

# Роль мелатоніну у репродуктивній реалізації жінок з безплідністю

**В.В. Орлова, Л.В. Суслікова**

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

Поширеність безплідності, зокрема трубно-перитонеального генезу, привело до розвитку допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) як найефективнішого методу лікування і досягнення очікуваної вагітності. Але успіх ДРТ становить близько 40% і залежить від багатьох факторів: генетичних, імунологічних, гормональних, вікових, методів контрольованої оваріальної стимуляції, стану якості сперматозоїдів, кількості та якості отриманих ооцитів й ембріонів та імплантаційної здатності ендометрія. Тому важливим є розгляд механізмів та факторів, що лежать в основі успішної імплантації. Особливу увагу привертає вивчення процесів окиснювального стресу та порушень апоптозу у репродуктивному тракті жінок з безплідністю.

В умовах дії несприятливих чинників і патології, у результаті зниження здатності клітини до нейтралізації вільних радикалів та активних форм кисню порушується антиоксидантний захист, розвивається окиснювальний стрес, що спричинює запуск апоптозу. Запрограмована загибель клітин спостерігається при фізіологічному функціонуванні репродуктивної системи: атрезія фолікулів і регресія функціонального шару ендометрія у випадку ненастання вагітності. Проте на сьогодні підтверджено негативний вплив окиснювального стресу та порушення регуляції апоптозу на репродуктивну функцію, а саме – на успіх запліднення *in vitro*. Також використання ДРТ передбачає деякі негативні впливи на гамети та ембріони, що супроводжується виникненням окиснювального стресу та знижує ймовірність настання вагітності.

Мелатонін є універсальним гормоном, що відіграє ключову роль у функціонуванні статевих гормонів та володіє потужними антиоксидантними властивостями. Як ключовий регулятор антиоксидантного захисту на біохімічному та гормональному рівнях, мелатонін позитивно впливає на процеси дозрівання яйцеклітини та підготовку ендометрія до імплантації. Тому є досить обґрунтованим використання мелатоніну під час лікування методами ДРТ. Багато досліджень присвячено вивченню ефективності використання екзогенного мелатоніну у лікуванні безплідності, але на сьогодні рівень доказовості є недостатнім для його використання у ДРТ.

**Ключові слова:** мелатонін, безплідність, окиснювальний стрес, апоптоз, допоміжні репродуктивні технології.

Проблема безплідності є актуальним питанням у всьому світі незважаючи на інтенсивний розвиток репродуктології та ембріології. За даними Європейської асоціації репродуктологів, у будь-якій країні орієнтовно 10% безплідних подружніх пар, що становить більше 80 млн людей у світі, а в Україні – близько 1 млн. У нашій країні кожна п'ята сім'я є безплідною [7].

У структурі безплідності жіночий фактор становить 30%. Трубно-перитонеальний фактор є основною причиною жіночої безплідності і становить від 20 до 72% всіх форм порушення репродуктивної функції [1, 4], він не має тенденції

до зниження. Незважаючи на досягнення сучасної медицини, трубно-перитонеальна безплідність досі залишається одним з найтяжчих патологічних станів з урахуванням складності його діагностики і лікування, а також можливості відновлення репродуктивної функції.

Найефективнішим шляхом досягнення вагітності за трубно-перитонеальної безплідності є використання допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ). Потреба у проведенні циклів ДРТ в Україні становить близько 360 на 1 млн населення, або 45–47 тис. циклів на рік. При цьому ефективність цього методу не перевищує 40%. Основною метою сучасного лікування у циклах ДРТ має бути народження у строк однієї здорової дитини, тому питання удосконалення програм ДРТ та вивчення нових факторів, що впливають на позитивну імплантацію з нормальним перебігом вагітності є основним питанням сучасної світової репродуктології.

Успішність ДРТ залежить від багатьох факторів: генетичних, імунологічних, гормональних, вікових, методів контрольованої оваріальної стимуляції, стану якості сперматозоїдів, кількості та якості отриманих ооцитів й ембріонів та імплантаційної здатності ендометрія. Безліч досліджень присвячено вивченню факторів, що впливають на результати ДРТ, та особливу увагу привертає вивчення процесів окиснювального стресу (ОС) та порушень апоптозу у репродуктивному тракті.

## Стан про/антиоксидантної системи у репродуктивному тракті жінок

ОС відбувається протягом усього репродуктивного життя жінки і навіть в період менопаузи. Вільні радикали кисню беруть участь у самих різних клітинних процесах – як фізіологічного, так і патологічного характеру, що перебігають у жіночому репродуктивному тракті та діють через модуляцію експресії генів та факторів транскрипції (Harvey et al., 2002; Dennergy, 2004). Фізіологічні рівні активних форм кисню (АФК) у жіночій репродуктивній системі є ключовими молекулами сигналу, що модулюють різні репродуктивні функції, такі, як дозрівання ооцитів, функціонування маткових труб та циклічні зміни ендометрія, фолікулогенез, овуляція [29, 53], запліднення [37], імплантація та розвиток ранніх ембріонів. Проте збільшення виробництва АФК може негативно вплинути на мікросередовище у репродуктивному тракті та на фізіологічне функціонування [14], що у підсумку впливає на хід і результат вагітності [13].

Вільнорадикальні процеси та діяльність антиоксидантних систем становлять одне ціле – окиснювальний метаболізм, що є одним з базових компонентів обміну речовин, який підтримується відповідними гомеостатичними механізмами [5]. ОС виникає за диспропорції між прооксидантами та антиоксидантами. ОС має безпосередньо токсичну дію на клітини і призводить до індукції перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), підвищення рівня окиснених білків і пошкодження ДНК.

В останні десятиріччя ретельно вивчається роль АФК у виникненні та прогресуванні апоптозу. На сьогодні факт участі АФК і окиснювальних реакцій у процесі апоптозу є незаперечним. У результаті запуску апоптозу вибраковуються клітини з аномально високим рівнем продукції АФК. Безумовно, що процеси синтезу АФК перебігають у всіх аеробних клітинах під контролем антиоксидантної системи, але розвиток ОС може призвести до загибелі клітини. Утворення АФК забезпечує модуляцію «програмованої загибелі клітин» – апоптозу.

Пряма дія  $H_2O_2$ , NO, пероксинітриту, а також радіації, ультрафіолетового випромінювання, токсичних лікарських препаратів, які індують утворення АФК, спричинює апоптоз. За різних форм індукovanого апоптозу спостерігається зниження активності елементів антиоксидантного захисту клітин. Клітини, що мають дефекти антиоксидантного захисту, найбільш чутливі до запрограмованої загибелі.

Отже, в умовах дії несприятливих чинників і при патологіях у результаті зниження здатності клітини до нейтралізації вільних радикалів (ВР) та АФК порушується антиоксидантний захист, розвивається ОС, що зумовлює запуск апоптозу. Апоптоз – це генетично контрольований молекулярний (біохімічний) механізм, відповідальний за підтримання постійної кількості нормальних клітин, вибракування і видалення дефектних клітин, отже відповідно за виживання, старіння і смерть клітин і тканин організму. У здоровому організмі процес апоптозу збалансований процесом фізіологічної регенерації клітини. Як правило, апоптоз – це результат опосередкованої (через рецепторні системи клітини) неспецифічної або нефізіологічної дії зовнішніх чинників, які є індукторами, що здатні за інтенсивної дії спричинити загибель клітини. Потужними фізіологічними факторами, що індують або інгібують загибель клітини залежно від стадії її диференціювання, є гормони, у тому числі статеві [6].

Запрограмована загибель клітин відбувається за фізіологічного функціонування репродуктивної системи. Це зумовлено необхідністю циклічного росту та ремоделювання тканин, що здійснюється протягом життя до настання менопаузи. «Вмираючі клітини» були описані у графських фолікулах яєчників кроликів ще у 1885 р., тоді це явище називалося хроматолізом, а не апоптозом. Явище апоптозу у репродуктивному тракті є основою атрезії фолікулів і регресії функціонального шару ендометрія у випадку ненастання вагітності.

У гонадах, ще внутрішньоутробно, виробляється набагато більше зародкових клітин, ніж це потрібно, позаяк велика їхня кількість бере участь у циклічних процесах і витрачається протягом життя у значній кількості. Установлено, що апоптоз виникає у трьох різних типах яєчникових клітин: ооцитах, клітинах гранулози і жовтого тіла. Апоптоз ооцитів у нормі спостерігається тільки під час внутрішньоутробного розвитку (Morita & Tilly, 1999), але ооцити дорослого яєчника зберігають здатність до апоптозу. У клітинах гранулози зростаючих яєчників апоптоз спостерігається під час фолікулогенезу (Yuan & Giudice, 1997), переважно у гранулозних клітинах антральних фолікулів. На ранніх стадіях фолікулогенезу виявляють лише поодинокі апоптотичні клітини гранулози. Під час регресії жовтого тіла у його клітинах також реєструють апоптоз, він досягає максимуму на 12-й день після овуляції (Vaskivuo T. et al., 2001).

Процес апоптозу координується гіпофізарними та яєчковими гормонами. Фолікулостимулювальний гормон (ФСГ) та лютеїнізуючий гормон (ЛГ) захищають клітину від запрограмованої смерті. Отже, атрезії підлягають ті фолікули, для яких рівень ФСГ є недостатнім, і запускається механізм апоптозу. Далі зростаючий домінуючий

фолікул починає продукувати естрогени з андрогенів клітин гранулози під впливом ФСГ та ЛГ. Пік рівня ЛГ сприяє овуляції та розвитку жовтого тіла, що продукує прогестерон за підтримки хоріонічного гонадотропіну (ХГ). Якщо вагітність не настає, рівень ЛГ, ХГ та прогестерону знижується і запускаються апоптоз та регресія жовтого тіла.

У фізіологічних аеробних умовах ендометрій є прикладом балансу між АФК та успішною антиоксидантною системою. Стромальні клітини ендометрія слугують потенційним джерелом АФК та супероксиддисмутази (СОД), що збалансовують один одне і відіграють дуже важливу роль у фізіології репродукції. Протягом менструального циклу апоптоз також виявляють в ендометрії, у стромальних клітинах [58]. У нормі процеси проліферації та апоптозу перебувають у постійному балансі, що контролюється статевими гормонами. У проліферативну фазу циклу в ендометрії відзначають лише поодинокі апоптотичні клітини, тоді як у секреторну фазу апоптоз посилюється [12]. Підвищення апоптозу спостерігається за наближення до секреторної фази, і сягає максимуму під час десквамації ендометрія [58].

Успішна імплантація полягає у децидуалізації стромальних клітин [30], та антиоксидантна система є важливою для успішної трансформації ендометрія [45]. В ендометріальному залозистому епітелії відбувається постійна імунозабезпеченість СОД протягом менструального циклу, тому що її активність підвищується під впливом естрогену та прогестерону. Якщо відбулася успішна імплантація, то активність СОД в ендометрії підтримується на високому рівні (вплив прогестерону), а тому пригнічується виробництво АФК і згодом – рівень PGF2 $\alpha$  (простагландинів F2 $\alpha$ ). Якщо вагітність не настала, у результаті лютеолізу знижується рівень прогестерону, запускається процес апоптозу та починається менструація [45].

### Розвиток ОС та апоптозу при безплідності

На сьогодні підтверджено негативний вплив ОС та порушення регуляції апоптозу на репродуктивну функцію. Відомо, що за певних умов навіть фізіологічний рівень АФК у клітинах може сприяти не тільки їхньому виживанню, проліферації і диференціації, а й спричинювати загибель шляхом індукції апоптозу або некрозу [64]. Крім того, надвиробництво АФК має значний вплив на успіх запліднення *in vitro* [63]. У проспективному дослідженні М.Е. Rahiminejad та співавторів результати засвідчили, що наявність більш високих рівнів антиоксидантів, таких, як СОД, каталаза, та загальної антиоксидантної активності, а також більш низьких рівнів маркерів ОС, таких, як ПОЛ, в ендометріальних виділеннях були пов'язані з успішним результатом IVF [44]. Отже, у сучасних дослідженнях встановлено, що збільшення виробництва АФК є важливим чинником етіопатогенезу вагітності, що також впливає на фертильність жінок.

Деякі форми безплідності асоціюються з наявністю ОС та порушенням регуляції апоптозу у репродуктивному тракті. У дослідженнях встановлено, що АФК виявляють за різних факторів безплідності: перитонеального, маткового, при ендометріозі та безплідності неясного генезу [64, 45, 40].

Karuputhula та співавтори у своєму дослідженні оцінювали прооксидантний статус та рівень апоптозу у гранулозних клітинах яєчників жінок з безплідністю. Було виявлено активацію апоптозу у жінок із синдромом полікістозних яєчників та ендометріозом, що асоціюється зі збільшенням генерації АФК та низьким рівнем успішності ЕКЗ [34]. В іншому дослідженні при ендометріозі реєстрували підвищення рівня NO та активності NO-синтази в ендометрії, активацію ПОЛ, зниження активності СОД, що негативно

впливало на імплантацію [45]. Обстеження жінок з трубно-перитонеальною безплідністю виявило підвищені рівні маркерів прооксидантної системи (АФК, NO, загального антиоксидантного статусу та ін.), що корелювало з поганою якістю ооцитів та ембріонів [17].

За трубно-перитонеальної безплідності відбувається тривалий запальний процес органів малого таза, що супроводжується постійною імунологічною відповіддю, активацією апоптозу, вираженим склерозом тканин з порушенням живлення яєчникового фолікулярного апарату та порушенням гемостазу ендометрія [3]. Активовані макрофаги при ендометриозі чи хронічному запаленні є джерелом підвищеної генерації АФК у перитонеальному середовищі. Тому трубно-перитонеальні мікросередовища впливають на запліднення і ранній розвиток ембріона, а підвищена концентрація АФК у цих середовищах може шкідливо впливати на сперматозоїди, ооцити та ембріони як у матковій трубі, так і у черевній порожнині (Agarwal та співавт., 2003). Отже, ОС несе відповідальність за численні пошкодження в ембріоні та ооцитах [67].

Під час обстеження жінок віком понад 35 років з трубно-перитонеальною безплідністю більше 10 років в ендометрії виявлена знижена експресія факторів регуляції апоптозу. Настання вагітності у цих жінок у результаті ДРТ асоційовано з високим рівнем проапоптотичних факторів, що пов'язують з готовністю ендометрія до імплантації [15]. За даними інших досліджень, ОС та активація апоптозу зумовлює порушення рецептивного апарату ендометрія, що спричинює гіперплазію ендометрія та знижує імплантацію [9].

ОС може індукувати апоптоз у клітинах гранульози, і це корелює з більш низькою якістю ооцитів, що призводить до поганого результату IVF (in vitro fertilization) [36]. Ще у 1997 р. K. Nakahara (Nakahara K. et al., 1997) у своєму дослідженні пов'язував велику кількість апоптотичних клітин гранульози з низьким виявленням ооцитів, порожніми фолікулами, невдалим заплідненням та негативним розвитком ембріонів. Вважається, що апоптотичний процес є інструментом елімінації ооцитів, не здатних до запліднення [26].

На сьогодні ретельно вивчається виникнення ОС та порушення апоптозу на різних етапах ДРТ. Існує думка, що під час оваріальної стимуляції виникає індукований ОС, що негативно впливає на результат ЕКЗ. ДРТ передбачають різні впливи на гамети: генерація ОС в екстракорпоральному культуральному середовищі має згубні наслідки у розвитку ембріона після запліднення у результаті ДРТ. АФК, що генеруються у середовищах IVF, можуть чинити шкідливий вплив на ДНК, РНК і сполуку сперматозоїд–ооцит. Основними чинниками, що призводять до невдалого дозрівання in vitro (IVM) та зменшення вірогідності запліднення, є невідповідні культуральні середовища, низька якість ооцитів, посилення ОС, АФК та виробництво ВР. Mohsen Nikseresht та співавтори в експерименті на мишах довели, що використання культурального середовища з додаванням антиоксидантів β-меркаптоетанола та цистаміну покращує IVM і запліднення та розвиток ембріона у бластоцисті [41]. Існують дані, що свідчать про наявність апоптозу при субоптимальних умовах культивування, однак вважається, що первинна причина невдалого ДРТ є попередньо ініційований в яєчнику каскад апоптотичних реакцій [28].

В інших дослідженнях вивчали зв'язок гормонів стимуляції за використання ДРТ з ОС та апоптозом та оцінювали результати програми. Shee-Uan Chen та співавтори встановили, що стимуляція in vitro з високою концентрацією естрадіолу (E<sub>2</sub>) збільшує апоптоз у залозистому епітелії ендометрія, та високий рівень E<sub>2</sub>-індукованого апоптозу залозистого епітелію може спричинити дефектну резистентність ен-

дометрія, що призводить до зниження частоти імплантації ембріона та настання вагітності у програмах ЕКЗ [52]. За даними деяких авторів (Zhao S. et al., 2000), використання агоністів гонадотропін-рилізінг-гормону (а-ГнРГ) у циклах стимуляції при IVF підвищує частоту апоптозу в клітинах гранульози, культивованих in vitro у дозозалежній формі. В іншому дослідженні (T. Kaneko et al., 2000) використання протоколів з людським хоріонічним гонадотропіном (ЛХГ) привело до зниження частоти апоптозу у порівнянні з природним циклом та поліпшення якості ооцитів. Kajihara та співавтори досліджували вплив ЛХГ на експресію генів, які беруть участь у резистентності до ОС при децидуалізації стромальних клітин ендометрія людини. Рекombінантний ЛХГ створив додатковий захист для децидуалізації стромальних клітин ендометрія людини проти стресового апоптозу. ЛХГ може поліпшити середовище матки до імплантації, пригнічуючи апоптотичну відповідь у материнській децидуальній тканині при ОС [31].

Отже, на сьогодні існує багато наукових праць та клінічних досліджень, присвячених вивченню ролі ОС та порушення апоптозу у жіночій безплідності та їхнього впливу на успіх ДРТ, проте результати досить суперечливі. Недостатність даних для використання маркерів апоптозу та ОС під час визначення стану яйцеклітини та готовності ендометрія вимагає подальших досліджень для прогнозування результатів IVF.

#### Мелатонін як перспективний антиоксидант у лікуванні безплідності

У зв'язку з тим, що ОС було запропоновано як важливий чинник, який негативно впливає на результат запліднення in vitro, використання антиоксидантів під час ДРТ є досить обґрунтованим. Виявлено, що призначення перед циклами ДРТ препаратів, що містять аргінін, поліпшує матковий кровоток і відновлює морфофункціональний стан ендометрія, достовірно збільшує його імплантаційну можливість, що, у свою чергу, підвищує частоту настання вагітності [2]. Отже, додаткове використання антиоксидантів у ДРТ може сприяти покращанню результатів методу. Однак мета-аналізи рандомізованих контрольованих досліджень, у яких порівнювали будь-який тип, дозу або комбінацію оральних антиоксидантів з плацебо під час лікування жінок методами ДРТ, виявили, що використання антиоксидантів у лікуванні безплідності субфертильних пар у порівнянні з плацебо не дало значного покращання результатів [55]. Але кількість та якість доказів обмежена, тому це питання потребує подальших досліджень.

Потужним антиоксидантом та імуностимулятором, регулятором процесів статевого дозрівання та репродукції, циркадних та сезонних ритмів організму, клітинної проліферації та старіння є гормон епіфіза – мелатонін [23]. Уперше він був виявлений американським дерматологом А. Лернером у 1958 р. [19]. Визначення мелатоніну у різні вікові періоди засвідчило, що його рівень змінюється протягом життя і щільно пов'язаний зі станом репродуктивної функції жінки. Секреція гормону починається на 6–7-у тиждні внутрішньоутробного розвитку, і його концентрація сягає максимуму у перші роки життя. Синтез мелатоніну залишається на постійному високому рівні до настання статевої зрілості, потім його кількість різко зменшується і не змінюється до 40–45 років, а далі знову неухильно зменшується, що збігається з настанням менопаузи, і триває до кінця життя. У пізній репродуктивний період патологічне зниження рівня мелатоніну негативно корелює з рівнем статевих гормонів, що пов'язано з порушенням менструального циклу та раннім розвитком менопаузи з патологічним перебігом клімактеричного періоду [8].

Интерес щодо вивчення ролі гормону шишкоподібної залози мелатоніну у регуляції репродуктивної функції людини не згасає вже багато років. Численні дослідження, проведені експериментально (на самцях і самках) та клінічні спостереження серед осіб чоловічої та жіночої статі свідчать про вплив шишкоподібної залози на репродуктивну функцію [11, 24, 38]. Про це, зокрема, свідчить виявлення рецепторів до даного гормону у репродуктивних органах і наявність рецепторів до статевих стероїдів в епіфізі [61]. Володіючи антигонадотропними властивостями, мелатонін бере участь у регуляції багатьох важливих фізіологічних процесів, таких, як дозрівання і розвиток статевих органів, регуляція менструального циклу, старіння репродуктивної системи.

Зниження рівня мелатоніну у період статевого дозрівання, в середньому до 20-річного віку, сприяє активації гонадотропної функції гіпофіза, виробленню ФСГ і ЛГ, які стимулюють розвиток статевих залоз. Протягом менструального циклу рівень мелатоніну змінюється, сягаючи найнижчого рівня у фазі перед овуляцією, що збігається з викидом ЛГ, та максимального – у лютеїновій фазі [57]. Рецептори мелатоніну були виявлені на гранульозних клітинах, що свідчить про додаткову ділянку активності мелатоніну [48].

У пінеалоектомованих щурів мелатонін діє безпосередньо на рецептори або ж опосередковано через стероїдні гормони яєчника і жовтого тіла, пригнічуючи секреторну функцію клітин, що продукують стероїдні гормони. Тим самим він опосередковано збільшує концентрацію ФСГ і пролактину. Крім того, діючи на свої рецептори, мелатонін регулює добу активність гіпоталамо-гіпофізарної вісі, що у свою чергу синхронізує розвиток фолікула і ендометрія. Відхилення термінів овуляції є можливим наслідком нестачі або повної відсутності мелатоніну у крові. Підтвердженням тому слугує нормалізація ритміки при введенні екзогенного мелатоніну. Безумовно, у цих процесах мелатонін впливає на проліферацію і диференціювання гранульозних клітин і клітин ендометрія, а також зміну концентрації  $E_2$ , ФСГ, ГнРГ у крові [22].

В одному клінічному дослідженні (Nakamura Y. et al., 2003) виявлено, що у фолікулярній рідині великих преовуляторних фолікулів були більш високі концентрації мелатоніну у порівнянні з малими незрілими фолікулами. Таке спостереження свідчить про те, що у фолікулярній рідині зрілих фолікулів існує більш висока антиоксидантна здатність, ніж у малих фолікулах, що визначає роль мелатоніну у дозріванні ооцитів.

Отже, у численних дослідженнях останніх років [11, 51, 48] переконливо встановлено, що епіфіз відіграє ключову роль у регулюванні вмісту статевих гормонів, синхронізації овуляції та стероїдогенезу у яєчниках, дозріванні яйцеклітини та зростанні ендометрія. Не менш важливим є вплив мелатоніну на секрецію гормонів під час вагітності, на процеси переривання вагітності та стан плода, доведена участь фотоперіодичності у регуляції часу настання пологів та залежності тривалості пологів від рівня мелатоніну.

Антиоксидантний ефект мелатоніну був відкритий американським ученим Расселом Рейтером у 1993 р. і підтверджений у численних дослідженнях [22, 68, 33, 46, 62]. Деякі автори вважають, що епіфіз за допомогою мелатоніну здійснює контроль над ендокринною, нервовою та імунною системами, інтегрує системну відповідь на несприятливі фактори, впливаючи на резистентність організму. З іншого боку, вони зазначають, що мелатонін і його метаболіти здатні діяти як антиоксиданти, зв'язуючи вільні радикали кисню, та одночасно впливати на природну систему антиоксидантного захисту через активацію СОД і каталази [62].

Фолікулярне середовище є природним захистом проти окиснювального пошкодження ооцита. З моменту забору яйцеклітин під час IVF ооцити та ембріони експонуються високими рівнями супероксидних радикалів, тому під час культивування *in vitro* ооцити більш чутливі до АФК на тлі дефіциту ендогенних антиоксидантів. Розвиток ОС змінює якість ооцитів і ембріонів, знижує ймовірність запліднення та впливає на успішне лікування безплідності в цілому [21, 18]. Унікальна особливість мелатоніну зменшувати пошкодження мітохондріальної ДНК [24] може бути доречною для його використання під час лікування безплідності і для поліпшення якості дозрівання яйцеклітини [39].

В експериментах на тваринах засвідчено, що ОС у ооцитах рееструють вже через 8 год після овуляції, та дисбаланс у про/антиоксидантній системі є важливою причиною зниження якості ооцитів *in vitro*. Оброблення *in vitro* культивованих ооцитів мелатоніном приводить до зниження ОС і поліпшення дозрівання ооцитів, їхнього запліднення та досягнення стадії бластоцисти [38, 32]. Однак є протилежні спостереження, що більш низькі концентрації мелатоніну у середовищах інкубації поліпшують умови дозрівання ядер незрілих ооцитів [49, 16], підвищують рівень імплантації і якість клінічної вагітності [35].

Використання екзогенного мелатоніну у лікуванні трубно-перитонеального безплідності в програмах ДРТ сприяє якісній імплантації, за думкою авторів, опосередковано через статистично значуще збільшення рівня прогестерону і прогестеронзалежного ендометріального білка АМГФ [10]. Існує багато досліджень, в яких доведено ефективність перорального вживання мелатоніну під час IVF: мелатонін знижує внутрішньофолікулярне окиснювальне пошкодження і підвищує рівень запліднення [42, 47, 25, 17]. Проспективні дослідження призначення мелатоніну під час лютеїнової фази [60, 59] встановили, що вживання мелатоніну значно підвищує рівні прогестерону, але застосування мелатоніну для підтримки лютеїнової фази також вимагає додаткового підтвердження. Проведений мета-аналіз п'яти рандомізованих контрольованих досліджень, у якому оцінено використання мелатоніну при IVF, виявив, що адекватність даних, які визначають практичну користь мелатоніну, недостатня, і він ще не може бути рекомендований для звичайного використання [50]. Однак багатьма дослідженнями уже доведена безпечність використання мелатоніну при безплідності [54].

Отже, безплідність трубно-перитонеального генезу супроводжується розвитком ОС та активацією апоптозу. Мелатонін як один з основних регуляторів антиоксидантного захисту організму також бере участь у процесах дозрівання яйцеклітини та підготовки ендометрія до імплантації. Важливими для досягнення вагітності є не тільки рецептивний ендометрій та функціональний ембріон у стадії бластоцисти, але й тісна взаємодія між ембріоном та ендометрієм матері. Дослідження останніх років засвідчили, що процес децидуалізації ендометрія є біосенсором якості ембріонів [27, 43, 65, 66]. Тобто за наявності ембріонів неналежної якості вірогідність імплантації знижується. Тому досить важливим є оцінювання стану всіх ланок процесу фертилізації для досягнення успішної імплантації.

Отже, можна стверджувати, що мелатонін є універсальним гормоном, який стоїть на вершині регуляції біохімічних та гормональних процесів, що лежать в основі репродуктивної реалізації жінок з безплідністю. Тому є досить обґрунтованим використання мелатоніну як потужного антиоксиданта та регулятора статевих гормонів під час лікування методами ДРТ. Наукова зацікавленість у вивченні цього унікального гормону не знижується і потребує подальших досліджень з високим рівнем доказовості.

**Роль мелатонина в репродуктивной реализации женщин с бесплодием****В.В. Орлова, Л.В. Сусликова**

Распространенность бесплодия, в частности, трубно-перитонеального генеза, привело к развитию вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) как наиболее эффективного метода лечения и достижения долгожданной беременности. Но успех ВРТ составляет около 40% и зависит от многих факторов: генетических, иммунологических, гормональных, возрастных, методов контролируемой овариальной стимуляции, состояния качества сперматозоидов, количества и качества полученных ооцитов и эмбрионов и имплантационной способности эндометрия. Поэтому важным является рассмотрение механизмов и факторов, лежащих в основе успешной имплантации. Особое внимание привлекает изучение процессов окислительного стресса и нарушения апоптоза в репродуктивном тракте женщин с бесплодием.

В условиях действия неблагоприятных факторов и патологии, в результате снижения способности клетки к нейтрализации свободных радикалов и активных форм кислорода нарушается антиоксидантная защита, развивается окислительный стресс, что способствует запуску апоптоза. Запрограммированная гибель клеток наблюдается при физиологическом функционировании репродуктивной системы: атрезия фолликулов и регрессия функционального слоя эндометрия в случае ненаступления беременности. Однако на сегодня доказано негативное влияние окислительного стресса и нарушения регуляции апоптоза на репродуктивную функцию, а именно – на успех оплодотворения *in vitro*. Также использование ВРТ предусматривает некоторые негативные воздействия на гаметы и эмбрионы, что сопровождается возникновением окислительного стресса и снижает вероятность наступления беременности.

Мелатонин является универсальным гормоном, который играет ключевую роль в функционировании половых гормонов и обладает мощными антиоксидантными свойствами. Как ключевой регулятор антиоксидантной защиты на биохимическом и гормональном уровне, мелатонин положительно влияет на процессы созревания яйцеклетки и подготовки эндометрия к имплантации. Поэтому достаточно обоснованным является использование мелатонина при лечении методами ВРТ. Многие исследования посвящены изучению эффективности использования экзогенного мелатонина в лечении бесплодия, но на сегодня уровень доказательности является недостаточным для его использования в ВРТ.

**Ключевые слова:** мелатонин, бесплодие, окислительный стресс, апоптоз, вспомогательные репродуктивные технологии.

**The role of melatonin in the reproductive realization of women with infertility****V.V. Orlova, L.V. Suslikova**

The prevalence of infertility, including tubal-peritoneal genesis, led to the development of assisted reproductive technology (ART) as the most effective treatment and achievement of the expected pregnancy. But the success of ART is about 40% and depends on many factors: genetic, immunological, hormonal, age, control ovarian stimulation, sperm quality, quantity and quality received oocytes and embryos and implantation ability of endometrium. Therefore, it is important to consider the mechanisms and factors behind the successful implantation. Particular attention is given to the study of disturbances of oxidative stress and apoptosis in the reproductive tract of infertile women.

Under the influence of adverse factors and in pathology, as a result of reducing the cell's ability to neutralize free radicals and active forms of oxygen, antioxidant protection is disturbed, and oxidative stress develops, which promotes the onset of apoptosis. The programmed cell death occurs in the physiological functioning of the reproductive system: follicular atresia and regression of the functional layer of the endometrium when pregnancy is not occur. However, today the negative influence of oxidative stress and violation of the regulation of apoptosis on the reproductive function, namely the success of *in vitro* fertilization, has been confirmed. Also, the use of ART has some of the negative effects on gametes and embryos, which is accompanied by the emergence of oxidative stress and reduces the probability of pregnancy.

Melatonin is a universal hormone that plays a key role in the functioning of sex hormones and has powerful antioxidant properties. As a key antioxidant regulator As a key antioxidant regulator at the biochemical and hormonal levels, melatonin positively influences the maturation of oocytes and the preparation of the endometrium before implantation. Therefore, there is a reasonable justification for the use of melatonin during treatment with ART. Many studies are devoted to the study of the effectiveness of the use of exogenous melatonin in the treatment of infertility, but to date, the level of evidence is insufficient for use in it ART.

**Key words:** melatonin, infertility, oxidative stress, apoptosis, ART.

**Сведения об авторах**

**Орлова Виктория Викторовна** – Кафедра акушерства, гинекологии и репродуктологии Национальной медицинской академии последилового образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9; тел.: (095) 059-09-93. E-mail: vik\_lova@ukr.net

**Сусликова Лидия Викторовна** – Кафедра акушерства, гинекологии и репродуктологии Национальной медицинской академии последилового образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9; тел.: (044) 206-73-10. E-mail: udimmapo@gmail.com

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Айрян Э.К. Частота трубно-перитонеального бесплодия у женщин, перенесших перитонит в детском возрасте: сб. тезисов медицинской интернет-конференции. – 2012. – Т. 2, № 2. – С. 148.
2. Борис Е.Н. Оптимизация подготовки морфофункциональной структуры эндометрия в программах вспомогательных репродуктивных технологий / Е.Н. Борис, Л.В. Сусликова, В.В. Каминский, Л.Н. Онищук, А.В. Сербенюк // Репродуктивная эндокринология. – 2015. – № 1 (21). – С. 60–63.
3. Воронова О.В. Патоморфологические изменения эндометрия при неразвивающейся беременности / О.В. Воронова, Т.Е. Феоктистова, И.А. Ветошкина, Н.В. Савичева, А.Х. Барсегян // *Мать и дитя: мат. V регионального форума (Гельденджик, 28–30 июня 2011 г.)* / под ред. Г.Т. Сухих. – М.: МЕДИЭкспо, 2011. – С. 41–42.
4. Кулаков В.И. Гинекология: национальное руководство / под ред. В.И. Кулакова, И.Б. Манухина, Г.М. Савельевой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 1088 с.
5. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков, И.А. Бондарь и соавт. – М., 2006. – 556 с.
6. Миронова С.П. / Национальное руководство / С.П. Миронова, Г.П. Котельников. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 944 с.
7. Онул Н.М. Проблема чоловічого та жіночого безпліддя в умовах техногенного забруднення довкілля / Н.М. Онул // *Вісник проблем біології і медицини*. – 2014. – Вип. 3. – Т. 3 (112). – С. 51–54.
8. Орлова В.В. Вікові аспекти діагностичної цінності визначення мелатоніну в жінок / В.В. Орлова, В.В. Сімрок, О.А. Коробкова, І.Ю. Романенко, О.А. Лисенко // *Південноукраїнський медичний науковий журнал*. – 2014. – № 8 (08). – С. 98–102.
9. Павловская М.А. Гиперплазия эндометрия у женщин фертильного возраста: клиника, диагностика, патогенез и возможности терапии // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. – 2015. – № 2. – С. 123–127.
10. Радзинский В.Е. О роли мелатонина в оптимизации исходов вспомогательных репродуктивных технологий / В.Е. Радзинский, К.С. Ермоленко, С.И. Рапопорт // *Гинекологическая Эндокринология*. – 2014. – № 8 (96), ч. 1. – С. 35–38.
11. Федорович О.К. Влияние уровня секреции мелатонина и эстрадиола на развитие аномалий родовой деятельности / О.К. Федорович // *Мать и дитя: материалы XI Всероссийского научного форума*. – М., 2010. – С. 251–252.
12. Яманова М.В. Эндокринное бесплодие: клеточная и молекулярная патология имплантации / М.В. Яманова, А.Б. Салмина // *Медика*. – 2009.
13. Agarwal A, Said TM, Bedaiwy MA,

- Banerjee J, Alvarez JG. Oxidative stress in an assisted reproductive techniques setting. *Fertil Steril*. 2006;86:503–12.
14. Al-Gubory KH, Fowler PA, Garrel C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *Int J Biochem Cell Biol*. 2010;42:1634–50.
15. Antsiferova Y, Sotnikova N, Bogatova I, Boitsova A. Changes of apoptosis regulation in the endometrium of infertile women with tubal factor and endometriosis undergoing in vitro fertilization treatment. *JBRA Assisted Reproduction* 2014;18(1):2-6.
16. Bahadori MH, Ghasemian F, Ramezani M, Asgari Z. Melatonin effect during different maturation stages of oocyte and subsequent embryo development in mice. *Iran J Reprod Med* 2013, 11:11–18.
17. Bataoğlu A, Юаһин U, Gärlek B, Çztürk N, bnsal E. The efficacy of melatonin administration on oocyte quality. *Gynecol Endocrinol* 2012, 28:91–93.
18. Bedaiwy M, Elnashar S, Goldberg J, Sharma R, Mascha E, Arrigain S, Agarwal A, Falcone T.: Effect of follicular fluid oxidative stress parameters on intracytoplasmic sperm injection outcome. *Gynecol Endocrinol* 2012; 28:51–55.
19. Chakravarty S, Rizvi SI: Physiological effects of melatonin: implications on human health. *Biomedicine* 2008; 28:252–255.
20. Chow JF, Yeung WS, Lau EY, Lee VC, Ng EH, Ho PC. Array comparative genomic hybridization analyses of all blastomeres of a cohort of embryos from young IVF patients revealed significant contribution of mitotic errors to embryo mosaicism at the cleavage stage. *Reprod Biol Endocrinol* 2014; 12: 105–115.
21. Combelles C, Gupta S, Agarwal A: Could oxidative stress influence the in vitro maturation of oocytes? *Reprod Biomed Online* 2009, 18:864–880.; Bedaiwy M, Elnashar S, Goldberg J, Sharma R, Mascha E, Arrigain S, Agarwal A, Falcone T: Effect of follicular fluid oxidative stress parameters on intracytoplasmic sperm injection outcome. *Gynecol Endocrinol* 2012, 28:51–55.
22. Dair EL, Simoes RS, Simoes MJ et al. Effects of melatonin on the endometrial morphology and embryo implantation in rats. *Fertility and sterility – 2008. – V.89(5 Suppl):1299–1305.*
23. de Almeida E, DiMascio P, Harumi T, Spence D, Moscovitch A, Hardeland R, Cardinali D, Brown G, Pandi-Perumal S: Measurement of melatonin in body fluids: standards, protocols and procedures. *Childs Nerv Syst* 2011, 27:879–891.
24. El-Raey M, Geshi M, Somfai T, Kaneda M, Hirako M, Abdel-Ghaffar A, Sosa G, El-Roos M, Nagai T: Evidence of melatonin synthesis in the cumulus oocyte complexes and its role in enhancing oocyte maturation in-vitro in cattle. *Mol Reprod Dev* 2011, 78:250–262.
25. Eryilmaz O, Devran A, Sarikaya E, Aksakal F, Mollamahmutoplu L, Cioek N: Melatonin improves the oocyte and the embryo in IVF patients with sleep disturbances, but does not improve the sleeping problems. *J Assist Reprod Genet* 2011, 28:815–820.
26. Feldmann, G, Benifla, JL, Madelenat P. Apoptosis of granulosa cells as a predictive marker of in vitro fertilization success. *Gynecol Obstet Fertil* 2006, 34 (7–8): 547–582.
27. Gellersen B, Brosens JJ. Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure. *Endocr Rev* 2014;35: 851–905.
28. Haouzi D, Hamamah S: Pertinence of apoptosis markers for the improvement of in vitro fertilization (IVF) *Current Med. Chemistry*. 2009. Vol. 16. P. 1905–1916.
29. Imai M, Qin J, Tamakawa N, Miyado K, Umezawa AY, Pereira LV. Molecular alterations during female reproductive aging: Can aged oocytes remind youth? editor. *Embryology – Updates and Highlights on Classic Topics: InTech*. 2012, p. 3–22.
30. Jauniaux E, Rizk B. (2012) *Pregnancy after reproductive technology*. Cambridge University Press, Cambridge.
31. Kajihara T, Uchino S, Itakura A (2011) Human chorionic gonadotropin confers resistance to oxidative stress-induced apoptosis in decidualizing human endometrial stromal cells. *Fertil Steril* 95(4):1302–1307.
32. Kang J, Koo O, Kwon D, Park H, Jang G, Kang S, Lee B: Effects of melatonin on in-vitro maturation of porcine oocyte and expression of melatonin receptor RNA in cumulus and granulosa cells. *J Pineal Res* 2009, 46:22–28.
33. Karaaslan C, Suzen S. Antioxidant properties of melatonin and its potential action in diseases. *Curr Top Med Chem*. 2015; 15(9): 894-903.
34. Karuputhula NB, Chattopadhyay R, Chakravarty B, Chaudhury K. Oxidative status in granulosa cells of infertile women undergoing IVF. *Journal Systems Biology in Reproductive Medicine*, 2013 – Issue, Pages 91-98.
35. Kim M, Park E, Kim H, Choi W, Cho J, Lee W, Cha K, Kim Y, Lee D, Yoon T: Does supplementation of in-vitro culture medium with melatonin improve IVF outcome in PCOS? *Reprod Biomed Online* 2013, 26:22–29.
36. Liu J, Li Y. Effect of oxidative stress and apoptosis in granulosa cells on the outcome of IVF-ET. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2010 Sep;35(9):990-4. Chinese.
37. Lopes AS, Lane M, Thompson JG.. Oxygen consumption and ROS production are increased at the time of fertilization and cell cleavage in bovine zygotes. *Hum Reprod*. 2010;25:2762–73.
38. Lord T: Melatonin prevents postovulatory oocyte aging in the mouse and extends the window for optimal fertilisation in-vitro. *Biol Reprod* 2013, 88:67.;
39. Lowes D, Webster N, Murphy M, Galley H: Antioxidants that protect mitochondria reduce interleukin-6 and oxidative stress, improve Fernando and Rombauts *Journal of Ovarian Research* 2014, 7:98 Page 12 of 14 mitochondrial function, and reduce biochemical markers of organ dysfunction in a rat model of acute sepsis. *Br J Anaesth* 2013, 110:472–480.
40. Nayki C, Nayki U, Gunay M, Kulhan M, Zankaya M, Humejra Taskan Kafa A, Balci G. Oxidative and antioxidative status in the endometrium of patients with benign gynecological disorders. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2017 Mar;46(3):243-247. doi: 10.1016/j.jogoh.2017.02.002. Epub 2017 Feb 3.
41. Nikseresht M, Toori MA, Rahimi HR, Fallahzadeh AR, Kahshani IR, Hashemi SF, Bahrami S, and Mahmoudi R. Effect of Antioxidants (β-mercaptoethanol and Cysteamine) on Assisted Reproductive Technology In vitro. *J Clin Diagn Res*. 2017 Feb; 11(2): BC10–BC14.
42. Nishihara T, Hashimoto S, Ito K, Nakaoka Y, Matsumoto K, Hosoi Y, Morimoto Y: Oral melatonin supplementation improves oocyte and embryo quality in women undergoing in-vitro fertilisation-embryo transfer. *Gynecol Endocrinol* 2014, 30:359–362.
43. Ozturk S, Demir R. Particular functions of estrogen and progesterone in establishment of uterine receptivity and embryo implantation. *Histol Histopathol* 2010; 25:1215–1228.
44. Rahiminejad, Mohammad Ehsan et al. / Oxidative stress biomarkers in endometrial secretions: A comparison between successful and unsuccessful in vitro fertilization cycles. *Journal of Reproductive Immunology*, August 2016// Volume 116, 70–75p.
45. Rizk B, Sallam HN (2012) The uterine factor in infertility. In: Rizk B, Sallam HN (eds) *Clinical infertility and in vitro fertilization*. Jaypee Brothers Medical Publishers, St. Louis, pp 84–96.
46. Rocha CS, Rato L, Martins AD, Alves MG, Oliveira PF. Melatonin and male reproductive health: relevance of darkness and antioxidant properties. *Curr Mol Med*. 2015; 15(4): 299-311. Review. PubMed PMID: 25941822.
47. Rombauts L: Is there a recommended maximum starting dose of FSH in IVF? *J Assist Reprod Genet* 2007, 24:343–349.
48. Salhab M., Dhone-Pollet S., Auclair S., Guyader-Joly C., Brisard D., Dalbies-Tran R., Dupont J., Ponsart C., Mermillod P., Uzbekova S.: In-vitro maturation of oocytes alters gene expression and signaling pathways in bovine cumulus cells. *Mol Reprod Dev* 2013, 80:166–182.
49. Salimi M, Salehi M, Masteri Farahani R, Dehghani M, Abadi M, Novin M, Nourozian M, Hosseini A: The effect of melatonin on maturation, glutathione level and expression of HMGB1 gene in Brilliant Cresyl Blue (BCB) stained immature oocyte. *Cell J* 2014, 15:294–301.
50. Seko L, Moroni R, Leitao V, Teixeira D, Natri C, Martins W: Melatonin supplementation during controlled ovarian stimulation for women undergoing assisted reproductive technology: systematic review and metaanalysis of randomised controlled trials. *Fertil Steril* 2014, 101:154–161.
51. Sharkey JT, Puttaramu R, Word RA, Olcese J. Melatonin synergizes with oxytocin to enhance contractility of human myometrial smooth muscle cells | *clin endocrinol metab.*, 2009. Vol. 94. – № 2. – P. 421–427.
52. Shee-Uan Chen, Chia-Hung Chou, Mei-Jou Chen, Tzu-Hsin Chen, Yu-Shih Yang, Jehn-Hsiang Yang; Apoptotic effects of high estradiol concentrations on endometrial glandular cells, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 99, Issue 6, 1 June 2014, Pages E971–E980.
53. Shkolnik K, Tadmor A, Ben-Dor S, Nevo N, Galiani D, Dekel N.. Reactive oxygen species are indispensable in ovulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108:1462–7.
54. Showell M, Brown J, Clarke J, Hart R: Antioxidants for female subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2013.
55. Showell MG, Mackenzie-Proctor R, Jordan V, Hart RJ: Antioxidants for female subfertility. *Cochrane Gynaecology and Fertility Group, Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Jul 28;7:CD007807.
56. Singh AK, Chattopadhyay R, Chakravarty B, Chaudhury K. Markers of oxidative stress in follicular fluid of women with endometriosis and tubal infertility undergoing IVF. *Reprod Toxicol*. 2013 Dec;42:116–24.
57. Srinivasan V, Spence W, Pandi-Perumal SR, Zakharia R, Bhatnagar K, Brzezinski A: Melatonin and human reproduction: shedding light on the darkness hormone. *Gynecol Endocrinol* 2009, 25:779–785.
58. Szmidt M, Sysa P, Niemiec T, Urbacska K, Bartzel B. Regulation of Apoptosis in Endometrium Preparation for Menstruation or Embryo Implantation. *Ginecol Pol* 81 (11) 2010, p. 856–859.
59. Takasaki A, Tamura H, Taniguchi K, Asada H, Taketani T, Matsuoka A, Yamagata Y, Shimamura K, Morioka H, Sugino N: Luteal blood flow and luteal function. *J Ovarian Res* 2009, 2.
60. Taketani T, Tamura H, Takasaki A, Lee L, Kizuka F, Tamura I, Taniguchi K, Maekawa R, Asada H, Shimamura K, Reiter RJ, Sugino N: Protective role of melatonin in progesterone production by human luteal cells. *J Pineal Res* 2011, 51(2):207–13.
61. Tamura H, Nakamura Y, Korkmaz A, Manchester L, Tan D, Sugino N, Reiter R: Melatonin and the ovary: physiological and pathophysiological implications. *Fertil Steril* 2009, 92:328–343.
62. Tamura H, Takasaki A, Taketani T, Tanabe M, Kizuka F, Lee L, Tamura I, Maekawa R, Asada H, Yamagata Y, Sugino N: The role of melatonin as an antioxidant in the follicle. *J Ovarian Res* 2012, 5.
63. Wojsiat J, Korczynski J, Borowiecka M, Ĺbikowska HM.. The role of oxidative stress in female infertility and in vitro fertilization. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2017 May 9;71(0):359–366.
64. Yao H., Guo L., Jiang B.H., Luo J., Shi X . Oxidative stress and chromium(VI) carcinogenesis. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol*. 2008; 27: 77–88.
65. Young SL, Lessey BA. Progesterone function in human endometrium: clinical perspectives. *Semin Reprod Med* 2010; 28:5–16.
66. Young SL. Oestrogen and progesterone action on endometrium: a translational approach to understanding endometrial receptivity. *Reprod Biomed Online* 2013; 27:497–505.
67. Zavareh S, Talebi A, Hasanazadeh H. Amending in vitro culture condition to overcome oxidative stress in assisted reproduction techniques (ART) *J. Paramed Sci*. 2015;6:135–48.
68. Zhang HM, Zhang Y. Melatonin: a well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions. *J Pineal Res*. 2014 Sep; 57(2):131–46.

Статья поступила в редакцию 29.09.17