

Орлова В.В.¹, Сусликова Л.В.¹, Дмитриенко Д.В.², Орлова Е.А.³

¹ Национальная академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, Киев, Украина

² Луганский национальный университет имени Владимира Даля, Луганск, Украина

³ Луганский государственный медицинский университет, Луганск, Украина

Victoria O.¹, Suslikova L.¹, Dmitrienko D.², Orlova E.³

¹ Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine

² Lugansk National University named after Vladimir Dal, Lugansk, Ukraine

³ Lugansk State Medical University, Lugansk, Ukraine

Прогнозирование эффективности использования Вита-мелатонина у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием в программах экстракорпорального оплодотворения

Prediction of efficiency of Vita-melatonin using in women with tubo-peritoneal infertility in vitro fertilization programs

Резюме

Проведен статистический анализ эффективности лечения бесплодия трубно-перитонеального происхождения методом экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Женщины основной группы (n=33) получали дополнительно антиоксидантную терапию Вита-мелатонином в дозе 30 мг внутрь перед сном в течение 3 месяцев на этапе предгравидарной подготовки и во время овариальной стимуляции в программе ЭКО. В группе сравнения (n=32) пациентки лечились по стандартной методике. В результате лечения мы проанализировали изменения в про/антиоксидантной системе репродуктивного тракта женщин, оценили качество полученных ооцитов и эмбрионов, а также частоту наступления беременности.

Данные статистического анализа показали положительные изменения в про/антиоксидантной системе репродуктивного тракта, достоверно улучшенные результаты показателей качества ооцитов и эмбрионов, а также повышение частоты наступления беременности на 22,9% в основной группе. На основании полученных результатов можно рекомендовать предгравидарную подготовку Вита-мелатонином женщинам с бесплодием трубно-перитонеального генеза.

Ключевые слова: бесплодие, антиоксидантная терапия, про/антиоксидантная система, предгравидарная подготовка.

Abstract

A statistical analysis of the effectiveness of the treatment of infertility of tubo-peritoneal origin by in vitro fertilization (IVF) was carried out. The women of the main group (n=33) received additional antioxidant therapy Vita-melatonin, 30 mg orally before bedtime for 3 months at the stage of pregnancy preparation and during ovarian stimulation in the IVF program. In the comparison group

(n=32), the patients were treated by the standard method. As a result of treatment, we analyzed the changes in the pro/antioxidant system of the reproductive tract of women assessed the quality of the oocytes and embryos, and frequency of pregnancy.

Statistical analysis data showed positive changes in the pro/antioxidant system of the reproductive tract, significantly improved oocyte and embryo quality, and increase in the frequency of pregnancy by 22.9% in the main group. So, based on these results, we can recommend therapy by Vitamelatonin for women with tubo-peritoneal infertility.

Keywords: infertility, antioxidant therapy, pro / antioxidant system, pregravid preparation.

■ ВВЕДЕНИЕ

Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) на сегодняшний день является единственным универсальным методом получения беременности при бесплодии трубного происхождения. Трубно-перитонеальный фактор является одним из распространенных факторов в структуре женского бесплодия, по данным литературы, характеризуется дисбалансом в системе про/антиоксидантов, а также нарушением апоптоза [1, 2]. Развитие окислительного стресса и активация апоптоза ассоциированы с плохим качеством ооцитов, низким уровнем оплодотворения и имплантации, нарушением развития эмбрионов, что значительно снижает частоту наступления беременности [3–6]. Поэтому актуальной является необходимость коррекции нарушений про/антиоксидантной системы при бесплодии трубно-перитонеального генеза мощными антиоксидантами, одним из которых может быть мелатонин [7].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ корреляционных связей между маркерами про/антиоксидантов, уровнем ф-ДНК и качеством ооцитов, эмбрионов и наступлением беременности у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием, проходивших лечение методом ЭКО.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие женщины, проходившие лечение бесплодия трубного происхождения по программе вспомогательных репродуктивных технологий (ЭКО/ИКСИ) в Клинике репродуктивных технологий Украинского государственного института репродуктологии в Киеве. В общей сложности 65 кандидатов были отобраны по следующим критериям включения: трубно-перитонеальный фактор бесплодия, женщины среднего репродуктивного возраста, индекс массы тела (ИМТ) не более 30 кг/м², нормальные респондеры – более 6 фолликулов на ультразвуковом исследовании (УЗИ) и фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) менее 10 мМЕ/мл, нормальные показатели гормонов репродукции, нормальный регулярный менструальный цикл от 25 до 35 дней, нормозооспермия. Критериями исключения стали: наличие любой структурной аномалии репродуктивной системы, эндокринного фактора бесплодия.

В первую группу вошли 33 женщины, которые получали антиоксидантную терапию Вита-мелатонином (ЗАО «Киевский витаминный завод», Киев, Украина) в дозе 30 мг внутрь перед сном в течение 3 месяцев на этапе предгравидарной подготовки и во время овариальной стимуляции в программе ЭКО. Использование препарата было одобрено этическим комитетом НМАПО имени П.Л. Шупика (протокол № 9 от 05.12.2016 г.) Во вторую группу вошли 32 женщины, получившие лечение по традиционной схеме контролируемой овариальной стимуляции с гонадотропинами. Физические и демографические характеристики исследуемых женщин представлены в табл. 1.

Структура тубо-перитонеального фактора бесплодия представлена в табл. 2. В исследуемых группах преобладает вторичное бесплодие, обусловленное наличием внематочной беременности у 60,6% пациенток основной группы и 56,2% в группе сравнения. Тубэктомия в анамнезе женщин обеих групп была связана с наличием гидросальпингса (33,4% и 34,3% в 1-й и 2-й группе соответственно), пиосальпингса (9,3% во 2-й группе) или внематочной беременности.

Контролируемая овариальная стимуляция (КОС) гонадотропинами проводилась по стандартной схеме «длинного» протокола с агонистами гонадотропин-рилизинг гормона (а-ГнРГ). На 21-й день предыдущего менструального цикла женщины делали инъекцию 3,75 мг трипторелина, на 2–3-й день менструации начинали стимуляцию гонадотропинами (фоллитропин-альфа или фоллитропин-бета). Дозы гонадотропинов подбирались индивидуально с учетом гормонального статуса, возраста, а также параметров ультразвукового мониторинга роста фолликулов и толщины эндометрия. В качестве триггера финального созревания яйцеклеток мы использовали человеческий хорионический гонадотропин (ЧХГ) в овуляторной дозе (Хорагон, Ferring GmbH, Германия, 10 000 Ед), который вводили в среднем на 10–12-е сутки стимуляции в обеих группах. Пункцию фолликулов проводили через 35–36 часов

Таблица 1
Физические и демографические характеристики исследуемых женщин

Физические и демографические характеристики	Основная группа (n=33)	Группа сравнения (n=32)
Возраст*, лет	33,00±1,61	33,00±1,21
ИМТ*, кг/м ²	21,60±1,26	23,40±1,39
Длительность бесплодия*, лет	6,48±1,68	7,03±1,19

Примечание: * по данным признакам статистической разницы между группами нет.

Таблица 2
Структура бесплодия исследуемых женщин

Структура бесплодия	Основная группа (n=33)	Группа сравнения (n=32)
Бесплодие первичное	27,2% (8)	10 (31,3%)
Бесплодие вторичное	75,8% (25)	22 (68,7%)
Отсутствие маточных труб	23 (69,7%)	24 (75%)
Непроходимость маточных труб	6 (18,2%)	6 (18,7%)
Сочетание факторов	4 (12,1%)	2 (6,3%)

Таблица 3

Характеристика пациентов, проходивших лечение ЭКО/ИКСИ, группы с мелатонином (основная группа) и без мелатонина (группа сравнения)

Параметры	Основная группа (n=33)	Группа сравнения (n=32)
ФСГ*, мМЕ/мл	7,30±0,63	7,11±0,58
ЛГ*, мМЕ/мл	6,30±0,98	6,02±1,010
Количество антральных фолликулов*	12,75±2,45	13,53±3,14
Длительность стимуляции гонадотропинами*, дней	10,55±0,20	10,37±0,30
Средняя доза гонадотропинов*, ЕД	2059,0±99,7	2345,0±89,0

Примечание: * по данным признакам статистической разницы между группами нет.

после введения триггера под общей внутривенной анестезией. Данные о гормональном статусе и КОС обеих групп представлены в табл. 3.

Оценку качества ооцитов проводили по степени зрелости. Зрелые: MII – ооциты в стадии метафазы II мейоза, незрелые: MI (в метафазе I мейоза), GV (ооциты в стадии зародышевого пузырька), Atr (атретические яйцеклетки, которые не способны к оплодотворению). Для оценки количества зрелых и незрелых ооцитов мы выразили приведенные данные в безразмерном виде относительно общего числа полученных яйцеклеток по формулам:

$$\bar{M}_I = (M_I + GV + Atr) / (M_{II} + M_I + GV + Atr);$$

$$\bar{M}_{II} = M_{II} / (M_{II} + M_I + GV + Atr).$$

Фертильность сперматозоидов оценивали в соответствии с рекомендациями ВОЗ, 2010 [8]. Оплодотворение зрелых ооцитов *in vitro* и методом ICSI проводилось в условиях эмбриологической лаборатории биологами по стандартной методике.

Качество эмбрионов оценивали на 5-е сутки культивирования по классификации Гарднера [9]. В соответствии с данной классификацией мы составили интегральную таблицу, в которой эмбрионы были разделены на 3 типа: отличного качества, хорошего и плохого качества (табл. 4).

Эмбриотрансфер проводили на 5-е сутки культивирования под контролем трансабдоминального УЗИ. Переносу подлежали 1–2 эмбриона отличного и хорошего качества (1 и 2). После переноса эмбрионов в полость матки катетер проверяли под микроскопом для исключения наличия эмбрионов в нем. Всем женщинам после эмбриотрансфера назначалась гормональная поддержка микронизированным прогестероном, 600 мг/сут вагинально ежедневно, или гидроксипрогестерона капронатом 12,5% внутримышечно 1 раз в 3 дня.

Таблица 4

Интегральная таблица качества эмбрионов

Качество эмбрионов	По Гарднеру, 2000
1 – отличное качество	6AA, 5AA, 4AA, 3AA, 2AA
2 – хорошее качество	6BB, 6BA, 6AB, 5BB, 5BA, 5AB, 4BB, 4BA, 4AB, 3BB, 3BA, 3AB, 2BB, 2BA, 2AB
3 – плохое качество	6CC, 6CB, 6CA, 6BC, 6AC, 5CC, 5CB, 5CA, 5BC, 5AC, 4CC, 4CB, 4CA, 4BC, 4AC, 3CC, 3CB, 3CA, 3BC, 3AC, 2CB, 2CA, 2AC, 2BC, 2CC

Диагностика беременности проводилась на 12–14-й день после эмбриотрансфера путем определения β -субъединицы ХГ в сыворотке крови (количественный анализ). С целью подтверждения факта наступления беременности и установления локализации и числа имплантированных эмбрионов проводили УЗИ органов малого таза на 21-й день после переноса эмбрионов.

Маркеры прооксидантов, антиоксидантов и активации апоптоза были исследованы в эндометрии в цикле, предшествующем стимуляции яичников путем пайпель-биопсии на 18–19-й день и в фолликулярной жидкости во время аспирации фолликулов.

Уровень продуктов перекисного окисления белков определяли по методике Дубининой [10]. ТБК-активные продукты определяли по общепринятой методике, которая основана на способности тиобарбитуровой кислоты реагировать с малоновым диальдегидом [11]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по Чевари и соавт. [12]. Активность каталазы в биологическом материале определяли по Королюк и соавт. [13]. Содержание фрагментированной ДНК оценивали дифениламиновым тестом по методу Бартона [14].

Статистическую обработку данных проводили с помощью приложения Microsoft Office Excel 2003 и прикладных программ для ранговой корреляции методом Спирмена и оценки статистических различий между двумя рядами измерений. Для исследуемых групп по результатам измерений находили средние арифметическое, стандартное отклонение параметров, а также производилась проверка на нормальность распределения выборок.

Так как практически все исследуемые параметры не являлись нормально распределенными, для оценки статистических различий между двумя рядами измерений применялся непараметрический Т-критерий Уилкоксона, размеры выборок также позволяли применять данный метод.

При выявлении корреляционных связей между рядами данных уровень статистической меры значимости корреляционной связи принимался при $p=0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среднее количество полученных ооцитов в основной группе составило $12,75 \pm 5,00$, из них 74% зрелых, тогда как в группе сравнения – $13,53 \pm 5,00$, из них 69% – M_2 , что имеет статистически значимую разницу ($p < 0,05$) (рис. 1). При этом коэффициент оплодотворения в 1-й и 2-й группе равен 85,7% и 88,4% соответственно. По качеству эмбрионов результаты распределились следующим образом: в основной группе 89% отличного и хорошего качества и 11% плохого качества, тогда как в группе сравнения – 78% отличного и хорошего качества, и 22% плохого качества (рис. 2). Частота наступления беременности в основной группе составила 69,7%, тогда как в группе сравнения – 46,8%, из них 18,1% в первой и 9,3% во второй группе были биохимические, то есть зарегистрировано повышение В-ХГЧ через 12–14 дней после эмбриотрансфера. Клинические беременности наступили у 51,5% женщин в группе получавших антиоксидантную терапию и у 37,5% – в группе сравнения.

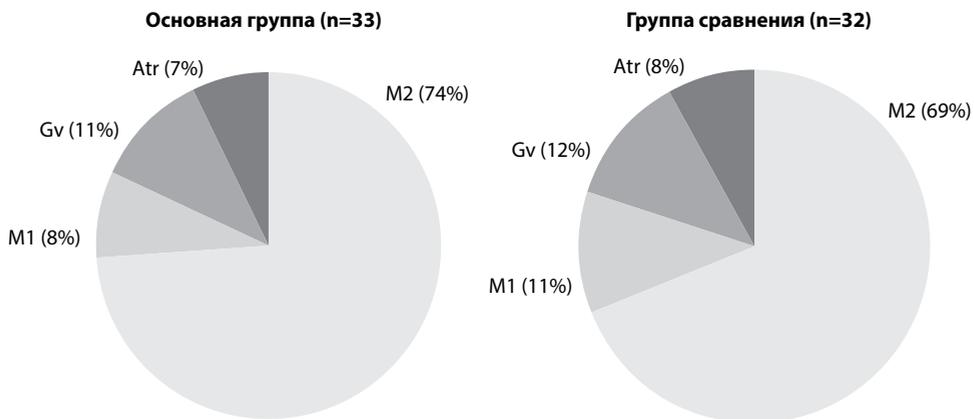


Рис. 1. Зрелость полученных ооцитов в исследуемых группах

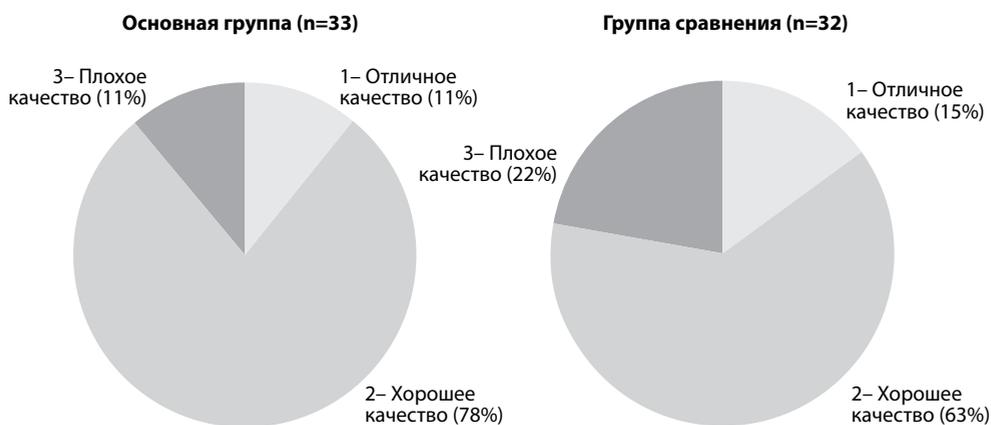


Рис. 2. Качество эмбрионов в исследуемых группах

Нами было установлено статистически значимые различия в системе про/антиоксидантов и активации апоптоза в репродуктивном тракте женщин 1-й и 2-й группы. Данные по эндометрию представлены в табл. 5. Исследования по фолликулярной жидкости были опубликованы ранее [15].

Для углубленной оценки эффективности антиоксидантной терапии мелатонином мы проанализировали корреляции между этими показателями и результатами ЭКО.

Корреляционный анализ зрелых ооцитов () с маркерами про/антиоксидантов в фолликулярной жидкости выявил сильную обратную корреляционную взаимосвязь между уровнями и ОМБ 356, коэффициент $-0,77$; средняя обратная корреляционная взаимосвязь между уровнями

Таблица 5
Уровень про/антиоксидантов и ф-ДНК в эндометрии женщин с бесплодием

Параметры	СОД актив ность, У.е. x мин ⁻¹ x мг б. ⁻¹	Каталазная активность, нмоль x мин ⁻¹ x мг б. ⁻¹	ТБК-активные соединения, нмоль x мг б. ⁻¹	Продукты ОМБ нейтрального ха- рактера (ед/мг б.)		Продукты ОМБ ос- новного характера (ед/мг б.)		Фраг- мен- тация ДНК, %
				альдо- произ- водные (356 нм)	кето- произ- водные (370 нм)	альдо- произ- водные (430 нм)	кето- произ- водные (370 нм)	
1-я группа (n=33)	0,520± 0,013*	0,470± 0,021*	27,510± 1,485*	0,178± 0,004*	0,161± 0,002*	0,095± 0,001*	0,084± 0,003*	5,040± 0,174*
2-я группа (n=32)	0,350± 0,007	0,188± 0,011	45,949± 2,167	0,231± 0,006	0,199± 0,005	0,137± 0,005	0,120± 0,003	7,060± 0,149

Примечание: * p<0,05 достоверность результатов группы 1 относительно результатов группы 2.

и ТБК, ОМБ (370), ОМБ (430), ОМБ (530) и ф-ДНК, коэффициенты -0,63; -0,68; -0,69; -0,69 и -0,74 соответственно; средняя прямая корреляционная взаимосвязь между уровнями , активностью СОД и каталазы, коэффициенты 0,47 и 0,59. Проверка полученных коэффициентов ранговой корреляции Спирмена на статистическую значимость (для заданного уровня значимости 0,05 и размера выборки (n) 33, критическое значение $r_{кр} = 0,344$) показала, нулевая гипотеза о независимости указанных выборок неверна, они связаны.

В группе сравнения по данным парам корреляции мы получили следующие результаты: выявлена средняя обратная корреляционная взаимосвязь между уровнями и ТБК-активных соединений, ОМБ (356), ОМБ (370), ОМБ (530) и ф-ДНК, коэффициенты -0,47; -0,52; -0,38; -0,50 и -0,36; слабая прямая корреляционная взаимосвязь между уровнями , СОД и каталазы, коэффициенты 0,14 и 0,09; слабая обратная корреляционная взаимосвязь между уровнями и ОМБ (430), коэффициент -0,18. Проверка полученных коэффициентов ранговой корреляции Спирмена на статистическую значимость (для заданного уровня значимости 0,05 и размера выборки (n) = 32, критическое значение $r_{кр} = 0,349$) показала, что нулевая гипотеза о независимости выборок и ТБК, ОМБ (356), ОМБ (370), ОМБ (530) и ф-ДНК неверна, они связаны.

Полученные данные свидетельствуют о зависимости количества зрелых ооцитов в большей степени от уровня перексидации протеинов и в меньшей степени от уровня перекисного окисления липидов и фрагментации ДНК в фолликулярной жидкости. Возможно, это связано с протеино-протекторным действием мелатонина, или деградация белков в большей степени влияет на процессы созревания ооцитов. Следовательно, хорошее качество ооцитов ассоциируется с низким уровнем свободных радикалов и достаточным количеством немодифицированных (нативных) белков. Влияние экзогенного мелатонина на повышение активности энзимов антиоксидантной защиты, видимо, способствует созданию благоприятных условий для созревания ооцитов и улучшению их микроокружения [16].

Корреляционный анализ эмбрионов отличного и хорошего качества ($N_{1,2}$) в фолликулярной жидкости выявил среднюю обратную корреляционную взаимосвязь между $N_{1,2}$ и ТБК, ОМБ (356), ОМБ (370), ОМБ

(430), ОМБ (530) и ф-ДНК, коэффициенты $-0,35$; $-0,30$; $-0,26$; $-0,28$; $-0,27$ и $-0,27$; средняя прямая корреляционная взаимосвязь между $N_{1,2}$, СОД и каталазы, коэффициенты $0,46$; $0,29$. Проверка полученных коэффициентов ранговой корреляции Спирмена на статистическую значимость (для заданного уровня значимости $0,05$ и размера выборки (n) 33 критическое значение $r_{кр} = 0,344$) показала, что нулевая гипотеза о независимости выборок эмбрионов 1 и 2 качества, ТБК и СОД неверна, они связаны.

В фолликулярной жидкости группы сравнения выявлена средняя обратная корреляционная взаимосвязь между $N_{1,2}$ и ТБК, ОМБ (356), ОМБ (370), ОМБ (430), ОМБ (530), ф-ДНК, коэффициенты $-0,27$; $-0,24$; $-0,36$; $-0,27$; $-0,34$ и $-0,21$; слабая прямая корреляционная взаимосвязь между эмбрионами 1 и 2 качества, СОД и каталазы, коэффициенты $0,05$; $0,21$. Проверка полученных коэффициентов ранговой корреляции Спирмена на статистическую значимость (для заданного уровня значимости $0,05$ и размера выборки (n)=32, критическое значение $r_{кр} = 0,349$) показала, что нулевая гипотеза о независимости выборок эмбрионами 1 и 2 качества и ОМБ (370) неверна, они связаны.

Полученные данные свидетельствуют об улучшении качества эмбрионов при низких уровнях продуктов окислительного стресса.

Основным критерием эффективности программы ЭКО является частота наступления беременности (ЧНБ). Для наступления беременности важно не только качество гамет и эмбрионов, но и имплантационная способность эндометрия. Мы оценили этот показатель у исследуемых женщин и также провели корреляционный анализ частоты наступления беременности с маркерами про/антиоксидантной системы и активации ОМБ в эндометрии и фолликулярной жидкости.

Итак, в первой группе в эндометрии выявлена сильная обратная корреляционная взаимосвязь между ЧНБ и ОМБ (356), коэффициент $-0,84$; средняя обратная корреляционная взаимосвязь между ЧНБ и ТБК, СОД, каталазой, ОМБ (370), ОМБ (430) и ОМБ (530) и ф-ДНК, коэффициенты $-0,71$, $-0,27$, $-0,28$, $-0,63$, $-0,49$, $-0,56$ и $-0,50$. Проверка полученных коэффициентов ранговой корреляции Спирмена на статистическую значимость (для заданного уровня значимости $0,05$ и размера выборки (n) 33, критическое значение $r_{кр} = 0,344$) показала, что нулевая гипотеза о независимости выборок ЧНБ, СОД и каталазы верна, они не связаны; прочие выборки связаны. В фолликулярной жидкости выявлена сильная прямая корреляционная взаимосвязь между уровнями ЧНБ, СОД и каталазой, коэффициенты $0,82$ и $0,84$; сильная обратная корреляционная взаимосвязь между уровнями ЧНБ, ТБК, ОМБ (356), ОМБ (370), ОМБ (530) и ф-ДНК, коэффициенты $-0,85$; $-0,80$; $-0,85$; $-0,84$ и $-0,86$; средняя обратная корреляционная взаимосвязь между уровнями ЧНБ и ОМБ (430), коэффициент $-0,70$. Проверка полученных коэффициентов ранговой корреляции Спирмена на статистическую значимость (для заданного уровня значимости $0,05$ и размера выборки (n) 33, критическое значение $r_{кр} = 0,344$) показала, что нулевая гипотеза о независимости выборок неверна, они связаны.

В группе сравнения в эндометрии выявлена сильная прямая корреляционная взаимосвязь между ЧНБ и каталазой, коэффициент $0,79$; сильная обратная взаимосвязь между ЧНБ и ОМБ (356), ОМБ (370), ОМБ (430) и ОМБ (530), коэффициенты $-0,81$; $-0,76$; $-0,80$; $-0,78$; средняя

прямая корреляционная взаимосвязь между уровнями ЧНБ и СОД, коэффициент 0,71; средняя обратная корреляционная взаимосвязь между уровнями ЧНБ, ТБК и ф-ДНК, коэффициенты $-0,64$ и $-0,74$. Проверка полученных коэффициентов ранговой корреляции Спирмена на статистическую значимость (для заданного уровня значимости 0,05 и размера выборки (n) 32, критическое значение $r_{кр} = 0,349$) показала, что нулевая гипотеза о независимости указанных выборок неверна, они связаны. В фолликулярной жидкости выявлена сильная прямая корреляционная взаимосвязь между ЧНКБ, СОД и каталазой, коэффициенты 0,77 и 0,78; сильная обратная корреляционная взаимосвязь между ЧНКБ, ТБК и ОМБ (530), коэффициенты $-0,76$ и $-0,81$; средняя обратная корреляционная взаимосвязь между ЧНКБ, ОМБ (356), ОМБ (370), ОМБ (430) и ф-ДНК, коэффициенты $-0,64$; $-0,46$; $-0,69$ и $-0,66$. Проверка полученных коэффициентов ранговой корреляции Спирмена на статистическую значимость (для заданного уровня значимости 0,05 и размера выборки (n) 32, критическое значение $r_{кр} = 0,349$) показала, что нулевая гипотеза о независимости выборок неверна, они связаны.

Выявленные корреляционные зависимости указывают, что наступлению беременности в обеих группах способствует нормализация баланса в системе про/антиоксидантов. Снижение уровня фрагментированной ДНК способствует восстановлению достаточного количества и качества клеток эндометрия, обеспечивающих его имплантационную функцию.

Корреляционный анализ между $N_{1,2}$ в основной группе выявил сильную прямую корреляционную связь, коэффициент 0,81. Проверка коэффициента ранговой корреляции Спирмена на статистическую значимость (для заданного уровня значимости 0,05 и размера выборки (n) 33, критическое значение $r_{кр} = 0,344$) показала, что нулевая гипотеза о независимости выборок неверна, выборки связаны. В группе сравнения выявлена средняя прямая корреляционная взаимосвязь между уровнями и $N_{1,2}$, коэффициент 0,71. Проверка коэффициента ранговой корреляции Спирмена на статистическую значимость (для заданного уровня значимости 0,05 и размера выборки (n) 32, критическое значение $r_{кр} = 0,349$) показала, что нулевая гипотеза о независимости указанных выборок неверна, они связаны. Это доказывает зависимость качества эмбрионов от качества ооцитов.

Также была проанализирована корреляционная зависимость ЧНБ от качества ооцитов и эмбрионов в обеих группах. В группе 1 выявлена сильная прямая корреляционная взаимосвязь между уровнями и ЧНБ, коэффициент 0,86; слабая прямая корреляционная взаимосвязь между $N_{1,2}$ и ЧНБ, коэффициент 0,29. Проверка полученных коэффициентов ранговой корреляции Спирмена на статистическую значимость (для заданного уровня значимости 0,05 и размера выборки (n) 33, критическое значение $r_{кр} = 0,344$) показала, что нулевая гипотеза о независимости выборок неверна, выборки связаны. В группе 2 выявлена сильная прямая корреляционная взаимосвязь между уровнями и ЧНБ, коэффициент 0,80; слабая прямая корреляционная взаимосвязь между $N_{1,2}$ и ЧНБ, коэффициент 0,15. Проверка полученных коэффициентов ранговой корреляции Спирмена на статистическую значимость (для заданного уровня значимости 0,05 и размера выборки (n) 32, критическое

значение $r_{кр} = 0,349$) показала, что нулевая гипотеза о независимости указанных выборки ЧНБ неверна, они связаны; прочие выборки не связаны. Данный анализ выявил лишь мощную корреляционную связь между зрелыми ооцитами и частотой наступления беременности в обеих группах.

■ ВЫВОДЫ

По данным корреляционного анализа можно заключить, что степень зрелости ооцитов и качество эмбрионов зависят от про/антиоксидантного равновесия фолликулярной жидкости, а именно: низкий уровень продуктов ПОЛ и ОМБ и активация антиоксидантной защиты способствуют нормальному дозреванию яйцеклеток и, соответственно, развитию качественных эмбрионов. Снижение уровня фрагментации ДНК и баланс в системе про/антиоксидантов в эндометрии обеспечивают его функциональность, тем самым повышая шансы на наступление беременности. Корреляционный анализ группы женщин, которые получали дополнительно антиоксидантную терапию мелатонином, показал статистически значимые положительные изменения в про/антиоксидантной системе репродуктивного тракта, достоверно улучшенные результаты по качеству ооцитов и эмбрионов, а также повышение частоты наступления беременности на 22,9%. На основании полученных результатов можно рекомендовать предгравидарную подготовку Вита-мелатонином женщинам с бесплодием трубно-перитонеального генеза.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. Orlova V. (2018) Oxidative stress biomarkers in reproductive tract of women with tuboperitoneal infertility. *Medycyna sododni i zavtra*, 1 (78), p. 72.
2. Orlova V., Suslikova L., Orlova O., Dmitrienko D. (2018) The level of DNA fragmentation of the endometrium and follicular fluid in tuboperitoneal infertility. *Experymentalna i klinichna medycyna*, 4 (81), pp. 58–62.
3. Singh A.K., Chattopadhyay R., Chakravarty B., Chaudhury K. (2013) Markers of oxidative stress in follicular fluid of women with endometriosis and tubal infertility undergoing IVF. *Reprod Toxicol*, 42, pp. 16–24.
4. Liu J., Li Y. (2010) Effect of oxidative stress and apoptosis in granulosa cells on the outcome of IVF-ET. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.*, 35 (9), pp. 990–4.
5. Feldmann, G., Benifla, J. L., Madelenat P. (2006) Apoptosis of granulosa cells as a predictive marker of in vitro fertilization success? *Gynecol. Obstet. Fertil.*, vol. 34 (7–8), pp. 547–582.
6. Karuputhula N. B., Chattopadhyay R., Chakravarty B., Chaudhury K. (2013) Oxidative status in granulosa cells of infertile women undergoing IVF. *Journal Systems Biology in Reproductive Medicine*, pp. 91–98.
7. Claustrat B., Leston J. (2015) Melatonin: Physiological effects in humans. *Neurochirurgie*, 61 (2–3), pp. 77–84.
8. World Health Organization (2010) *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. Fifth edition*, 271.

9. Gardner D.K., Lane M., Stevens J., Schoolcraft W.B. (2000) Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil. Steril.*, 73 (6), pp. 1155–1158.
10. Dubinina E., Burmistrov S., Xodov D., Porotov I. (1995) Oxidative modification of human serum protein, method of its determination. *Voprosy meditsinskoj khimii*, 1 (41), pp. 24–26.
11. Orekhovich V. (1977) Modern methods in biochemistry. *Medicina*, pp. 66–68.
12. Chevary S., Chaba Y., Sekej J. (1985) The role of superoxide dismutase in the oxidative processes of the cell and the method for its determination in biological materials. *Labor. delo*, 11, pp. 678–681.
13. Koroliuk M., Ivanova L., Majorova I., Tokarev V. (1988) Method for determining of catalase activity. *Labor. Delo*, 1, pp. 16–18.
14. Burton K. (1956) A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem.*, 62, pp. 315–323.
15. Orlova V. (2019) Efficiency of use exogenous melatonin in tubal infertility. *Visnyk naukovykh doslidjen*, 1 (94), p. 63.
16. Luddi A., Capaldo A., Focarelli R., Gori M. et al. (2016) Antioxidants reduce oxidative stress in follicular fluid of aged women undergoing IVF. *Reprod Biol Endocrinol.* 14 (1), p. 57.

Поступила/Received: 01.02.2019

Контакты/Contacts: dr.viktoriaorlova@gmail.com