

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ЭНДОКРИНОЛОГИИ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

**АБСАТАРОВА
ЮЛИЯ СЕРГЕЕВНА**

**РОЛЬ МЕЛАТОНИНА В ПАТОГЕНЕЗЕ СИНДРОМА
ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ**

14.01.02 – Эндокринология

**Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

**Научный руководитель:
доктор медицинских наук
Андреева Елена Николаевна**

Москва – 2018

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ПАТОГЕНЕЗ РЕПРОДУКТИВНЫХ И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ СИНДРОМЕ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	10
1.1 Определение синдрома поликистозных яичников.....	10
1.2 Патогенез метаболических нарушений	11
1.3 Редокс-статус и десинхроноз при синдроме поликистозных яичников...	12
1.4 Мелатонин и репродуктивная система.....	25
1.5 Сомнологический профиль и психологические особенности пациенток с синдромом поликистозных яичников	32
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	36
2.1. Материал исследования.....	36
2.2. Дизайн исследования.....	37
2.3. Методы исследования.....	40
2.4. Статистические методы анализа данных.....	43
ГЛАВА 3. КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКАЯ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНО-ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ УЧАСТНИЦ.....	45
ГЛАВА 4. СОМНОЛОГИЧЕСКИЕ И ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТОК.....	51
ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОК.....	57
ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	72
Выводы.....	80
Практические рекомендации.....	81
Список сокращений и условных обозначений.....	82
Список литературы.....	83

ВВЕДЕНИЕ

Синдром поликистозных яичников (СПЯ) является одной из наиболее распространенных эндокринных патологий в популяции. Неоднородность симптоматики и критериев диагноза заболевания вынудила разделить СПЯ на фенотипы на основании сочетания признаков, а в дальнейшем использовать подходы к лечению согласно данной градации. Гетерогенная совокупность признаков синдрома формирует спектр расстройств с мягким течением у одних и тяжелыми репродуктивными и метаболическими нарушениями у других. СПЯ оказывает неблагоприятное воздействие на качество жизни, при этом хроническое течение заболевания и отдаленные метаболические риски требуют постоянного наблюдения [2].

Этиология заболевания во многом спорна: с каждым годом открывают новые возможные механизмы патогенеза. В настоящее время проводят поиск генов-кандидатов, исследуют факторы внешней среды, а также эндокринные дизрапторы, как возможные активаторы специфического для данного синдрома сочетания генов. Немаловажными участниками патогенеза являются степень социальной активности, принципы пищевого поведения и гиподинамия, что наряду с накоплением генетического груза и эволюционно заложенной способностью тканей к снижению чувствительности к инсулину в период голодания вносят свой вклад в повышение распространенности СПЯ.

Результаты исследований последних десятилетий позволили предположить влияние мелатонина и биологических ритмов организма на развитие и прогрессирование заболевания.

Огромное количество исследований шишковидной железы и мелатонина у млекопитающих привело к прогрессу в понимании молекулярных процессов его синтетической и секреторной способности и механизмов действия гормона на периферическом уровне. Существуют однозначные доказательства того, что мелатонин функционирует через рецепторы, как мембранные, так и ядерные, а также нейтрализует свободные радикалы (процесс, не требующий участия

рецепторов). Многочисленные данные свидетельствуют о роли этого гормона в физиологии яичников, в том числе развитии фолликулов, овуляции, созревании ооцитов и поддержании желтого тела.

Мелатонин – главный гормон эпифиза (шишковидной железы), синтезируется из триптофана и является индольным производным серотонина. Он обеспечивает адаптацию эндогенных биоритмов к постоянно меняющимся условиям внешней среды. Биологический ритм – основа жизнедеятельности организма, а практически все гормоны имеют суточные колебания. Если раньше считалось, что основная задача мелатонина – регуляция цикла сон-бодрствование, то сейчас доказано, что он является иммуннорегулятором и антиоксидантом [5]. Гормону приписывается возможная роль в регуляции функции яичников: его высокие концентрации блокируют апоптоз и нейтрализуют активные формы кислорода, участвующие в фолликулогенезе, овуляции, созревании яйцеклетки и образовании желтого тела. При этом доказано, что в яичниках синтезируется свой собственный мелатонин, действующий как паракринный фактор. Многие исследователи в своих работах зарегистрировали его пониженную концентрацию в фолликулярной жидкости, что может определять низкое качество ооцитов, в том числе при СПЯ. Не только ановуляция, но и снижение качества яйцеклеток и эмбрионов может быть причиной бесплодия у таких пациенток. Дополнительным усугубляющим обстоятельством в нарушении синтеза мелатонина является расстройство циркадианных ритмов сон-бодрствование, а это, в свою очередь, может привести к метаболическим нарушениям. На сегодняшний день существует множество доказательств повышенного риска развития метаболического синдрома у людей с ограничением сна вследствие работы в ночную смену, учебы или образа жизни. Ограничение продолжительности сна приводит к увеличению массы тела и ожирению, при этом снижается чувствительность тканей к инсулину, и в дальнейшем может развиваться сахарный диабет [110]. В силу повышенных метаболических рисков у пациенток с СПЯ профилактика и коррекция сомнологических нарушений позволит улучшить прогноз заболевания и повысить

качество жизни женщин – принципы, лежащие в основе персонализированной медицины.

Таким образом, учитывая высокую распространенность метаболических нарушений, хронический характер СПЯ, новые данные о роли мелатонина в фолликулогенезе, возникла необходимость оценить роль этого гормона в репродуктивной функции женщины, т.к. полученные результаты позволят повысить эффективность лечения пациенток и реализовать способность к зачатию с помощью консервативных методов терапии без использования вспомогательных репродуктивных технологий.

Цель: изучить влияние мелатонина на развитие ановуляции и сомнологических нарушений у пациенток с СПЯ, возможности его использования в схемах лечения данного заболевания.

Задачи:

1. Исследовать уровень мелатонина в крови и фолликулярной жидкости, определить уровень метаболита мелатонина 6-сульфатоксимелатонина в суточной моче и суточный ритм мелатонина в слюне в зависимости от индекса массы тела (ИМТ), определить взаимосвязь уровней мелатонина в различных биологических жидкостях.
2. Изучить сомнологический профиль и психологические особенности пациенток с СПЯ в зависимости от ИМТ.
3. Оценить выраженность метаболических нарушений у пациенток с СПЯ с нормальной и избыточной массой тела или ожирением в связи с сомнологическими расстройствами.
4. Изучить цитопротективный эффект мелатонина в комбинированной терапии СПЯ.

Научная новизна

Впервые в России на достаточно большой выборке пациенток репродуктивного возраста определено содержание мелатонина в крови и фолликулярной жидкости с помощью метода хромато-масс-спектрометрии.

Нами подтверждено наличие высокой концентрации мелатонина в доминантных фолликулах здоровых яичников, его сниженный уровень в атретичных фолликулах пациенток с СПЯ.

Показана взаимосвязь уровней мелатонина и тестостерона, а также мелатонина и анти-мюллера гормона (АМГ) в крови, что позволяет предположить наличие цитопротективного эффекта мелатонина в процессах фолликулогенеза и мелатониндефицита, как фактора ановуляции наряду с гиперандрогенией.

Выявлено статистически значимое снижение концентрации мелатонина в фолликулярной жидкости и сопутствующее повышение его в крови в 8.00 утра, а также в слюне в 3.00 ночи у пациенток с СПЯ, независимо от ИМТ, по сравнению со здоровыми женщинами.

Изучена взаимосвязь различных фенотипов СПЯ и уровня мелатонина в крови: обнаружено, что классический фенотип ассоциирован с наиболее высокими показателями мелатонина в крови по сравнению с остальными фенотипами.

Разработана методика диагностики овуляторной дисфункции на основании результатов однократного лабораторного исследования уровня мелатонина и тестостерона независимо от дня менструального цикла (получен патент на изобретение № 2650627 от 16.04.2018).

Изучена связь сомнологических и метаболических нарушений у пациенток с СПЯ и их влияние на течение заболевания. Обнаружено, что у больных СПЯ более высокая распространенность расстройств сна по сравнению со здоровыми женщинами, при этом более выраженные отклонения сопровождаются более значимым снижением чувствительности тканей к инсулину.

Продemonстрировано, что терапия синтетическим аналогом мелатонина не только улучшает сомнологические показатели при наличии их отклонений, но и повышает эффективность стимуляции овуляции кломифена цитратом.

Практическая значимость

Данные нашего исследования позволили усовершенствовать алгоритм диагностики и ведения пациенток с СПЯ с обязательным включением анализа

сомнологического профиля больных (анкета балльной оценки субъективных характеристик сна) в связи с высокой степенью распространенности нарушений сна и их влиянием на метаболические показатели.

Способ диагностики ановуляции по результатам определения мелатонина методом хромато-масс-спектрометрии и тестостерона повышает точность идентификации нарушений фолликулогенеза, не требует длительного ультразвукового мониторинга и не имеет связи с днем цикла. Данный метод позволяет выявить ановуляцию, как причину бесплодия, при различных заболеваниях, что дает возможность своевременно применить адекватную терапевтическую тактику.

Терапия синтетическим аналогом мелатонина включена в схему комплексного лечения больных СПЯ по двум официально зарегистрированным показаниям: в качестве адаптогена, а также для лечения сомнологических расстройств. Его дополнительное преимущество в виде цитопротективного эффекта, позволяющего преодолеть кломифенрезистентность, активно используется в повседневной гинекологической практике.

Положения, выносимые на защиту

- У пациенток с СПЯ выявлен дефицит мелатонина в фолликулярной жидкости и сопутствующее ему повышение в крови и слюне, а также 6-сульфатоксимелатонина в суточной моче.
- Высокий уровень АМГ коррелирует с повышенным уровнем мелатонина в крови, а уровень мелатонина – с тестостероном. Нарушение фолликулогенеза вследствие дефицита мелатонина в фолликулярной жидкости независимо от массы тела и сомнологических расстройств у женщин с СПЯ вместе с гиперандрогенией и высоким уровнем АМГ могут приводить к формированию атретических фолликулов и развитию ановуляции.
- Сомнологические нарушения ассоциированы с инсулинорезистентностью, что усугубляет имеющиеся метаболические риски при СПЯ.

- Включение мелатонина в схему комбинированной терапии пациенток с СПЯ позволяет повысить эффективность стимуляции овуляции кломифена цитратом.

Внедрение результатов исследования в практику

Предложенный алгоритм клинико-лабораторного обследования женщин с СПЯ и метод комплексной терапии внедрены в работу отделения эндокринной гинекологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» МЗ РФ. По материалам работы читаются лекции на школах для практических врачей на базе ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» МЗ РФ.

Официальная апробация диссертационной работы состоялась 12 июля 2017 года на расширенной межотделенческой научной конференции ФГБУ «Эндокринологический научный центр» МЗ РФ (в настоящее время ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России).

По результатам диссертации опубликовано 8 работ, из них 4 – в изданиях, рецензируемых ВАК РФ.

Материалы диссертации представлены на VII Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 2013г.), Gynecological Endocrinology – 17th World Congress (Флоренция, 2016г.), VII Всероссийском конгрессе эндокринологов (Москва, 2016г.), 15th World Congress on Menopause (Прага, 2016г.), XVIII Международном конгрессе «Здоровье и образование в XXI веке» (Москва, 2016г.), 17th World Congress of the Academy of Human Reproduction (Рим, 2017г.), III Всероссийском эндокринологическом конгрессе с международным участием «Инновационные технологии в эндокринологии» (Москва, 2017г.), 12 Congress of the European Society of Gynecology (Барселона, 2017г.), 18 World Congress on Gynecological Endocrinology (Флоренция, 2018 г.).

Личный вклад автора

Автор непосредственно участвовал в выборе направления исследования, разработке цели и задач исследования, обобщении, анализе, статистической обработке полученных результатов.

Автор лично производил сбор анамнеза, антропометрическое обследование, гинекологическое и ультразвуковое исследование, лечение и мониторинг его результатов.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 100 страницах компьютерного текста и состоит из введения, 6 глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований и их обсуждение), выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Иллюстрированный материал представлен 13 таблицами и 7 рисунками. Библиографический указатель включает в себя 174 источника, в том числе 30 отечественных и 144 зарубежных.

ГЛАВА 1. ПАТОГЕНЕЗ РЕПРОДУКТИВНЫХ И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ СИНДРОМЕ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Определение синдрома поликистозных яичников

СПЯ является одной из самых распространенных эндокринных патологий и основной причиной ановуляторного бесплодия [15; 37]. Так как симптоматика синдрома разнообразна, верификация диагноза может вызывать трудности. На сегодняшний день приняты роттердамские критерии диагностики (ESRHE/ASRM, 2003г.): «1) клинические или биохимические признаки гиперандрогении, 2) ановуляция, 3) поликистозные яичники по данным ультразвукового исследования (УЗИ)». Для постановки диагноза достаточно двух критериев из трех, при исключении других источников гиперандрогении [161]. В пубертате СПЯ провоцирует развитие менструальной дисфункции и клинических проявлений гиперандрогении (гирсутизм и акне), в репродуктивном возрасте – гиперплазии эндометрия, ановуляторного бесплодия и гестационных осложнений, таких как самопроизвольное прерывание беременности, гестационный диабет и преэклампсия [1]. В период пери- и постменопаузы пациентки с СПЯ подвержены более высокому риску развития сердечно-сосудистых заболеваний, гипертонии, сахарного диабета и других метаболических осложнений [4; 28]. Поэтому крайне важна ранняя диагностика для уменьшения проявлений как ближайших, так и отдаленных последствий данного синдрома.

На основании различного сочетания критериев были сформулированы основные фенотипы СПЯ: классический (гиперандрогения, ановуляция и наличие поликистозных яичников по результатам УЗИ), овуляторный (гиперандрогения и наличие поликистозных яичников по результатам УЗИ), неандрогенный (ановуляция и наличие поликистозных яичников по результатам УЗИ), ановуляторный (гиперандрогения в сочетании с ановуляцией) [27; 109].

1.2 Патогенез метаболических нарушений

В патогенез данного заболевания вовлечены различные факторы: генетические, эндокринные, а также факторы внешней среды. Представления о патогенезе СПЯ меняются до сих пор по мере накопления знаний о механизмах развития болезни.

Данные множества исследований свидетельствуют о том, что СПЯ ассоциирован с периферической невосприимчивостью к инсулину и, как следствие, гиперинсулинемией. Инсулинорезистентность (ИР) определяется как состояние, при котором нормальные концентрации инсулина производят субнормальные воздействия на гомеостаз глюкозы и ее утилизацию [55]. Ожирение, которое часто встречается при СПЯ, усиливает степень этих отклонений. ИР не является частью диагностических критериев, однако лежит в основе патофизиологических механизмов инициирования и прогрессирования СПЯ. Резистентность к инсулину присутствует у 65-80% больных СПЯ и провоцирует развитие гипергликемии и прогрессирование сахарного диабета 2 типа, а также увеличивает риск сердечно-сосудистых заболеваний. Косвенно ИР можно рассчитать с помощью модели Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance-IR (HOMA-IR) [77; 115].

Одна из существующих теорий патогенеза СПЯ – влияние эндокринных дизрапторов, экзогенных веществ, содержащихся в воздухе, воде, почве, пищевых продуктах, а также в некоторых промышленных изделиях, и оказывающих при попадании в организм гормоноподобное действие, нарушая механизмы регуляции гомеостаза эндогенными гормонами. К эндокринным дизрапторам относят некоторые классы химических веществ, созданных человеком: пестициды (дихлордифенилтрихлорэтан и его метаболиты), бисфенол А, фталаты, полибромидные дифениловые эфиры и другие вещества [29].

Механизм действия эндокринных дизрапторов основан на их общем свойстве специфически связываться в качестве лигандов с гормональными рецепторами клеток. Эта связь в итоге приводит к возникновению гормоноподобных эффектов. Исследования на животных наводят на мысль о том,

что эндокринные дизрапторы индуцируют репродуктивные и метаболические нарушения, напоминающие по характеристикам СПЯ [123].

Учитывая данные о пренатальном воздействии высокого уровня тестостерона, активно изучается роль экологических андрогенов в создании гиперандрогенной среды плода. Одним из веществ с андрогенной активностью является триклокарбан, широко используемый антимикробный препарат в мылах, а также в одежде, коврах, пластмассах, игрушках и школьных принадлежностях. Самостоятельно триклокарбан практически не имеет андрогенной активности однако в присутствии тестостерона он усиливает эффекты эндогенного андрогена [79]. Для женщин с СПЯ характерна более высокая концентрация в крови бисфенола А, используемого при изготовлении поликарбонатных пластиков и эпоксидных смол. Также доказано, что бисфенол А индуцирует ИР [35].

1.3 Редокс-статус и десинхронизация при синдроме поликистозных яичников

Наряду с гиперандрогенией и ИР для СПЯ характерен дисбаланс антиоксидантов и окислителей, что в свою очередь приводит к высокой степени активности окислительного стресса, выявляющегося даже у женщин с нормальной массой тела и не имеющих метаболических нарушений. Окислительный стресс можно определить, как дисбаланс между клеточными окислителями (активные формы кислорода - АФК) и антиоксидантами. Он оказывает прямое токсическое воздействие, приводя к перекисному окислению липидов, белков или повреждению дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Окислительный стресс лежит в основе всех физиологических и патологических процессов: старение, злокачественное перерождение, воспаление, сердечно-сосудистая патология. Он оказывает влияние на чувствительность тканей к инсулину и уровень андрогенов, наносит ущерб женской репродуктивной системе. При этом ИР и гипергликемия – значимые факторы, нарушающие редокс-статус (т.е. баланс окислителей и антиоксидантов), независимо от ИМТ [76].

Предполагается, что процессы свободно-радикального окисления, опосредуемые рядом провоспалительных цитокинов, являются общим основным фактором патогенеза для эндометриоза, рака яичников, СПЯ и других гинекологических патологий. АФК ингибируют продукцию прогестерона лютеиновыми клетками посредством ингибирования стероидогенных ферментов и внутриклеточных белков-носителей, регулирующих перенос холестерина в митохондрии. АФК также нарушают плазматическую мембрану лютеиновых клеток вследствие перекисного окисления липидов, что приводит к регрессу желтого тела [172].

Одним из участников антиоксидантной системы является мелатонин – главный гормон шишковидной железы (эпифиза) всех позвоночных. Он уменьшает последствия окислительного стресса за счет нейтрализации свободных радикалов [9; 127; 152]. Антиоксидантные свойства гормона превосходят другие антиокислители: глутатион, маннитол и витамин Е [106]. Мелатонин является эффективным нейтрализатором свободных радикалов токсичных реагентов на основе кислорода, гидроксильных радикалов, азотистых соединений. Он увеличивает эффективность перехода электронов между митохондриальными дыхательными комплексами, являющимися основными областями возникновения свободных радикалов [80]. Кроме того, данный гормон оказывает не прямое действие за счет стимуляции образования антиоксидантных ферментов и важного интрацеллюлярного антиокислителя – глутатиона. Несколько метаболитов мелатонина, которые образуются в процессе нейтрализации повреждающих агентов, сами являются акцепторами свободных радикалов [163].

Синтез мелатонина происходит в отсутствие света, падающего на сетчатку, ночью. При наличии искусственного освещения и в светлое время суток его продукция прекращается. Пинеальная секреция мелатонина имеет циркадианный ритм, который контролируется супрахиазматическим ядром и характеризуется низким уровнем продукции в дневное время и высокой скоростью производства в течение ночи; максимальна она, обычно, в 2-4 часа ночи, в дальнейшем плавно снижается. С 7-8 утра и до 8 вечера, в среднем, концентрация этого индоламина в

крови минимальна. Секреция мелатонина имеет возрастные особенности: максимальна в возрасте от 3 до 5 лет, затем с подросткового возраста она начинает уменьшаться. Его значения достаточно неизменны до возраста 35-40 лет; окончательное уменьшение амплитуды происходит в пожилом возрасте, тогда наблюдаются низкие уровни этого гормона [60].

Мелатонин синтезируется из незаменимой аминокислоты триптофана, которая входит в состав белков всех живых организмов. В биосинтез мелатонина вовлечено по меньшей мере четыре фермента, среди которых N-ацетилтрансфераза серотонина считается ферментом, ограничивающим скорость синтеза. Пинеалоциты получают триптофан из крови и превращают его в серотонин посредством гидроксилирования и декарбоксилирования. Серотонин затем превращается в N-ацетил-серотонин с помощью фермента арилалкиламин-N-ацетилтрансферазы – ключевого фермента в синтезе. N-ацетил-серотонин впоследствии метилируется с образованием мелатонина (индоламин). Для этой стадии требуется фермент гидроксииндол-О-метилтрансфераза. Пинеальная активность N-ацетилтрансферазы обычно имеет тот же циркадианный ритм, что и уровень мелатонина в крови и эпифизе, при этом универсальным ингибитором является свет [10].

Из пинеалоцитов мелатонин попадает в кровь, а далее в другие жидкие среды организма: спинномозговую жидкость, слюну, желчь, амниотическую жидкость, фолликулярную жидкость яичников. Период полувыведения гормона варьирует от 30 до 60 минут. 70% сывороточного мелатонина связано с альбумином, а остальные 30% диффундируют в окружающие ткани. Он метаболизируется преимущественно в печени и в почках. Мелатонин катаболизируется до 6-сульфатоксимелатонина печеночной монооксигеназой P450 [10].

Многие биологические действия мелатонина опосредованы мембранными или ядерными рецепторами, а внутриклеточные эффекты не зависят от рецептора (например, нейтрализация свободных радикалов). Хорошо исследована экспрессия рецепторов этого индоламина в периферических тканях человека. Они находятся в головном и спинном мозге, гипофизе, сетчатке, селезенке, тимусе, надпочечниках,

печени, почках, сердце, легких, яичниках, кровеносных сосудах, лимфоцитах, остеобластах, щитовидной железе [51; 72]. Экспрессия матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) и белка рецепторов мелатонина (MT1, MT2) была обнаружена в репродуктивных тканях человека, в том числе в эпителии молочной железы, миометрии, гранулезных клетках яичника и желтом теле [135; 139; 143; 144].

Мелатонин и его метаболиты являются важными акцепторами как кислородных, так и азотных реагентов, уменьшая повреждение, вызванное токсичными химическими веществами. Мелатонин регулирует экспрессию нескольких генов, в том числе гены синтеза супероксиддисмутазы. Гормон влияет как на активность антиоксидантных ферментов, так и на клеточные уровни их мРНК в физиологических условиях при повышенном окислительном стрессе [163].

Наряду с антиоксидантными свойствами мелатонин синхронизирует циркадианные ритмы (промежуток продолжительностью 20-28 часов), регулирует цикл сна и бодрствования, стимулирует иммунную и участвует в работе репродуктивной системы [7; 63; 73; 132].

В течение нескольких миллиардов лет под влиянием солнечного света формировалась эндогенная циркадианная ритмичность у всех форм жизни. Биологическая и социальная жизнь человечества подчинена законам ритма, а мелатонин как фактор поддержания ритмичности в организме все больше привлекает внимание ученых. Биологический ритм – это отражение ритмичности внешней среды (смены времен года, дня и ночи), т.е. это способ адаптации к внешним факторам, позволяющий полноценно существовать в мире. Урбанизация и ускорения темпов социальной жизни приводят к десинхронозу – явлению, при котором происходит рассогласование фазовых отношений биоритмов. В ответ на десинхроноз развивается дезадаптационная реакция и стресс, которые приводят к нарушению гомеостаза во всем организме в связи со сложными взаимоотношениями биоритмов, запускающими системный ответ. Изучением ритмических процессов в живой системе во времени и адаптации к внешним ритмам занимается хронобиология, имеющая отдельное направление

исследований – хрономедицина. Понимание процессов ритмичности и способов их регулирования позволит воздействовать на патологические изменения в биологических системах в контексте времени [20].

Светочувствительные клетки сетчатки, содержащие фотопигмент меланопсин, воспринимают световой сигнал и передают его через гипоталамический тракт в супрахиазматическое ядро гипоталамуса, которое активирует синтез и высвобождение мелатонина. Генетическая регуляция циркадианных ритмов, в свою очередь, осуществляется путем взаимодействия между clock-генами (от англ. clock – часы) и их белковыми продуктами, экспрессию которых контролирует данный гормон [173]. Существует большое количество исследований о влиянии «выключения» циркадианных генов (knockout-gene) у мышей и существовании их полиморфизмов у человечества: отсутствие или изменение функции циркадианных генов может увеличить риск некоторых заболеваний у людей [147].

Согласно А.Ф. Кроту: «Световое загрязнение - форма физического загрязнения окружающей среды, выраженная в повышении уровня освещенности за счет использования источников искусственного света. Уличное освещение, реклама, жилые и производственные помещения в ночное время дают свет, который многократно отражаясь от наземных объектов, облаков и пыли, взвешенной в воздухе, освещает небо, формирует над городами световые купола» и, таким образом, нарушает внутренний циркадианный ритм организма, влияет на работу супрахиазматического ядра, подавляя выработку мелатонина [20]. Повышенная чувствительность к десинхронизирующим факторам может обуславливать широкую распространенность патологий репродуктивной системы, в том числе СПЯ, как наиболее частой причины ановуляторного бесплодия.

Wright и соавт. в своей работе продемонстрировали влияния электрического света на циркадианную ритмичность у людей [166]. В исследовании участвовало 8 городских жителей (из них две женщины, средний возраст 30 лет). Каждый участник прошел обследование в привычной ему обстановке, а затем отправился в поход в горы в течение недели, где полностью отсутствовали искусственные

источники освещения. Среди восьми испытуемых встречались различные хронотипы (жаворонок/сова, утренний/вечерний тип). С помощью исследования уровня мелатонина в слюне было установлено, что среднее время повышения показателя начиналось через 2 ч после захода солнца в привычной городской обстановке с высокой вариабельностью между участниками; снижаться уровень гормона начинал в среднем через 2 часа после восхода солнца. Подъем и снижение уровня мелатонина рассматривают как начало и конец биологической ночи у людей. Начало сна до горного похода приходилось в среднем на 12 часов ночи, а заканчивался сон до снижения мелатонина. После недельного кемпинга повышение уровня гормона приходилось на время заката, а снижение – восхода солнца, при этом среди участников стало гораздо меньше изменчивости по хронотипам: у жаворонков и сов была одинаковая продолжительность дня с естественным дневным освещением. Начало сна сместилось на более раннее время, и здесь тоже было зафиксировано меньше вариабельности. Авторы отмечают, что повышенное воздействие солнечного света может помочь уменьшить последствия десинхронозов для здоровья, как физиологические, так и когнитивные. Они также отмечают, что естественный солнечный свет является более сильным экологическим датчиком ритма или временным сигналом для внутренних циркадианных часов, чем электрическое освещение в городской среде. Люди в современном мире не только испытывают воздействие света ночью, они получают гораздо меньше света в течение дня в домах с электрическим освещением. Это может привести к десинхронизации ритмов во всем организме.

На сегодняшний день изучено несколько аспектов воздействия света в течение ночи на циркадианные ритмы человека: синий свет является наиболее мощным по действию на организм, красный – в меньшей степени; световое воздействие днем влияет на чувствительность в течение ночи; между людьми выявлена разная чувствительность к свету; даже через закрытые веки очень яркий свет может подавлять мелатонин [147].

Многими исследователями подтверждено влияние десинхронозов на физиологические процессы в организме, в том числе на развитие расстройств сна,

психических и сердечно-сосудистых заболеваний, иммунной патологии, метаболических нарушений, ожирения и рака [31; 101]. На рисунке 1 представлены данные о распространенности избыточного веса и ожирения у женщин по странам, на рисунке 2 представлен уровень искусственного света в ночное время. Данные по интенсивности искусственного света в ночное время могут пояснить их связь со степенью распространенности ожирения в мире.

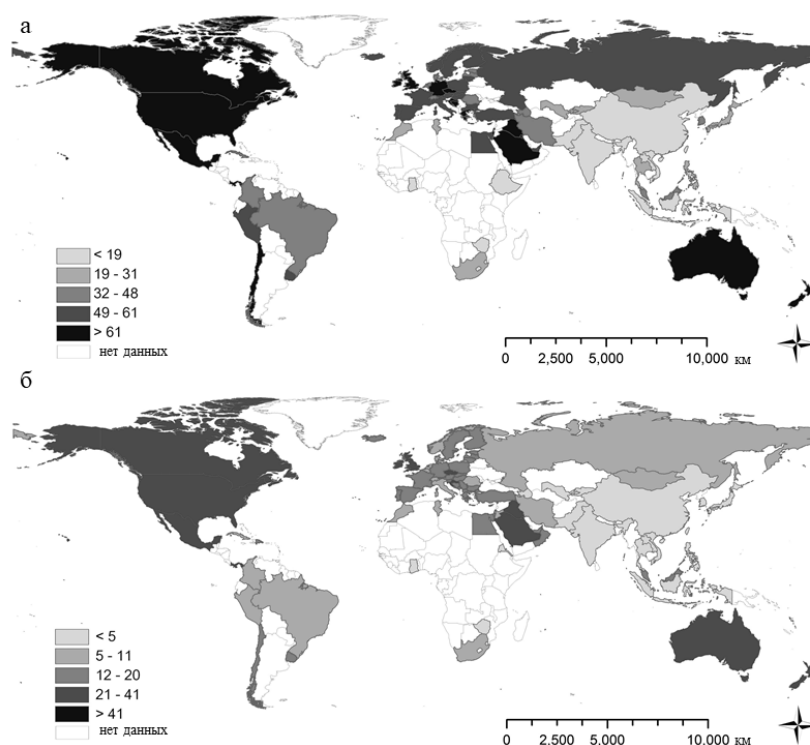


Рисунок 1 - Распространенность избыточного веса (а) и ожирения (б) у женщин по странам (% от всех женщин) по данным ВОЗ (2012 год). Адаптировано из Rybnikova N.A., Haim A., Portnov B.A. Does artificial light-at-night exposure contribute to the worldwide obesity pandemic? // Int J Obes (Lond). – 2016. – №40. – С.815-823.

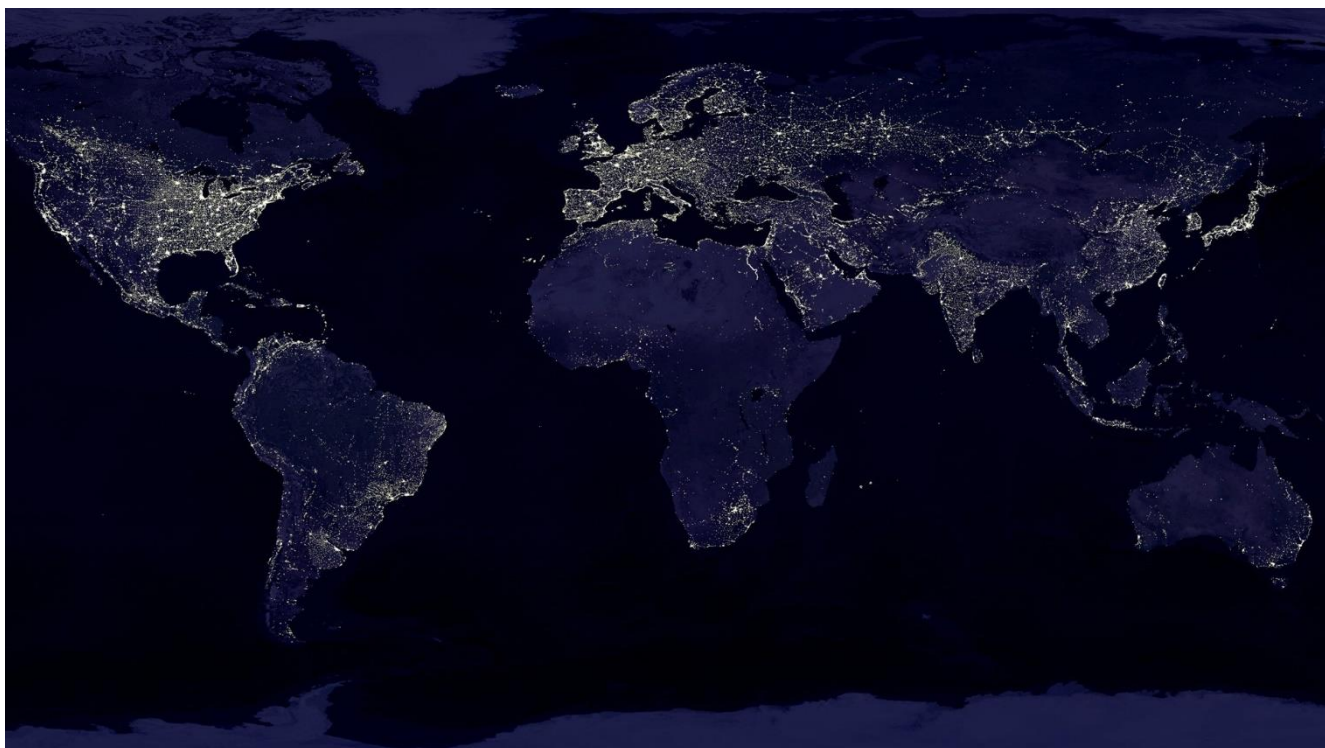


Рисунок 2 - Уровень искусственного света в ночное время по данным спутников, зафиксированный в 2010 году. Адаптировано из Rybnikova N.A., Haim A., Portnov B.A. Does artificial light-at-night exposure contribute to the worldwide obesity pandemic? // Int J Obes (Lond). – 2016. – №40. – С.815-823.

Мета-анализ, основанный на нескольких хронобиологических исследованиях, оценивающих влияние различных типов циркадианных нарушений (например, сменная работа, депривация сна и воздействие искусственных источников освещения), продемонстрировал прямую связь между десинхронозом и риском рака молочной железы, при этом каждые 10 лет сменной работы увеличивали риск на 16%. Кроме того, было показано, что работа в ночную смену в течение 20 лет ассоциировалась с повышенным риском эстроген-зависимого рака молочной железы [81]. Интересные данные представлены в исследованиях, которые оценили взаимосвязь между риском рака молочной железы и степенью нарушения зрения: установлена обратная зависимость между двумя параметрами со значительным снижением риска среди полностью слепых женщин [67; 128]. Назначение мелатонина в дозе 20 мг/день способствовало стабилизации прогрессирования опухоли и улучшало выживаемость в течение первого года по

сравнению с пациентками, получавшими только поддерживающую терапию. Лечение данным гормоном улучшало реакцию опухоли на химиотерапию и снижало выраженность побочных эффектов химиотерапии [105].

Для уточнения физиологических различий между женщинами, работающими в дневную смену и работающими посменно, было проведено всего несколько исследований, которые могли бы объяснить более высокий риск рака молочной железы у первых. Врассі и соавт. обнаружили выраженные различия в экспрессии циркадианных генов в лимфоцитах и значительно более высокий уровень эстрадиола у участниц, работающих посменно по данным анализов крови и мочи, взятых утром перед сменой, которая шла после выходного дня в обеих группах [43].

Снижение продукции мелатонина под действием светового излучения во время ночных смен оказывает сильное влияние на энергетический метаболизм. Исследования демонстрируют, что избыточный вес и ожирение более распространены среди работников, выходящих в ночную смену, чем среди тех, кто выходит в день [8; 45; 93]. Кроме того, сменная работа и работа в ночное время связаны с повышенным риском развития других метаболических расстройств, таких как ИР, сахарный диабет, дислипидемия и метаболический синдром [51; 64; 102; 103]. Повторяющиеся ночи недостаточного сна понижали чувствительность к инсулину без его компенсаторной секреции у здоровых участников [164].

Инсулинорезистентность, нарушение толерантности к глюкозе, а также иные изменения метаболических параметров регистрируются при некоторых физиологических или патофизиологических состояниях, которые связаны с уменьшением содержания мелатонина в крови: сахарный диабет, старение, сменная работа, высокая степень освещенности окружающей среды в ночные часы [16; 34; 68]. Было установлено, что мелатонин участвует в регуляции энергетического обмена и контроле веса у экспериментальных животных (крыс) [157]. Возможно, данный гормон способствует увеличению объема бурой жировой ткани и повышает ее активность, что приводит к усилению основного обмена путем стимуляции термогенеза и генерации тепла через разобщение окислительного фосфорилирования в митохондриях. При высокой освещенности бурая жировая

ткань переходит в белую, и в результате процесс расходования энергии замедляется [96]. До недавнего времени считалось, что бурая жировая ткань имеет ограниченное значение у взрослых, но новые доказательства подтверждают ее более значимую роль в регуляции массы тела [42].

Мелатонин воздействует на синтез и высвобождение инсулина и глюкагона в панкреатических островках, тем самым оказывая влияние на энергетический обмен. Действие этого индоламина через его рецепторы MT1 и MT2 уменьшает стимулированную глюкозой секрецию инсулина в изолированных панкреатических островках и инсулиноме у крыс [116; 149]. Активация этих рецепторов ингибирует индуцированную глюкозой секрецию инсулина, демонстрируя подавляющий эффект мелатонина на систему аденилатциклазы/циклического аденозинмонофосфата, приводящий к снижению уровня протеинкиназы A и циклического гуанозинмонофосфата без изменений в содержании α -субъединицы протеинкиназы C [99]. Было показано, что «гормон сна» стимулирует синтез и секрецию глюкагона как в естественных условиях, так и в определенной глюкагон-продуцирующей альфа-клеточной линии [38]. Следует отметить, что инсулин способен регулировать пинеальный синтез мелатонина, потенцируя его норадреналин-стимулированную выработку в двух точках времени в течение ночи: сразу же после выключения света и еще один раз перед его включением [125].

Мелатонин является мощным хронобиотическим регулятором, ежедневно распределяя метаболические процессы таким образом, что активность/фаза питания связаны с высокой чувствительностью к инсулину, а отдых/голодание синхронизированы с инсулинорезистентной метаболической фазой. Кроме того, гормон отвечает за создание адекватного энергетического баланса в основном за счет регулирования потока энергии, непосредственно контролируя ее расход за счет активации бурой жировой ткани, и участвует в процессе побурения белой жировой ткани [6; 51].

Эпидемиологические исследования показали, что короткая продолжительность сна связана с ожирением, сахарным диабетом 2 типа,

ишемической болезнью сердца, гипертензией и преждевременной смертью [48]. В систематическом обзоре и мета-анализе, включавшем 634 511 участников со всего мира, была выявлена связь короткой продолжительности сна с ожирением (отношение шансов – 1,55, 95% доверительный интервал: 1.43-1.68) [46]. При ограничении сна с более поздним отходом ко сну повышается риск увеличения массы тела за счет большего ежедневного потребления калорий и потребления лишних калорий в течение ночных часов. Активное употребление пищи при недостаточном сне является физиологической адаптацией для выработки энергии, необходимой для поддержания бодрствования. Ограничение сна с циркадианным нарушением рассматривают как модифицируемый фактор риска развития метаболических расстройств. У пациентов, которые спят менее 5-6 ч/сут, снижается уровень метаболизма в состоянии покоя и увеличивается концентрация глюкозы в плазме крови после приема пищи [44]. Переход от недостаточного к адекватному восстанавливающему графику сна снижает потребление энергии, особенно потребление жиров и углеводов, и приводит к потере веса [108].

Мелатонин способен повышать активность аденозинмонофосфат-зависимой киназы и потенциально улучшать чувствительность к инсулину в печени. Доказано, что на гепатоцитах экспрессируются рецепторы MT1 и MT2, обладающие высокой аффинностью [117]. При исследовании у старых крыс добавление мелатонина в воду для питья в течение 8-12 недель повышало чувствительность к инсулину более, чем в 2 раза без изменения экспрессии рецептора инсулина в печени, т.е. эти инсулин-сенсibiliзирующие эффекты не были опосредованы тканями-мишенями за пределами печени [134]. В эксперименте после пинеалэктомии у крыс развивалась ИР, нарушенная толерантность к глюкозе и ожирение [126]. Назначение мелатонина животным с индуцированным ожирением имело положительный эффект на секрецию лептина и адипонектина, на уровень глюкозы, холестерина и триглицеридов, приводило к снижению аппетита и массы тела [33; 133; 170]. У больных с сомнологическими расстройствами развивается кумулятивный дефицит сна, что приводит к увеличению активности симпатической нервной системы и повышению уровня

кортизола вечером, что дополнительно ухудшает чувствительность тканей к инсулину [94].

На основании полученных данных некоторые авторы ввели мелатонин и его аналоги в схему лечения расстройств настроения и переедания у человека, т.к. он способен контролировать аппетит [47].

В дополнение к важности влияния мелатонина на регуляторные процессы энергетического обмена недавно было показано, что при наличии его дефицита у беременных животных изменяется внутриутробное метаболическое программирование [65]. У взрослых потомков мелатонин-дефицитных самок развивается нарушение толерантности к глюкозе, ИР, а также патологическая секреция инсулина, индуцированная глюкозой. Эти эффекты программирования исчезают при назначении терапии мелатонином во время беременности.

Косвенно оценить уровень мелатонина в крови позволяет измерение уровня его метаболита в моче, при этом ИМТ может оказывать значимое влияние на этот параметр. Клинические исследования выявили корреляцию между высоким ИМТ и низкой экскрецией 6-сульфатоксимелатонина мочи [54]. В другом исследовании было обнаружено, что женщины с ИМТ $< 21 \text{ кг/м}^2$ имеют более высокий средний уровень 6-сульфатоксимелатонина, чем женщины с ИМТ $\geq 29 \text{ кг/м}^2$ [138].

По результатам проведенного исследования Раі S.A. и соавт. (2014г.) назначение мелатонина в эксперименте (крысы) способствовало значительному снижению массы тела, ИМТ и инсулина при состоянии, сходном с СПЯ. Было зарегистрировано улучшение липидного профиля и восстановление толерантности к глюкозе, а также увеличение числа овулировавших фолликулов и желтых тел, сокращение кистозных фолликулов и уменьшение толщины теки интерны по сравнению с контролем [124]. Снижение инсулина может быть связано с улучшением периферической чувствительности к нему в адипоцитах и скелетных мышцах вследствие воздействия мелатонина на сигнальные пути передачи гормона поджелудочной железы [25; 170].

В исследовании у пациентов с метаболическим синдромом на фоне приема мелатонина (5 мг в день) в течение 1 месяца участникам удалось снизить ИМТ, а

также уменьшились систолическое артериальное давление и уровень фибриногена плазмы. После 2 месяцев лечения произошло значительное улучшение антиоксидантного статуса, что было подтверждено повышенной каталазной активностью и снижением уровня липопротеидов низкой плотности. По утверждению авторов большее значение имеет соотношение мелатонин / инсулин, которое отрицательно коррелирует с липидным профилем пациентов с метаболическим синдромом, а не уровень мелатонина как таковой [98].

Некоторые ученые предположили, что потребление утром триптофана – предшественника мелатонина, способно усилить ночной синтез последнего и улучшить параметры сна, однако данные исследований противоречивы и не позволяют сделать окончательный вывод [82; 118]

В последние годы идет изучение мелатонина как регулятора генов, накоплен огромный объем данных о механизме генной регуляции, который не влияет на последовательность ДНК. Эта так называемая эпигенетическая регуляция теперь рассматривается как фундаментальный регуляторный процесс в экспрессии или подавлении генов. Эпигенетические изменения могут наследоваться потомством. В отличие от генетической информации эпигенетические модификации возникают в ответ на сигналы окружающей среды и мгновенно реагируют на переходные раздражители, что приводит к изменению моделей экспрессии генов и фенотипов в более позднем возрасте. Эпигенетические модификации ДНК, нуклеосомные и хромосомные изменения, которые в совокупности изменяют профили экспрессии генов и фенотипы, либо увеличивают, либо уменьшают доступность нескольких факторов к генетическому материалу клетки. Части ДНК, которые транскрибируются, могут быть включены или выключены в зависимости от эпигенетических условий, физически действующих в данном конкретном локусе генома. Кроме того, воздействие окружающей среды, например, рацион питания, употребление табака и алкоголя, физическая активность, окислительный стресс и воздействие химических канцерогенов, влияет на эпигеном (общее эпигенетическое состояние клетки) [123].

Накопление данных о включении-выключении и регуляции генов мелатонином шло параллельно открытиям эпигенетических механизмов. В настоящее время считается, что огромное количество внеклеточных сигналов как внутренних (например, гипергликемия, дислипидемия, воспалительные стимулы), так и окружающей среды (воздействие ультрафиолетового света, микроорганизмы, химические вещества, сигаретный дым) вызывают окислительный стресс в клетках. Сопутствующее молекулярное повреждение рассматривается как общий внутриклеточный путь, ведущий к нарушению обмена веществ, а также к старению и раку. Когда внеклеточные стимулы трансформируются во внутриклеточные повреждения из-за активации свободных радикалов, запускаются транскрипционные факторы, чтобы стабилизировать гомеостаз [132].

Мелатонин может вызывать эпигенетические изменения в ооцитах, ингибируя ДНК-метилтрансферазу, путем маскирования последовательности-мишени или блока активного участка фермента. Результаты исследований свидетельствуют о том, что этот гормон индуцирует эпигенетические модификации, воздействуя на свои ядерные рецепторы, которые, в свою очередь, могут изменять надструктуру ДНК. Таким образом, мелатонин, по-видимому, является медиатором, который передает экологические стимулы ооцитам и обеспечивает взаимодействия между факторами окружающей среды и эпигенетической системой наследования [123].

1.4 Мелатонин и репродуктивная система

Помимо пинеалоцитов мелатонин в организме женщины синтезируется во многих тканях, в том числе в органах репродуктивной системы: яичниках, матке и плаценте. Для его синтеза используются те же ферментные системы, что и в пинеалоцитах, при этом производство не зависит от фазы день-ночь. Что управляет синтезом этого индоламина, сегодня остается неясным. Мелатонин, продуцируемый экстрапинеально, как полагают, действует паракринно и аутокринно [23; 63].

Первое свидетельство синтеза гормона именно в яичнике, было предоставлено Itoh M.T. и соавт. в 1997 году [85; 86]. С использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии были изучены полученные в течение дня от крыс *virgo* экстракты яичников, в которых был выявлен этот индоламин. Биохимический анализ установил активность ферментов, необходимых для превращения серотонина в мелатонин. Константы диссоциации фермент-субстратного комплекса были эквивалентны показателям в шишковидной железе. Учитывая эти данные, Itoh M.T. и соавт. пришли к выводу, что яичник способен производить гормон в дополнение к возможно получаемому из крови. Позже они доказали наличие синтеза мелатонина в яичниках человека [86].

«Гормон сна» оказывает существенное влияние на репродуктивную систему: он необходим для фолликулогенеза, воздействует на синтез стероидов в гранулезных клетках и изменения клеточных сигналов в тканях-мишенях. Предположительно он регулирует время начала полового созревания и овуляции, способствует сохранению беременности, играет роль в процессах перестройки организма в менопаузе [23; 59]. Гормон контролирует экспрессию мРНК лютеинизирующего гормона (ЛГ), продукцию регуляторов апоптоза – Bcl2 и протеиназы Casp3, активность инсулиноподобного фактора роста (ИФР) и фактора роста TGF- β , а также экспрессию гена рецептора ЛГ и экспрессию гена рецептора гонадотропина-рилизинг-гормона в гранулезных и лютеиновых клетках [144].

Вероятно, мелатонин поступает в яичник из кровотока во время роста фолликулов, а поглощение гормона увеличивается по мере их созревания. Это было зафиксировано в эксперименте: яичники крыс и кошек захватывают и удерживают циркулирующий дейтерированный мелатонин. Кроме того, назначение мелатонина в дозе 3 мг женщинам с бесплодием приводило к высоким концентрациям гормона в их фолликулярной жидкости [10]. Однако механизм поглощения гормона из кровотока на сегодняшний день неясен. Вероятно, в этот момент гормон синтезируется дополнительно, так как обнаружено присутствие N-ацетилтрансферазы и гидроксиндол-О-метилтрансферазы в ткани яичника. При изучении в эксперименте особенностей распределения мелатонина в организме

оказалось, что концентрация гормона в фолликулярной жидкости в 3 раза выше, чем в одновременно собранном образце крови [10; 132]. С приближением овуляции его уровень в фолликуле повышается, хотя в общий кровоток он не попадает, при этом концентрация выше в жидкости крупных фолликулов, чем мелких, – это позволяет сделать предположение, что повышение гормона в преовуляторных ооцитах может способствовать овуляции [119].

В эксперименте была продемонстрирована защитная роль фолликулярной жидкости от повреждающего действия окислителей [159]. При инкубации ооцитов мыши вместе с H_2O_2 – основным источником токсического гидроксильного радикала, их созревание замедлялось, при этом добавление мелатонина к раствору нейтрализовало действие H_2O_2 , предотвращая продукцию окислителей [91; 155].

Созревание фолликула – сложный процесс, который включает эндокринный, паракринный и аутокринный механизмы. Фолликулогенез начинается с создания конечного пула первичных фолликулов. Рост после поздней преантральной или ранней антральной стадии становится зависимым от циркулирующих уровней фолликулостимулирующего гормона (ФСГ). Вместе с ним мелатонин играет значимую роль в созревании фолликула, за счет обеспечения его роста, что подтверждает факт увеличения количества атретичных фолликулов в яичниках после пинеалэктомии у крыс [152].

В антральных фолликулах происходит индукция экспрессии мРНК, кодирующей ряд стероидогенных ферментов и рецепторов гонадотропина. По мере того как фолликулы продолжают созревать, происходит перенос регулирующего влияния от ФСГ к ЛГ. Механизм отбора овуляторного фолликула, по-видимому, связан с временем экспрессии мРНК, кодирующей рецепторы ЛГ в гранулезных клетках: лечение мелатонином заметно увеличивало экспрессию мРНК рецепторов ЛГ (но не ФСГ) у человека [155].

Доказано, что половые стероиды играют важную роль в росте и дифференцировке яйцеклеток, при этом мелатонин влияет на их синтез на различных этапах созревания фолликулов: было зарегистрировано увеличение прогестерона и андростендиона в мышечных преантральных фолликулах после

инкубации в течение 12 дней [152]. Этот гормон также стимулирует продукцию прогестерона и андростендиона в 30-часовых культурах антральных фолликулов свиней, не оказывая при этом влияния на уровень эстрогена [158].

Мелатонин может непосредственно подавлять стероидогенез в тека-клетках через модуляцию цАМФ. Гормон блокирует экспрессию белка острого стероидогенного ответа (StaR – steroidogenic acute regulatory protein). Считается, что StaR регулирует перенос холестерина через межмембранное пространство в митохондрии, где P450_{scc} расщепляет холестерин на прегненолон, а StAR расщепляется до неактивных пептидов. Поэтому поддержание интенсивного стероидогенеза будет требовать постоянного синтеза данного белка. В эксперименте введение мелатонина в течение 3 часов снижало экспрессию StAR, стимулированную хорионическим гонадотропином в мышинных опухолевых клетках Лейдига [165].

Локально синтезированные факторы роста: ИФР и члены суперсемейства трансформирующего фактора роста b (ТФР-b) (ингибины, активины и костные морфогенетические белки), действуют совместно с гонадотропинами. Гранулезные и тека-клетки продуцируют инсулиноподобные факторы роста, обладающие антиапоптотическими свойствами и способствующие клеточной дифференцировке, в процессе фолликулогенеза. ИФР-1 и ИФР-2 стимулируют синтез ДНК и секрецию эстрадиола и прогестерона гранулезными и гранулезалютеиновыми клетками. Апоптоз усиливается ИФР-связывающим белком. Мелатонин стимулирует продукцию ИФР-1, индуцирует рецептор ИФР-1 и активирует внутриклеточные сигнальные пути, которые участвуют в клеточном метаболизме, пролиферации, росте и дифференцировке клеток [56].

ТФР-b синтезируется в тека- и гранулезных клетках и функционирует как интраовариальный регулятор развития фолликулов. Данный цитокин индуцирует экспрессию рецептора ФСГ, усиливает стимулированную ФСГ активность ароматазы, а также продукцию прогестерона и рецептора ЛГ в гранулезных клетках. Все больше появляется доказательств, подтверждающих важную роль в растущих антральных фолликулах членов семейства ТФР-b, регулирующих

действия гонадотропинов. В эксперименте внутрибрюшинная инъекция мелатонина повышала уровень экспрессии гена ТФР- β в перитонеальных клетках мыши [152].

Мелкие фолликулы, которые плохо реагируют на гонадотропины, могут подвергаться атрезии через апоптоз. Фагоцитарные макрофаги активизируются во время роста фолликула, а эндотелиальные клетки генерируют АФК в яичниках. Гранулезные клетки, в которых идет активный стероидогенез, требуют высоких уровней выработки энергии и, таким образом, генерируют большие количества АФК. Сниженный уровень антиоксидантных ферментов может способствовать оксидативному стрессовому апоптозу в атретическом фолликуле. Введение женщинам экзогенного мелатонина в сочетании с прогестероном приводит к снижению секреции ЛГ, блокирует овуляцию, а в лютеиновой фазе увеличивает уровень прогестерона без влияния на ФСГ или ингибирования эстрадиола. Эти эффекты могут быть опосредованы способностью мелатонина влиять на высвобождение гипоталамического гонадотропина. Однако было показано, что мелатонин может также оказывать действие на эту ось путем непосредственного связывания с гранулезными клетками [152].

Овуляция происходит в результате динамического взаимодействия между ЛГ и местными факторами: стероидами, оксидом азота, простагландинами и пептидами. Всплеск ЛГ вызывает структурные и биохимические изменения, которые приводят к разрыву граафовых фолликулов и выходу ооцита, а также последующему развитию желтого тела. После инъекции хорионического гонадотропина в процессе стероидогенеза быстро смещается акцент доминирования от эстрадиола к прогестерону. Концентрация прогестерона и эстрадиола, как и мелатонина, значительно выше в больших фолликулах, по сравнению с мелкими. При этом зарегистрирована положительная корреляция между концентрацией фолликулярного прогестерона и мелатонина. Высокий уровень этого индоламина в преовуляторном фолликуле может играть роль в образовании прогестерона, что приводит к лютеинизации и овуляции [156]. Мелатонин может защищать гранулезные клетки от цитотоксичности свободных

радикалов в культивируемых клетках благодаря своей прямой и непрямой антиоксидантной способности. АФК подавляют продукцию прогестерона и индуцируют регрессию желтого тела. Мелатонин, вероятно, играет важную роль в поддержании последнего. Было продемонстрировано восстановление сниженного после пинеалэктомии уровня прогестерона в крови до нормы у крыс при помощи ежедневных инъекций мелатонина. На культуре яйцеклеток мыши была также выявлена способность мелатонина ускорять созревание эмбриона до стадии 4, 8 клеток и бластуляции [84].

Одним из высокоспецифичных маркеров СПЯ является повышенный уровень АМГ. Этот гормон продуцируют гранулезные клетки преантральных и антральных фолликулов небольших размеров, он отражает овариальный резерв женщин. При СПЯ отмечают большое количество антральных фолликулов, а это в свою очередь ассоциировано с повышением АМГ. Учеными была выявлена связь ожирения, ИР и гиперандрогении с высокими значениями АМГ в крови [165]. Некоторые исследователи предлагают использовать данный параметр в качестве дополнительного диагностического критерия СПЯ [137].

Одним из значимых последствий синдрома поликистозных яичников, несмотря на высокое содержание АМГ, является бесплодие, которое, в некоторых случаях, приводит к необходимости применения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Низкое качество ооцитов у женщин, страдающих бесплодием – это проблема, которая часто приводит к неудачным попыткам экстракорпорального оплодотворения. Научные поиски в этой области привели к обнаружению свойства мелатонина улучшать состояние ооцитов и эмбрионов [154]. Исследование проводилось среди женщин с бесплодием, участвующих в программах ВРТ с переносом эмбриона. Пациентки получали 3 мг мелатонина ежедневно с 5-ого дня предыдущего менструального цикла до момента пункции ооцитов. На второй день после переноса процент эмбрионов высокого качества был выше по сравнению с эмбрионами, полученными в предыдущем цикле без применения мелатонина, коэффициент фертильности значительно улучшился. У женщин, не получавших дополнительно мелатонин, показатели

относительно предыдущего цикла не изменились. Также во время пункции ооцитов была собрана фолликулярная жидкость с целью оценки уровня этого индоламина и 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина (8-ГДГ) – продукта окисления ДНК. В этих образцах была выявлена обратная зависимость между концентрацией мелатонина и 8-ГДГ, что говорило о его протективном эффекте на ДНК фолликулов от окислительного повреждения. При назначении пациенткам «гормона сна» его концентрация в фолликулярной жидкости повысилась в 3 раза (по сравнению с циклом, когда они не получали мелатонин). Кроме того, уровень 8-ГДГ снизился, что подтверждало способность гормона восстанавливать редокс-статус в фолликулах [153].

Дополнительные преимущества терапии мелатонином в циклах ВРТ были продемонстрированы в работах К.С. Ермоленко (2014 г.). По данным отечественного автора прием препарата способствовал: «увеличению экскреции прогестерона, что приводило к статистически значимому увеличению полноценных двухфазных менструальных циклов более чем в 2,1 раза; снижению ановуляторных менструальных циклов в 1,3 раза» [19]. Терапия гормоном способствовала приближению к физиологическим значениям «мелатониновой кривой»: нормализовалось время пикового выброса – в 2-4 часа; увеличивалась разница между дневным и ночным уровнями – ночной уровень превышал дневной в 4 раза. Этот индоламин повышал качество имплантации, что определяло положительный исход беременности: ранние репродуктивные потери выявлялись статистически значимо реже - в 2,8 раза меньше; частота рождений живым плодом - в 1,65 раза выше.

В другом исследовании, Kim M.K. и соавт. (2013г.) сообщили, что инкубация яйцеклеток, полученных от женщин с бесплодием при СПЯ в растворе, содержащем мелатонин, также улучшила показатели имплантации и беременности в циклах ВРТ с переносом эмбриона [92]. Авторы отметили, что у больных СПЯ выше содержание продуктов перекисного окисления липидов, которые вызывают повреждение зернистых клеток и ооцитов в сыворотке крови и фолликулярной жидкости, что может существенно ухудшать репродуктивную способность таких

пациенток [76; 167]. Несмотря на высокое содержание в крови (обусловленное предположительным наличием отрицательной обратной связи), о чем можно говорить, основываясь на высокой концентрации основного метаболита мелатонина 6-сульфатоксимелатонина в моче, у женщин с синдромом поликистозных яичников, концентрация мелатонина в яичниках может быть снижена в сравнении со здоровыми женщинами. Повышение уровня гормона усиливает секрецию и амплитуду импульса ЛГ, вследствие чего происходит нарушение процесса роста и созревания фолликулов [152].

1.5 Сомнологический профиль и психологические особенности пациенток с синдромом поликистозных яичников

Ухудшать состояние окислительно-восстановительного гомеостаза, а также нарушать синтез мелатонина при СПЯ способна инверсия циркадианных ритмов, т.е. бодрствование в ночное время: интенсивная учеба, работа в ночную смену, нарушения сна, а также засыпание с искусственными источниками света вносят свой вклад в патогенез хронической ановуляции – одного из основных критериев диагноза СПЯ.

Среди женщин с СПЯ распространены сомнологические нарушения и аномальная архитектура сна, например, депривация сна и бессонница (трудность засыпания и поддержания сна, пробуждение слишком рано или сон, не восстанавливающий силы) [24; 113; 145]. Следствием этих расстройств являются дневная усталость, сонливость и раздражительность. Эти состояния могут проявляться в отсутствие синдрома обструктивного апноэ сна (СОАС), при котором возникают остановки дыхания во время сна.

Обнаружено, что женщины с СПЯ имеют более высокую распространенность СОАС, независимо от ИМТ [61]. Morgan и соавт. (2015) выявили, как часто встречаются другие формы расстройства сна помимо СОАС у пациенток с СПЯ. С этой целью они провели исследование среди 724 участниц с СПЯ и без него. Более одной трети больных часто испытывали трудности при засыпании, а каждая пятая просыпалась без причины и не могла возобновить сон в течение короткого периода

времени. Избыточный вес и ожирение у пациенток с СПЯ имели минимальное значение в развитии трудностей при засыпании, в то время как симптомы клинической депрессии сильнее влияли на эту связь. Аналогичная корреляция касалась трудности поддержания сна [114].

Схожие данные продемонстрировали Franik G. и соавт. (2016) в своем исследовании, где проанализировали сомнологические нарушения у пациенток с СПЯ по сравнению с контрольной группой на основании специальных опросников. Почти треть больных имели различные расстройства сна. Женщины с СПЯ чаще страдали клинически значимой бессонницей и дневной сонливостью по сравнению с группой контроля [69].

Трудности при засыпании, ранее пробуждение, сокращение времени сна, а также сонливость в дневное время могут оказать негативное влияние на качество жизни пациентов, страдающих СПЯ. В литературе отмечены и другие побочные эффекты на здоровье при сомнологических нарушениях в этой группе больных. Появление СОАС может привести к серьезному усилению метаболических нарушений, а также симптомов гиперандрогении [49].

Одним из отрицательных факторов, влияющих на качество сна у женщин с синдромом поликистозных яичников, может являться колебание уровня мелатонина. Shreeve и соавт. (2013г.) было выполнено исследование, в которое вошли пациентки с СПЯ и здоровые женщины. Выполнен анализ сомнологических характеристик каждой участницы с использованием Питсбургского опросника и Эпвортской шкалы сна, а также исследованы гормональный спектр и уровень 6-сульфатоксимелатонина в моче. По данным самоотчетов процент «плохого сна» в группе женщин с СПЯ был выше, чем в контрольной группе. Пациентки с СПЯ ощущали большую апатию в течение дня, эффективность их сна была ниже по сравнению со здоровыми женщинами [140]. Уровень 6-сульфатоксимелатонина в ночное время был выше в 1,6 раза выше у пациенток с СПЯ по сравнению с контрольной группой. Повышенный уровень мелатонина в ночные часы у пациенток с данным заболеванием потенциально может действовать как акцептор

свободных радикалов с учетом высокого уровня окислительного стресса, характерного для больных.

Нарушения сна могут быть одним из предикторов депрессии у женщин, страдающих СПЯ [120], при этом они иногда сопровождают аффективные и тревожные расстройства, а также соматические дисфункции [141]. Широко встречаются такие психосоциальные нарушения, как депрессия, тревога, неудовлетворенность своим телом, эпизодическая булимия и пониженное сексуальное удовлетворение [3; 17; 57]. Была выявлена связь между дистимией и тяжестью гирсутизма: при использовании депиляции и различных методов маскировки симптомов отмечалось улучшение психологических параметров [52].

Согласно предыдущим исследованиям 57% женщин с СПЯ имеют, по крайней мере, одно психиатрическое заболевание [129]. У них часто встречаются депрессия, биполярное расстройство и тревожное состояние [40]. Кроме того, показано, что эти сопутствующие психические проблемы влияют на качество жизни больных [32].

В 2014г. было опубликовано исследование, в котором на достаточно крупной выборке была исследована взаимосвязь СПЯ и различных психиатрических заболеваний; в нем приняли участие 5431 больная и 21724 женщины из группы контроля. В целом наблюдались значительно более высокие уровни депрессивного и тревожного расстройства и нарушения сна у пациенток с СПЯ, чем у участниц контрольной группы; при этом в отношении шизофрении и биполярного расстройства такой связи не было установлено. Результаты показали, что случаи депрессивного и тревожного расстройств, сомнологические нарушения встречаются чаще в первые 12 месяцев после постановки диагноза СПЯ [83].

Naqvi S. и соавт. выявили, что из спектра часто встречающихся симптомов гирсутизм оказался доминирующим в отношении депрессивных симптомов в исследуемой когорте. Чуть более одной трети женщин (38%) отметили нарушение ночного сна, а также была установлена связь между этим состоянием и депрессией. Сомнологические расстройства признаны фактором риска развития ожирения, заболеваний сердечно-сосудистой системы, апноэ сна и смертности от всех причин

у больных СПЯ. При этом ни избыточная масса тела, ни нарушения менструального цикла не продемонстрировали корреляции с депрессией [120].

Таким образом, влияние мелатонина на репродуктивную функцию и метаболизм человека многогранно. Чувствительная ко многим факторам система окислителей и антиоксидантов в яичниках контролирует созревание доминантного фолликула и развитие полноценной яйцеклетки. Малейшие нарушения приводят к патологическим изменениям. Использование препаратов мелатонина (в качестве патогенетической терапии), восполняющих дефицит этого гормона в яичниках в рамках персонализированного подхода к лечению пациенток с СПЯ, может стать новым этапом в алгоритмах ведения больных с проблемами реализации репродуктивной функции и необъяснимыми в настоящее время причинами бесплодия. Применение комбинированных схем ведения при ановуляторном бесплодии позволит решить одну из важнейших задач репродуктивной эндокринологии.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал исследования

Для выполнения поставленных задач было обследовано 120 женщин в возрасте 17-35 лет, обратившихся в отделение эндокринной гинекологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, г. Москва (директор – академик И.И. Дедов) в период с 2013 по 2017 гг.

Критериями включения женщин в группу «СПЯ» стали:

- возраст – от 17 до 35 лет включительно;
- нерегулярность менструального цикла;
- выявление ультразвуковых признаков поликистоза яичников;
- наличие клинических признаков гиперандрогении;
- отсутствие любой гормональной терапии в течение 6 месяцев перед исследованием;
- получение информированного согласия на комплексное обследование и лечение.

Критерии исключения для группы «СПЯ»:

- наличие противопоказаний к предполагаемой терапии;
- беременность, лактация;
- наличие хронических экстрагенитальных заболеваний в стадии обострения, субкомпенсации;
- наличие декомпенсированной эндокринной патологии;
- выявление острых, обострений хронических воспалительных заболеваний половых органов;
- курение, злоупотребление алкоголем.

Критерии включения для группы «контроль»:

- возраст – от 17 до 35 лет включительно;
- наличие регулярного менструального цикла;

- отсутствие какой-либо гормональной терапии в течение 6 месяцев до исследования;
- наличие овуляции +/- родов в анамнезе;
- получение информированного согласия на комплексное обследование и лечение.

Критерии исключения для группы «контроль»:

- наличие противопоказаний к предлагаемому лечению;
- беременность, лактация;
- наличие хронических экстрагенитальных заболеваний в стадии обострения и/или субкомпенсации;
- наличие эндокринных патологий;
- выявление острых, обострений хронических воспалительных заболеваний половых органов;
- курение, злоупотребление алкоголем.

В группе контроля 26 пациенток обратилось по поводу отсутствия беременности вследствие трубного фактора бесплодия, 34 женщины – для ежегодного профилактического осмотра.

После применения критериев включения и исключения была сформирована выборка, набор пациентов был сплошным. Выборка пациентов не может считаться в достаточной степени репрезентативной в связи с отсутствием четких эпидемиологических данных по распространенности СПЯ в российской популяции.

2.2. Дизайн исследования

На I этапе были сформированы 4 подгруппы: 30 пациенток с СПЯ и ИМТ ≥ 25 кг/м² (1 подгруппа) и 30 пациенток с СПЯ и ИМТ <25 кг/м² (2 подгруппа). 3 подгруппу (контроль) составили 30 женщин с ИМТ ≥ 25 кг/м², 4 подгруппу (контроль) – 30 женщин с ИМТ <25 кг/м². На II этапе женщинам с СПЯ была подобрана этио-патогенетическая терапия в зависимости от полученных результатов комплексного обследования. Все пациентки дали письменное

информированное согласие. Исследование было одобрено этическим комитетом (протокол №9 заседания этического комитета ФГБУ «Эндокринологический научный центр» МЗ России от 11.09.2013).

Пациенткам с признаками гиперандрогении, увеличенным объемом яичников (более 10 см³) было назначено лечение комбинированным оральным контрацептивом (КОК), содержащим 30 мкг этинилэстрадиола и 3 мг дроспиренона, с 1 дня менструального цикла, курс 3-6 месяцев до нормализации объема яичников и снижения гиперандрогении. При наличии отклонений в сомнологическом профиле по данным первичного анкетирования участницы дополнительно к основному лечению КОК получали синтетический аналог мелатонина в дозе 3 мг («Мелаксен», Unipharm, Inc., США) 1 раз в день за 30 мин до сна в течение 3-х месяцев (17 человек). Методом «случай-контроль» были подобраны относительно сопоставимые по ИМТ, возрасту, уровню тестостерона пациентки с СПЯ группы сравнения, получавшие терапию только КОК (17 человек). После нормализации объемов яичников и снижения гиперандрогении всем пациенткам (34 человека) из основной группы (КОК+мелатонин) и группы сравнения (только КОК) была проведена стимуляция овуляции кломифена цитратом в дозе 50-100 мг всего не более 3 курсов. Критерием эффективности лечения была принята визуализация желтого тела по данным УЗИ органов малого таза. За время наблюдения выбывших участниц не было.

У 26 пациенток с СПЯ (43,3%), у которых оказались неэффективны консервативные методы терапии (терапия КОК+использование кломифена цитрата для стимуляции овуляции), была проведена операция электрокаутеризации яичников с целью реализации репродуктивной функции; после оперативного вмешательства данные участницы медикаментозную терапию не получали. В качестве группы контроля были набраны женщины без эндокринной патологии и с признаками овуляции (26 человек), имевшие роды в анамнезе, которым по поводу трубного фактора бесплодия проводилась диагностическая лапароскопия (рисунок 3).

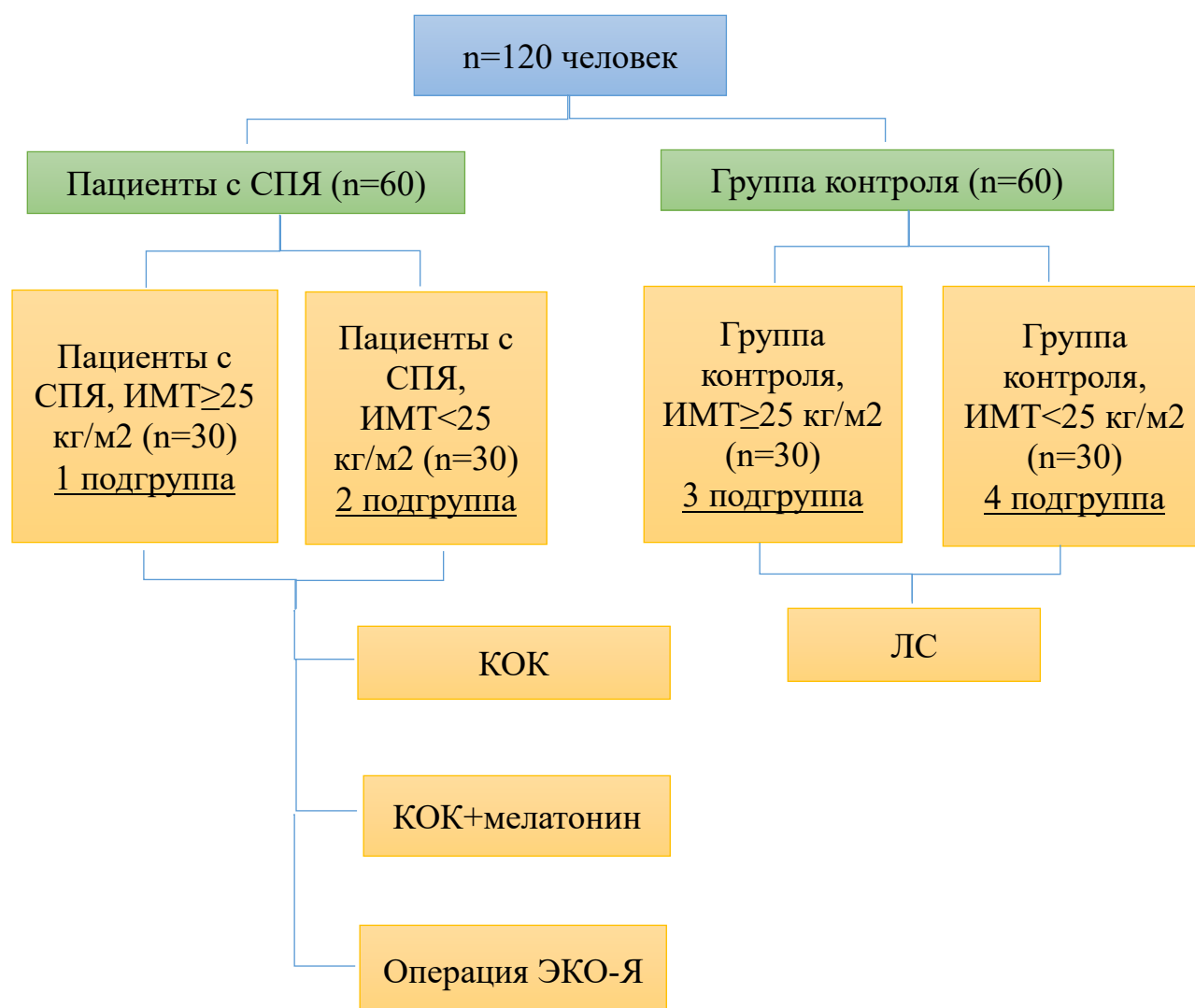


Рисунок 3 - Распределение участниц по группам (ЭКО-Я – электрокаутеризация яичников, ЛС – лапароскопия)

Каждая участница прошла анкетирование, клинико-anamнестическое, гормональное, биохимическое и ультразвуковое обследование.

При задержке менструации более чем 40 дней, проводилась проба с гестагеном. Назначался дидрогестерон 20 мг/сут до появления кровянистых выделений, но не более 10 дней, после чего на 5-7 день индуцированного цикла проводился забор крови для последующего анализа.

2.3. Методы исследования

Клинико-анамнестическое обследование включало в себя сбор анамнеза (время появления первой менструации, характер менструальной функции, регулярность и длительность циклов, перенесенные гинекологические и экстрагенитальные заболевания, оперативные вмешательства, наличие беременностей и родов), наружный осмотр (телосложение, характер и выраженность оволосения по шкале Ферримана-Голлвея), расчет ИМТ по следующей формуле: отношение массы тела, выраженной в килограммах, к квадратному значению роста, выраженному в метрах ($\text{кг}/\text{м}^2$).

Оценка выраженности гирсутизма определялась по шкале Ферримана-Голлвея [85]. Интенсивность роста волос определялась в баллах от 0 (нет роста волос) до 4 (максимальная степень роста волос) в исследуемой зоне. Сумма баллов всех исследуемых зон составляет гирсутное число: до 7 баллов – нормальное оволосение, 8-12 баллов – пограничное оволосение, более 12 баллов – гирсутизм. Рост в индифферентных зонах (предплечья и голени) не учитывался.

Всем участницам было выполнено бимануальное гинекологическое исследование.

Анкетирование выполнялось с использованием анкеты балльной оценки субъективных характеристик сна (оценка продолжительности сна, времени засыпания, количества сновидений и ночных пробуждений, качества утреннего пробуждения). Нормальным считался сон при показателе ≥ 22 балла, пограничными значениями было принято считать количество баллов от 19 до 21, а нарушением сна - <19 баллов [21]. Вероятность СОАС оценивалась по анкете скрининга синдрома апноэ во сне (отсутствие СОАС регистрировалось при значении <4 баллов) [18]. Эпвортская шкала была использована для оценки дневной сонливости (нормативный показатель ≤ 9 баллов) [88]. Также была использована госпитальная шкала тревоги и депрессии HADS [171]: 0 – 7 баллов - отсутствие статистически значимо выраженных симптомов депрессии и тревоги, 8 – 10 баллов - субклинически выраженная депрессия/тревога, 11 баллов и выше –

клинически выраженная депрессия/тревога. Все опросники валидизированы в России.

Забор крови из локтевой вены проводился на 5-7 день спонтанного или индуцированного дигидрогестероном цикла в 08.00. Биохимические и гормональные показатели определялись в биохимической лаборатории ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России (зав. лаб. Л.В. Никанкина) иммуноферментным методом на биохимическом анализаторе Architect plus c8000 (Abbott, США) и Ortho Clinical Diagnostics (Johnson & Johnson, США).

В биохимическом анализе крови определялись показатели липидного спектра (общий холестерин, липопротеиды высокой плотности (ЛПВП), липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), триглицериды).

Гормональный анализ крови включал определение уровня тестостерона, ЛГ, ФСГ, АМГ, инсулина с последующим расчетом индекса HOMA-IR по формуле для оценки ИР: $[\text{инсулин (мкЕд/мл)} \times \text{глюкоза (ммоль/л)}] / 22,5$.

За нормальный показатель индекса HOMA-IR был принят уровень $<2,7$.

Также участницы проводили самостоятельно в домашних условиях сбор слюны в контейнеры со стерильным ватным тампоном, начиная с 7 утра каждые 4 часа на следующий день после забора крови в течение 24 часов для определения концентрации мелатонина методом ELISA (всего 6 пробирок от одной пациентки, собраны по времени: 07.00, 11.00, 15.00, 19.00, 23.00, 03.00). Ночью забор проводился при минимальном освещении 30 люкс (слабый ночник) [10]. Сбор слюны проводился не раньше, чем через 30 мин после приема пищи, за 15 мин до сбора исключалась чистка зубов, использование жевательной резинки. Пациентка помещала ватный тампон в ротовую полость, в течение 10 мин держала его во рту, после чего без помощи рук вкладывала обратно в контейнер. Хранение емкостей со слюной в домашних условиях осуществлялось в холодильнике при температуре $+4\pm 6^\circ\text{C}$. На следующий день после начала сбора анализов контейнеры доставлялись в отделение для исследования.

Для исследования уровня 6-сульфатоксимелатонина методом ELISA пациентки, страдающие СПЯ и здоровые женщины, входящие в группу контроля,

осуществляли сбор суточной мочи. Сбор осуществлялся со 2 порции после ночного сна в течение 24 часов. Условием выполнения анализа было отсутствие острой или обострения хронической мочеполовой инфекции. Заканчивался сбор последней «ночной» порцией мочи на следующий день от начала исследования. Контейнер для сбора мочи в домашних условиях хранился в холодильнике при температуре $+4\pm 6^{\circ}\text{C}$. Для анализа использовалась порция мочи 20 мл, а также при расчете учитывался общий объем мочи, выделенной за сутки.

У участниц основной группы (СПЯ, 26 человек) во время проведения лапароскопии, электрокаутеризации яичников был выполнен забор фолликулярной жидкости. В контрольной группе (группа контроля, 26 человек) для лечения вторичного бесплодия произведена лапароскопия, пластика маточных труб, забор фолликулярной жидкости пункционной иглой из доминантного фолликула.

Забор крови из локтевой вены на мелатонин проводился в 08.00 утра независимо от фазы цикла, накануне исследования исключалось ночное бодрствование, сон каждой участницы составил не менее 6 часов.

Анализ крови и фолликулярной жидкости на мелатонин проводился в лаборатории наследственных эндокринопатий (зав. лаб. д.м.н., проф. А.Н. Тюльпаков). В работе использовались следующие реагенты: мелатонин (Sigma, $\geq 98\%$), мелатонин-d3 (SynInnova, 98%), метанол (LiChrosolv, for LC-MS), этилацетат (Sigma-Aldrich, for HPLC). Количественное определение мелатонина в сыворотке крови и фолликулярной жидкости выполнено с использованием системы высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии, состоящей из ультравысокоэффективного жидкостного хроматографа Perkin Elmer Flexar FX-15 и гибридного трёхкврупольного масс-спектрометра с линейной ионной ловушкой AB Sciex QTrap 5500. Использование метода хромато-масс-спектрометрии увеличивает диагностическую точность, поскольку он позволяет определять ультранизкие концентрации веществ [30].

УЗИ органов малого таза проводилось на 5-7 день спонтанного или индуцированного дидрогестероном менструального цикла, а также на 12-13 и 21-

23 день (в течение 3 месяцев максимально) для подтверждения ановуляции или выявления желтого тела.

Эхография производилась на стационарном аппарате «Xario SSA-660A» Toshiba (Япония). Использовали внутриматочный датчик сканирования с диапазоном частот 5,0–7,5 МГц и конвексный датчик с диапазоном частот 3,5–5,0 МГц.

Во время исследования обращали внимание на положение, величину и форму тела матки; состояние эндо- и миометрия, шейки матки; размер, форму, структуру, симметричность яичников и их расположение по отношению к матке. Объем яичников рассчитывался по формуле: $V = 0,523 \times D \times Ш \times Т$ (см³), где V – объем яичника, D-длина, Ш-ширина, Т-толщина яичника в см, 0,523 – постоянный коэффициент [26]. Обнаружение 8 и более фолликулов диаметром 6-10 мм и двустороннее либо одностороннее увеличение яичников более 10 см³ говорило о наличии поликистозных яичников.

2.4. Статистические методы анализа данных

Статистическая обработка данных, полученных в ходе исследования, была выполнена с использованием прикладных программ STATISTICA (StatSoft Inc. США, версия 6.0). Объем исследуемых групп был выбран с учетом проводимых ранее исследований аналогичного дизайна, а также положения о минимальном числе участников – 30 человек в одной исследуемой подгруппе.

В связи с наличием небольших объемов выборки и распределения, отличающихся от нормального, использовались непараметрические методы статистики. U-критерий Манна-Уитни применяли для сравнения независимых групп по количественным признакам, критерий Вилкоксона – для сравнения зависимых групп по количественным признакам. Анализ таблиц сопряженности с использованием двухстороннего точного критерия Фишера, а также критерий χ^2 для несвязанных групп использовали для сравнения независимых групп по качественным признакам. Непараметрический метод ранговой корреляции по

Спирмену применяли для анализа корреляции двух количественных признаков, по Кендаллу – для анализа корреляции количественного и порядкового признаков. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКАЯ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНО- ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ УЧАСТНИЦ

В соответствии с поставленными задачами было обследовано 120 женщин.

На момент обращения пациентки из группы СПЯ предъявляли жалобы на клинические признаки гиперандрогении (акне, повышенный рост волос на лице, животе, внутренней поверхности бедер), нерегулярные менструации, избыточный вес, отсутствие беременности, болезненность молочных желез, а также сочетание данных жалоб.

При изучении семейного анамнеза пациенток с СПЯ у родственников чаще выявлялось ожирение, СПЯ, сахарный диабет и заболевания щитовидной железы по сравнению с группой контроля, но отличия оказались статистически незначимыми (таблица 1).

Таблица 1 - Семейный анамнез участниц исследования

Заболевания	Группа «СПЯ», n=60		Группа «Контроль», n=60		p
	абс.	%	абс.	%	
Ожирение	38	63,3	19	31,7	0,050 ¹
СПЯ	10	16,7	3	5	0,39 ²
Сахарный диабет	10	16,7	4	6,7	0,88 ²
Заболевания щитовидной железы	20	33,3	13	21,7	0,15 ¹

¹ - критерий χ^2 ,

² - критерий Фишера.

Оценка гирсутизма по шкале Ферримана-Голлвея дала следующие результаты: 30 пациенток (50%) имели легкую степень гирсутизма, 4 (6,7%) –

умеренную и 1 пациентка (1,7%) – тяжелую степень. Остальные женщины (25 человек, 41,7%) не имели признаков повышенного роста волос по мужскому типу.

Группа СПЯ и группа контроля статистически значимо не отличались по возрасту, по ИМТ было статистически значимое отличие 1й и 2й подгрупп СПЯ (таблица 2).

Таблица 2 - Распределение участниц исследования по ИМТ и возрасту

Показатель	Группа «СПЯ», n=60		Группа «Контроль», n=60		p 1-2	p 1-3	p 2-4
	1 группа (n=30)	2 группа (n=30)	3 группа (n=30)	4 группа (n=30)	U-тест		
ИМТ, кг/м ²	30,8 [26,6; 34,6]	21,4 [19,2; 22,4]	28,3 [26,1; 30,6]	20,9 [20,0; 22,8]	0,001	0,164	0,888
Возраст, лет	24 [21; 28]	25 [23; 28]	27 [23; 31]	25 [24; 26]	0,865	0,170	0,841

Среди женщин с СПЯ было выявлено первичное бесплодие у 30-ти (50%), вторичное бесплодие – у 3 человек (5%), остальные 27 (45%) не были заинтересованы в беременности. Среди пациенток с вторичным бесплодием было 3 родов: из них двое самостоятельных и одни путем кесарева сечения. В группе контроля вторичное бесплодие было диагностировано у 26 человек (женщины, которым в нашем исследовании была произведена диагностическая лапароскопия по поводу трубного фактора бесплодия). Всего во 2 группе было зарегистрировано 29 родов.

Изучение времени начала менструаций в группе СПЯ показало: менархе в возрасте 12-14 лет наблюдалось у 41 пациентки (68,3%), 9-11 лет – 10 пациенток (16,7%), 15-16 лет – 9 пациенток (15%). В группе контроля менархе в возрасте 12-14 лет наблюдалось у 49 женщин (81,6%), 9-11 лет – 7 женщин (11,7%), 15-16 лет –

4 женщин (6,7%). У 33 пациенток (55%) нарушения менструального цикла начались в первые 6–12 месяцев после менархе и у 27 (45%) – более чем через 12 месяцев после менархе.

На момент обследования 12 женщин (20%) предъявляли жалобы на вторичную аменорею (задержки менструаций более полугода), опсоменорею (нерегулярные менструации с задержками до 6 мес) – 28 (46,7%), олигоменорею (скудные менструации) – 7 (11,7%), ациклические маточные кровотечения – 5 (8,3%), сочетание различных нарушений менструальной функции – 8 (13,3%) (рисунок 4). Т.к. в группу контроля проводился набор без нарушений менструальной функции, патологического ритма менструаций не было выявлено ни у одной участницы этой группы.



Рисунок 4 - Характер нарушения менструальной функции у пациенток с СПЯ, n=60

В качестве контрацепции 13 пациенток с СПЯ (21,7%) использовали барьерный метод, 23 (38,3%) – КОК, 3 (5%) – вагинальные кольца, 7 (11,7%) – coitus interruptus, 14 (23,3%) – жили половой жизнью без предохранения.

Критерием включения в исследование было отсутствие гормональной терапии за 6 мес до обследования. Но до обращения в отделение эндокринной гинекологии НМИЦ эндокринологии пациентки с СПЯ ранее получали терапию по поводу своего заболевания: КОК с различными гестагенными компонентами (левоноргестрел, дезогестрел, гестоден, дроспиренон, ципротерона ацетат) – 28 человек (46,7%), КОК+метформин – 5 человек (8,3%), гестагены – 14 (23,3%), витаминотерапию и гомеопатические средства – 3 человек (5%), хирургическое лечение (резекция или дреллинг яичников) – 6 человек (10%), без терапии – 8 человек (13,3%).

Длительность лечения пациенток до обращения в НМИЦ эндокринологии составила: до 1 года – 6 человек (10%), 1-3 года – 41 человек (68,3%), 4-6 лет – 10 человек (16,7%), более 7 лет – 3 человек (5%) (рисунок 5).

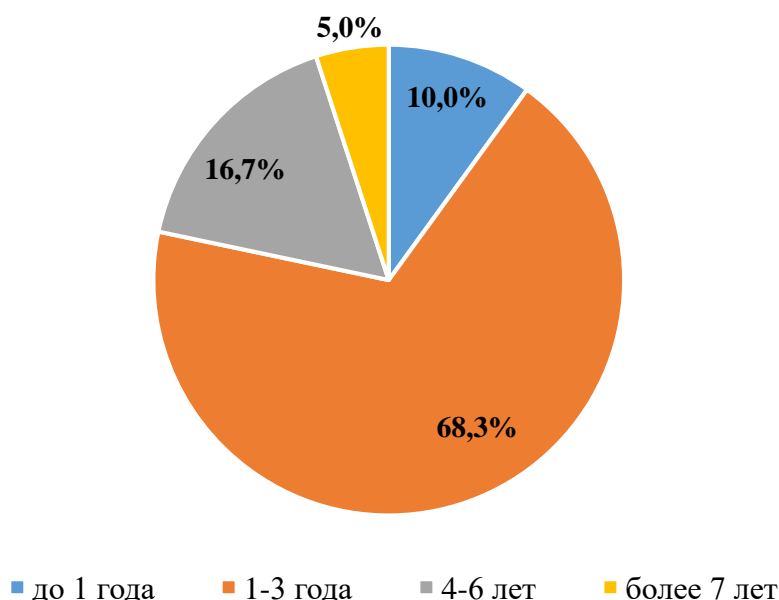


Рисунок 5 - Длительность терапии пациенток с СПЯ до обращения в отделение гинекологии ФГБУ ЭНЦ, n=60

При бимануальном обследовании двустороннее увеличение объема яичников было обнаружено у 42 пациенток с СПЯ (70%), одностороннее – у 4 (6,7%), у остальных женщин (14 человек, 23,3%) яичники пальпаторно были без особенностей. При гинекологическом осмотре и по данным микробиологического исследования мазка признаки кольпита определялись – у 22 пациенток (36,7%).

По данным УЗИ органов малого таза у 46 пациенток (76,7%) с СПЯ были выявлены признаки двустороннего увеличения яичников и у 13 пациенток (21,7%) – одностороннего, у 1 пациентки (1,7%) – объем яичников не превышал норму. У 8 пациенток (13,3%) на фоне задержки менструации визуализировались персистирующие фолликулы – анэхогенные образования яичников размерами от 18 до 25 мм в диаметре. При повторном УЗИ в следующем цикле фолликул не обнаруживали. У всех определялись множественные мелкие фолликулы до 10 мм в диаметре в количестве 12-15 штук в структуре яичников. У 27 пациенток (45%) были зафиксированы признаки гипоплазии матки, что вероятно могло быть связано с нерегулярным ритмом менструаций.

Сонографически были выявлены признаки миомы матки у 8 пациенток (13,3%), эндометриоза – у 10 больных (16,7%). Признаки гиперпластических процессов эндометрия (гиперплазия, полипы) диагностированы у 5 человек (8,3%), потребовавших в дальнейшем проведения гистероскопии и отдельного диагностического выскабливания.

Результаты комплексного обследования позволили распределить пациенток по фенотипам: классический (признаки гиперандрогении+поликистозные яичники по данным УЗИ+ановуляция) – 29 человек (48,3%), овуляторный (признаки гиперандрогении+поликистозные яичники по данным УЗИ) – 6 человек (10%), неандрогенный (поликистозные яичники по данным УЗИ+ановуляция) – 15 (25%), ановуляторный (признаки гиперандрогении+ановуляция) – 10 человек (16,7%) (рисунок 6).

Фенотипы

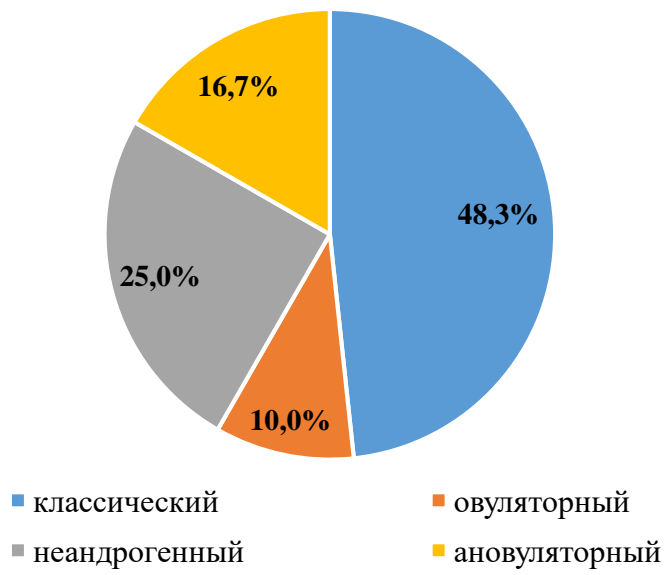


Рисунок 6 - Распределение пациенток с СПЯ по фенотипам, n=60

ГЛАВА 4. СОМНОЛОГИЧЕСКИЕ И ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТОК

Сомнологические жалобы участниц представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Сомнологические жалобы участниц

Нарушения сна	СПЯ, n=60		Группа контроля, n=60		p
	абс.	%	абс.	%	
нарушения засыпания	10	16,7	5	8,3	0,168 ¹
трудности поддержания сна	13	21,7	2	3,3	0,002 ²
нарушения, связанные с окончательным пробуждением	5	8,3	9	15	0,255 ¹
дневная сонливость	4	6,7	12	20	0,032 ²
полное отсутствие ночного сна	2	3,3	0	0	0,154 ²
сочетание данных жалоб	26	43,3	10	16,7	0,001 ¹

¹ - критерий χ^2 ,

² - критерий Фишера.

Больным СПЯ предлагалось выбрать среди всех причин нарушений сна главную. Самой частой причиной оказался стресс (55%), далее шли ночная или

суточная работа, учеба в ночные часы (29%), жизненные события составили 10% и 6% – другие причины (рисунок 7).

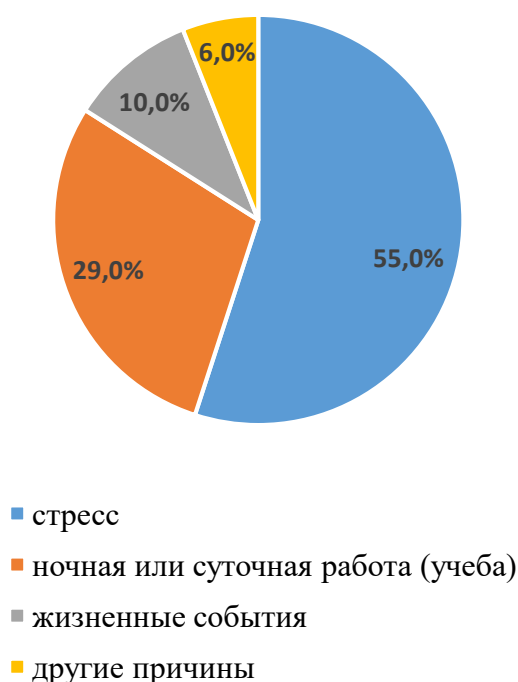


Рисунок 7 - Причины нарушений сна у пациенток с СПЯ, n=60

По результатам первичного анкетирования, проведенного на основании анкеты балльной оценки субъективных характеристик сна, пациентки с СПЯ статистически значимо отличались от группы контроля по уровню патологических отклонений ($p = 0,0040$) – при наличии СПЯ эти нарушения встречались чаще (таблица 4).

Таблица 4 - Частота отклонений сна в группе СПЯ и контроле

Параметры сна	СПЯ, n=60	Группа контроля, n=60
Сон нарушен, n (%)	20 (33,3%)	6 (10%)
Нормальный сон+пограничный результат, n (%)	40 (66,7%)	54 (90%)

$p = 0,0040$ (критерий χ^2)

При распределении по фенотипам была выявлена следующая особенность сомнологического профиля пациенток: при классическом фенотипе отклонения присутствовали в 82,8% случаев, при овуляторном – 16,7%, неандрогенном – 66,7%, а при ановуляторном – в 70% (таблица 5). Хотя статистически значимо отличались только классический и овуляторный фенотипы ($p=0,004$).

Таблица 5 - Сомнологический профиль пациенток с СПЯ в зависимости от фенотипа, $n=60$

Фенотипы, $n=60$								
Виды фенотипов	Классический (1), $n=29$		Овуляторный (2), $n=6$		Неандрогенный (3), $n=15$		Ановуляторный (4), $n=10$	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Отклонения	24	82,8	1	16,7	10	66,7	7	70
Сон нормальный	5	17,2	5	83,3	5	33,3	3	30

$p_{1-2}=0,0040$ (критерий Фишера), $p_{1-3}=0,4077$ (критерий χ^2), $p_{1-4}=0,3989$ (критерий Фишера), $p_{2-3}=0,0635$ (критерий Фишера), $p_{2-4}=0,1189$ (критерий Фишера), $p_{3-4}=1,0000$ (критерий Фишера).

1я (СПЯ и ИМТ ≥ 25 кг/м²) и 3я (контроль с ИМТ ≥ 25 кг/м²) подгруппы статистически значимо различались по степени нарушений сна по данным анкетирования, как и 2я и 4я подгруппы. Между 1й и 2й подгруппами статистически значимых отличий не было (таблица 6). Статистически значимой корреляции показателей оценки субъективных характеристик сна в группе СПЯ ($n=60$) с ИМТ не обнаружено ($r=0,105$, $p=0,420$, метод ранговой корреляции по Кендаллу).

Скрининг СОАС показал достоверные отличия по данному состоянию в 1-й и 2-й подгруппах: повышенный ИМТ сопровождался более высокой распространенностью апноэ сна (таблица 6). При этом пациентки с СПЯ и ИМТ ≥ 25 кг/м² статистически значимо не отличались от здоровых женщин соответствующего ИМТ.

По данным Эпвортской анкеты подгруппы не отличались (таблица 6).

Анкетирование с помощью Госпитальной шкалы тревоги и депрессии статистически значимых различий между группой СПЯ и контролем (из них 26 женщин имели вторичное бесплодие) не выявило (таблица 6).

Таблица 6 - Сомнологические и психологические характеристики участниц исследования

Показатель	Группа «СПЯ»		Группа «контроль»		p		
	1 группа (n=30) Медиана, 25- 75% процентили	2 группа (n=30) Медиана, 25- 75% процентили	3 группа (n=30) Медиана, 25- 75% процентили	4 группа (n=30) Медиана, 25- 75% процентили	p ₁₋₂	p ₁₋₃	p ₂₋₄
Анкета балльной оценки субъективных характеристик сна, баллы	20 [18; 23]	20 [18; 23]	22 [21; 23]	22 [20; 23]	0,930 ¹	0,040 ¹	0,010 ¹
Госпитальная шкала тревоги и депрессии, степень нарушения	2 [1; 3]	2 [2; 3]	2 [1; 3]	2 [1; 3]	0,813 ¹	0,644 ¹	0,102 ¹
Апноэ во сне, число (%)	8 (27)	1 (3)	3 (15)	1 (3)	0,026 ²	0,489 ²	1,0 ²
Наличие сонливости, число (%)	10 (33)	6 (20)	7 (35)	6 (20)	0,381 ²	1,0 ²	1,0 ²

¹ – U-тест.² – критерий Фишера.

Таким образом, среди пациенток с СПЯ статистически значимо выше была распространенность сомнологических нарушений по сравнению с группой контроля, при этом данные нарушения не зависели от ИМТ. Больные СПЯ статистически значимо не отличались от группы контроля по степени выраженности тревоги и/или депрессии.

ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОК

Всем участницам был выполнен биохимический и гормональный анализ крови.

При исследовании углеводного обмена уровень глюкозы натощак был статистически значимо выше в 1-й подгруппе по сравнению со 2-й, при этом оба показателя находились в пределах нормативных значений. Статистически значимых отличий по уровню глюкозы между группой СПЯ и контролем соответствующей категории ИМТ не обнаружено (таблица 7).

Выраженная гиперинсулинемия была характерна для 1-й подгруппы. Статистически значимо отличались подгруппы СПЯ (1я и 2я), а также группа СПЯ с $ИМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$ по сравнению с контролем (таблица 7).

Индекс НОМА-IR был статистически значимо выше в подгруппе с СПЯ и $ИМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$, чем во 2-й и 3-й подгруппах. Во 2-й и 4-подгруппах значимых отличий не обнаружено. В 1-й подгруппе 17 человек (56,7%) имели выраженную ИР, во 2й – только четверо участниц (13,3%) (таблица 7).

При сравнении пациенток и здоровых женщин значимых отличий в уровне общего холестерина не обнаружено, однако липидный спектр имел выраженную диспропорцию: статистически значимо более высокие показатели холестерина ЛПНП, триглицеридов и более низкие значения холестерина ЛПВП в подгруппе с $ИМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$. Также были зафиксированы более высокий уровень ЛПВП и триглицеридов в группе СПЯ и $ИМТ < 25 \text{ кг/м}^2$ по сравнению с группой контроля (таблица 7). Статистически значимой корреляции степени нарушений по данным анкеты балльной оценки субъективных характеристик сна и уровня общего холестерина не было выявлено ($r = -0,166$, $p = 0,203$, метод ранговой корреляции по Кендаллу).

Была выявлена общая тенденция к повышению концентрации ЛГ у пациенток с СПЯ, при этом показатели ФСГ значимо не отличались по подгруппам, а уровень тестостерона был повышен в обеих группах СПЯ. Уровень АМГ оказался

статистически значимо выше в обеих группах СПЯ при сравнении с контролем, а ИМТ не влиял на показатели (таблица 7).

Таблица 7 - Показатели биохимического и гормонального анализов участниц исследования

Показатель	Группа «СПЯ»		Группа «контроль»		p		
	1 группа (n=30) Медиана, 25-75% процентили	2 группа (n=30) Медиана, 25- 75% процентили	3 группа (n=30) Медиана, 25-75% процентили	4 группа (n=30) Медиана, 25-75% процентили	p1-2	p1-3	p2-4
	U-тест						
Глюкоза, ммоль/л	4,8 [4,5; 5,1]	4,6 [4,2; 4,8]	4,8 [4,6; 5,1]	4,7 [4,3; 4,9]	0,046	0,992	0,304
Холестерин общий, ммоль/л	5,1 [4,5; 5,9]	4,8 [4,5; 5,2]	5,2 [4,2; 5,5]	4,7 [4,1; 5,7]	0,225	0,716	0,539
Холестерин ЛПНП, ммоль/л	3,3 [2,9; 3,7]	2,8 [2,5; 3,2]	3,1 [2,7; 3,5]	2,9 [2,4; 3,8]	0,008	0,203	0,539
Холестерин ЛПВП, ммоль/л	1,1 [1,0; 1,2]	1,6 [1,4; 1,8]	1,3 [1,1; 1,3]	1,4 [1,2; 1,6]	0,001	0,102	0,032
Триглицериды, ммоль/л	1,0 [0,8; 1,5]	0,8 [0,6; 1,1]	1,1 [0,8; 1,3]	0,6 [0,5; 0,8]	0,011	0,852	0,019
Инсулин, мкЕ/мл	13,7 [8,3; 23,7]	7,2 [5,2; 9,1]	8,7 [6,7; 11,0]	6,2 [5,0; 8,6]	0,001	0,008	0,190
НОМА-IR	2,8 [1,7; 5,2]	1,3 [1,1; 1,8]	1,8 [1,3; 2,4]	1,2 [0,9; 1,9]	0,001	0,011	0,351
ЛГ, Ед/л	9,2 [6,5; 13,3]	13,6 [7,5; 21,1]	6,0 [4,0; 7,5]	3,9 [3,1; 5,9]	0,046	0,003	0,001
ФСГ, Ед/л	5,9 [5,0; 6,8]	6,3 [5,5; 8,3]	6,1 [5,0; 7,5]	5,7 [4,6; 6,8]	0,122	0,392	0,060
Тестостерон, нмоль/л	2,1 [1,6; 2,8]	1,5 [1,2; 2,3]	1,4 [1,0; 1,8]	1,4 [0,9; 1,6]	0,171	0,004	0,046
АМГ, нг/мл	14,1 [10,1; 16,3]	13,5 [10,0; 17,3]	3,1 [2,3; 4,5]	3,5 [2,4; 4,8]	0,936	0,0001	0,0001

Изучена корреляция степени нарушений сна в баллах по данным балльной оценки субъективных характеристик сна и уровня инсулина в группе СПЯ – обнаружена слабая статистически значимая обратная корреляция ($r=-0,26$, $p=0,044$, метод ранговой корреляции по Спирмену).

Исследование содержания мелатонина в различных биологических жидкостях выявило, что для группы больных характерно более высокое содержание мелатонина в крови, уровня 6-сульфатоксимелатонина в суточной моче и более низкие концентрации мелатонина в фолликулярной жидкости (таблица 8,9).

Таблица 8 - Показатели мелатонина у пациенток с СПЯ и группы контроля в зависимости от ИМТ

	Группа «СПЯ»		Группа «контроль»		p		
Показатель	1 группа (n=30)	2 группа (n=30)	3 группа (n=30)	4 группа (n=30)	p 1-2	p 1-3	p 2-4
	Медиана, 25- 75% процентили	Медиана, 25- 75% процентили	Медиана, 25- 75% процентили	Медиана, 25- 75% процентили	U-тест		
6-сульфатоксимелатонин в суточной моче, мкг/24 ч	39,75 [28,47; 47,87]	30,14 [21,37; 45,27]	15,96 [14,43; 16,77]	17,57 [13,79; 18,90]	0,169	0,001	0,009
Мелатонин в крови, пг/мл	28,0 [14,5; 34,6]	23,2 [9,4; 33,6]	13,2 [7,8; 21,1]	8,5 [4,4; 13,5]	0,491	0,002	0,001

Таблица 9 - Показатели мелатонина в различных биологических жидкостях у пациенток с СПЯ и группы контроля

Показатель	Группа «СПЯ» (n=60) Медиана, 25-75% процентили	Группа «контроль» (n=60) Медиана, 25-75% процентили	р U-тест
ИМТ, кг/м ²	25,0 [21,4; 30,8]	23,3 [20,5; 27,2]	0,205
Возраст, лет	25 [21,5; 28,0]	25 [23; 28]	0,347
6-сульфатоксимелатонин в суточной моче, мкг/24 ч	36,19 [26,53; 47,16]	16,77 [13,79; 18,90]	0,001
Мелатонин в фолликулярной жидкости, пг/мл	2,3 [1,4; 4,4]	5,2 [3,8; 13,8]	0,014
Мелатонин в крови, пг/мл	23,7 [11,6; 33,6]	9,6 [5,4; 15,5]	0,001

Мы оценили уровень мелатонина в крови у женщин группы контроля (наличие подтвержденной овуляции): показатель более 51,2 пг/мл не встречался ни у одной участницы. В дальнейшем мы оценили наличие овуляции у пациенток с уровнем мелатонина более 51,2 пг/мл. Только в 23% случаев овуляция отсутствовала при уровне мелатонина более 51,2 пг/мл, у остальных больных, несмотря на условно принятый нормальный уровень мелатонина, регистрировалась ановуляция.

Была обнаружена статистически значимая слабая прямая корреляция уровня мелатонина в крови и тестостерона ($r=0,277$, $p=0,036$, метод ранговой корреляции по Спирмену). Данные корреляционного анализа уровня мелатонина в крови и уровня АМГ у пациенток с СПЯ показали прямую корреляцию средней силы: $r=0,493$, $p=0,0001$, метод ранговой корреляции по Спирмену.

Анализ суточного ритма мелатонина в слюне статистически значимых различий между группами не обнаружил, кроме показателя в 3 часа ночи: уровень гормона оказался статистически значимо выше у пациенток с СПЯ по сравнению с группой контроля. При этом пик концентрации в слюне как у пациенток, так и у здоровых женщин пришелся на 03.00 часа (таблица 10). Была обнаружена статистически значимая прямая корреляция уровня мелатонина в слюне в 03.00 ночи и уровня 6-сульфатоксимелатонина в суточной моче ($r=0,750$, $p=0,010$, метод ранговой корреляции по Спирмену).

Таблица 10 - Суточный ритм мелатонина в слюне

Показатель	Группа «СПЯ» (n=60) Медиана, 25-75% процентили	Группа «контроль» (n=60) Медиана, 25-75% процентили	р U-тест
ИМТ, кг/м ²	25,0 [21,4; 30,8]	23,3 [20,5; 27,2]	0,205
Возраст, лет	25 [21,5; 28,0]	25 [23; 28]	0,347
Уровень мелатонина в слюне 07-00, пг/мл	10,96 [4,96; 24,83]	6,72 [5,66; 12,14]	0,769
Уровень мелатонина в слюне 11-00, пг/мл	0,75 [0,45; 1,25]	1,29 [0,50; 1,50]	0,558
Уровень мелатонина в слюне 15-00, пг/мл	0,61 [0,26; 0,99]	0,81 [0,52; 1,66]	0,464
Уровень мелатонина в слюне 19-00, пг/мл	0,67 [0,57; 1,26]	0,61 [0,01; 0,72]	0,379
Уровень мелатонина в слюне 23-00, пг/мл	16,28 [4,63; 31,18]	7,53 [2,39; 9,76]	0,305
Уровень мелатонина в слюне 03-00, пг/мл	29,10 [17,14; 48,34]	11,47 [10,77; 17,19]	0,019

При анализе уровня мелатонина в крови в зависимости от фенотипа СПЯ были выявлены статистически значимые отличия по всем группам: максимальный уровень мелатонина диагностирован при классическом фенотипе, далее следуют ановуляторный и неанδροгенный фенотипы, и самый минимальный уровень гормона оказался у пациенток с овуляторным фенотипом (таблица 11).

Таблица 11 - Сравнение параметров мелатонина в крови в зависимости от фенотипа СПЯ (U-тест Манна-Уитни)

Фенотипы (n=60)				
Виды фенотипов	Классический (1), n=29 Медиана, 25-75% процентили	Овуляторный (2), n=6 Медиана, 25-75% процентили	Неанδροгенный (3), n=15 Медиана, 25-75% процентили	Ановуляторный (4), n=10 Медиана, 25-75% процентили
Мелатонин в крови, пг/мл	34,1[29,7;51,9]	6,0[5,7;6,8]	9,4[7,8;17,2]	23,4[21,5;31,3]

$p_{1-2} = 0,0002$, $p_{1-3} < 0,0001$, $p_{1-4} = 0,004$, $p_{2-3} = 0,001$, $p_{2-4} = 0,001$, $p_{3-4} = 0,001$

Результаты лечения

Проведен анализ эффективности комбинированной терапии мелатонином в сочетании с КОК в сравнении с терапией только КОК при проведении стимуляции овуляции кломифена цитратом.

34 пациентки получали терапию КОК, из них 17 женщин – КОК+мелатонин. Больные не отличались статистически значимо по ИМТ, возрасту, уровню тестостерона и объему яичников. Продолжительность лечения составила от 3 до 6 мес (до момента нормализации объемов яичников). В основной группе (КОК+мелатонин) зарегистрированы статистически значимые уменьшения объемов обоих яичников уже через 3 месяца гормональной терапии (таблица 12). После проведенного лечения все пациентки отметили уменьшение клинических проявлений гиперандрогении. Терапия синтетическим аналогом мелатонина успешно купировала все сомнологические жалобы пациенток, что отразилось в повышении количества баллов и их достижении нормативных показателей, полученных по данным контрольного анкетирования ($p < 0,001$). Пациентки

отметили улучшение качества сна, уменьшение ночных пробуждений, уменьшение времени засыпания (таблица 13).

Таблица 12 - Показатели объемов яичников исходно и через 3 месяца лечения

Показатель	Группа «КОК+мелатонин» (n=17)	Группа «КОК» (n=17)	p U-тест
ИМТ, кг/м ²	23,4 [20,8; 34,6]	24,8 [22,9; 26,2]	0,90
Возраст, лет	24 [21; 25]	26 [22; 27]	0,33
Тестостерон, нмоль/л	2,2 [2,0; 3,1]	1,9 [1,2; 2,3]	0,10
Объем правого яичника исходно, см ³	12,6 [10,8; 14,3]	11,4 [10,8; 13,6]	0,370
Объем правого яичника через 3 мес, см ³	10,1 [9,5; 12,2]	11,3 [10,6; 12,9]	-
p, критерий Вилкоксона	<0,001	0,090	-
Объем левого яичника исходно, см ³	12,1 [10,3; 14,5]	12,3 [11,5; 12,5]	0,790
Объем левого яичника через 3 мес, см ³	10,0 [9,4; 11,5]	11,9 [11,5; 12,4]	-
p, критерий Вилкоксона	<0,001	0,06	-

Таблица 13 - Терапия мелатонином, n=17

Показатель	Исходно Медиана, 25- 75% квартили	Динамика Медиана, 25- 75% квартили	p
Анкета балльной оценки субъективных характеристик сна, баллы	17 [17;18]	22 [22;23]	<0,001

При достижении нормальных объемов яичников и уровня тестостерона всем пациенткам была проведена стимуляция овуляции кломифена цитратом в дозе 50-100 мг с 5 по 9 день менструального цикла. В результате в основной группе (КОК+мелатонин) эффективность (т.е. количество больных с подтвержденными по УЗИ признаками желтого тела) составила 65% (11 человек), а в группе сравнения (монотерапия КОК) – 24% (4 человека), $p=0,038$ (критерий χ^2).

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

СПЯ является одной из самых распространенных эндокринных патологий у женщин в репродуктивном возрасте. Гиперандрогения и ИР – основные участники патогенеза заболевания, которые связаны с метаболическим синдромом, воспалением, повышенным риском развития сахарного диабета и сердечно-сосудистых заболеваний [13]. При этом снова и снова появляются данные о новых механизмах развития СПЯ.

Одним из участников фолликулогенеза, регулирующим репродуктивную функцию, является мелатонин. Этот индоламин синтезируется и секретируется, главным образом, в шишковидной железе в ночное время при отсутствии искусственных источников света [22]. Эндогенный ритм секреции формируется супрахиазматическими ядрами и регулируется соотношением свет-темнота. Свет может подавлять или синхронизировать синтез мелатонина.

«Гормон сна» является природным антиоксидантом с иммуностимулирующими и онкостатическими свойствами. Кроме того, он является важным поглотителем свободных радикалов и защищает клетки тела и мозга от генетических повреждений. Мелатонин является главным регулятором репродуктивного и соматического здоровья на протяжении всей жизни [169].

Этот индоламин регулирует сезонные изменения в гонадной активности, т.е. циркадианные вариации в овуляции, так как летом она обычно происходит утром, в то время как зимой – в вечернее время. Гормон может влиять на функцию яичников косвенно через воздействие на гонадотропин-рилизинг гормон и секрецию гонадотропинов или непосредственно через локальный синтез мелатонина в ооцитах, который регулирует производство стероидных гормонов, а также модификацию клеточных сигналов для тканей-мишеней. Было доказано, что у млекопитающих «гормон сна» контролирует репродуктивную функцию путем активации его клеточных рецепторов в гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси [146].

Воздействие света в течение ночи угнетает синтез мелатонина и его секрецию, что приводит к циркадианной десинхронизации, а это, в свою очередь, – к различным заболеваниям и старению клеток. Гормон отвечает за синхронизацию метаболических процессов с ночным временем, т.е. периодом, который запрограммирован у человека на голодание, и способен вызывать тормозящее действие на секрецию инсулина [38].

Высокий уровень мелатонина в фолликулярной жидкости имеет важное значение для роста фолликула, овуляции и качества ооцитов, в то время как снижение его концентрации может приводить к ановуляции и низкому качеству ооцитов. Фолликулы не могут полностью созреть и подвергаются атрезии, т.к. небольшие фолликулы плохо реагируют на гонадотропины. Было замечено, что мелатонин уменьшается в фолликулярной жидкости яичников больных с СПЯ и это снижение мелатонина ответственно за атрезию ооцитов из-за повышенного окислительного стресса и, как следствие, фолликулярного повреждения [154].

Овуляция включает в себя процессы, напоминающие местную воспалительную реакцию: генерируются как АФК, так и реактивные формы азота (РФА), стимулирующие окислительное повреждение. Хотя избыток АФК также может провоцировать окислительный стресс, ведущий к повреждениям ооцитов и клеток гранулезы, локально генерируемые АФК играют решающую роль в фолликулярном разрыве, а РФА выступают в качестве вторичных мессенджеров и модулируют экспрессию генов, регулирующих физиологические процессы созревания ооцитов. Хорошо известно, что эндогенные антиоксидантные ферменты и неэнзимные антиоксиданты, такие как мелатонин и его метаболиты, подавляют образование АФК и РФА в фолликулах. Дефицит антиоксидантов может привести к развитию окислительного стресса и повреждению ооцитов. Кроме того, АФК продуцируются в больших количествах при воспалении, химиотерапии, радиации или инфекционном процессе. Лечение мелатонином для восстановления репродуктивной функции приводит к повышению индекса фертильности и беременности за счет высокой концентрации гормона в фолликулах, который снижает степень окислительного стресса [97].

Многие исследования показали, что уровень окислительного стресса значительно повышается у больных с СПЯ по сравнению со здоровыми женщинами. Этот параметр также статистически значимо коррелирует с ожирением, ИР, гиперандрогенией и хроническим воспалением. Окислительный стресс рассматривают как потенциальный индуктор СПЯ [121].

Перечисленные факты послужили основой для проведения нашего исследования.

С учетом поставленных задач всего было отобрано 120 женщин, из них 60 женщин были включены в группу СПЯ и 60 женщин – в группу контроля. Пациентки с СПЯ и женщины группы контроля были отобраны в зависимости от ИМТ: группа СПЯ – 30 человек с ИМТ ≥ 25 кг/м² и 30 пациенток с ИМТ <25 кг/м², группы контроля – 30 человек с ИМТ ≥ 25 кг/м² и 30 женщин с ИМТ <25 кг/м².

Изучение семейного анамнеза показало, что у женщин с СПЯ было выявлено больше случаев ожирения, сахарного диабета и СПЯ, а также заболеваний щитовидной железы, что обуславливает предрасположенность больных к эндокринным расстройствам и свидетельствует в пользу генетической этиологии данного синдрома. Частота развития ИР у женщин с СПЯ, родственники которых имеют сахарный диабет 2 типа, в 3 раза превышает частоту возникновения нарушений чувствительности к инсулину у больных без отягощенной наследственности по нарушениям углеводного обмена [11; 111].

Анализ времени появления первых менструаций выявил, что в группе СПЯ имелся более ранний возраст наступления менархе, что вероятно могло быть обусловлено наличием большего количества жировой ткани, которая продуцирует эстрогены, инициирующие пубертат. Следует отметить, что, несмотря на наличие ожирения, женщины группы контроля не имели выраженных метаболических и репродуктивных нарушений, т.е. наличие генетической предрасположенности в группе СПЯ способствовало развитию и прогрессированию данных расстройств.

СПЯ ассоциирован с различными гестационными осложнениями во время беременности. По сравнению со здоровыми женщинами, у женщин с СПЯ чаще встречаются выкидыши и кесарево сечение в анамнезе, а концентрация

тестостерона перед зачатием положительно коррелирует с уровнем осложнений [95]. Среди участниц нашего исследования осложненный акушерский анамнез чаще встречался среди больных СПЯ.

Примерно 80% пациенток с СПЯ страдают ановуляторным бесплодием [162]. В нашем исследовании 55% больных СПЯ имели бесплодие, при этом 45% не были заинтересованы в беременности, поэтому процент участниц с инфертильностью может быть намного выше. Среди способов контрацепции в группе СПЯ преобладали КОК, которые были назначены в том числе в качестве патогенетической терапии. При этом 23,3% пациенток жили половой жизнью без предохранения более года, что подтверждает высокую частоту бесплодия у этой категории больных.

До обращения в ФГБУ НМИЦ эндокринологии основным методом лечения среди группы СПЯ были КОК, на фоне приема которых менструальный цикл становился регулярным, однако многие пациентки отмечали прибавку веса и усиление клинических проявлений гиперандрогении при использовании КОК с левоноргестрелом и дезогестрелом, что было связано с остаточной андрогенной активностью данных компонентов. Средняя продолжительность лечения составила 1-3 года (41 женщина, 68,3%), при этом максимальная длительность превышала 7 лет (3 женщины, 5%), что соответствует общей тенденции длительного лечения пациенток [14].

Распределение фенотипов СПЯ в нашем исследовании согласуется с данным других авторов: более чем у половины больных диагностируют классический фенотип, в то время как остальные три фенотипа имеют почти равную частоту [53, 168]. Подобное распределение касалось участниц и нашего исследования: каждая вторая имела признаки классического фенотипа, овуляторный вариант встречался в 10% случаев, неандрогенный – в 25%, ановуляторный – 16,7%. Понимание распределения СПЯ по фенотипам имеет важное значение, учитывая различные метаболические риски для разных фенотипов.

Анализ сомнологического профиля участниц продемонстрировал, что каждая третья пациентка имела различные нарушения сна, что согласуется с

данными других авторов [69; 114; 120]. Стоит отметить, что самой частой причиной сомнологических расстройств (трудности в засыпании, частые пробуждения, отсутствие ночного сна), согласно анкетированию, оказался стресс (более половины пациенток), на 2 месте – ночная или суточная работа, учеба в ночные часы. Сомнологические расстройства были характерны для пациенток СПЯ независимо от ИМТ. Примечательно то, что скрининг СОАС выявил противоположную зависимость: повышенный ИМТ сопровождался более высокой распространенностью апноэ сна, независимо от наличия СПЯ, что согласуется с данными других исследований [113]. Диагностика сомнологических нарушений с помощью анкетирования может использоваться у больных, учитывая высокую распространенность патологии сна у этой категории женщин [140].

По данным Lim AJ и соавт. (2016) была обнаружена связь между короткой продолжительностью сна, а не сменной работой, и длиной менструального цикла. У 15% женщин, которые спали менее 6 часов, продолжительность цикла сокращалась (менее 25 дней), а у 35% – удлинялась [104]. При этом многие наблюдательные исследования выявили связь между ночной работой и риском развития рака молочной железы [70; 78]. Учитывая крайне вариабельные показатели мелатонина даже у здоровых женщин, работающих посменно, необходимы дальнейшие исследования для изучения влияния сменной работы на развитие нарушений, ассоциированных с СПЯ [75].

Интересным представляется распределение пациенток по степени нарушения сна в зависимости от фенотипа: худшие показатели зарегистрированы при классическом фенотипе (82,8%), лучшие – при овуляторном (16,7%), а при неандрогенном и ановуляторном – промежуточные результаты (66,7% и 70,0% случаев, соответственно). Однако статистически значимые отличия были обнаружены только при классическом и овуляторном фенотипе, что может свидетельствовать о более выраженной патологии секреции мелатонина при классическом фенотипе, которая дополнительно усугубляется депривацией сна вследствие жизненных обстоятельств, в то время как наличие овуляции возможно сглаживает мелатониновый дисбаланс. Увеличение объема выборки в дальнейших

исследованиях позволит четко выявить существующие взаимосвязи между фенотипами и расстройствами сна.

Уровень сонливости по данным Эпвортской анкеты в подгруппах статистически значимо не отличался: в 1-й подгруппе чрезмерная сонливость встречалась у каждой третьей, во 2-й и 4-й – у каждой пятой, а в 3-й – каждой четвертой женщины. Чрезмерная сонливость в дневное время является частой жалобой у лиц с ожирением. Она беспокоит около 20% населения и снижает отдельные когнитивные функции и точность кратковременной памяти, приводит к проблемам в обучении и опасным событиям, таким как дорожно-транспортные происшествия. Ожирение является независимым предиктором сонливости, воздействуя на вентиляцию, усиливая обструкцию дыхательных путей и провоцируя их критическое сдавление, что приводит к дневной гиперкапнии [142]. Доказано, что степень сонливости увеличивается пропорционально степени ожирения [112].

Избыток массы тела, рост нежелательных волос на лице и теле, акне, истончение волос кожи головы, нерегулярные менструации и субфертильность повышают психологическую нагрузку в популяции женщин с СПЯ и снижают качество жизни. Депрессия в 2,8 раза чаще встречается у пациенток с СПЯ по сравнению с контролем и в 1,9 раза больше пациенток, чем контроль, получают антидепрессанты [58; 89]. Одним из косвенных факторов, влияющих на психологический статус больных с СПЯ, является гиперинсулинемия: она может приводить к снижению уровня глобулина, связывающего половые гормоны (ГСПГ), что дополнительно усугубляет гиперандрогению, а та в свою очередь – выраженность депрессивных расстройств [74]. Диагностика тревожных и депрессивных расстройств среди участниц нашего исследования статистически значимых различий не выявила: примерно каждая третья участница имела признаки тревожности и/или депрессии как в группе СПЯ, так и в контроле, что может объясняться высокой распространенностью вторичного бесплодия в группе контроля, оказывающего влияние на психологический статус.

Стоит отметить обратную корреляцию данных анкеты балльной оценки субъективных характеристик сна и уровня инсулина: более значимые нарушения сна провоцировали снижение чувствительности тканей к инсулину. В эту же группу факторов, ухудшающих метаболический профиль, входит и работа в ночную смену. Нарушения сна признаны фактором риска развития ожирения, сердечно-сосудистых заболеваний и СОАС у пациенток с СПЯ и расцениваются как фактор риска смертности от всех причин. Несмотря на слабую силу корреляционной связи, необходимость коррекции данной патологии для профилактики развития метаболического синдрома не вызывает сомнения [150].

Результаты биохимического и гормонального обследования наших пациенток согласуются с данными других авторов: для больных СПЯ характерны метаболические нарушения (гиперинсулинемия, дислипидемия) и гиперандрогения [4; 11; 37]. Отсутствие статистически значимой корреляции данных анкеты балльной оценки субъективных характеристик сна и уровня общего холестерина вероятно свидетельствует об отсутствии значимого регулирующего влияния эпифиза и мелатонина на функциональную активность жировых клеток.

Для данного заболевания свойственна высокая степень активности окислительного стресса, ухудшающего созревание яйцеклеток, независимо наличия у данных пациенток избыточной массы тела или ожирения и метаболических нарушений [100]. Это состояние может быть обусловлено недостаточной активностью антиоксидантной системы, одним из участников которой является мелатонин.

По результатам нашего исследования уровень этого индоламина в фолликулярной жидкости пациенток с СПЯ был статистически значимо ниже, а в крови – выше по сравнению с контролем. Сниженная концентрация мелатонина в фолликулярной жидкости при сопутствующем ей повышении концентрации того же параметра в крови позволяет предположить возможное компенсаторное повышение уровня мелатонина в крови. Снижение концентрации мелатонина в фолликулярной жидкости у женщин с СПЯ может приводить к ановуляции, являющейся одним из основных критериев диагностики данного заболевания.

Следствием дефицита уровня мелатонина в яичнике и его повышения в крови также служит увеличение содержания 6-сульфатоксимелатонина в моче по принципу предположительной отрицательной обратной связи. Существуют работы, которые скорее говорят в пользу данного феномена: высокий уровень мелатонина в крови приводит к повышенной экскреции его сульфатированного метаболита [107]. Однако, по данным проведенного нами исследования, индекс массы тела не оказывал существенно значимого влияния на выраженность повышения уровня гормона в крови, а также его метаболита в моче.

Определение содержания мелатонина в слюне в 03.00 имеет наибольшую диагностическую ценность, поскольку именно в данное время отмечается максимальная продукция гормона. Для пациенток с СПЯ было характерно более высокое значение по сравнению с контролем. Корреляция уровня мелатонина слюны, полученной в ночное время, и его метаболита в суточной моче может свидетельствовать о его системном действии у больных с СПЯ, поэтому возможно для проведения диагностического поиска использовать неинвазивные методики определения мелатониндефицитного состояния, что вероятно будет иметь преимущества у определенных групп пациентов. Данные других авторов свидетельствуют о том, что ночной пик амплитуды колебания мелатонина в плазме соответствует схожим изменениями в слюне, а уровень 6-сульфатоксимелатонина коррелирует с концентрацией мелатонина в плазме и слюне [41].

Уровень мелатонина в крови 51,2 пг/мл в нашем исследовании был принят среди овулирующих женщин как отрезная точка, однако среди пациенток с СПЯ и показателем менее указанного была зафиксирована ановуляция в 77% случаев. Это говорит о том, что уровень мелатонина более 51,2 пг/мл – не единственный маркер ановуляции, т.к. причины овуляторной дисфункции могут быть многофакторными.

Еще одним доказанным фактором ановуляции является высокий уровень тестостерона. В нашем исследовании была продемонстрирована прямая корреляция уровня мелатонина в крови и указанного андрогена. При СПЯ атретические фолликулы не способны к полноценному созреванию, а это, в свою очередь, приводит к образованию множества мелких фолликулярных кист,

окруженных гиперпластическими тека-клетками. С каждым новым циклом увеличивается клеточная масса, производящая андрогены, что в итоге служит причиной хронической ановуляции [71]. Таким образом, корреляция уровней мелатонина и тестостерона может подтверждать их роль в качестве важнейших факторов овуляторной дисфункции. Женщины с овариальной гиперандрогенией имеют повышенную концентрацию мелатонина в крови, которая остается в норме у женщин с гиперандрогенией вследствие идиопатического гирсутизма. Аналогичные данные были получены в исследовании Jain P. и соавт. (2013): выявлена положительная корреляция уровня мелатонина и тестостерона при СПЯ по сравнению со здоровыми женщинами. Средний уровень мелатонина был значительно повышен в группе СПЯ, а общий уровень тестостерона превышал норму у 72% пациентов [87].

Исследования показали, что уровень АМГ у пациенток с СПЯ в 2-3 раза выше, чем у здоровых женщин. Показатель АМГ остается неизменным независимо от фазы менструального цикла. Его снижение до минимальных уровней может коррелировать с уменьшением количества фолликулов, а его аномальное увеличение коррелирует с избытком фолликулов в стадии раннего созревания при СПЯ [148]. Было высказано предположение, что определение АМГ может быть использовано в качестве диагностического критерия [136]. В нашем исследовании уровень АМГ был статистически значимо выше в группе СПЯ по сравнению с контролем не зависимо от ИМТ. При этом прямая средней силы корреляция АМГ и мелатонина в крови позволяет утверждать, что этот фактор вносит дополнительный вклад в развитие ановуляции.

Распределение фенотипов в зависимости от уровня мелатонина в крови в нашем исследовании соответствовало распределению условной «степени тяжести» фенотипов (т.е. сочетание всех 3-х критериев или только 2-х): на 1-м месте оказался классический фенотип, на 2-м – ановуляторный, на 3-м – неандрогенный, самый минимальный уровень мелатонина был зафиксирован при овуляторном фенотипе. Эти данные дополнительно подтверждают теорию влияния мелатонина на развитие и прогрессирование СПЯ, в частности демонстрируют протективный эффект

овуляции (овуляторный фенотип) в компенсации мелатонин-дефицитного состояния в яичниках.

Лечение СПЯ направлено на коррекцию гиперандрогении, снижение веса, повышение чувствительности к инсулину и восстановление самостоятельной овуляции.

Пациентки, имеющие выраженные метаболические нарушения (ожирение, нарушенная толерантность к глюкозе, ИР) и, как следствие, репродуктивную дисфункцию, в первую очередь должны снизить вес [90; 130]. Если преобладают репродуктивные нарушения и нет существенных метаболических расстройств, необходимо устранить клинические проявления гиперандрогении, а также негативное влияние повышенного уровня тестостерона и окислительного стресса на созревание фолликулов. Для снижения уровня гиперандрогении используют КОК: они регулируют менструальный цикл и повышают ГСПГ, что приводит к снижению концентрации свободного тестостерона и уменьшению гирсутизма. Данная терапия помогает также уменьшить объем яичников в случае его превышения, что в дальнейшем снижает риск гиперстимуляции яичников во время применения протоколов стимуляции овуляции [12].

С позиций ВРТ мелатонин служит мощным фактором профилактики последствий окислительного стресса, в особенности у пациенток с СПЯ, у которых, несмотря на высокую концентрацию АМГ, имеет место низкое качество яйцеклеток. Следовательно, в данном случае его применение патогенетически обоснованно [154].

Снижение уровня мелатонина в фолликулярной жидкости при его сопутствующем повышении в крови и моче позволяет предположить изменение секреторного циркадианного ритма гормона по сравнению со здоровыми женщинами. Поэтому мы использовали терапию мелатонином у женщин с уже высокими уровнями этого гормона в крови для преодоления возможной «мелатонин-резистентности», т.к. данный дисбаланс может приводить к овуляторной дисфункции и нарушению стероидогенеза при СПЯ. По результатам нашего исследования терапия КОК эффективно нормализовала объем яичников в

течение 3-6 мес, при этом более значимое уменьшение объемов яичников было достигнуто у пациенток, использующих комбинированную терапию КОК и мелатонином в короткие сроки (за 3 месяца). Данные согласуются с результатами других авторов. Tagliaferri V. и соавт. (2017) выявили статистически значимое снижение тестостерона, 17-ОН-прогестерона, АМГ, ЛПНП и повышение ФСГ на фоне терапии мелатонином в течение 6 мес. 95% участниц отметили улучшение менструальной функции [151].

На 2 этапе лечения мы проводили стимуляцию овуляции кломифена цитратом у пациенток с нормальными объемами яичников и уровнем тестостерона. В результате эффективность терапии в группе КОК+мелатонин оказалась в 2,7 раза выше по сравнению с группой монотерапии КОК (65% и 24%, соответственно).

По данным различных авторов эффективность стимуляции овуляции кломифена цитратом может достигать 40%, а 15-20% пациенток с СПЯ имеют кломифен-резистентность и не реагируют на стандартные дозы 150 мг в день, курс 5 дней. Хотя причины возникновения кломифен-резистентности в большинстве случаев неизвестны, в качестве возможных объяснений этого состояния были предложены различные факторы: гиперандрогения, гиперпролактинемия, гиперинсулинемия, ожирение, ИР, отсутствие адекватного ответа яичников. Поэтому поиски способов преодоления кломифен-резистентности продолжаются (например, использование метформина, N-ацетилцистеина, ингибиторов ароматазы, гонадотропинов, глюкокортикоидов и лапароскопический дриллинг) [122]. Однако эти методы могут быть дорогостоящими и не всегда безопасны [62]. С учетом всего вышеизложенного, использование мелатонина в комбинированной терапии СПЯ может улучшить эффективность консервативной терапии и снизить частоту хирургических вмешательств при ановуляторном бесплодии.

Таким образом, полученные в нашей работе данные свидетельствуют о том, что в патогенезе СПЯ могут играть роль процессы, связанные с нарушениями в обмене мелатонина. Синдром ассоциирован не только с гиперандрогенией и ИР, но и с расстройствами сна независимо от ИМТ. Корреляция уровня АМГ и мелатонина в крови, а также мелатонина в крови и тестостерона говорят о патогенетической

многофакторности ановуляции при СПЯ. Корреляция уровня инсулина со степенью сомнологических нарушений позволяет предположить наличие прямого влияния циркадианных ритмов сна и бодрствования на развитие метаболических нарушений и ухудшение чувствительности тканей к инсулину. Учитывая не только гинекологическую составляющую патологического процесса, но и метаболические риски, СПЯ требует междисциплинарного подхода в лечении пациенток с обязательной оценкой расстройств сна и длительного диспансерного наблюдения. Использование возможности коррекции сомнологических и репродуктивных отклонений с помощью синтетического аналога мелатонина позволит улучшить процесс созревания доминантного фолликула и формирования полноценной яйцеклетки и реализовать репродуктивную функцию.

Выводы

1. Пациентки с СПЯ имеют статистически значимо более низкую концентрацию мелатонина в фолликулярной жидкости при его повышенном уровне в крови и слюне и его метаболита в моче независимо от ИМТ, по сравнению с женщинами группы контроля без признаков ановуляции. Наиболее высокий уровень мелатонина в крови был обнаружен при классическом фенотипе СПЯ, а наиболее низкий – при овуляторном, что подтверждает связь овуляторной дисфункции и уровня мелатонина в фолликулярной жидкости.

2. Частота сомнологических нарушений у пациенток с СПЯ (33,3%) превышала таковую среди женщин группы контроля (10%). При распределении больных в зависимости от фенотипа статистически значимые отклонения были обнаружены в подгруппах классического и овуляторного вариантов, причем в первой подгруппе изменения были наиболее выражены. По данным анкетирования женщины с СПЯ имели худший сомнологический профиль по сравнению с контрольной группой независимо от ИМТ. Статистически значимых отличий по степени тревоги и/или депрессии у больных с СПЯ и женщин группы контроля не выявлено.

3. Расстройства сна выступают в качестве дополнительного фактора, нарушающего метаболический профиль пациенток: ухудшение сомнологического профиля ассоциировано с усилением инсулинорезистентности у больных СПЯ.

4. На развитие ановуляции при СПЯ влияет нарушение взаимосвязи мелатонина, определяемого в крови, и мелатонина яичников, а также гиперандрогения и повышенный уровень АМГ (коррелирует с уровнем мелатонина в крови). Синтетический аналог мелатонина в комбинированной терапии СПЯ позволяет в 2,7 раза повысить эффективность консервативной терапии и преодолеть кломифен-резистентность в циклах стимуляции овуляции.

Практические рекомендации

Учитывая высокую распространенность расстройств сна у пациенток с СПЯ по сравнению со здоровыми женщинами, рекомендуется их активное выявление с использованием специализированных анкет.

Учитывая многофакторную этиологию ановуляторного бесплодия у пациенток с СПЯ, необходимо оценивать уровень мелатонина в крови в совокупности с такими показателями, как уровень тестостерона и АМГ. Необходимы дальнейшие исследования для уточнения механизма развития мелатонин-дефицитного состояния в фолликулах и взаимосвязи уровня мелатонина эпифиза и мелатонина периферических тканей.

С целью повышения эффективности патогенетической терапии СПЯ, направленной на компенсацию нарушенной секреции мелатонина и купирование сомнологических расстройств, рекомендуется использование синтетического аналога данного гормона, особенно у пациенток с предшествующими эпизодами кломифен-резистентности.

Список сокращений и условных обозначений

8-ГДГ – 8-гидрокси-2-дезоксигуанозин

НОМА-IR – Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance- IR

StaR – белок острого стероидогенного ответа

АМГ – анти-мюллеров гормон

АФК – активные формы кислорода

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии

ГСПГ – глобулин, связывающий половые гормоны

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИФР – инсулиноподобный фактор роста

ИМТ – индекс массы тела

ИР – инсулинорезистентность

КОК – комбинированные оральные контрацептивы

ЛГ – лютеинизирующий гормон

ЛПВП – липопротеиды высокой плотности

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

РФА – реактивные формы азота

СОАС – синдром обструктивного апноэ сна

СПЯ – синдром поликистозных яичников

ТФР- β – трансформирующий фактор роста β

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

Список литературы

1. Адамян Л.В., Андреева Е.Н., Григорян О.Р. и др. Синдром поликистозных яичников в репродуктивном возрасте (современные подходы к диагностике и лечению) / Клинические рекомендации (протокол лечения). – М., 2015. – С.1-9.
2. Андреева Е.Н., Дедов И.И., Деркач Д.А., Мельниченко Г.А. и др. Рациональная фармакотерапия заболеваний эндокринной системы и нарушений обмена веществ // Под общей редакцией Дедова И. И.; Мельниченко Г.А. – 2-е издание исправленное и дополненное. – М., 2013.
3. Андреева Е.Н., Шереметьева Е.В., Григорян О.Р., Дедов И.И. Психологические особенности больных при различных фенотипах синдрома поликистозных яичников // Проблемы репродукции. – 2013. – № 3. – С.25-29.
4. Андреева Е.Н., Шереметьева Е.В., Дедов И.И. Отдаленные результаты коррекции метаболического риска при синдроме поликистозных яичников после лечения метформином // Вестник репродуктивного здоровья. – 2011. – № 2. – С.35-41.
5. Арушанян Э.Б. Мелатонин при аутоиммунной и аллергической патологии // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2015. – № 8. – С.29-34.
6. Арушанян Э.Б., Бейер Э.В. Мелатонин: биология, фармакология, клиника. – Ставрополь, 2015. – 396 с.
7. Арушанян Э.Б., Щетинин Е.В. Мелатонин как универсальный модулятор любых патологических процессов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2016. – № 1. – С.79-88.
8. Березова Д.Т. Мелатонин: свойства и возможности использования // Владикавказский медико-биологический вестник. – 2012. – № 23. – С.127-133.
9. Беспятых А.Ю., Бурлакова О.В., Голиченков В.А. Мелатонин как антиоксидант: основные функции и свойства // Успехи современной биологии. – 2010. – № 5. – С.487-496.

10. Беспятых А. Ю. Мелатонин: теория и практика монография // под ред. С. И. Рапопорта, В. А. Голиченкова / МГУ им. М. В. Ломоносова, ММА им. И. М. Сеченова. – М., 2009. – 100 с.
11. Веснина А.Ф. Синдром поликистозных яичников: клинико-гормональные и молекулярно-генетические сопоставления: автореф. дис. ...канд. мед. наук: 14.00.03 / Веснина Анна Федоровна. – М., 2008. – 27 с.
12. Геворкян М.А., Блинов Д.В., Смирнова С.О. Комбинированные оральные контрацептивы в лечении пациенток с синдромом поликистозных яичников // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2012. – №1. – С.39-49.
13. Григорян О.Р., Андреева Е.Н. Ожирение и репродуктивная функция // Трудный пациент. – 2011. – № 8-9. – С.21-24.
14. Гродницкая Е.Э., Ильина Н.А., Довженко Т.В., Латышкевич О.А., Курцер М.А., Мельниченко Г.А. Синдром поликистозных яичников - междисциплинарная проблема // Доктор ру. – 2016. – №3. – С.59-65.
15. Дедов И. И. Синдром поликистозных яичников / Дедов И.И., Мельниченко Г.А. – М.: МИА, 2007. – 368 с.
16. Джериева И.С., Волкова Н.И., Рапопорт С.И. Мелатонин и метаболический синдром: существует ли связь? // Терапевтический архив. – 2012. – № 10. – С.109-112.
17. Довженко Т.В., Ильина Н.А., Гродницкая Е.Э. Проблема психических нарушений при синдроме поликистозных яичников // Социальная и клиническая психиатрия. – 2015. – № 2. – С.94-100.
18. Елигулашвили Т.С. Неврологические аспекты синдрома апноэ во сне: клинико-физиологическое исследование: дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.13 / Елигулашвили Теймураз Семенович. – М., 1998. – 260 с.
19. Ермоленко К.С. Коррекция содержания мелатонина в программах вспомогательных репродуктивных технологий: автореф. дис. ...канд. мед. наук: 14.00.01 / Ермоленко Кристина Станиславовна. – М., 2014. – 26 с.
20. Крот А. Ф. Современное состояние хронобиологии // Военная медицина. – 2012. – №4. – С.121-131.

21. Левин Я.П., Елигулашвили Т.С., Посохов С.И. Фармакотерапия инсомний. – М., 1995. – С.56–61
22. Наумов А.В., Конюх Е.А. Мелатонин: медико-биологические функции // Проблемы здоровья и экологии. – 2011. – № 3. – С.132-136.
23. Орлова В.В., Симрок В.В., Коробкова Е.А. Мелатонин – универсальный гормон женского организма // Здоровье женщины. – 2013. – № 5. – С.110.
24. Полуэктов М.Г. Мелатонин и нарушения цикла «сон-бодрствование» // Справочник поликлинического врача. – 2012. – № 3. – С.35-38.
25. Рапопорт С.И., Молчанов А.Ю., Голиченков В.А., Бурлакова О.В., Супруненко Е.А., Савченко Е.С. Метаболический синдром и мелатонин // Клиническая медицина. – 2013. – № 11. – С.8-14.
26. Стрижаков А. Н. Трансвагинальная эхография: атлас / А. Н. Стрижаков. А. И. Давыдов, Л. Д. Белоцерковцева. – М.: Медицина, 2001.
27. Шереметьева Е.В. Метаболические риски и психологические особенности больных при различных фенотипах синдрома поликистозных яичников: автореф. дис. ...канд. мед. наук: 14.01.02 / Шереметьева Екатерина Викторовна. – М., 2012. – С.26.
28. Шереметьева Е., Андреева Е., Дедов И. Отдаленные результаты коррекции метаболического риска у женщин с синдромом поликистозных яичников после монотерапии метформином и комбинированной терапии // Врач. – 2012. – № 8. – С.56-61.
29. Яглова Н.В., Яглов В.В. Эндокринные дизрапторы - новое направление исследований в эндокринологии // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – № 3. – С.56-61.
30. Яцко М.В. Использование высокоэффективной жидкостной хроматографии для стандартизации фармацевтической субстанции "мелатонин" // Материалы XVIII Региональной научно-практической конференции преподавателей, научных сотрудников и аспирантов. – 2013. – С.146-148.

31. Abbott S.M., Reid K.J., Zee P.C. Circadian rhythm sleepwake disorders // *Psychiatr Clin North Am.* – 2015. – Vol. 38. – P.805–823.
32. Acmaz G., Albayrak E., Acmaz B., Baser M., Soyak M., Zararsız G., IpekMüderris I. Level of anxiety, depression, self-esteem, social anxiety, and quality of life among the women with polycystic ovary syndrome // *ScientificWorldJournal.* – 2013. – Vol. 85. – P.1815.
33. Agil A., Navarro-Alarcón M., Ruiz R. et al. Beneficial effects of melatonin on obesity and lipid profile in young Zucker diabetic fatty rats // *J Pineal Res.* – 2011. – Vol. 50. P.207–212.
34. Agil A., Rosado I., Ruiz R., Figueroa A., Zen N., Fernández-Vázquez G. Melatonin improves glucose homeostasis in young Zucker diabetic fatty rats // *J Pineal Res.* – 2012. – Vol. 52. – P.203–210.
35. Akin L., Kendirci M., Narin F., et al. The endocrine disruptor bisphenol A may play a role in the aetiopathogenesis of polycystic ovary syndrome in adolescent girls // *Acta Paediatr.* – 2015. – Vol.104. – P.e171-e177.
36. Alibhai F.J., Tsimakouridze E.V., Reitz C.J., Pyle W.G., Martino T.A. Consequences of circadian and sleep disturbances for the cardiovascular system // *Can J Cardiol.* – 2015. – Vol.31. – P.860–872.
37. Azziz R., Carmina E., Chen Z., Dunaif A., Laven J., Legro R., Lizneva D., Natterson-Horowitz B., Teede H., Yildiz B. Polycystic ovary syndrome // *Nat Rev Dis Primers.* – 2016. – Vol. 2. – P.16057.
38. Bahr I., Muhlbauer E., Schucht H., Peschke E. Melatonin stimulates glucagon secretion in vitro and in vivo // *J Pineal Res.* – 2011. – Vol.50. – P.336–344.
39. Barth J.H., Yasmin E., Balen A.H. The diagnosis of polycystic ovary syndrome: the criteria are insufficiently robust for clinical research // *Clin Endocrinol (Oxf).* – 2007. – Vol. 67. – P.811–815.
40. Bazarganipour F., Ziaei S., Montazeri A., Foroozanfard F., Kazemnejad A., Faghihzadeh S. Psychological investigation in patients with polycystic ovary syndrome // *Health Qual Life Outcomes.* – 2013. – Vol.11. –P.141.

41. Benloucif S., Burgess H.J., Klerman E.B., Lewy A.J., Middleton B., Murphy P.J., Parry B.L., Revell V.L. Measuring melatonin in humans // *J Clin Sleep Med.* – 2008. – Vol. 4. – P.66–69.
42. Betz M.J., Enerbäck S. Human brown adipose tissue: what we have learned so far // *Diabetes.* – 2015. – Vol.64. –P.2352–2360.
43. Bracci M., Manzella N., Copertaro A., Staffolani S., Strafella E., Barbaresi M., Copertaro B., Rapisarda V., Valentino M., Santarelli L. Rotating-shift nurses after a day off: peripheral clock gene expression, urinary melatonin, and serum 17- β -estradiol levels // *Scand J Work Environ Health.* – 2014. – Vol. 40. – P.295-304.
44. Buxton O.M., Cain S.W., O'Connor S.P. et al. Adverse metabolic consequences in humans of prolonged sleep restriction combined with circadian disruption // *Science Translational Medicine.* – 2012. – Vol. 4. – P.129.
45. Canuto R., Pattussi M., Macagnan J., Henn R., Olinto M. Sleep deprivation and obesity in shift workers in southern Brazil // *Public Health Nutrition.* – 2013. – Vol. 29. – P.1–5.
46. Cappuccio F.P., Taggart F.M., Kandala N.B., Currie A., Peile E., Stranges S., et al. Metaanalysis of short sleep duration and obesity in children and adults // *Sleep.* – 2008. – Vol.31. – P.619-626.
47. Cardinali D.P., Cano P., Jiménez-Ortega V. et al. Melatonin and the metabolic syndrome: physiopathologic and therapeutical implications // *Neuroendocrinology.* – 2011. – Vol.93. – P.133–142.
48. Chaput J.P. Sleep patterns, diet quality and energy balance // *Physiol Behav.* – 2014. – Vol.134. – P.86-91.
49. Chatterjee B., Suri J., Suri J., Mittal P., Adhikari T. Impact of sleep-disordered breathing on metabolic dysfunctions in patients with polycystic ovary syndrome // *Sleep Med.* – 2014. – Vol.15. – P.1547–1553.
50. Ciavattini A., Di Giuseppe J., Stortoni P., Montik N., Giannubilo S.R., Litta P., Islam M.S., Tranquilli A.L., Reis F.M., Ciarmela P. Uterine fibroids: pathogenesis and interactions with endometrium and endomyometrial junction // *Obstet Gynecol Int.* – 2013. – Vol.2013. – P.173184.

51. Cipolla-Neto J., Amaral F., Afeche S., Tan D., Reiter R. Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review // *Journal of Pineal Research*. – 2014. – Vol.56. – P.371–381.
52. Clayton W., Lipton M., Elford J., Rustin M., Sherr L. A randomized controlled trial of laser treatment among hirsute women with polycystic ovary syndrome // *Br J Dermatol*. – 2005. – Vol.152. – P.986–992.
53. Cupisti S., Haeberle L., Schell C., Richter H., Schulze C., Hildebrandt T., et al. The different phenotypes of polycystic ovary syndrome: no advantages for identifying women with aggravated insulin resistance or impaired lipids // *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. – 2011. – Vol.119. – P.502–508.
54. Davis S., Kaune W., Mirick D., Chen C., Stevens R. Residential magnetic fields, light-at-night, and nocturnal urinary 6-sulfatoxy-melatonin concentration in women // *Am J Epidemiol*. – 2001. – Vol.154. – P.591-600.
55. De Leo V., Musacchio M.C., Cappelli V., Massaro M.G., Morgante G., Petraglia F. Genetic, hormonal and metabolic aspects of PCOS: an update // *Reprod Biol Endocrinol*. – 2016. – Vol.14. – P.38.
56. Desai N., Patel S. Increased insulin-like growth factor-1 in relation to cardiovascular function in polycystic ovary syndrome: friend or foe? // *Gynecol Endocrinol*. – 2015. – Vol. 31. – P.801-807.
57. Dokras A. Mood and anxiety disorders in women with PCOS // *Steroids*. – 2012. – Vol.77. – P.338–341.
58. Dokras A., Clifton S., Futterweit W., Wild R. Increased risk for abnormal depression scores in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis // *Obstetrics and Gynecology*. – 2011. – Vol.1. – P.145–152.
59. Dragojevic D.S., Jovanovic A.M., Dikic S., Jovanovic T., Jurisic A., Dobrosavljevic A. Melatonin: a "Higgs boson" in human reproduction // *Gynecol Endocrinol*. – 2015. – Vol.31. – P.92-101.
60. Dullo P., Chaudhary R. Short review of reproductive physiology of melatonin // *Pak J Physiol*. – 2009. – Vol.5. – P.46–48.

61. Ehrmann D.A. Metabolic dysfunction in pcos: Relationship to obstructive sleep apnea // *Steroids*. – 2012. – Vol.77. – P.290-294.
62. Elkhateeb R.R., Mahran A.E., Kamel H.H. Long-term use of clomiphene citrate in induction of ovulation in PCO patients with clomiphene citrate resistance // *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. – 2017. – Vol.46. – P.575-577.
63. Emet M., Ozcan H., Ozel L., Yayla M., Halici Z., Hacimuftuoglu A. A Review of Melatonin, Its Receptors and Drugs // *Eurasian J Med*. – 2016. – Vol.48. – P.135-141.
64. Esquirol Y., Bongard V., Ferrieres J., Verdier H., Perret B. Shiftwork and higher pancreatic secretion: early detection of an intermediate state of insulin resistance? // *Chronobiology International*. – 2012. – Vol.29. – P.1258–1266.
65. Ferreira D., Amaral F., Mesquita C. et al. Maternal melatonin programs the daily pattern of energy metabolism in adult offspring // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol.7. – P.e38795.
66. Ferriman D. Clinical assessment of body hair growth in women / D. Ferriman, J. D. Gallwey // *J. of Clinical Endocrinology*. – 1961. – Vol.21. – P.1440-1447.
67. Flynn–Evans E.E., Stevens R.G., Tabandeh H., Schernhammer E.S., Lockley S.W. Total visual blindness is protective against breast cancer // *Cancer Causes Control*. – 2009. – Vol.20. – P.1753–1756.
68. Fonken L., Workman J., Walton J. et al. Light at night increases body mass by shifting the time of food intake // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2010. – Vol.107. – P.18664–18669.
69. Franik G., Krysta K., Madej P., Gimlewicz-Pięta B., Oślizło B., Trukawka J., Olszanecka-Glinianowicz M. Sleep disturbances in women with polycystic ovary syndrome // *Gynecol Endocrinol*. – 2016. – Vol.27. – P.1-4.
70. Fritschi L., Erren T.C., Glass D.C., et al. The association between different night shiftwork factors and breast cancer: A case-control study // *Br J Cancer*. – 2013. – Vol.109. – P.2472–2480.

71. Fritz M.A., Speroff L. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. Chronic Anovulation and the Polycystic Ovary Syndrome / Fritz M.A. – 8th ed. – New Delhi: Wolter Kluwer Pvt Ltd, 2011. – P.497–499.
72. Garcia-Marin R., Fernandez-Santos J.M., Morillo-Bernal J., Gordillo-Martinez F., et al. Melatonin in the thyroid gland: regulation by thyroid-stimulating hormone and role in thyroglobulin gene expression // J Physiol Pharmacol. – 2015. – Vol.66. – P.643-652.
73. Geijlswijk I.M., Korzilius H.P., Smits M.G. The use of exogenous melatonin in delayed sleep phase disorder: a meta-analysis // Sleep. – 2010. – Vol.33. – P.1605-1614.
74. Glintborg D., Andersen M. Management of endocrine disease: Morbidity in polycystic ovary syndrome // Eur J Endocrinol. – 2017. – Vol.176. – P.R53-R65.
75. Gómez-Acebo I., Dierssen-Sotos T., Papantoniou K., García-Unzueta M.T., Santos-Benito M.F., Llorca J. Association between exposure to rotating night shift versus day shift using levels of 6-sulfatoxymelatonin and cortisol and other sex hormones in women // Chronobiol Int. – 2015. – Vol.32. – P.128-135.
76. Gonzalez F., Rote N., Minium J., Kirwan J. Reactive oxygen species induced oxidative stress in the development of insulin resistance and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome // The Journal of clinical endocrinology and metabolism. – 2006. – Vol.91. – P.336–340.
77. Goodman N.F., Cobin R.H., Futterweit W., Glueck J.S., Legro R.S., Carmina E.; American Association of Clinical Endocrinologists (AACE); American College of Endocrinology (ACE); Androgen Excess and PCOS Society. American Association of Clinical Endocrinologists, American College of Endocrinology, and Androgen Excess and PCOS Society Disease State Clinical Review: Guide to the best practices in the evaluation and treatment of polycystic ovary syndrome - part 2 // Endocr Pract. – 2015. – Vol.21. – P.1415-1426.
78. Grundy A., Richardson H., Burstyn I., et al. Increased risk of breast cancer associated with long-term shift work in Canada // Occup Environ Med. – 2013. – Vol. 70. – P.831–838.

79. Halden R.U. On the need and speed of regulating triclosan and triclocarban in the United States // *Environ Sci Technol.* – 2014. – Vol.48. – P.3603-3611.
80. Hardeland R. Antioxidative protection by melatonin: multiplicity of mechanisms from radical detoxification to radical avoidance // *Endocrine.* – 2005. – Vol.27. – P.119–130.
81. He C., Anand S.T., Ebell M.H., Vena J.E., Robb SW. Circadian disrupting exposures and breast cancer risk: a meta-analysis // *Int Arch Occup Environ Health.* – 2015. – Vol.88. – P.533–547.
82. Hudson C., Hudson S.P., Hecht T., MacKenzie J. Protein source tryptophan versus pharmaceutical grade tryptophan as an efficacious treatment for chronic insomnia // *Nutr Neurosci.* – 2005. – Vol.8. – P.121–127.
83. Hung J., Hu L., Tsai S., Yang A., Huang M., Chen P., Wang S., Lu T., Shen C. Risk of psychiatric disorders following polycystic ovary syndrome: a nationwide population-based cohort study // *PLoS One.* – 2014. – Vol.9. – P.97041.
84. Ishizuka B., Kuribayashi Y., Murai K., Amemiya A., Itoh M.T. The effect of melatonin on in vitro fertilization and embryo development in mice // *Journal of pineal research.* – 2000. – Vol.28. – P.48–51.
85. Itoh M.T., Ishizuka B., Kudo Y., Fusama S., Amemiya A., Sumi Y. Detection of melatonin and serotonin N-acetyltransferase and hydroxyindole-O-methyltransferase activities in rat ovary // *Molecular and Cellular Endocrinology.* – 1997. – Vol.136. – P.7–13.
86. Itoh M.T., Ishizuka B., Kuribayashi Y. Melatonin, its precursors and synthesizing enzyme activities in the human ovary // *Molecular Human Reproduction.* – 1999. – Vol.5. – P.402–408.
87. Jain P., Jain M., Halder C., Singh T.B., Jain S. Melatonin and its correlation with testosterone in polycystic ovarian syndrome // *J Hum Reprod Sci.* – 2013. – Vol.6. – P.253-258.
88. Johns M.W. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale // *Sleep.* – 1991. – Vol.14. – P.540-545.

89. Jones G.L., Hall J.M., Balen A.H., Ledger W.L. Health-related quality of life measurement in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review // *Human Reproduction Update*. – 2008. – Vol.1. – P.15–25.
90. Kanat M., DeFronzo R.A., Abdul-Ghani M.A. Treatment of prediabetes // *World J Diabetes*. – 2015. – Vol.12. – P.1207-1222.
91. 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 // *Journal of pineal research*. – 2009. – Vol.46. – P.22-28.
92. Kim M., Park E., Kim H., Choi W., Cho J., Lee W., Cha K., Kim Y., Lee D., Yoon T. Does melatonin supplementation of in-vitro culture medium with melatonin improve IVF outcome in PCOS? // *Reproductive biomedicine online*. – 2013. – Vol.26. – P.22–26.
93. Kim M., Son K., Park H., Choi D., Yoon C., Lee H., Cho E., Cho M. Association between shift work and obesity among female nurses: Korean Nurses' survey // *BMC Public Health*. – 2013. – Vol.13. – P.1204.
94. Kim T.W., Jeong J.H., Hong S.C. The impact of sleep and circadian disturbance on hormones and metabolism // *Int J Endocrinol*. – 2015. – Vol.2015. – P.591729.
95. Klevedal C., Turkmen S. Fetal-maternal outcomes and complications in pregnant women with polycystic ovary syndrome // *Minerva Ginecol*. – 2017. – Vol.69. – P.141-149.
96. Kooijman S., van den Berg R., Ramkisoensing A., Boon M.R., Kuipers E.N., Loef M. et al. Prolonged daily light exposure increases body fat mass through attenuation of brown adipose tissue activity // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2015. – Vol.112. – P.6748–6753.
97. Korkmaz A., Manchester L.C. Reactive nitrogen species; devastating intracellular players and melatonin as a defender // *J Exp Integr Med*. – 2011. – Vol.1. – P.63–65.

98. Kozirog M., Poliwczak A.R., Duchnowicz P., et al. Melatonin treatment improves blood pressure, lipid profile, and parameters of oxidative stress in patients with metabolic syndrome // *J Pineal Res.* – 2011. – Vol.50. – P.261–266.
99. Kulkarni R. Receptors for insulin and insulin-like growth factor-1 and insulin receptor substrate-1 mediate pathways that regulate islet function // *Biochem Soc Trans.* – 2002. – Vol.30. – P.317–322.
100. Kus,c,u N., Var A. Oxidative stress but not endothelial dysfunction exists in non-obese, young group of patients with polycystic ovary syndrome // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 2009. – Vol.88. – P.612–617.
101. Laermans J., Depoortere I. Chronobesity: role of the circadian system in the obesity epidemic // *Obes Rev.* – 2016. – Vol.17. – P.108–125.
102. Leproult R., Holmbäck U., van Cauter E. Circadian misalignment augments markers of insulin resistance and inflammation, independently of sleep loss // *Diabetes.* – 2014. – Vol.63. – P.1860–1869.
103. Li Y., Sato Y., Yamaguchi N. Shift work and the risk of metabolic syndrome: a nested case-control study // *International Journal of Occupational and Environmental Health.* – 2011. – Vol.17. – P.154–160.
104. Lim A.J., Huang Z., Chua S.E., Kramer M.S., Yong E.L. Sleep Duration, Exercise, Shift Work and Polycystic Ovarian Syndrome-Related Outcomes in a Healthy Population: A Cross-Sectional Study // *PLoS One.* – 2016. – Vol.21. – P.e0167048.
105. Lissoni P. Is there a role for melatonin in supportive care? // *Support Care Cancer.* – 2002. – Vol.10. – P.110–116.
106. Lowes D., Webster N., Murphy M., Galley H. Antioxidants that protect mitochondria reduce interleukin-6 and oxidative stress, improve mitochondrial function, and reduce biochemical markers of organ dysfunction in rat a model of acute sepsis // *British Journal of Anaesthesia.* – 2013. – Vol.110. – P.472–480.
107. Luboshitzky R., Qupti G., Ishay A., Shen-Orr Z., Futerman B., Linn S. Increased 6-sulfatoxymelatonin excretion in women with polycystic ovary syndrome // *Fertil Steril.* – 2001. – Vol.76. – P.506-510.

108. Markwald R.R., Melanson E.L., Smith M.R., Higgins J., Perreault L., Eckel R.H., et al. Impact of insufficient sleep on total daily energy expenditure, food intake, and weight gain // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2013. – Vol.110. – P.5695-5700.
109. Marla E., Donna R., Roger A. Diagnostic Criteria for Polycystic Ovary Syndrome: Pitfalls and Controversies // *J Obstet Gynaecol Can*. – 2008. – Vol.30. – P.671–679.
110. McMullan C.J., Schernhammer E.S., Rimm E.B., Hu F.B., Forman J.P. Melatonin secretion and the incidence of type 2 diabetes // *JAMA*. – 2013. – Vol.309. – P.1388-1396.
111. Minooe S., Ramezani Tehrani F., Mirmiran P., Azizi F. Low birth weight may increase body fat mass in adult women with polycystic ovarian syndrome // *Int J Reprod Biomed (Yazd)*. – 2016. – Vol.14. – P.335-340.
112. Mokhber S., Zargham Ravanbakhsh P., Jesmi F., Pishgahroudsari M., Ghanbari Jolfaei A., Pazouki A. Comparing the Excessive Daytime Sleepiness of Obese and Non-obese Patients // *Iran Red Crescent Med J*. – 2016. – Vol.31. – P.e21964.
113. Mokhlesi B., Scoccia B., Mazzone T., Sam S. Risk of obstructive sleep apnea in obese and nonobese women with polycystic ovary syndrome and healthy reproductively normal women // *Fertil Steril*. – 2012. – Vol.97. – P.786-791.
114. Moran L., March W., Whitrow M., Giles L., Davies M., Moore V. Sleep disturbances in a community-based sample of women with polycystic ovary syndrome // *Hum Reprod*. – 2015. – Vol.30. – P.466-472.
115. Moran L., Misso M., Wild R., Norman R. Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes and metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: a systematic review and metaanalysis // *Hum Reprod Update*. – 2010. Vol.16. – P.347–363.
116. Muhlbauer E., Albrecht E., Hofmann K. et al. Melatonin inhibits insulin secretion in rat insulinoma beta-cells (INS1) heterologously expressing the human melatonin receptor isoform MT2 // *J Pineal Res*. – 2011. – Vol.51. – P.361–372.
117. Muhlbauer E., Gross E., Labucay K., Wolgast S., Peschke E. Loss of melatonin signalling and its impact on circadian rhythms in mouse organs regulating blood glucose // *Eur J Pharmacol*. – 2009. – Vol.606. – P.61–71.

118. Nagashima S., Yamashita M., Tojo C., Kondo M., Morita T., Wakamura T. Can tryptophan supplement intake at breakfast enhance melatonin secretion at night? // *J Physiol Anthropol.* – 2017. – Vol.36. – P.20.
119. Nakamura Y., Tamura H., Tamayama H., Kato H. Increased endogenous level of melatonin in preovulatory human follicles does not directly influence progesterone production // *Fertility and Sterility.* – 2003. – Vol.80. – P.1012–1016.
120. Naqvi S., Moore A., Bevilacqua K., Lathief S., Williams J., Naqvi N., Pal L. Predictors of depression in women with polycystic ovary syndrome // *Arch Womens Ment Health.* – 2015. – Vol.18. – P.95-101.
121. Nasiri N., Moini A., Eftekhari-Yazdi P., et al. Abdominal obesity can induce both systemic and follicular fluid oxidative stress independent from polycystic ovary syndrome // *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology.* – 2015. – Vol.184. – P.112–116.
122. Nemati M., Nemati S., Taheri A.M., Heidari B. Comparison of metformin and N-acetyl cysteine, as an adjuvant to clomiphene citrate, in clomiphene-resistant women with polycystic ovary syndrome // *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* – 2017. – Vol.46. – P.579-585.
123. Nilsson E., Larsen G., Manikkam M., Guerrero-Bosagna C., Savenkova M.I., Skinner M.K. Environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance of ovarian disease // *PLoS One.* – 2012. – Vol.7. – P.e36129.
124. Pai S., Majumdar A. Protective effects of melatonin against metabolic and reproductive disturbances in polycystic ovary syndrome in rats // *The Journal of pharmacy and pharmacology.* – 2014. – Vol.66. – P.1710-1721.
125. Peliciari-Garcia R., Marcal A., Silva J. et al. Insulin temporal sensitivity and its signaling pathway in the rat pineal gland // *Life Sci.* – 2010. – Vol.87. – P.169–174.
126. Picinato M.C., Haber E.P., Carpinelli A.R. et al. Daily rhythm of glucoseinduced insulin secretion by isolated islets from intact and pinealectomized rat // *J Pineal Res.* – 2002. – Vol.33. – P.172–177.

127. Pikee S., Shivani S., Jayshree B. Endocrine and Metabolic Profile of Different Phenotypes of Polycystic Ovarian Syndrome // J Obstet Gynaecol India. – 2016. – Vol.66. – P.560-566.
128. Pukkala E., Ojamo M., Rudanko S.L., Stevens R.G., Verkasalo P.K. Does incidence of breast cancer and prostate cancer decrease with increasing degree of visual impairment // Cancer Causes Control. – 2006. – Vol.17. – P.573–576.
129. Rassi A., Veras A.B., dos Reis M., Pastore D.L., Bruno L.M., et al. Prevalence of psychiatric disorders in patients with polycystic ovary syndrome // Compr Psychiatry. – 2010. – Vol.51. – P.599–602.
130. Ravn P., Haugen A.G., Glinborg D. Overweight in polycystic ovary syndrome. An update on evidence based advice on diet, exercise and metformin use for weight loss // Minerva Endocrinol. – 2013. – Vol.1. – P.59-76.
131. Reiter R., Rosales-Corral S., Manchester L., Tan D. Peripheral reproductive organ health and melatonin: ready for prime time // International Journal of Molecular Sciences. – 2013. – Vol.14. – P.7231–7272.
132. Reiter R., Tan D., Manchester L., Paredes S., Mayo J., Sainz R. Melatonin and reproduction revisited // Biology of Reproduction. – 2009. – Vol.81. – P.445-456.
133. Ríos-Lugo M.J., Cano P., Jiménez-Ortega V. et al. Melatonin effect on plasma adiponectin, leptin, insulin, glucose, triglycerides and cholesterol in normal and high fat-fed rats // J Pineal Res. – 2010. – Vol.49. – P.342–348.
134. Rui B.B., Chen H., Jang L. et al. Melatonin upregulates the activity of AMPK and attenuates lipid accumulation in alcoholinduced rats // Alcohol Alcohol. – 2016. – Vol.51. – P.11–19.
135. Sanchez-Barcelo E., Cos S., Mediavilla D., Martinez-Campa C., Gonzalez A., Alonso-Gonzalez C. Melatonin-estrogeninteractions in breast cancer // J Pineal Res. – 2005. – Vol.38. – P.217–222.
136. Sathyapalan T., Al-Qaissi A., Kilpatrick E.S., Dargham S.R., Atkin S.L. Anti-Müllerian hormone measurement for the diagnosis of polycystic ovary syndrome // Clin Endocrinol (Oxf). – 2018. – Vol.88. – P.258-262.

137. Sathyapalan T., Al-Qaissi A., Kilpatrick E.S. et al. Salivary and serum androgens with anti-Müllerian hormone measurement for the diagnosis of polycystic ovary syndrome // *Sci Rep.* – 2018. – Vol.8. – P.3795.
138. Schernhammer E., Kroenke C., Dowsett M., Folkerd E., Hankinson S. Urinary 6-sulfatoxy melatonin levels and their correlations with lifestyle correlates and steroid hormone levels // *J Pineal Res.* – 2006. – Vol.40. – P.116-124.
139. Schlabritz-Loutsevitch N., Hellner N., Middendorf R., Muller D., Olcese J. The human myometrium as a target for melatonin // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2003. – Vol.88. – P.908–913.
140. Shreeve N., Cagampang F., Sadek K., Tolhurst M., Houldey A., Hill C.M., Brook N., Macklon N., Cheong Y. Poor sleep in PCOS; is melatonin the culprit? // *Human Reproduction.* – 2013. – Vol.28. – P.1348–1353.
141. Sirmans S., Parish R., Blake S., Wang X. Epidemiology and comorbidities of polycystic ovary syndrome in an indigent population // *J Investig Med.* – 2014. – Vol.62. – P.868–877.
142. Slater G., Pengo M.F., Kosky C., Steier J. Obesity as an independent predictor of subjective excessive daytime sleepiness // *Respir Med.* – 2013. – Vol.107. – P.305-309.
143. Slominski R., Reiter R., Schlabritz-Loutsevitch N., Ostrom R., Slominski A. Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: Distribution and functions // *Molecular and Cellular Endocrinology.* – 2012. – Vol.35. – P.152–166.
144. Soares J., Masana M., Ersahin C., Dubocovich M. Functional melatonin receptors in rat ovaries at various stages of the estrous cycle // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* – 2003. – Vol.306. – P.694-702.
145. Sousa G., Schluter B., Buschatz D., Menke T., Trowitzsch E., Andler W., Reinehr T. A comparison of polysomnographic variables between obese adolescents with polycystic ovarian syndrome and healthy, normal-weight and obese adolescents // *Sleep Breath.* – 2010. – Vol.14. – P.33–38.

146. Srinivasan V., Spence W.D., Pandi-Perumal S.R., et al. Melatonin and human reproduction: shedding light on the darkness hormone // *Gynecol Endocrinol.* – 2009. – Vol.25. – P.779–785.
147. Stevens R.G., Zhu Y. Electric light, particularly at night, disrupts human circadian rhythmicity: is that a problem? // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* – 2015. – Vol.370. – P.1667.
148. Stracquadanio M., Ciotta L., Palumbo M.A. Relationship between serum anti-Mullerian hormone and intrafollicular AMH levels in PCOS women // *Gynecol Endocrinol.* – 2018. – Vol.34. – P.223-228.
149. Stumpf I., Muhlbauer E., Peschke E. Involvement of the cGMP pathway in mediating the insulin-inhibitory effect of melatonin in pancreatic beta-cells // *J Pineal Res.* – 2008. – Vol.45. – P.318–327.
150. Tabak A.G., Herder C., Rathmann W., Brunner E.J., Kivimaki M. Prediabetes: a high-risk state for diabetes development // *Lancet.* – 2012. – Vol.9833. – P.2279–2290.
151. Tagliaferri V., Romualdi D., Scarinci E., Cicco S., Florio C.D., Immediata V., Tropea A., Santarsiero C.M., Lanzone A., Apa R. Melatonin Treatment May Be Able to Restore Menstrual Cyclicity in Women With PCOS: A Pilot Study // *Reprod Sci.* – 2017. – Vol.1. – P.1933719117711262.
152. Tamura H., Nakamura Y., Korkmaz A., Manchester L.C., Tan D.-X., Sugino N., Reiter R.J. Melatonin and the ovary: physiological and pathophysiological implications // *Fertility and Sterility.* – 2009. – Vol.92. – P.328–343.
153. Tamura H., Nakamura Y., Terron M., Flores L., Manchester L., Tan D., Sugino N., Reiter R. Melatonin and pregnancy in the human // *Reproductive Toxicology.* – 2008. – Vol.25. – P.291–303.
154. Tamura H., Takasaki A., Miwa I., Taniguchi K., Maekawa R., Asada H., Taketani T., Matsuoka A., Yamagata Y., Shimamura K., Morioka H., Ishikawa H., Reiter R.J., Sugino N. Oxidative stress impairs oocyte quality and melatonin protects oocytes from free radical damage and improves fertilization rate // *Journal of pineal research.* – 2008. – Vol.44. – P.280–287.

155. 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 // *Journal of ovarian research*. – 2012. – Vol.5. – P.5.
156. Tamura H., Taksaki A., Taketani T., Tanabe M., Kizuka F., Lee L., Tamura I., Maekawa R., Asada H., Yamagata Y., Sugino N. Melatonin as a free radical scavenger in the ovarian follicle // *Endocrine journal*. – 2013. – Vol.60. – P.1–13.
157. Tan D., Manchester L., Fuentes-Broto L., et al. Significance and application of melatonin in the regulation of brown adipose tissue metabolism: relation to human obesity // *Obesity Reviews*. – 2011. – Vol.12. – P.167-188.
158. Tanavde V., Maitra A. In vitro modulation of steroidogenesis and gene expression by melatonin: A study with porcine antral follicles // *Endocr Res*. – 2003. – Vol.29. – P.399-410.
159. Tatemoto H., Muto N., Sunagawa I. Protection of porcine oocytes against cell damage caused by oxidative stress during in vitro maturation: role of superoxide dismutase activity in porcine follicular fluid // *Biology of Reproduction*. – 2004. – Vol.71. – P.1150–1157.
160. Terzieva D., Orbetzova M., Mitkov M., Mateva N. Serum melatonin in women with polycystic ovary syndrome // *Folia Med (Plovdiv)*. – 2013. – Vol.55. – P.10-15.
161. The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS) // *Hum Reprod*. – 2004. – Vol.19. – P.41–47.
162. Thessaloniki ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome // *Fertil Steril*. – 2008. – Vol.89. – P.505-522.
163. Urata Y., Honma S., Goto S., Todoroki S., Iida T., Cho S., Honma K., Kondo T. Melatonin induces gammaglutamylcysteine synthase mediated by activator protein-1 in human vascular endothelial cells // *Free Radical Biology and Medicine*. – 1999. – Vol.27. – P.838–847.

164. Van Cauter E. Sleep disturbances and insulin resistance // *Diabet Med.* – 2011. – Vol.28. – P.1455–1462.
165. Wiweko B., Indra I., Susanto C., Natadisastra M., Hestiantoro A. The correlation between serum AMH and HOMA-IR among PCOS phenotypes // *BMC Res Notes.* – 2018. – Vol.11. – P.114.
166. Wright K.P.Jr., McHill A.W., Birks B.R., Griffin B.R., Rusterholz T., Chinoy E.D. Entrainment of the human circadian clock to the natural light-dark cycle // *Curr Biol.* – 2013. – Vol.23. – P.1554-1558.
167. Wu C.S., Leu S.F., Yang H.Y., Huang B.M. Melatonin inhibits the expression of steroidogenic acute regulatory protein and steroidogenesis in MA-10 cells // *J Androl.* – 2001. – Vol.22. – P.245-254.
168. Yildirim B., Demir S., Temur I., Erdemir R., Kaleli B. Lipid peroxidation in follicular fluid of women with polycystic ovary syndrome during assisted reproduction cycles // *The Journal of reproductive medicine.* – 2007. – Vol.52. – P.722–726.
169. Yilmaz M., Isaoglu U., Delibas I.B., Kadanali S. Anthropometric, clinical and laboratory comparison of four phenotypes of polycystic ovary syndrome based on Rotterdam criteria // *J Obstet Gynaecol Res.* – 2011. – Vol.37. – P.1020–1026.
170. Yonei Y., Hattori A., Tsutsui K., et al. Effects of melatonin: basic studies and clinical applications // *Anti-aging Med.* – 2010. – Vol.7. – P.85–91.
171. Zanutto R. et al. Melatonin improves insulin sensitivity independently of weight loss in old obese rats // *J Pineal Res.* – 2013. – Vol.55. – P.156–165.
172. Zigmond A.S., Snaith R.P. The hospital anxiety and depression scale // *Acta Psychiatr Scand.* – 1983. – Vol.67. – P.361-370.
173. Zubidat A.E., Haim A. Artificial light-at-night - a novel lifestyle risk factor for metabolic disorder and cancer morbidity // *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* – 2017. – Vol.28. – P.295-313.
174. Zuo T., Zhu M., Xu W. Roles of Oxidative Stress in Polycystic Ovary Syndrome and Cancers // *Oxid Med Cell Longev.* – 2016. – Vol.2016. – P.8589318.