

ОБМІН МЕЛАТОНІНУ В БЕЗПЛІДНИХ ЖІНОК ІЗ ПОВТОРНИМИ НЕВДАЧАМИ ІМПЛАНТАЦІЇ

DOI: <http://dx.doi.org/10.18370/2309-4117.2024.71.94-102>



О.М. НОСЕНКО

д. мед. н., професор кафедри акушерства та гінекології Одеського національного медичного університету, м. Одеса
ORCID: 0000-0002-7089-2476.

Р.Я. ДЕМИДЧИК

аспірант кафедри акушерства та гінекології Одеського національного медичного університету, м. Одеса
ORCID 0009-0004-2385-8664

Контакти:

Носенко Олена Миколаївна
КНП «Пологовий будинок № 7» ОМР,
65080, Україна,
Одеса, Космонавтів, 11/13.
Тел.: +38 (050) 638 38 28.
email: nosenko.olena@gmail

ВСТУП

Імплантація становить перший етап у процесі репродукції людини [1]. Враховуючи середній рівень успішного природного зачаття, можна вважати, що ймовірність завагітніти протягом одного менструального циклу досить низька і сягає 30%. Це означає, що дві третини потенційних природних зачаттів є нерезультативними через невдачу імплантації [2]. Подібні спостереження також були зроблені в контексті лікування методами запліднення *in vitro* та ембріотрансферу (In Vitro Fertilization and Embryo Transfer (IVF-ET)). Відповідно до того, що частота імплантації при перенесенні ембріона становить 30%, ймовірність негативного результату – близько 70% [3]. Незважаючи на те, що невдача імплантації може спричинити розвиток патологічного стану, водночас вона є, з погляду еволюції, «фізіологічним бар'єром», який забезпечує настання повноцінної вагітності.

Однак існує окрема категорія безплідних пацієнок, у яких аномально збільшена частота послідовних невдач імплантації при лікуванні IVF-ET, незважаючи на перенесення якісних ембріонів. Це явище відоме як повторна (або рецидивна) невдача імплантації (ПНІ). Вона спостерігається приблизно в 10–15% жінок, які проходять лікування у циклах IVF-ET у всьому світі [4]. Консорціум передімплантаційної генетичної діагностики Європейського товариства репродукції людини та ембріології (European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE)) визначив ПНІ як ситуацію, за якої відбулося перенесення трьох або більше якісних ембріонів у кількох циклах IVF-ET без настання клінічної вагітності [5]. Згідно з останніми рекомендаціями ESHRE 2023 року, ПНІ становить сценарій, за якого перенесення ембріонів, що вважаються життєздатними, систематично не приводить до позитивного тесту на вагітність у конкретної пацієнтки і вимагає подальших досліджень та/або втручань [6].

ПНІ є багатофакторним станом [1, 3, 7]. Одними з найбільш важливих чинників його розвитку є змінений морфофункціональний стан ендометрія та хронодеструкція в організмі жінки.

Розвиток ендометрія – це циклічна подія, суворо регульована гормонами та іншими

чинниками. Молекулярні порушення циркадного ритму внаслідок впливу зовнішніх сигналів (наприклад, світлове забруднення) або інших процесів навколишнього середовища, що здатні впливати на коливання внутрішнього біологічного годинника, глибоко пов'язані з низькою частотою імплантації, порушеннями вагітності, високою частотою порушень менструального циклу, безпліддям і викиднями у жінок. Ці явища часто супроводжуються зниженням рівня мелатоніну та його рецепторів у нормальній тканині матки і плаценті [8].

Мелатонін (МТ, N-ацетил-5-метокситриптамін) є ліпофільним нейрогормоном індоламіну, який походить від незамінної амінокислоти триптофану. Циркулювальний МТ демонструє циркадний ритм з найвищими рівнями вночі, помірними рівнями вранці та значно нижчою концентрацією вдень. Вплив світла може зменшити тривалість секреції МТ та подальший його рівень в крові. Таким чином, МТ може бути ключовим біологічним чинником хронодеструкції [9].

У нормі МТ синтезується та виділяється в першу чергу в шишкоподібній залозі у відповідь на темряву, діючи як нейроендокринний перетворювач фотоперіодичної інформації протягом ночі [10]. МТ також виробляється в мітохондріях усіх інших клітин організму людини нециркадним способом, тому його рівень в мітохондріях приблизно в 100 разів вищий, ніж у плазмі крові [11]. Він синтезується в репродуктивних органах, таких як яєчники, яєчка, матка, плацента. Кількість МТ, синтезована шишкоподібною залозою, становить менше 5% від загальної його кількості [12]. Тому на сьогодні МТ, мабуть, найкраще визначити як гормон шишкоподібною залози та біологічно активний амін з клітинними мішенями поблизу місця його синтезу в деяких тканинах [13].

У всіх видів тварин і рослин хімічна структура МТ залишається незмінною, а його дія стає все більш різноманітною. Така широка функціональність МТ може бути пов'язана з його еволюційною історією, що становить від двох до трьох мільярдів років, протягом якої він мав достатньо часу для розвитку складних взаємодій з іншими молекулами [14]. Ці взаємообміни дозволили МТ виявляти над-

звичайно широкий спектр функцій [14, 15, 16]. МТ продемонстрував антиоксидантну функцію та ключову роль регулятора фізіологічних процесів, пов'язаних з репродукцією людини. У дослідженнях повідомляється, що МТ контролює експресію генів, пов'язаних із дозріванням ооцитів, зокрема функцію мітохондрій, антиоксидантні ферменти, апоптоз, експансію кумулюючих клітин і чинники дозрівання ооцитів [17]. Крім того, він задіяний в епігенетичних механізмах, як-от метилювання ДНК й ацетилювання гістонів [18]. МТ бере участь у нормальному перебігу вагітності, починаючи з якості ооцитів, продовжуючи імплантацією ембріона та закінчуючи розвитком плода і пологами [10, 19–21].

Нові дані досліджень свідчать, що порушення регуляції циркадного ритму з наступним низьким рівнем циркулювального МТ пов'язане з низькою частотою імплантації та труднощами підтримки вагітності [8, 18, 19]. Ключова роль МТ визначається тим, що ритмам його продукції підпорядковані всі ендogenous ритми організму. Екзогенне введення МТ достовірно збільшує ендотеліальні осциляції, що відображає посилення метаболічної активності ендотелію. Ймовірно, це зумовлено стимулювальним впливом МТ на продукцію NO-синтази клітинами ендотелію судин із подальшим збільшенням продукції NO та вазодилатацією. МТ діє як антиоксидант і регулює функцію яєчників шляхом зв'язування зі своїми рецепторами [22], що пов'язано зі зниженням кількості таких молекул, як циклічний аденозинмонофосфат і циклічний гуанозинмонофосфат, а також підвищенням рівня фосфоліпази С [23]. Крім того, МТ може безпосередньо хелатувати активні форми кисню та азоту, а також мобілізувати внутрішньоклітинний антиоксидантний фермент без його рецепторів [24].

A.A. Mosher et al. (2019) [25] у своєму дослідженні нещодавно показали, що рецептори мелатоніну 1A (MTNR1A або MT1) та 1B (MTNR1B або MT2) експресуються в еутопічному ендометрії людини. Було висловлено припущення, що MTNR1B синергізується з окситоцином, сприяючи нічним скороченням матки [26]; на пізніх термінах вагітності циркулювальний МТ має фундаментальне значення для індукції часу та ступеня скорочень, і навпаки, його гостре пригнічення світлом сповільнює скорочення міометрія [27]. Аралкіламін-N-ацетилтрансфераза (AANAT) є ферментом, що обмежує швидкість синтезу МТ [11]. В експерименті на мишах доведено, що мелатонінергічні системи матки AANAT і мембранного MTNR1B є важливими для сприйнятливості ендометрія і ранньої імплантації у мишей [11]. Дані щодо стану мелатонінового обміну в безплідних жінок із ПНІ обмежені.

Мета дослідження: визначити особливості мелатонінового обміну в безплідних жінок із ПНІ у циклах IVF-ET.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводилося на кафедрі акушерства та гінекології Одеського національного медичного університету (ОНМедУ), Університетської клініки «Центр реконструктивної та відновної медицини» ОНМедУ, ТОВ «Клініка репродуктивної медицини "Надія Одеса"». Дослідження виконувалося в період з 2021 по 2023 роки та було фрагментом планової науково-дослідної теми кафедри акушерства та

гінекології ОНМедУ «Вдосконалення методів профілактики, діагностики та лікування захворювань репродуктивної системи жінки із застосуванням новітніх медичних технологій» (№ державної реєстрації 0117U007494). Дослідження схвалено Комісією з питань біоетики ОНМедУ (протокол № 2/21 від 08. 11. 2021), Від усіх пацієнток отримана інформована згода на участь у дослідженні.

Спостереження охоплювало 103 жінки репродуктивного віку з безпліддям та ПНІ, які проходили лікування в циклах IVF-ET.

Залежно від настання вагітності в поточному циклі IVF-ET жінки були розділені на дві групи:

- група А – 35 жінок з настанням вагітності;
- група Б – 68 пацієнток з відсутністю вагітності.

Критерії включення пацієнток з ПНІ в дослідження: безпліддя, пов'язане з трубним або чоловічим чинником; регулярні овуляторні менструальні цикли; базальний рівень фолікулостимулювального гормону < 11 мМО/мл; кількість антральних фолікулів на 3–5-й день менструального циклу від 7 до 12 у максимальному ехографічному зрізі яєчників; лікування безпліддя методом IVF-ET; проведення у минулому не менше двох переносів еуплоїдних ембріонів; відсутність органічних гінекологічних захворювань, ендокринних порушень, функціональних судинних розладів (наприклад, артеріальної гіпертензії) та генітального ендометріозу; відсутність прийому гормональних препаратів упродовж останніх 6 місяців; відсутність історії тютюнопаління.

Контрольну групу К склали 32 здорових фертильних жінки.

Визначення рівня МТ у сироватці крові, забраної о 7–8-й годині ранку, проводилося методом радіоімунного аналізу з використанням аналізатора і тест-систем Gammamaster (Pharmacia LKB Biotechnology AB, Швеція), LDN (Labor Diagnostika Nord GmbH & Co.KG, Німеччина). Референтні значення МТ становили 8,0–20,0 пг/мл.

Рівень основного метаболіту МТ в сечі 6-сульфатоксимелатоніну (aMT6s) визначали методом радіоімунного аналізу з використанням тест-системи IBL (melatonin sulfat 6-sulfatometatonin, ELISA, Німеччина). Визначення були скориговані щодо креатиніну в сечі, виміряного кінетичним методом, за допомогою тесту Яффі [28], тому результати позначали як нг/мг креатиніну в сечі (нг/мл Кр).

Статистичний аналіз результатів виконувався за допомогою програми Microsoft Excel 2010. Кількісні змінні були описані за допомогою середнього значення (M), стандартної помилки середнього значення (\pm SEM), t-критерію Стюдента. Значення $p < 0,05$ вважалося статистично значущим. Кореляційний і попарний кореляційно-регресійний аналіз застосовувався для вивчення стохастичної залежності між показниками. Для цього розраховувалися коефіцієнт кореляції (r), коефіцієнт апроксимації (R^2) та їх вірогідність.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Середній вік обстежених жінок у групі А становив $32,20 \pm 0,61$ років, у групі Б – $31,31 \pm 0,40$ року, у групі К – $32,45 \pm 0,59$ року ($p > 0,05$); індекс маси тіла – $19,72 \pm 0,90$ кг/м² у групі А і $21,94 \pm 0,45$ кг/м² у групі Б порівняно з $22,25 \pm 0,88$ кг/м² в групі К ($p > 0,05$).

МІЖДИСЦИПЛІНАРНІ ПРОБЛЕМИ

Тривалість безпліддя у пацієнок групи А сягала $9,26 \pm 0,30$ року порівняно з $10,00 \pm 0,35$ року в групі Б ($p > 0,05$); кількість IVF-ET – відповідно $4,51 \pm 0,20$ проти $4,43 \pm 0,14$ ($p > 0,05$). Розподіл первинного та вторинного безпліддя у групах був гомогенним: у групі А – $48,57/51,43\%$, у групі Б – $45,71/54,29\%$ ($p > 0,05$). Середня кількість вагітностей в анамнезі в цих групах склала відповідно $0,71 \pm 0,08$ і $1,00 \pm 0,14$ ($p > 0,05$).

Дослідження показників мелатонінового обміну засвідчило, що рівні МТ у групі А ($11,38 \pm 0,38$ пг/мл) і у групі Б ($9,55 \pm 0,27$ пг/мл) були нижчими за аналогічний показник в групі К ($13,67 \pm 0,65$) відповідно у $1,20$ ($p < 0,01$) і у $1,43$ ($p < 0,01$) раза. Водночас рівень МТ у жінок з настанням вагітності у поточному циклі IVF-ET перевищував аналогічний у групі пацієнок з ненастанням вагітності у $1,19$ раза ($p < 0,03$). Екскреція аМТ6s у сечі у групі А ($5,09 \pm 0,19$ нг/мл Кр) і у групі Б ($3,03 \pm 0,09$ нг/мл Кр) була нижчою за аналогічний показник в групі К ($6,12 \pm 0,21$ нг/мл Кр) відповідно у $1,20$ ($p < 0,01$) і у $2,02$ ($p < 0,01$) раза. Кількість аМТ6s у сечі у пацієнок групи А була більша за такий показник у групі Б у $1,68$ раза ($p < 0,01$) (рис. 1).

Між рівнями сироваткового МТ та сечового аМТ6s був встановлений прямий зв'язок, який найбільш адекватно апроксимувався поліноміальною залежністю: $y = 0,0139x^2 - 0,1127x + 3,2978$, $R^2 = 0,2994$, $r = 0,51$, $p < 0,01$ (рис. 2).

Існує «вікно» сприйнятливості ендометрія, яке визнається як обмежений період, коли сприйнятливий стан матки синхронізується з активованим станом бластоцисти, що підтримує її прикріплення. Отримані дані доводять, що для досягнення правильної імплантації чітка просторово-часова регуляція різних чинників росту, цитокінів, ліпідних медіаторів та факторів транскрипції, опосередкованих стероїдними гормонами, є важливою щодо підготовки матки [21].

Заданими попередніх досліджень, МТ стимулює експресію своїх власних рецепторів, білка p53 і лейкоїю інгібіторного чинника людини, активуючи сигнальні шляхи, що беруть участь в імплантації ембріона [29]. На молекулярному рівні рецептор MTNR1B є більш активним, ніж MTNR1A у процесі відтворення, і його регуляція підвищується. Збільшена експресія MTNR1B сприяє активації білка p21, що, у свою чергу, індукує опосередковане білком p38 фосфорилування p53, який модулює експресію лейкоїю інгібіторного чинника людини, тим самим сприяючи імплантації ембріона [15, 20].

С. Не зі співавт. припускають, що МТ сприяє активації бластоцист і сприйнятливості ендометрія шляхом модуляції експресії гормонів у матці [30]. З одного боку, він індукує експресію прогестерону і рецептора прогестерону типу А на 6-й день після запліднення, сприяючи диференціації про-світлого епітелію ендометрія, проліферації стромальних клітин і децидуалізації. З іншого боку, МТ знижує секрецію та активність естрадіолу, щоб уникнути передчасних скорочень матки. Естрадіол, ймовірно, виробляється та секретується самою бластоцистою приблизно на 4-й день, що дозволяє досягнути імплантаційної компетентності, необхідної для початку процесу імплантації [21].

Проведене авторами статті дослідження показало, що жінкам із ПНІ властиве порушення внутрішнього циркадного біологічного годинника, що супроводжується зниженням рівня МТ у сироватці крові та його основного метаболіту аМТ6s у сечі. Звісно, що для захисту клітин і тканин від окислювального пошкодження надзвичайно важливим є локальний синтез МТ в ендометрії. Для цього мітохондрії як основне джерело його синтезу мають зберегти свою функцію. Задokumentовано, що МТ, діючи як багатофункціональний агент, взаємодіє з клітинами ендометрія, чинить антиапоптозну, антиоксидантну та протизапальну дію. МТ, безперечно, надсилає клітинам сигнал для організації своїх

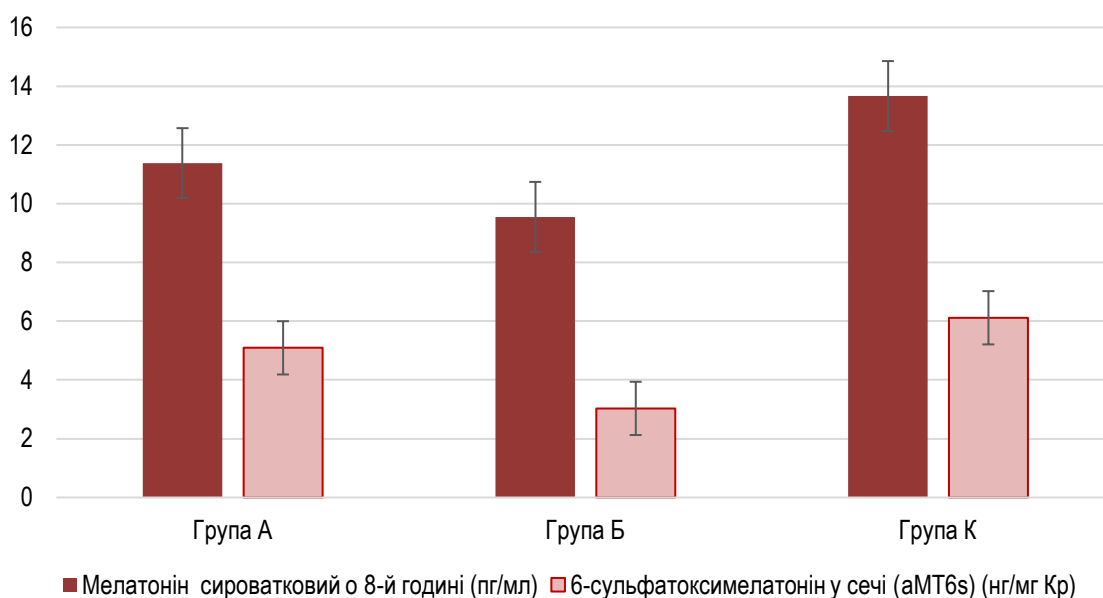


Рисунок 1. Показники мелатонінового обміну в досліджуваних групах

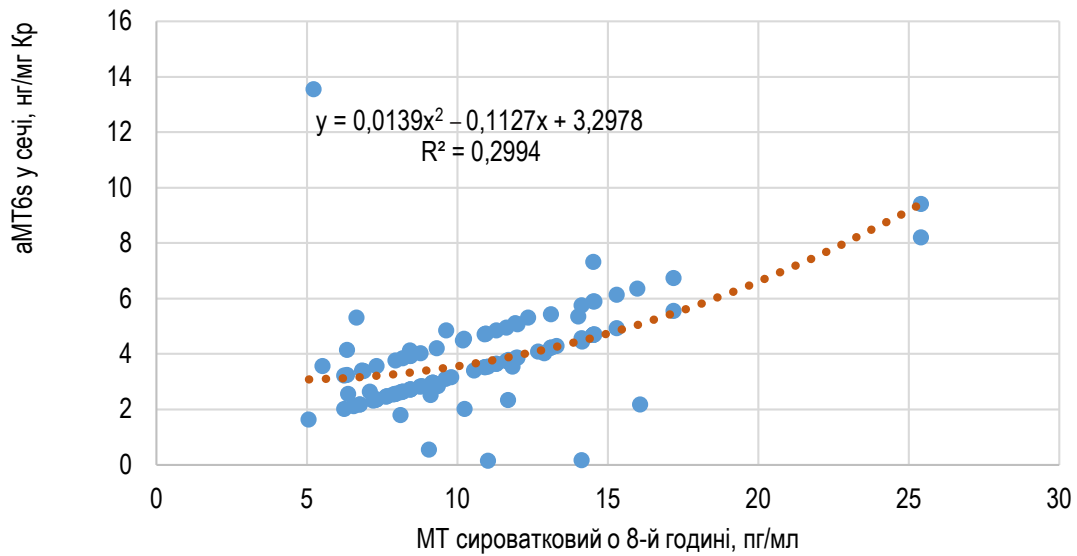


Рисунок 2. Кореляційне поле, формула регресії та коефіцієнт апроксимації рівнів сироваткового MT та сечового аMT6s у жінок із повторними невдачами імплантації

фізіологічних функцій. Оскільки імплантація відбувається періодично, передача сигналів мелатоніну може бути необхідною для синхронізації щоденних молекулярних ритмів клітин, тобто секреції гормонів і чинників, контролю проліферації та апоптозу, регуляції метаболічного статусу та поглинання вільних радикалів, диференціації та активації імунних клітин, підтримання судинної динаміки та ін. [8, 12, 25].

ВИСНОВКИ

Жінкам із ПНІ властиве зниження рівня MT у сироватці крові та його основного метаболіту 6 аMT6s у сечі, що може бути одним з ключових чинників імплантаційної недостатності.

Конфлікт інтересів

Конфлікт інтересів відсутній.