
НОВЫЕ ПУТИ РЕШЕНИЯ ПРОБЛЕМЫ БЕСПЛОДИЯ В СТАРШЕМ РЕПРОДУКТИВНОМ ВОЗРАСТЕ

**К.С. Ермоленко, Ч.Г. Гагаев,
А.В. Соловьева**

Кафедра акушерства и гинекологии с курсом перинатологии
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Макля, 8, Москва, Россия, 117198

С.И. Рапопорт

Лаборатория «Хрономедицина и новые технологии
в клинике внутренних болезней»
Первый московский государственный медицинский
университет имени И.М. Сеченова
ул. Россолимо, 11, Москва, Россия, 119435

Эффективность экстракорпорального оплодотворения напрямую зависит от возраста пациентки. «Бедный» ответ яичников, ухудшение качества ооцитов, снижение качества получаемых из них эмбрионов, утрата ими способности к имплантации в эндометрий препятствуют наступлению беременности. В то же время установлено, что большую роль в старении организма играет нейропептид мелатонин. Этот гормон, присутствующий в органах женского репродуктивного тракта, участвует в понижении степени окислительного стресса в фолликулах яичников и защищает ооциты от повреждающего действия свободных радикалов. Целью нашей работы явилось изучение результатов лечения бесплодия методами ВРТ с включением экзогенного мелатонина на основе данных уровня продукции мелатонина у женщин старшего репродуктивного возраста с диагностированным бесплодием. В результате нашего исследования обнаружено, что для женщин старшего репродуктивного возраста характерно резкое снижение секреции мелатонина, что является отражением расстройства гипоталамо-гипофизарного звена репродуктивной системы. Назначение экзогенного мелатонина — «Мелаксен» увеличивает частоту наступления беременности у пациенток старшей возрастной группы.

Ключевые слова: ЭКО, старший репродуктивный возраст, мелатонин.

Позднее материнство — тенденция, возникновением которой ознаменовалось начало XXI века в России. Однако биологические возможности деторождения потенциальных матерей старшего репродуктивного возраста ограничены естественным снижением фертильности и бесплодием. Поэтому проблема позднего материнства оказывается тесно связанной с проблемой восстановления репродуктивной функции и ВРТ. По оценке разных авторов, частота наступления беременности у пациенток старшего репродуктивного возраста составляет не более 15% [3, 5, 9, 10, 12, 15]. Это обусловлено как физиологическими процессами постепенного угасания функции яичников — уменьшение количества яйцеклеток [1, 7, 12, 13], так и увеличением числа дегенеративных ооцитов, анеуплоидией и снижением частоты оплодотворения [4, 8].

В то же время установлено, что большую роль в старении организма играет нейропептид мелатонин [2]. Одной из основных функций мелатонина является синхронизация работы всех органов и систем организма, в том числе гипоталамо-

гипофизарного звена репродуктивной системы. Десинхронизация циркадианной периодичности шишковидной железы, которая выражается в снижении ночных пиков мелатонина, может быть связана с угасанием фертильной функции женщины, началом и развитием менопаузы [14, 16].

В настоящее время продолжает возрастать интерес к изучению роли эпифиза и его гормона мелатонина в регуляции физиологических и патологических состояний организма человека. Мелатонин, присутствующий в органах женского репродуктивного тракта, участвует в понижении степени окислительного стресса в фолликулах яичников и защищает ооциты от повреждающего действия свободных радикалов [16]. Данные отечественных исследований показали снижение уровня мелатонина у женщин с климактерическим синдромом. Использование препарата мелатонина «Мелаксен» как в монотерапии, так и в комбинации с препаратами заместительной гормонотерапии позволяет эффективно купировать симптомы климактерического синдрома и метаболические нарушения у женщин в перименопаузе [6].

Назначение экзогенного мелатонина увеличивает концентрацию мелатонина в фолликулярной жидкости, снижает уровень оксидативного стресса, увеличивает частоту оплодотворения [11].

Учитывая вышеизложенное, целью нашей работы явилось изучение результатов лечения бесплодия методами ВРТ с включением экзогенного мелатонина на основе данных уровня продукции мелатонина у женщин старшего репродуктивного возраста с диагностированным бесплодием.

Материалы и методы исследования. Перед проведением исследовательской работы всеми пациентками было подписано информированное добровольное согласие на прием препарата экзогенного мелатонина — «Мелаксен» 3 мг.

Исследование проводилось в 2 этапа:

1-й этап: обследование морфофункционального состояния репродуктивной системы, изучение определения уровня продукции мелатонина у женщин старшего репродуктивного возраста.

2-й этап: лечение, направленное на достижение беременности, анализ полученных данных.

Материалы и методы исследования на 1-м этапе работы. В соответствии с поставленной целью исследования на 1-м этапе были сформированы две группы:

— основная группа — 38 пациенток старшего репродуктивного возраста (от 37 лет и более), соматически здоровых, обратившихся в отделение ЭКО по поводу бесплодного брака;

— контрольная группа — 16 добровольцев (женщины), от 28 до 35 лет, соматически здоровых, с реализованной репродуктивной функцией.

Для получения общеклинической картины все женщины были проконсультированы терапевтом, неврологом, проведен мониторинг артериального давления (АД), электрокардиография (ЭКГ). При обследовании эндокринной системы оценивался уровень глюкозы крови натощак, уровень гормонов щитовидной железы

с последующей консультацией врача-эндокринолога. Обязательным являлось проведение маммографии или ультразвуковое исследование молочных желез и консультация маммолога. По показаниям проводилась консультация других специалистов.

Для оценки гинекологического здоровья пациенток использовались общепринятые методы обследования: сбор анамнеза, жалобы, гинекологический осмотр, кольпоскопия, ультразвуковое исследование органов малого таза на третий — пятый день менструального цикла.

Всем женщинам проводили определение уровня половых гормонов в крови (антимюллеров гормон, ФСГ, ЛГ), концентрации метаболита мелатонина — мелатонина сульфата в моче в 8 точках в течение суток каждые 3 часа методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-системы IBL: melatonin sulfat 6-sulfatoxymelatonin, ELISA, Hamburg, в лаборатории клиники акушерства и гинекологии Первого МГМУ имени И.М. Сеченова.

Обработка данных осуществлялась с использованием лицензионного пакета STATISTICA версии 6.0 и EXCEL 2003, SPSS 13.0, MegaStat.

Материалы и методы исследования на 2-м этапе работы. На 2-м этапе исследования в связи с выявлением нарушения секреции мелатонина в основной группе 21 пациентке был предложен прием препарата экзогенного мелатонина на этапе прегравидарной подготовки к программе ЭКО (ИКСИ) и ПЭ.

Группу контроля составили 17 пациенток, проходивших лечение бесплодия методами ВРТ без прегравидарной подготовки препаратом мелатонина.

Пациентки исследуемой группы на этапе предгравидарной подготовки принимали препарат мелатонина «Мелаксен» в дозе 3 мг в день, за 30 минут до сна, в течение 4 месяцев, далее они проходили лечение бесплодия методами ВРТ по стандартной схеме.

Стимуляцию суперовуляции рекомбинантным ФСГ («Гонал Ф», «Сероно», Швейцария) проводили по короткой схеме со 2—3-го дня менструального цикла с последующим использованием антагониста ГнРГ цетрореликса («Цетротид», «Сероно», Швейцария) в ежедневной дозе 0,25 мг. Введение антагониста ГнРГ осуществляли по достижении одним фолликулом диаметра 13—14 мм или несколькими фолликулами 12—13 мм.

Триггером овуляции во всех случаях являлся хорионический гонадотропин, доза которого составила 10 000 Ед. Через 35—36 часов после инъекции ХГ проводили трансвагинальную пункцию яичников с целью аспирации преовуляторных ооцитов и последующей их инсеминацией спермой мужа с использованием метода ИКСИ.

Перенос эмбрионов в полость матки осуществляли на 3 и/или 5-е сутки после начала культивирования *in vitro* посредством специального одноразового катетера K-JETS-7019-SIVF, Cook IrelandLtd. Посттрансферный период вели по общепринятой схеме.

Беременность диагностировали на основании определения сывороточной концентрации β -субъединицы ХГ через 14 дней после переноса эмбрионов в полость

матки. Ультразвуковую диагностику клинической беременности проводили через 21 день после переноса эмбрионов.

Результаты исследования и их обсуждение. Критерии отбора предопределили отсутствие серьезных соматических заболеваний у всех пациенток.

У 100% пациенток наблюдался регулярный овуляторный менструальный цикл.

Прерывание беременности до 12 недель (медицинский аборт) было зарегистрировано у 53% женщин, воспалительные заболевания женских половых органов в анамнезе отмечены у 92% женщин.

Средний возраст в основной группе составил $37,5 \pm 0,19$ года, средний возраст пациенток, включенных в контрольную группу, — $34 \pm 1,3$ года.

Анализ причин бесплодия у пациенток исследуемой группы показал, что подавляющее большинство супружеских пар имели сочетанные факторы бесплодия (48%) (рис. 1).

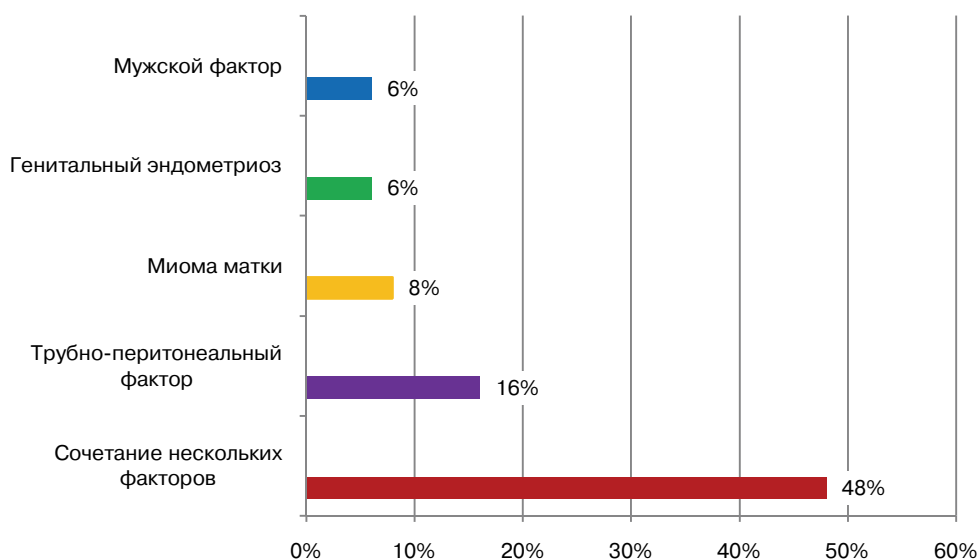


Рис. 1. Причины бесплодия у пациенток позднего репродуктивного возраста

Среди пациенток контрольной группы, после самопроизвольной беременности, одни роды были у 10 (62,5%) женщин, двое и более родов — у 6 (37,5%).

Уровень ФСГ на 3—5-й день цикла у всех женщин был < 10 МЕ/л, что свидетельствовало о нормальном овариальном резерве, согласно этому критерию.

В отношении АМГ прослеживалась совершенно иная тенденция. Уровень АМГ в сыворотке крови в исследуемой группе был существенно ниже, чем в группе контроля ($p < 0,05$).

Экскреция мелатонина в различное время суток значительно отличалась в исследуемой и контрольной группах (рис. 2). Наибольшие отличия отмечались в 3 часа и в 6 часов. Наименьшая разница зарегистрирована в 18 часов. За сутки среднее

значение мелатонина составило $20,7 \pm 4,4$ нг/мл в основной группе, что в 3,4 раза ниже, по сравнению с группой контроля — $70,9 \pm 8,5$ нг/мл.

Низкие уровни мелатонина имели положительную корреляционную связь с низкими уровнями АМГ ($p < 0,05$).

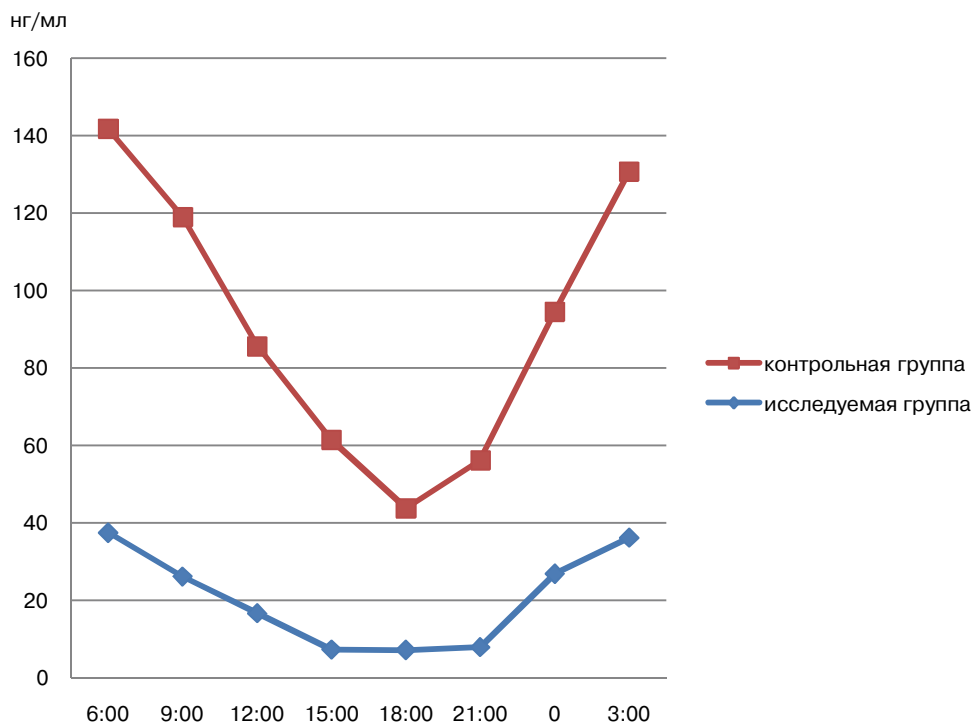


Рис. 2. Показатели суточной экскреции мелатонина в моче у женщин позднего репродуктивного возраста

У пациенток исследуемой группы, в схему предгравидарной подготовки которых был включен препарат экзогенного мелатонина, уровень ФСГ снизился в 1,4 раза, ЛГ — в 1,6 раз, что, вероятно, связано с влиянием мелатонина на механизмы синтеза гонадотропинов. Отмечено, что на фоне терапии мелатонином нормализовались значения эстрадиола.

Уровень АМГ в сыворотке крови на фоне приема мелатонина достоверно не изменялся.

Маточная беременность в исследуемой группе наступила у 8 пациенток (38%), в группе контроля — у 3 пациенток (17,6%).

Выводы

Таким образом, у женщин старшего репродуктивного возраста отмечалось резкое снижение секреции мелатонина, что является отражением расстройства гипоталамо-гипофизарного звена репродуктивной системы. Применение препарата «Мелаксен» на этапе предгравидарной подготовки позволило увеличить результа-

тивность программ ВРТ: в 2 раза чаще наступала беременность в программах ЭКО и ПЭ. Нормализация уровня мелатонина в организме женщин сопровождалось восстановлением функции гипоталамо-гипофизарной оси. Целесообразно дальнейшее изучение влияния мелатонина на репродуктивную сферу и его перспективность использования у пациенток позднего репродуктивного возраста, страдающих бесплодием.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Amirova A.A., Nazarenko T.A., Mishiev N.G.* Factors influencing the outcomes of IVF (review of literature) problems of reproduction. 2010; P. 68—74.
- [2] *Anisimov V.N., Vinogradova I.A.* Ageing of the female reproductive system and melatonin. — St. Petersburg: Systema, 2008.
- [3] *Cheng E.Y., Hunt P.A., Nalwai-Cecchini T.A. et al.* Meiotic recombination in human oocytes. PLoS Genet. 2009 Sep;5(9): e1000661.
- [4] *Daniel H., Mendez Lozano et al.* Management of women with poor ovarian response to Superovulation stimulation through art programmes. Problems of reproduction. 2008; 1: P. 37—41.
- [5] *Ermolenko K.S., Bondarenko, K.V., Gagaev Ch.G., Kolesnikov D.B., Solovyeva A.V.* Effectiveness of IVF women older reproductive age // Bulletin of Peoples' Friendship University of Russia. Series "Medicine. Obstetrics and Gynecology". — 2012. — № 5. — P. 13—17.
- [6] *Gafarova E.A., Maltseva L.I.* The role of melatonin in women of menopausal syndrome and the possibility of the use of melatonin in the treatment of pathological symptoms of menopause. BREAST man and Medicine. — 2005. — Vol. 13, № 7.
- [7] *Hassold T., Hunt P.* Maternal age and chromosomally abnormal pregnancies: what we know and what we wish we knew // Curr Opin Pediatr. — 2009. — Dec; 21(6). — P. 703—8.
- [8] *Hiroshi Tamura, Akihisa Takasaki et al.* The role of melatonin as an antioxidant in the follicle // J Ovarian Res. 2012; 5: 5.
- [9] *Mishneva N.G.* Infertility in women reproductive age: principles of diagnosis and treatment on ovarian reserve. — Moscow, 2008.
- [10] *Obstetrics: national leadership. Quick Start Guide / ed. A.C. Ajlamazian, V.N. Serov, V.E. Radzinsky, G.M. Savelyeva.* — M.: GEOTAR-media, 2012.
- [11] *Oosthuizen G.M.* A role for melatonin in breast disease and the menopause / G.M. Oosthuizen, G. Joubert, R.S. du Toit // S. Afr. Med. J. — 2001. — Vol. 91. — N 7. — P. 576—577.
- [12] *Radzinskiy V.E., Ordianc I.M., Orazmuradov A.A.* Women's consultation — 3-ed. — M.: GEOTAR-media, 2009.
- [13] *Reproductive health: Stud. posob / Ed. V.E. Radzinsky.* — M.: RUDN, 2011.
- [14] *Rohr U.D.* Melatonin deficiencies in women / U.D. Rohr, J. Herold // Maturitas. — 2002. — Suppl. 1. — Vol. 15. — N 41. — P. 85—104.
- [15] *Shuliak I.Yu., Kurilo L.F., Adamyan I.V. etc.* The follicular system // Problems of reproduction. — 2008. — Vol. 1. — P. 173—77.
- [16] *Tamura H., Takasaki A., Miwa I., Taniguchi K., Maekawa R. et al.* Oxidative stress impairs oocyte quality and melatonin protects oocytes from free radical damage and improves fertilization rate // J Pineal Res. — 2008. — 44. — P. 280—287.

NEW WAYS TO OVERCOME INFERTILITY PROBLEM IN WOMEN OF ADVANCED REPRODUCTIVE AGE

K.S. Ermolenko, C.G. Gagaev, A.V. Soloveva

Dep. of obstetrics and gynecology with a course of perinatology
Peoples' Friendship University of Russia
Mikluho-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198

S.I. Rapoport

Laboratory «Chronomedicine and new technologies in clinic of internal diseases»
First Moscow State Medical University of I.M. Setchenov
Rossolimo str., 11, Moscow, Russia, 119435

Assisted reproductive technologies (ART) efficacy directly depends on patient reproductive age. "Poor" ovary response, diminished quality of oocytes and embryos obtained and as a result decreased ability of blastocyst nidation to decidua are obstacles to good results of ART program. Melatonin, a neuropeptide, is well-known to be deeply involved in the process of organism ageing. This hormone takes part in oxidative stress degree decreasing in ovary follicles and defends oocytes from aggression of free radicals. The aim of this study was to assess the outcome of traditional ART program with additional correction with exogenic melatonin in infertile women of advanced reproductive age. It was characteristic for infertile patients of advanced reproductive age to have sharp decrease in levels of melatonin secretion. This reflects disturbances of hypothalamo-pituitary chain of reproductive system. Additional donation of exogenic melatonin (Melaxen) in some cases of ART program potentially increases the chances of successful outcome.

Key words: IVF, advanced reproductive age, melatonin.