродуктивное здоровье населения Московского мегаполиса и пути его улучшения в современных экологических и социально-экономических условиях», номер гос. регистрации 01.9.70 007346, шифр темы 317712.

Основные положения диссертации, выводы и практические рекомендации внедрены в практическую работу городского родильного дома № 17, г.Москва (гл. врач – к. м. н. Торубаров С.Ф.). внедрены в учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии РУДН, кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины ФПК МР РУДН. Участие автора в сборе первичного материала и его обработке более 90%, обобщении, анализе и внедрении в практику результатов работы – 100%. Все научные результаты, представленные в работе, автором получены лично. По материалам диссертации опубликовано 4 научные работы в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ.

Апробация диссертационной работы.

Основные положения диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на научных конференциях РУДН (Москва, 2011, 2012, 2013), на VI Общероссийском научно-практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи, 2013); объединенной конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии РУДН и сотрудников родильных домов №25 (с 01.02.2014 акушерский филиал ГБУЗ ГKB №1), № 15 (с 05.02.2014 акушерский филиал №1 ГБУЗ ГKB №13) г. Москвы, родильного отделения при ГKB №29 Департамента здравоохранения г. Москвы (2014).

Объем и структура диссертации.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, четырех глав, которые содержат результаты собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы. Работа изложена на 115 страницах машинописного текста, содержит 30 таблиц и 6 рисунков. Указатель литературы включает 112 печатных источников, из них

- 39 на русском и 73 - на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.

Материалы и методы исследования. Для выполнения задач исследования обследованы 92 пациентки позднего репродуктивного возраста (старше 35 лет) с трубно-перитонеальным бесплодием (код по МКБ-10 - N97.1). Исследование выполнено в 2010-2014 гг. на базе городского родильного дома № 17, г.Москва (гл. врач - к.м.н. Торубаров С.Ф.), лабораторно-диагностического отделения Университетской клинической больницы №2 Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова (зав. лабораторией - к.м.н. Гитель Е.П.).

Проведенное исследование было комплексным, исследуемые группы формировали из числа женщин старше 35 лет с трубно-перитонеальным бесплодием, направленных на ЭКО в соответствии с приказом департамента здравоохранения г.Москвы № 195 от 28.04.2001 года «Об организации работы по направлению на лечение бесплодия с применением вспомогательных репродуктивных технологий за счет средств бюджета города Москвы».

Все пациентки были разделены на две группы, в зависимости от факта приема препарата экзогенного мелатонина:

I группа – 58 пациенток, принимавших мелатонин на этапе прегравидарной подготовки к программе ЭКО в дозе 3 мг в день, за 30 минут до сна, в течение 4 месяцев;

II группа - 34 пациентки, не принимавшие мелатонин перед ЭКО.

Программа исследования предусматривала клинико-статистическую характеристику состояния соматического и репродуктивного здоровья женщин. Ультразвуковое исследование, которое включало фолликулометрию, оценку эндометрия, выполняли при помощи аппарата «SonoAce X8 Medison» (Samsung Medison, Южная Корея) с использованием вагинального датчика частотой 6,5 МГц.

Концентрации гормонов в сыворотке крови определяли

иммуноферментным методом, исследовали пролактин (ПРЛ), лютеинизирующий (ЛГ), фолликулостимулирующий (ФСГ) гормоны, антимюллеровый гормон (АМГ), эстрадиол (Е2), прогестерон. В качестве нормы использовали показатели содержания гормонов в сыворотке крови у здоровых женщин репродуктивного возраста с регулярным ритмом менструаций. Для определения АМГФ в менструальной крови проводили иммуноферментный анализ на тест-системах с использованием моноклональных антител к АМГФ, созданных в лаборатории клеточной иммунопатологии и биотехнологии НИИ морфологии человека РАМН.

Определение концентрации метаболита мелатонина - мелатонина сульфата в моче проводили методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы IBL: melatonin sulfat 6-sulfatoxymelatonin (ELISA, Hamburg) в лабораторно-диагностическом отделении Университетской клинической больницы №2 Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова (зав. лабораторией - к.м.н. Гитель Е.П.).

Результаты спермограммы оценивали в соответствии с рекомендациями ВОЗ по лабораторному исследованию спермы человека (2010).

Подготовительная и сопутствующая терапия в лечебных циклах ЭКО.

Прием экзогенного препарата мелатонина на этапе прегравидарной подготовки к программе ЭКО в дозе 3 мг в день, за 30 минут до сна, в течение 4 месяцев, был согласован и одобрен Этическим комитетом РУДН, протокол №6 от 29.04.13г.

Стимуляция суперовуляции. Учитывая тот факт, что пациентки с трубно-перитонеальным бесплодием были в позднем репродуктивном возрасте, стимуляцию суперовуляции проводили по «короткому» протоколу: гонадотропные препараты (гонал Ф) вводили со 2-3-го дня менструального цикла, по достижении лидирующим фолликулом диаметра 14 мм (6-7-ой день стимуляции) использовали антагонисты ГнРГ (цетротид). Остальные

этапы процедуры ЭКО, включавшие трансвагинальную пункцию, культивирование, перенос эмбрионов в полость матки, а также период наблюдения 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 Stat Soft Inc. (США). Достоверность различия между сравниваемыми показателями оценивали непараметрическими критериями Вилкоксона-Манна-Уитни для несвязанных совокупностей методами вариационной статистики с использованием критериев Стьюдента (t) и χ^2 . Различия между сравниваемыми величинами признавали достоверным при $p < 0,05$ ($t > 2,0$).

Результаты исследования и их обсуждение.

Проведенный клинико-статистический анализ анамнеза пациенток позднего репродуктивного возраста с трубно-перитонеальным бесплодием, включенных в программу ЭКО, показал, что помимо основного заболевания, факторами, препятствующими наступлению беременности в естественном цикле, а также снижающими эффективность программы ЭКО, следует считать: возраст старше 35 лет; длительность бесплодия свыше 7 лет; отягощенный соматический анамнез – болезни органов пищеварения (44,6%), мочеполовой системы (35,8%), ожирение (19,6%); сопутствующие гинекологические заболевания - хронический сальпингоофорит (76,1%), хронический эндометрит (32,6%), гиперпластические процессы эндометрия (17,4%); высокую частоту оперативных вмешательств в анамнезе (82,6%); длительный (свыше одного года) выжидательный период после оперативного лечения (реконструктивно - пластические операции на маточных трубах, коагуляция очагов наружного генитального эндометриоза, консервативная миомэктомия, резекции яичника/яичников) (100%); использование внутриматочного контрацептива (ВМК) более 5 лет (20,0%); исход первой беременности искусственным абортom, который отмечен в

анамнезе у каждой второй (53,1%) пациентки с вторичным бесплодием.

Критерии отбора пациентов для лечения бесплодия с применением ВРТ были таковы, что изначально в группы исследования вошли женщины позднего репродуктивного возраста от 35 до 42 лет, их средний возраст составил $39,13 \pm 1,37$ лет. Позднее материнство сопровождалось поздним отцовством, возраст мужей обследуемых варьировал от 37 до 45 лет и составил в среднем $40,37 \pm 2,18$ лет.

В браке состояли все обследованные пациентки. У каждой четвертой (25,0%) женщины, включенной в программы ЭКО на момент обследования, брак был повторным. Полученные данные являются косвенным подтверждением неустойчивости семейных отношений в бесплодных браках и созвучны мнению Ивановой А.Р. (2010), которая считает, что проблемы в семейно-супружеских отношениях оказывают неблагоприятное влияние на исход лечения бесплодия.

Изучение контрацептивного поведения обследованных показало, что до момента установления диагноза бесплодия большинство женщин (67,4%) от беременности никогда не предохранялось. На низкий уровень знаний о контрацепции указывают многие исследователи (Семятов С.М., 2009; Holness N., 2014). Следует отметить, что каждая пятая (20,0%) женщина с трубно-перитонеальным бесплодием указала на использование ВМК в анамнезе. Длительность использования ВМК была от 1 до 9 лет, в среднем составив $4,5 \pm 2,4$ года. Более половины пациенток (53,3%), ранее предохранявшихся от нежелательной беременности, отдавали предпочтение ритм-методу и прерванному половому акту, то есть использовали низкоэффективные методы контрацепции.

Анализ сопутствующих заболеваний репродуктивной системы показал, что, как правило, обследованные пациентки имели одновременно несколько гинекологических заболеваний. В среднем на одну больную приходилось 1,5 заболевания. Так, 76,1% пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием указывали на наличие хронических

воспалительных заболеваний придатков, по поводу чего им неоднократно проводилось амбулаторное и стационарное лечение. Кроме того, у каждой третьей (32,6%) был выявлен хронический эндометрит в анамнезе. Полученные данные не противоречат результатам исследования Духина А.О. и соавт. (2013), показавших, что при трубно-перитонеальном бесплодии хронические воспалительные заболевания органов малого таза в анамнезе встречаются у 26-100% женщин. Среди гиперпластических заболеваний матки у женщин изучаемой когорты достоверно ($p < 0,05$) преобладали гиперпластические процессы эндометрия (железистая гиперплазия) – у каждой шестой (17,4%) и миома матки - диагностирована у каждой восьмой обследованной (13,0%)/ Указание на наружный генитальный эндометриоз в анамнезе имело место у 11,9% обследованных женщин.

Гинекологические операции в анамнезе были выполнены у 76 (82,6%) пациенток, в том числе лапароскопии - у 73,9%, гистероскопии и диагностические выскабливания эндометрия – у 32,6%. Гистероскопия в анамнезе выявлена у каждой третьей (32,6%) обследованной, из них более чем у половины (53,3%) после диагностического выскабливания эндометрия гистологически был верифицирован гиперпластический процесс эндометрия (железистая гиперплазия). Полученные данные не противоречат мнению Вартанян Э.В. (2012), показавшей, что структурно-функциональные изменения эндометрия (склероз эндометрия) имеют место практически у всех пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием.

В структуре гинекологических операций у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием достоверно преобладали реконструктивно-пластические операции на маточных трубах (сальпингоовариолизис, фимбриопластика, сальпингостомия и т.п.) - практически у каждой третьей (31,5%). Ни у одной из женщин, перенесших реконструктивно-пластические операции на маточных трубах, беременность в течение первого года после оперативного лечения не наступила. Указания на тубэктомию в анамнезе отмечены у 20,6% обследованных, в том числе у половины из них (9,8%)

была выполнена двусторонняя тубэктомия.

Длительность бесплодия у пациенток варьировала от 1 до 17 лет и составила в среднем $7,17 \pm 3,0$ лет. Первичным бесплодием страдали 43 (46,7%) пациентки, а вторичным – 49 (53,3%) Большая продолжительность заболевания была обусловлена безуспешным предыдущим лечением. Многие авторы подчеркивают тот факт, что наиболее оптимальным периодом наступления беременности в естественном цикле является первый год после оперативного лечения, в случае отсутствия беременности по истечении этого года выжидательная тактика нецелесообразна и необходимо прибегать к ВРТ (Квициани К.Д., 2010; Дубинская Е.Д., 2012; Опарин И.О., 2013).

Наше исследование продемонстрировало, что продолжительность периода после оперативных вмешательств (реконструктивно-пластических операциях на маточных трубах, консервативной миомэктомии, коагуляции эндометриоидных очагов и т.п.), при отсутствии восстановления фертильности, превышала 4 года. Это подтверждает известный факт, что затягивание принятия решения прибегнуть к ВРТ при трубно-перитонеальном бесплодии нецелесообразно, поскольку потерянное время не только создает предпосылки к усугублению нарушений репродуктивного здоровья, но и неизбежно способствует пресловутому увеличению биологического возраста женщины, что вкуче снижает вероятность успешных попыток ЭКО.

Изучение репродуктивного анамнеза пациенток, страдающих вторичным бесплодием (49 (53,3%)), показало, что в среднем на одну женщину приходилось $1,07 \pm 0,97$ беременностей. Лишь каждая третья беременность (32,6%) завершилась родами (среднее число родов - $0,32 \pm 0,18$). Более чем у каждой второй (53,1%) женщины был в анамнезе искусственный аборт, при этом 30,8% указывали на перенесенный послеабортный эндометрит. Интересен тот факт, что 69,2% женщин первый аборт сделали в период, предшествующий браку ($p < 0,05$), а каждая четвертая перенесла аборт в возрасте до 18 лет (26,9%). Полученные данные

подтверждают значение фактора адекватного репродуктивного поведения, направленного на предупреждение непланируемой беременности, начиная с подросткового возраста, для реализации репродуктивной функции в дальнейшем. Несовершеннолетние матери, равно как и их партнеры, не имеют точного представления о методах контрацепции, а в случае наступления беременности 85% девушек беременность прерывают (Lewin A. et al., 2014).

У 19 (38,7%) пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием в анамнезе была эктопическая беременность, завершившаяся удалением трубы/труб. Нами не выявлено достоверных различий между группами (в I группе эктопическая беременность в анамнезе - у 41,9%, во II группе – у 33,3%). Большинство авторов считают, что не выбор объема оперативного лечения трубной беременности (лапароскопическая сальпингостомия или сальпингэктомия) оказывает влияние на восстановление фертильности в будущем, а состояние противоположной маточной трубы (Juneau C. et al., 2012; Mol F. et al., 2014).

В ходе ультразвукового исследования (УЗИ), помимо признаков ранее диагностированных вышеперечисленных сопутствующих гинекологических заболеваний, у обследованных женщин впервые были выявлены ряд заболеваний, которые могли препятствовать восстановлению фертильности с помощью программ ЭКО. У каждой четвертой (25%) диагностированы заболевания эндометрия, им всем в последующем была выполнена диагностическая гистероскопия. Эхографическая картина поликистозных яичников выявлена у каждой седьмой (14,1%), достоверно значимых межгрупповых различий не выявлено ($p > 0,05$). У этих женщин динамическая фолликулометрия выявила картину хронической ановуляции.

У каждой шестой пациентки (в I группе – у 18,9%, во II группе – у 14,7%), обнаружены гидросальпинксы. Обращает внимание, что у 8 (50%) из 16 пациенток был обнаружен гидросальпинкс единственной маточной трубы. Этим женщинам перед программой ЭКО была выполнена лапароскопическая

тубэктомия. В ходе обследования у 6,5% женщин впервые была выявлена миома матки, интрамуральные миоматозные узлы малых размеров. Эхографические признаки аденомиоза I-II степени были диагностированы у 6,5% женщин ($p>0,05$).

Все пациентки с трубно-перитонеальным бесплодием в зависимости от исходного состояния фолликулярного аппарата характеризовались следующим образом: большинство имело нормальный фолликулярный запас (в I группе – у 38 (65,5%), во II – у 22 (64,7%), в то время как скудный фолликулярный запас диагностирован у каждой пятой (в I группе – у 12 (20,7%), во II – у 7 (20,6%) ($p>0,05$).

Всем пациенткам с выявленными при УЗИ болезнями эндометрия ($n=23$) непосредственно перед стимуляцией суперовуляции проводили гистероскопию, с отдельным диагностическим выскабливанием цервикального канала и слизистой полости матки, в результате чего патологические изменения были подтверждены у 100% обследованных. Установлено, что для пациенток изучаемой когорты характерны гиперплазия эндометрия (69,6%), хронический эндометрит (34,7%) и аденомиоз (30,4%). Гиперплазия эндометрия выявлялась практически у трех четвертей пациенток. Внутриматочные синехии выявлены у 13,0% обследованных. Хронический эндометрит был подтвержден у каждой третьей пациентки (34,7%). Следует подчеркнуть, что все женщины с верифицированным хроническим эндометритом имели в анамнезе искусственный аборт, а 4 пациентки на длительное использование ВМК в анамнезе. Практически у каждой третьей (30,4%) из числа пациенток, кому выполнена гистероскопия, в ходе гистероскопии были выявлены эндометриозидные ходы.

Полученные данные сопоставимы с результатами исследования Базиной М.И. и соавт. (2013), показавших, что гиперплазия эндометрия выявляется у 17% пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием, и считающих целесообразным более широкое применение гистероскопического исследования на этапе подготовки к ЭКО. Мы

полностью согласны с этим мнением, которое созвучно точке зрения Tu С.Н. et al. (2013), расценивающих поражения эндометрия как серьезный фактор, резко ограничивающий способность к имплантации, особенно если это касается ситуаций, сопровождающихся фиброзом.

Биологический возраст женщины не является достоверным прогностическим признаком репродуктивного старения. В последние годы активно изучались биомаркеры (ФСГ, АМГ), помогающие лучше охарактеризовать отдельные фазы этого процесса. Определение основных маркеров состояния фолликулярного аппарата показало, что средний уровень ФСГ был выше 10 МЕд/мл и составил в среднем $14,6 \pm 7,39$ МЕд/мл. Ещё один маркер фолликулярного запаса – АМГ – был на нижней границе допустимых значений и составил в среднем $1,0 \pm 0,69$ нг/мл. Вместе с тем более чем у каждой третьей (36,9%) пациентки АМГ оказался ниже 1,0 нг/мл (в I группе – у 36,2% женщины, во II группе – у 38,2%). Полученные результаты свидетельствуют о скудном фолликулярном запасе в двух изучаемых группах и предполагаемом «бедном» ответе на стимуляцию суперовуляции. Концентрации таких гормонов как ЛГ, пролактин, эстрадиол находились в пределах референсных значений. Определение уровня прогестерона во II фазу менструального цикла (22-24 день) показало, что его содержание было низким, составив в среднем $10,3 \pm 4,6$ нмоль/л. Более чем у каждой второй (53,3%) пациентки был диагностирован ановуляторный менструальный цикл, недостаточность лютеиновой фазы – у каждой третьей (33,7%), а полноценная II фаза имела место лишь у 13,0% женщин. Следует подчеркнуть, что соответствие низкого уровня АМГ и высокой концентрации ФСГ ультразвуковой картине скудного фолликулярного запаса выявлено лишь у половины обследованных (55,9%).

Определение АМГФ в менструальной крови показало, что средний уровень АМГФ в изучаемых группах был достоверно ниже ($p < 0,05$) по сравнению с нормативными показателями (при двухфазном менструальном цикле АМГФ – 16 000-70 000 нг/мл) и составил в I группе – $4026,5 \pm 2801,2$

нг/мл, во II группе - $3868,9 \pm 3372,9$ нг/мл.

Овуляторный менструальный цикл имел место у каждой седьмой-восьмой обследованной ($p > 0,05$). Ановуляция (АМГФ менее 2000 нг/мл) диагностирована у каждой третьей пациентки (33,7%) с трубно-перитонеальным бесплодием ($p > 0,05$). Более чем у каждой второй (53,2%), несмотря на овуляцию, II фаза менструального цикла была неполноценной (АМГФ 2000-12000 нг/мл) ($p > 0,05$). Сопоставление уровня прогестерона во II фазу менструального цикла и АМГФ подтвердило, что продукция АМГФ зависит от уровня прогестерона.

Изучение содержания мелатонина сульфата в моче позволило выявить разнонаправленные нарушения секреции мелатонина у обследованных пациенток. Они заключались как в нарушении ритма продукции гормона, так и в снижении его уровня. У всех инфертильных женщин было зафиксировано снижение уровня мелатонина сульфата в моче, как в дневное, так и в ночное время суток ($p > 0,05$).

При детальной оценке суточного ритма секреции мелатонина сульфата у пациенток было установлено, что, начиная с 24 часов, содержание мелатонина сульфата в моче возрастает в 2,4-2,5 раз по сравнению с предыдущим временным интервалом (21-24 часа): с $14,9 \pm 12,4$ нг/мл до $36,8 \pm 15,7$ нг/мл соответственно. Максимальная концентрация мелатонина сульфата приходится на 3-6 часов ($43,3 \pm 11,7$ нг/мл), с последующим постепенным его снижением. Самый низкий уровень мелатонина сульфата был зарегистрирован в 15-18 часов ($4,5 \pm 3,9$ нг/мл). Нами не было выявлено физиологического увеличения ночной концентрации мелатонина по сравнению с дневным его уровнем (в норме в 5-10 раз). Кроме того, пик уровня мелатонина у всех инфертильных женщин был смещен на 3-6 часов, вместо 2-4 часов. Так или иначе, но у всех пациенток позднего репродуктивного возраста с трубно-перитонеальным бесплодием имело место снижение уровня и нарушение ритма продукции мелатонина. Различий между группами не установлено ($p > 0,05$).

Нами предпринята попытка оценить эффективность применения мелатонина у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием позднего репродуктивного возраста. Полученные результаты свидетельствуют в пользу целесообразности дополнительного назначения экзогенного мелатонина в рамках программ ВРТ для повышения их эффективности в этой возрастной группе. Пациенткам был предложен прием препарата экзогенного мелатонина на этапе прегравидарной подготовки к программе ЭКО в дозе 3 мг в день, за 30 минут до сна, в течение 4 месяцев. Через 4 месяца прегравидарного приема препарата повторно проведена оценка гормонального гомеостаза.

В результате исследования не было выявлено статистически значимых различий ($p > 0,05$) в динамике уровня изучаемых гормонов в зависимости от приема экзогенного мелатонина. Прослеживалась тенденция к снижению среднего уровня ФСГ, ЛГ, уровень АМГ достоверно не изменился. Отмечена тенденция к снижению на фоне проводимой терапии средней концентрации пролактина, с $219,2 \pm 83,2$ МЕ/мл до $186,15 \pm 63,35$ МЕ/мл, но достоверных различий не выявлено ($p > 0,05$). Применение мелатонина также не влияло на содержание эстрадиола: до начала терапии - $35,7 \pm 3,2$ пг/мл, после - $38,4 \pm 3,8$ пг/мл ($p > 0,05$).

Однако исследование уровня прогестерона во II фазу менструального цикла (22-24 день) показало (табл.1), что его концентрация у пациенток, принимавших мелатонин, была достоверно выше по сравнению с женщинами, не принимавшими мелатонин. Внутригрупповое сопоставление уровня прогестерона до и после терапии мелатонином показало, что его достоверно значимое ($p < 0,05$) возрастание в сыворотке крови (в среднем с $10,9 \pm 4,3$ нмоль/л до $16,7 \pm 4,8$ нмоль/л) сопровождалось увеличением числа женщин с полноценным двухфазным менструальным циклом (с 13,8% до 29,3%, то есть более чем в 2,1 раза ($p < 0,05$)). Практически не изменилось число пациенток с недостаточностью лютеиновой фазы. Несмотря на тот факт, что количество пациенток с ановуляторными менструальными циклами

снизилось в 1,3 раза - с 53,4% до 41,4%, однако и по этому параметру значимых различий не было выявлено ($p>0,05$).

Таблица 1.

Содержание прогестерона после терапии мелатонином, нмоль/л.

Группы	n	M±m	Полноценная II фаза		Недостаточность лютеиновой фазы		Ановуляция	
			абс. числа	% к итогу	абс. числа	% к итогу	абс. числа	% к итогу
I	58	16,7±4,8*	17	29,3*	17	29,3	24	41,4
II	34	10,9±4,3	4	11,8	12	35,3	18	52,9

Примечание: * $p<0,05$.

Определение АМГФ в менструальной крови в динамике на фоне проводимой терапии позволило установить, что уровень АМГФ увеличился в 2,1 раза - с $4026,5\pm2801,2$ нг/мл до $8387,9\pm4986,9$ нг/мл ($p<0,05$). Его увеличение напрямую было связано с ростом концентрации прогестерона во II фазу менструального цикла на фоне терапии мелатонином и подтвердило известный факт, что АМГФ является прогестерон-зависимым эндометриальным белком. Выраженный дефицит продукции АМГФ, свидетельствующий о дисфункции эндометриальных желез, может являться маркером риска имплантационных неудач при ЭКО. Douglas N.C. et al. (2013) считают, что АМГФ предсказывает вероятность имплантации эмбриона у реципиенток донорских яйцеклеток при ЭКО: по их данным, АМГФ был выше у реципиенток, достигших беременности.

Изучение содержания мелатонина сульфата в моче на фоне проводимой терапии мелатонином показало, что его концентрация достоверно возрастала как в дневное, так и в ночное время суток. Так, среднесуточная концентрация мелатонина сульфата увеличилась в 2,3 раза, составив в среднем $61,9\pm43,0$ нг/мл ($p<0,05$). Дневной уровень мелатонина в среднем возрос с $13,3\pm7,4$ нг/мл до $29,4\pm9,9$ нг/мл, то есть в 2,2 раза ($p<0,05$). Ночной уровень мелатонина сульфат увеличился в среднем с $38,9\pm21,1$ нг/мл до $94,6\pm37,3$ нг/мл, то есть в 2,4 раза ($p<0,05$).

Детальная оценка суточного ритма секреции мелатонина сульфата обследованных показала, что проведенная терапия привела к достоверному увеличению мелатонина во все анализируемые временные интервалы (рисунок 1). Так, начиная с 21 часа, наблюдалось постепенное увеличение уровня мелатонина сульфата в моче с пиковой концентрацией в 24-3 часа. Обращает внимание, что высокий уровень мелатонина в моче сохранялся до 6 утра, с последующим постепенным его снижением. Низкое плато уровня мелатонина сульфата в моче регистрировалось в интервале 15-21 час.

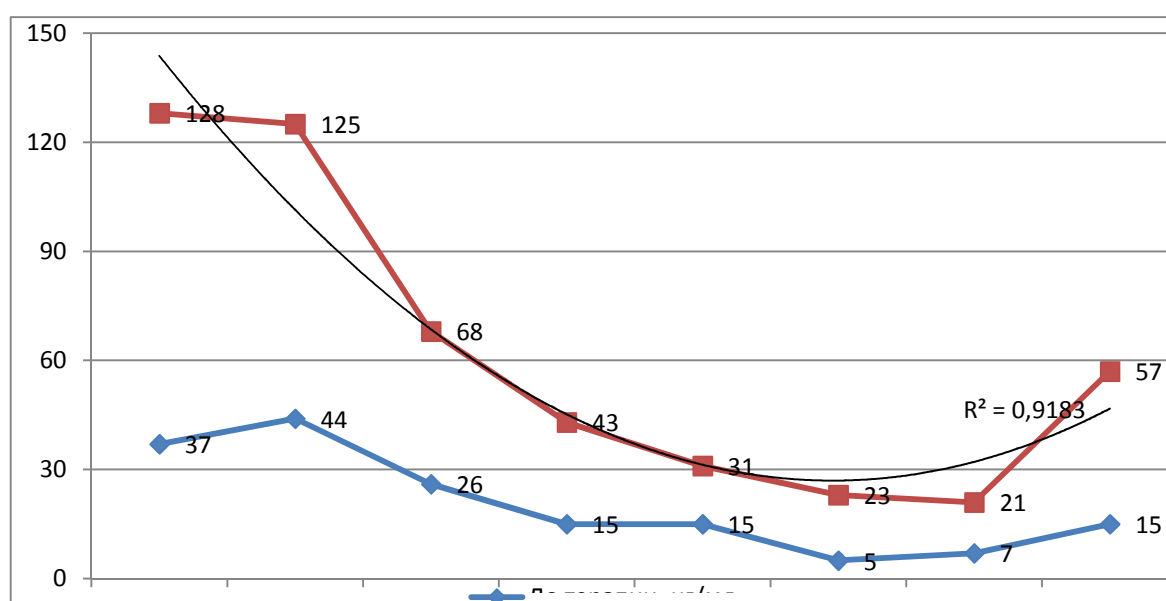


Рисунок 1. «Мелатониновая кривая» до и после терапии мелатонином.

После терапии мелатонином нормализовался ритм его выброса. Пиковый уровень мелатонина теперь приходился на физиологический временной интервал 2-4 часа. Кроме того, увеличилась разница между дневным и ночным уровнями мелатонина - ночной уровень мелатонина превышал дневной в 4 раза. Однако достичь 5-10 кратной разницы между ночным и дневным показателями, то есть приблизиться к физиологическим показателям, несмотря на дотацию экзогенного мелатонина, не удалось.

Преодоление трубно-перитонеального бесплодия. Анализ показателей фолликулогенеза и раннего эмбриогенеза показал, что количество аспирированных фолликулов достоверно отличалось между

группами. Так, у пациенток, получавших на прегравидарном этапе мелатонин, среднее число аспирированных фолликулов оказалось достоверно больше ($p < 0,05$) и составило $4,8 \pm 1,1$, в то время как у пациенток, не получавших мелатонин, - $3,1 \pm 1,2$. У одной женщины (1,7%), получавшей мелатонин, несмотря на стимуляцию суперовуляции в рамках программы ЭКО, не было получено ни одного фолликула.

У пациенток, принимавших мелатонин, было получено и достоверно большее ($p < 0,05$) число зрелых ооцитов – в среднем $2,9 \pm 1,1$, в то время как у пациенток без предгравидарной подготовки – только $2,2 \pm 1,3$. Не было выявлено статистически значимых различий ($p > 0,05$) в количестве полученных эмбрионов и бластоцист, однако в группе женщин, получавших в течение 4 месяцев мелатонин, прослеживалась тенденция к увеличению их числа у (соответственно, в I группе – в среднем $2,1 \pm 1,1$, во II группе - $1,8 \pm 0,9$). В целом, у 6 пациенток (6,5%) не было получено ни одного зрелого ооцита, в том числе у 4 получавших мелатонин (6,9%) и у двух, не получавших его 5,9% женщин ($p > 0,05$).

У 13 (14,1%) пациенток (в I группе - 8 (14,8%), во II группе - 5 (14,7%), ($p < 0,05$) не было получено ни одного эмбриона. Таким образом, до этапа переноса эмбрионов в полость матки не дошли 19 женщин, то есть каждая пятая (20,6%). Перенос эмбрионов в полость матки был осуществлен у 73 (79,3%) пациенток. Мы не проводили селективный перенос в полость матки одного эмбриона или не более двух эмбрионов. Учитывая «бедный» ответ яичников на индукторы овуляции в обеих группах, в полость матки осуществляли перенос всех качественных эмбрионов: в I группе их число составило в среднем $1,4 \pm 0,8$, во II группе - $1,1 \pm 0,9$ ($p < 0,05$).

В подавляющем большинстве (83,5%) проводился перенос эмбрионов в полость матки на третий день культивирования, когда эмбрионы достигали стадии 8 бластомеров, у остальных на пятый день. С данным положением согласны практически все репродуктологи: у женщин с низким показателем овариального резерва безопаснее переносить эмбрионы на третий день

культивирования (Назаренко Т.А., Краснопольская К.В., 2012), кроме того, частота наступления беременности выше (55,4% против 46,7%) при переносе трехдневных эмбрионов по сравнению с пятидневными (Li R.R. et al., 2013).

Оценка частоты наступления беременности в стимулированном цикле показала наличие тенденции к ее увеличению у женщин, получавших мелатонин (таблица 2).

Таблица 2.

Сравнительная частота наступления беременности и ее исход, на цикл.

Группы	n	Беременности		Ранние репродуктивные потери		Роды живым плодом	
		абс. числа	% к итогу	абс. числа	% к итогу	абс. числа	% к итогу
I	58	17	29,3	3	5,2	14	24,1
II	34	8	23,5	4	11,7*	4	11,7*
Всего	92	25	26,9	7	7,6	18	19,6

Примечание: * $p < 0,05$.

Беременность наступила у 25 пациенток (26,9%), при этом, как видно из данных, представленных в таблице 2, частота ее наступления у женщин, принимавших мелатонин, оказалась в 1,3 раза выше по сравнению с пациентками, его не принимавшими. Однако различия не были достоверными ($p > 0,05$).

Наблюдение в динамике за течением наступившей индуцированной беременности выявило, что терапия мелатонином на прегравидарном этапе способствует снижению частоты ранних репродуктивных потерь. В группе женщин, не принимавших мелатонин, у четырех из 8 забеременевших (50,0%) беременность прервалась на ранних сроках гестации (у одной – ранний самопроизвольный выкидыш, у трех – неразвивающаяся беременность). В то же время у пациенток, получавших мелатонин, ранние репродуктивные потери диагностированы лишь у трех из 17 (17,6%), то есть

в 2,8 раза меньше ($p < 0,05$). В структуре ранних репродуктивных потерь преобладала неразвивающаяся беременность, достоверно чаще ее диагностировали у пациенток, не принимавших мелатонин (37,5%).

В подавляющем большинстве (82,4%) у женщин, получавших терапию мелатонином, наступившая беременность после ЭКО завершилась родами живым плодом, в то время как у женщин, не принимавших мелатонин, роды живым плодом имели место лишь у половины (50%).

На рисунке 2 представлено наше видение механизма влияния мелатонина на репродуктивную систему.

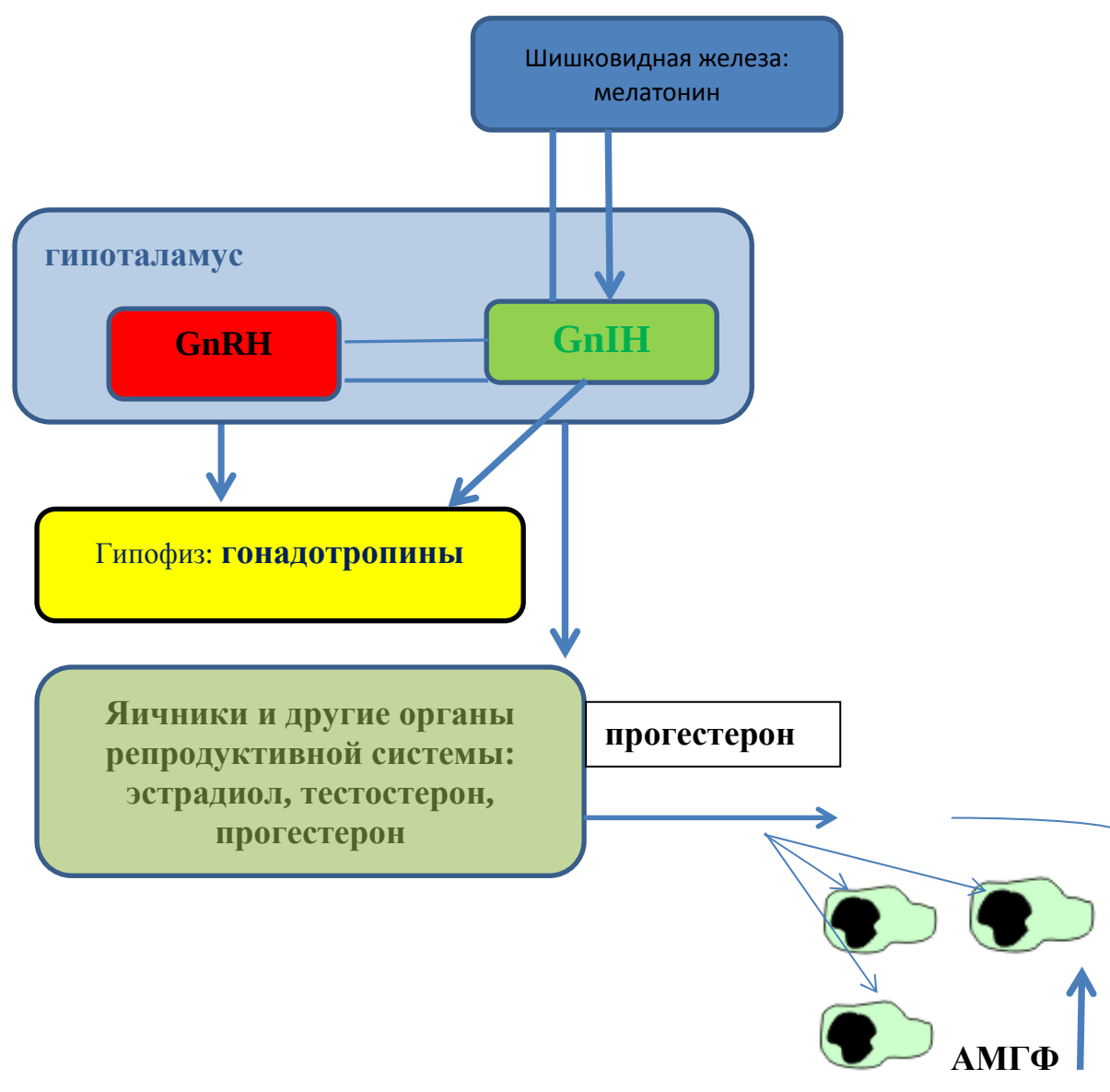


Рис.2. Механизм влияния мелатонина на репродуктивную систему женщин.

ВЫВОДЫ.

1. Клиническими факторами риска неудачных попыток ЭКО у женщин позднего репродуктивного периода с трубно-перитонеальным бесплодием являются: возраст старше 35 лет; длительность бесплодия свыше 7 лет; отягощенный соматический анамнез – болезни органов пищеварения (44,6%), мочеполовой системы (35,8%); сопутствующие гинекологические заболевания - хронический сальпингоофорит (76,1%), хронический эндометрит (32,6%); оперативные вмешательства в анамнезе (82,6%); выжидательный период после оперативного лечения (свыше одного года); искусственный аборт как исход первой беременности в анамнезе (53,1%). Недоучет этих факторов приводит к неадекватной оценке состояния репродуктивной системы и способствует снижению эффективности программ ЭКО.

2. У всех пациенток позднего репродуктивного возраста с трубно-перитонеальным бесплодием снижен уровень мелатонина сульфата в моче на фоне отсутствия физиологического 5-10 кратного увеличения ночной концентрации его по сравнению с дневным уровнем (концентрация в ночное время превышает дневные показатели лишь в 2,5 раза). Пиковый уровень мелатонина смещен на 3-6 часов, вместо физиологических 2 - 4 часов.

3. Прием мелатонина не оказывает влияния на состояние фолликулярного запаса: АМГ и ФСГ достоверно не меняются на фоне его применения. Но мелатонин способствует достоверному увеличению концентрации прогестерона и прогестерон-зависимого эндометриального белка АМГФ, что способствует увеличению частоты полноценных двухфазных менструальных циклов более чем в 2,1 раза (с 13,8% до 29,3%) ($p < 0,05$) и снижению в 1,3 раза частоты ановуляторных менструальных циклов (с 53,4% до 41,4%) ($p < 0,05$).

4. Терапия мелатонином способствует приближению «мелатониновой кривой» к физиологическим показателям: нормализуется время пикового выброса этого гормона – в 2-4 часа; увеличивается разница между дневным

и ночным уровнями мелатонина – ночная концентрация превышает дневную в 4 раза.

5. Частота наступления беременности в программах ЭКО у женщин позднего репродуктивного возраста с трубно-перитонеальным бесплодием не зависит от приема мелатонина и составляет 26,9% на одну попытку, но его дотация достоверно увеличивает количество аспирированных фолликулов. В то же время ответ на стимуляцию гонадотропинами снижен («бедный»); мелатонин не влияет на показатели раннего эмбриогенеза.

6. Прегравидарный прием мелатонина необходимо рекомендовать пациенткам позднего репродуктивного возраста с трубно-перитонеальным бесплодием как препарат, способствующий полноценной инвазии трофобласта опосредованно через достоверное увеличение прогестерона и прогестерон-зависимого эндометриального белка АМГФ, повышая тем самым качество имплантации. Это определяет более успешный исход наступившей беременности: снижение в 2,8 раза числа ранних репродуктивных потерь (17,6% против 50%, $p < 0,05$) и увеличение в 1,6 раза частоты родов живым плодом (82,4% против 50%, $p < 0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.

1. Всем инфертильным женщинам необходимо определение количества мелатонина в моче. Сниженную экскрецию мелатонина необходимо корректировать.
2. Женщины позднего репродуктивного возраста представляют группу риска по снижению экскреции мелатонина.
3. Прегравидарный прием экзогенного мелатонина на этапе подготовки к программе ЭКО в дозе 3 мг в день, за 30 минут до сна, в течение 4 месяцев увеличивает эффективность стимуляций суперовуляций и частоту живорождений.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.

1. Ермоленко К.С., Бондаренко К.В., Гагаев Ч.Г., Колесников Д.Б., Соловьева А.В. Результативность ЭКО у женщин старшего репродуктивного

возраста // **Вестник РУДН. Серия Медицина. Акушерство и гинекология.** – 2012. - №5. - С.13-17.

2. Ермоленко К.С., Рапопорт С.И., Соловьева А. В. Секреция мелатонина у женщин старшего репродуктивного возраста // **Клиническая медицина.** – 2013. - №7. - С.52-54.

3. Ермоленко К.С., Гагаев Ч.Г., Соловьева А. В., Рапопорт С.И. Новые пути решения проблемы бесплодия в старшем репродуктивном возрасте // **Вестник РУДН. Серия Медицина. Акушерство и гинекология.** – 2013. - №5. - С.130-136.

4. Колесников Д.Б., Ермоленко К.С., Соловьева А.В. Психическое состояние женщин с бесплодием в старшем репродуктивном возрасте // **Клиническая медицина.** – 2013. - №6. - С.38-41.

КОРРЕКЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ МЕЛАТОНИНА В ПРОГРАММАХ
ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Ермоленко Кристина Станиславовна
(Россия)

С целью улучшить исходы программ ВРТ за счет включения в прегравидарную подготовку коррекцию нормализации содержания мелатонина обследованы и пролечены 92 женщины старше 35 лет с трубно-перитонеальным бесплодием. В результате исследования расширены представления о патогенезе неудач ЭКО в изучаемой когорте, дополнены теоретические представления о роли эпифизарного гормона мелатонина в репродукции, обоснована необходимость коррекции мелатонина в крови перед ВРТ. Включение нормализации содержания мелатонина в алгоритм прегравидарной подготовки женщин старше 35 лет с трубно-перитонеальным бесплодием в программах ЭКО позволило в 2,8 раза снизить частоту ранних репродуктивных потерь и в 1,6 раза увеличить частоту живорождений.

CORRECTION OF MELATONIN CONTENT IN PROGRAMS OF ASSISTED
REPRODUCTIVE TECHNOLOGY

Ermolenko Kristina Stanislavovna
(Russia)

In order to improve the results of IVF programs via an inclusion in pregravidar preparation the correction of normalization of melatonin content were examined and treated 92 women older than 35 years with tubal peritoneal infertility. As a result of research the knowledge of the pathogenesis of IVF failure of studied women has been expanded, theoretical understanding of the role of the epiphyseal hormone melatonin in the reproduction has been supplemented, the necessity of correction of melatonin in the blood before IVF has been substantiated. The inclusion of the normalization of melatonin in the algorithm pregravidar preparation for women older than 35 years with tubal peritoneal infertility in IVF programs allowed to reduce the incidence of early reproductive losses up to 2,8 times and increase the frequency of live births up to 1,6 times.