

© Ю. Н. Шарфи

ФГБУ «НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта» СЗО РАМН, г. Санкт-Петербург. Санкт-Петербургский государственный университет. Кафедра акушерства, гинекологии и репродуктологии

ЦИТОКИНЫ И ФАКТОРЫ РОСТА КАК МАРКЕРЫ ИМПЛАНТАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ ЭНДОМЕТРИЯ В ЦИКЛАХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ (ЭКО)

УДК: 618.177-089.888.11:618.145-07

■ Нормально протекающий процесс имплантации является основой успешной беременности, требующий участия различных эндокринных, паракринных и аутокринных механизмов на гормональном, клеточном и молекулярном уровнях, в результате которых происходит адекватный рост и дифференцировка эндометрия, адгезия и инвазия бластоцисты и образование нормальной плаценты. Успех имплантации зависит от качества эмбриона, наличия рецепторного эндометрия и нормально функционирующей иммунной системы для реализации адекватного диалога между бластоцистой и эндометрием. Цитокины и факторы роста играют важную роль в процессе имплантации. Дисбаланс синтеза или механизма действия этих молекул приводит к частичному или полному нарушению процесса имплантации и плацентации. Цитокин LIF, факторы роста GM-CSF, TGF- β и VEGF являются одними из наиболее значимых факторов участвующих в процессе имплантации. Настоящий обзор отражает роль этих молекул в процессе имплантации и современные способы их определения для прогнозирования результатов в циклах ЭКО.

■ **Ключевые слова:** имплантация; рецептивность; цитокины; экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО).

Сокращения

ЭКО — экстракорпоральное оплодотворение
LIF — лейкемия ингибирующий фактор
IL — интерлейкин
GM-CSF — гранулоцитарно-макрофагальный фактор роста
M-CSF — макрофагальный фактор роста
G-CSF — гранулоцитарный фактор роста
VEGF — сосудистый эпителиальный фактор роста
TGF — трансформирующий фактор роста
HB-EGF — гепарин-связывающий фактор роста
IGF — инсулиноподобный фактор роста
EGF — эпидермальный фактор роста
Th — Т хелперы
Treg — Т регуляторные клетки
IFN — интерферон
TNF — фактор некроза опухоли
LIFR — рецептор лейкемии ингибирующего фактора
r-hLIF — рекомбинантная форма человеческого лейкемии ингибирующего фактора
E2 — эстрадиол
P — прогестерон
NK — натуральные киллеры
IGFBP-1 — протеин, связывающий инсулиноподобный фактор роста-1
TGF β 1R — рецептор трансформирующего фактора роста β 1

Самым эффективным методом лечения бесплодия является экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), результативность которого в лучших центрах мира колеблется от 21,1% до 47,9% [11]. Отсутствие имплантации в циклах ЭКО является одной из основных проблем современной репродуктологии. В связи с чем, с целью повышения результативности циклов ЭКО, в последние годы, особое внимание уделяется изучению «окна имплантации» и процессам, происходящим между рецепторным аппаратом эндометрия и бластоцистой. Этот период приходится на 7–10 день после овуляции и соответствует 21–24 дню естественного 28-дневного менструального цикла [53,59] или наступает на 1–2 дня раньше в циклах стимуляции овуляции [60]. Эндометрий в это время становится наиболее восприимчивым к имплантации бластоцисты. Продолжительность предполагаемого «окна имплантации» составляет около 48 часов и, в первую очередь, определяется половыми стероидами, которые регулируют экспрессию локально действующих цитокинов, хемокинов, факторов роста и транскрипции [74,75]. Несомненно, большое значение имеет адекватно функционирующая иммунная система матери в целом и, особенно, в период окна имплантации. Определение оптимального времени максимальной рецептивности эндометрия для проведения

переноса эмбрионов в полость матки являлось целью исследования большого числа публикаций за последние 2 десятилетия [31,66,70,82]. В связи с этим изучен широкий спектр иммунокомпетентных клеток и секретируемых ими регуляторных веществ, участвующих в процессе имплантации. Однако, на сегодняшний день, нет единого мнения о ценности определения тех или иных цитокинов и факторов роста в качестве предиктивного критерия рецептивности эндометрия, поэтому поиски в данном направлении активно продолжаются. В настоящем обзоре рассмотрены данные о функциональной роли основных цитокинов и факторов роста, которые участвуют в регуляции дифференцировки, адгезии и инвазии трофобласта, а также методы определения данных маркеров для прогнозирования исходов циклов ЭКО.

Процесс имплантации

Согласно современным представлениям процесс имплантации делится на три взаимосвязанных и условно выделяемых фазы. Аппозиция — определяется как неустойчивая адгезия бластоцисты к поверхности эндометрия и проявляется началом "диалога" между бластоцистой и рецептивным эндометрием посредством локального действия гормонов, паракринных регуляторов: ряда цитокинов (LIF, IL-1, IL-6), факторов роста (GM-CSF, VEGF, TGF, HB-EGF, IGF), простагландинов [6,44]. Второй этап — фаза стабильной адгезии, которая проявляется усилением функциональных взаимосвязей между эпителием трофобласта и поверхностным эпителием эндометрия посредством местных паракринных сигналов (молекулы адгезии). Имплантация завершается инвазией трофобласта через просвет эпителия и базальный слой эндометрия в строму, для установления сосудистого контакта с организмом матери. В ответ на продолжающееся действие прогестерона и инвазию бластоцисты клетки стромы и экстрацеллюлярного матрикса подвергаются децидуализации.

Маркеры имплантационной способности эндометрия

Эндометриальные факторы имеют немаловажное значение в процессе имплантации, где они выступают в качестве медиаторов между эмбрионом и эндометрием на всех ее этапах. Первый контакт эмбриона после его попадания в полость матки происходит с эпителиальными клетками эндометрия. Влияние эндометрия на развитие эмбриона, уже на ранних этапах его развития, отметили еще в 1998 году, Barmat LI, и соавт. Авторы заметили, что со-культивирование эмбрионов с аутологическими клетками эндометрия стиму-

лирует рост эмбрионов и улучшает их качество [40]. Далее было установлено, что эпителиальные клетки эндометрия секретируют в полость матки целый ряд биологически активных молекул, которые влияют на эмбрион, эндометрий, на процесс слияния эмбриона с эндометрием, а так же на дальнейшее развитие беременности. Однако, точная роль этих факторов и механизмы их молекулярных взаимодействий у человека не до конца изучены. Текущее понимание этих механизмов складывается, в основном, из экспериментальных работ [82].

Признаки имплантационной способности эндометрия были впервые выявлены в опытах на крысах [67]. В литературе описано множество методик оценки степени созревания эндометрия и его готовности к имплантации [75]. Однако наиболее широко используемым остается метод, предложенный Noyes и соавторами в 1950 г, определившим степень зрелости эндометрия исходя из его морфологических критериев [55]. Считается, что наиболее значимым морфологическим маркером имплантационной способности эндометрия являются эндометриальные пиноподии, развитая форма которых выявляется методом сканирующей электронной микроскопии в среднем на 20-й и 22-й дни цикла [53] и на 18–20-й день в циклах стимуляции суперовуляции яичников в программе ЭКО [13,60]. Неоднократно продемонстрировано *in vitro*, что имплантация эмбриона происходит путем образования контакта между клетками трофобласта и эпителиальными клетками эндометрия несущими пиноподии [13,60]. Большинство авторов выявили существенную корреляционную связь между числом пиноподий и успешной имплантацией после переноса эмбрионов, однако фазологическое значение пиноподий не вполне понятно. В то же время большой интерес уделяется исследованию иммунологических факторов, активно участвующих в репродуктивном процессе — цитокинам, хемокинам, факторам роста и транскрипции, молекулам адгезии, металлопротеиназам и др. В многочисленных работах доказано, что иммунная система имеет тесную функциональную взаимосвязь с репродуктивным процессом и играет важную роль в этиологии бесплодия [9,19,58]. Наличие исходных иммунных дисфункций в системе цитокинов может быть серьезной причиной нарушения имплантации и неправильного развития плаценты, и в конечном итоге, отсутствия или потери беременности [74]. Выявление ряда цитокинов и их рецепторов, в период имплантационного окна, в тканях эндометрия: в децидуальной ткани, на поверхности эндометрия и трофобласта доказывает их несомненную роль в регуляции ключевых процессов

имплантации эмбриона [21,82]. С целью оценки рецептивности эндометрия, большинство работ были выполнены с применением инвазивных методов исследования, так как эти методы считаются максимально информативными [53,63]. При этом надо отметить их травматичность для эндометрия. В циклах ЭКО отсутствует возможность определения рецептивности эндометрия инвазивными методами, так как перенос эмбрионов должен проводиться на интактный эндометрий и по этой причине на сегодняшний день приобретают популярность неинвазивные методы оценки рецептивности эндометрия [3,24,28,42,58,66,79]. Авторы оценивали имплантационную способность эндометрия с использованием ультразвукового метода исследования, генетическими методами, а так же путем определения содержания гормонов, ряда цитокинов и факторов роста (IL-6, IL-10, LIF, TGF β 1, TGF β 2, EGF, M-CSF, GM-CSF, HB-EGF, VEGF и др.) в различных биологических жидкостях (венозная кровь, смывы из полости матки, цервикальная слизь). При этом были получены противоречивые результаты. Использование цитокинов в качестве скринингового критерия рецептивности эндометрия в циклах ЭКО представляется перспективным как с медицинской, так и с экономической точки зрения, учитывая доступность их определения в различных биологических жидкостях (кровь, смывы из полости матки, цервикальная слизь), непосредственно в протоколах стимуляции суперовуляции [10,24,34,58].

Цитокины и факторы роста

Цитокины являются многофункциональными водорастворимыми гликопротеинами. В мембранной форме цитокины обладают полным спектром биологической активности, проявляя свое биологическое действие при межклеточном контакте посредством специфических и неспецифических рецепторов, находящихся на поверхности клеток мишеней) [26]. По мнению Симбирцева А. С. 2002, цитокины можно выделить в отдельную самостоятельную систему регуляции функций организма, существующую наряду с нервной и эндокринной системой [1]. Цитокины и факторы роста синтезируются во всех органах человека, включая органы репродуктивной системы и ткани эмбриона [69]. У человека цитокины и факторы роста, участвующие в процессе имплантации, выделяются местно сромально-соединительными клетками (фибробласты, децидуальные клетки, ламинальный эпителий и эпителий желез), клетками трофобласта и некоторыми клетками иммунной системы (лимфоциты, моноциты, макрофаги), а так же мигрируют из системного кровотока

и участвуют в регуляции толерантности иммунной системы во время имплантации и на протяжении беременности. В связи, с чем преобладание тех или иных цитокинов определяет тип иммунной реакции. Под действием прогестерона в эндометрии происходит активация выработки иммунокомпетентными клетками целого ряда цитокинов (IL-4, IL-5, IL-10, IL-17, LIF, M-CSF). В многочисленных работах доказано, что преобладание выработки цитокинов Th-2 совместно с Treg клетками и снижение их выработки Th-1 в сочетании с Th17 благоприятно влияют на процесс имплантации и на дальнейшее развитие беременности [42,65]. Таким образом, на современном этапе для объяснения механизмов иммунной толерантности во время имплантации и в течение беременности применяется расширенная модель цитокиновой секреции: Th1/Th2/Th17 и регуляторные T (Treg) клетки для характеристики типа иммунной реакции [22]. Эндометриальные NK клетки также участвуют в выработке множества цитокинов, хемокинов и факторов роста участвующих в процессе инвазии (IFN- γ , IL-10, GM-CSF, LIF, TNF) [52] при этом они не оказывают цитотоксического действия на трофобласт, но дисбаланс выработки ими соответствующих цитокинов приводит к повторным репродуктивным потерям [30].

Попадание бластоцисты в полость матки в период окна имплантации индуцирует выработку ряда биологически активных веществ клетками трофобласта, эндотелиальными клетками эндометрия, а так же различными клетками иммунной системы присутствующими локально в месте имплантации или мигрирующими из общего кровотока, что приводит к изменению рецептивности эндометрия [7,57]. При этом некоторые из них оказывают стимулирующее (факторы роста), другие ингибирующее действие (ингибины) и способность запускать процессы апоптоза (Fas лиганд). [74]. В связи с чем, факторы роста, на сегодняшний день, определяют в самостоятельную группу. Их действие направлено на индукцию пролиферации и дифференцировку клеток, в том числе, клеток эндометрия. В литературе обсуждается роль многих цитокинов и факторов роста, участвующих в процессах имплантации. Наиболее значимыми из них в период «окна имплантации» являются: лейкемия ингибирующий фактор (LIF), сосудистый эпителиальный фактор роста (VEGF), гранулоцитарно-макрофагальный колонестимулирующий фактор роста (GM-CSF) и трансформирующий фактор роста (TGF).

Одним из основных факторов регуляции процесса имплантации эмбриона является LIF (лейкемия ингибирующий фактор, leukemia inhibitory

factor — LIF). Он относится к семейству IL-6. Максимальная экспрессия LIF и его рецептора LIFR в поверхностном и железистом эпителии эндометрия проявляется в период окна имплантации [32] и совпадает с появлением зрелых пиноподий [17]. Помимо поверхностных клеток эндометрия и эпителия желез доказано, что LIF так же вырабатывается децидуальной тканью и ворсинами хориона и может оказывать влияние на трофобласт [33]. Было убедительно продемонстрировано, что мутация в гене LIF у женщин приводит к снижению биологической активности этого цитокина в эндометрии и является причиной нарушения процесса имплантации, что может являться причиной репродуктивных потерь у женщин с необъяснимым бесплодием и эндометриозом [12,50]. Добавление LIF в среды для культивирования ооцитов мышей и человека стимулирует рост клеток кумулюса, а так же улучшает развитие эмбрионов мышей и приводит к улучшению исходов ЭКО [51]. Позднее была подтверждена роль LIF в процессах адгезии и инвазии *in vitro* у животных [46] и в дальнейшем у человека [67]. Системное или вагинальное использование антагонистов данного цитокина в качестве иммунологического метода контрацепции успешно было продемонстрировано на животных рядом авторов [54,73]. У женщин с идиопатическим бесплодием, в период имплантационного окна было показано снижение экспрессии LIF в эндометрии [41]. Аналогичные данные получены у женщин с неудачными попытками ЭКО и бесплодием, обусловленным эндометриозом [47,56] по сравнению с фертильными женщинами. LIF присутствует в смывах из полости матки и достигает максимума в течении средне-поздней стадии фазы секреции, при этом отмечается сниженное его содержание у женщин с необъяснимым бесплодием [18,71]. Однако у женщин с бесплодием, обусловленным эндометриозом в период имплантационного окна не было обнаружено статистических различий в содержании LIF в смывах из полости матки по сравнению с фертильными женщинами [49]. Serafini P. C., и соавт., 2009, считают LIF предиктором имплантационной способности эндометрия в циклах ЭКО [27], другие авторы [31] не подтверждают эту точку зрения. Этот цитокин на сегодняшний день доступен в виде рекомбинантной формы (r-hLIF), однако попытки его использования на протяжении лютеиновой фазы цикла у женщин с повторными неудачами имплантации не приводили к увеличению частоты наступления беременности в циклах ЭКО [64].

Колонестимулирующие факторы (CSF) — гетерогенная группа факторов роста и дифференцировки миелоидного ростка гемопоэза. К ним

относятся гранулоцитарный колонестимулирующий фактор (G-CSF или CSF-3), моноцитарный колонестимулирующий фактор (M-CSF или CSF-1), гранулоцитарно-макрофагальный колонестимулирующий фактор (GM-CSF или CSF-2) и IL-3 или мульти-CSF. GM-CSF отличается от G-CSF и M-CSF меньшей специфичностью действия, стимулируя пролиферацию и дифференцировку предшественников как гранулоцитов так и моноцитов. За последние годы опубликовано множество работ, в которых была показана роль колонестимулирующих факторов в репродукции: в фолликулогенезе [43], овуляции, развитии эмбриона (Kawamura K, et al., 2012) [61], функции эндометрия [39], имплантации и в течение беременности [37].

Доказано, что высокий уровень G-CSF в фолликулярной жидкости определяет успех ЭКО [43], его уровень в сыворотке крови может быть предиктором беременности [48]. Более того, имеются отдельные сообщения о применении G-CSF (филграстима) во время беременности с благоприятным исходом [37,68].

Считается, что M-CSF играет важную роль в физиологии эндометрия и патогенезе эндометриоза [45]. В работе Salmassi A. И соавт., 2010 было установлено, что уровень M-CSF в циркулирующей крови может быть прогностическим фактором исходов ЭКО у человека [15]. Внутривенное введение M-CSF в циклах ЭКО с применением мочевых гонадотропинов оказывало положительное действие на фолликулгенез в яичниках, особенно у женщин со сниженным сывороточным содержанием M-CSF в начале фолликулярной фазы [16]. В своих исследованиях Gargiulo A. R., и соавт., 2004 было показано, что концентрация M-CSF в цервикальной слизи коррелирует с уровнем E2 в крови и соотношением E2/P в крови [24].

В конце 90-х годов прошлого века были получены данные о том, что помимо клеток иммунной системы (Т-лимфоциты, моноциты, гранулоциты, макрофаги), GM-CSF синтезируется эндотелиальными и эпителиальными клетками органов репродуктивной системы: гранулезными клетками фолликулов, клетками децидуальной и стромальной ткани, эпителиальными клетками эндометрия [29], клетками маточных труб, НК-клетками эндометрия и эпителиальными клетками трофобласта. Максимальная экспрессия GM-CSF была обнаружена в эпителиальных клетках эндометрия в середине секреторной фазы менструального цикла [72]. Отмечено его существенное содержание в достаточной концентрации в смывах из полости матки [8,24,58]. Так же доказано, что с момента своего первого деления,

эмбрион экспрессирует на своей поверхности рецепторы к GM-CSF [2]. Spandorfer S. D. и соавт., 1998 отметили, что культивирование эмбрионов в со-культуре эндометрия с добавлением GM-CSF в дозе превышающей 130 пг/мл приводило к улучшению исходов ЭКО [38]. Однако Seo W. S. и соавт., 2011 не выявили корреляции между экспрессией GM-CSF в ткани эндометрия в цикле предшествующем ЭКО и частотой наступления беременности [31]. Сывороточный уровень GM-CSF при беременности понижен у женщин с привычным невынашиванием беременности, что свидетельствует о смещении баланса иммунологической реакции с Th2 и Treg в сторону Th1 и Th17 [36]. В настоящее время все три колонестимулирующих фактора доступны в виде рекомбинантной формы и широко применяются в различных областях медицины. В последние годы ведутся исследования по их клиническому применению в репродуктивной медицине. Имеются данные о положительном влиянии всех трех CSF на качество эмбрионов [5,20,25] и/или рецептивность эндометрия в протоколах ЭКО. Показано, что орошение полости матки G-CSF перед переносом эмбрионов, а так же его подкожное введение с целью подготовки эндометрия [4] у женщин с привычным невынашиванием [80] и повторными неудачами имплантации в циклах ЭКО [39] приводит к увеличению толщины эндометрия и частоты наступления беременности в циклах ЭКО. Отмечено, что частота наступления беременности при использовании GM-CSF в день переноса эмбрионов в 2 раза больше, чем при использовании G-CSF. Однако, с точки зрения применения в клинической практике, наиболее перспективным остается G-CSF, так как применение GM-CSF связано со значительным числом побочных эффектов.

Семейство VEGF, а так же их рецепторы являются потенциальными ангиогенными факторами и основными медиаторами как физиологического, так и патологического роста, и дифференцировки сосудов различных тканей организма. Среди существующих шести подтипов сосудистого эндотелиального фактора роста, VEGF-A является наиболее значимым фактором регуляции ангиогенеза и наиболее экспрессируемым в эндометрии человека [74]. Максимальная экспрессия VEGF эпителиальными и стромальными клетками эндометрия была отмечена в средней секреторной фазе цикла [81]. Так, Seo W. S., и соавт., 2011 выявили значительно повышенную экспрессию VEGF-A железистым эпителием в период окна имплантации в цикле, предшествующем проведению ЭКО, у женщин с наступившей беременностью по сравнению с группой женщин у которых бе-

ременность не наступила [31]. Авторы пришли к выводу, что VEGF-A является маркером имплантационной способности эндометрия и предиктором успеха циклов ЭКО. В то же время в смывах из полости матки, полученных в период окна имплантации, отмечен низкий уровень VEGF-A у женщин с идиопатическим бесплодием по сравнению с фертильными женщинами, что свидетельствует о существенной роли VEGF-A в процессе имплантации [8]. Hannan N. J., и соавт., 2011, отметили максимальную концентрацию VEGF в смывах из полости матки в период окна имплантации. Эти же авторы показали позитивное влияние VEGF-A на качество эмбрионов и адгезивную способность эндометрия при его добавлении в культуральную среду в виде рекомбинантной формы. Клиническое применение VEGF в настоящее время не разработано.

Трансформирующий фактор роста- β (TGF- β) существует в виде трех изоформ (TGF- β 1, TGF- β 2, и TGF- β 3), которые играют ключевую роль в процессах пролиферации, дифференцировки клеток и адгезии, лежащих в основе имплантации. Действуя на эпителиальные клетки эндометрия, TGF- β s способны стимулировать (in vitro) синтез множества других молекул, участвующих в процессе имплантации, таких как VEGF, IGFBP-1, металлопротеиназ, LIF, а так же снижают выработку провоспалительного цитокина-IL-6. Таким образом, TGF- β s участвуют в обеспечении толерантности иммунной системы матери путем смещения иммунной реакции Th1 в сторону Th2. Считается, что TGF- β является сигнальным медиатором в эндометрии, способным как стимулировать, так и подавлять инвазию трофобласта во время имплантации и плацентации путем активации или ингибирования различных сигнальных путей и системы апоптоза [76]. Доказано, что TGF- β 1 участвует в процессе адгезии трофобласта к экстрацеллюлярному матриксу [35]. Ginsburg E. S., и соавт., 2005 установили, что уровень TGF β 1 в крови, полученной в день трансвагинальной пункции фолликулов значительно выше у женщин с наступившей беременностью в программах ЭКО по сравнению с женщинами, у которых беременность не наступила [78]. Было показано значительное увеличение экспрессии TGF- β в ткани эндометрия у фертильных женщин по сравнению с женщинами с привычными имплантационными потерями [23]. Другие авторы отмечали, что недостаток экспрессии TGF β 1 и TGF β 1R в ворсинах хориона и децидуальной ткани является одной из причин самопроизвольных абортс раннего срока, как при спонтанной беременности, так и при беременности в результате ЭКО [14]. Ge MX, и соавт., 2003 пришли к выводу, что вы-

сокий уровень TGFβ1 в фолликулярной жидкости способствует созреванию ооцитов, отражает их оплодотворяющую способность и может использоваться в качестве прогностического маркера исходов ЭКО [77].

В заключении необходимо отметить, что имплантация является результатом сложных многофакторных процессов, находящихся под непосредственным контролем гормонов, цитокинов, хемокинов, факторов роста, молекул адгезии, продуктов синтеза клеток иммунной системы. В настоящее время, отсутствует четкое понимание о координации взаимодействия между этими факторами в течение физиологического процесса имплантации эмбриона и последующего развития беременности. Необходимы дальнейшие исследования для определения алгоритма предиктивной оценки успешной имплантации в циклах ВРТ и возможности коррекции этого процесса на ранних этапах развития эмбриона.

Список литературы

1. Симбирцев А.С. Цитокины — новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. — 2002. — Т. 1, № 1. — С. 9–17.
2. A cell type-specific constitutive point mutant of the common beta-subunit of the human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), interleukin (IL)-3, and IL-5 receptors requires the GM-CSF receptor alpha-subunit for activation/Jenkins B. J. [et al.] // J. Biol. Chem. — 1999. — Vol. 274, № 13. — P. 8669–8677.
3. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature/Díaz Gimeno P. [et al.] // Fertil. Steril. — 2011. — Vol. 95, № 1. — P. 50–60.
4. A pilot cohort study of granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of unresponsive thin endometrium resistant to standard therapies/Gleicher N. [et al.] // Hum. Reprod. — 2013. — Vol. 28, № 1. — P. 172–177.
5. A randomized clinical trial to evaluate the effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) in embryo culture medium for in vitro fertilization/Ziebe S. [et al.] // Fertil. Steril. — 2013. — Vol. 99, № 6. — P. 1600–1609.
6. Achache H., Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation // Hum. Reprod. — 2006. — Vol. 12, № 6. — P. 731–746.
7. Alternate roles for immune regulators: establishing endometrial receptivity for implantation/Hannan N. J. [et al.] // Expert. Rev. Clin. Immunol. — 2011. — Vol. 7, № 6. — P. 789–802.
8. Analysis of fertility-related soluble mediators in human uterine fluid identifies VEGF as a key regulator of embryo implantation/Hannan N. J. [et al.] // Endocrinology. — 2011. — Vol. 152, № 12. — P. 4948–4956.
9. Analysis of intra-uterine cytokine concentration and matrix-metalloproteinase activity in women with recurrent failed embryo transfer/Inagaki N. [et al.] // Hum. Reprod. — 2003. — Vol. 18, № 3. — P. 608–615.
10. Assessment of leukemia inhibitory factor levels by uterine flushing at the time of egg retrieval does not adversely affect pregnancy rates with in vitro fertilization/Olivennes F., [et al.] // Fertil. Steril. — 2003. — Vol. 79, № 4. — P. 900–904.
11. Assisted reproductive technology in Europe, 2006: results generated from European registers by ESHRE/de Mouzon J. [et al.] // Hum. Reprod. — 2010. — Vol. 25, № 8. — P. 1851–1862.
12. Association of the leukemia inhibitory factor gene mutation and the antiphospholipid antibodies in the peripheral blood of infertile women/Králícková M., [et al.] // Folia Microbiol. — 2007. — Vol. 52, № 5. — P. 543–548.
13. Bentin-Ley U. Relevance of endometrial pinopodes for human blastocyst implantation // Hum. Reprod. — 2000. — Vol. 15, suppl. 6. — P. 67–73.
14. Cheng L. H., Cao Y. X. Study on the correlation of transforming growth factor beta1 and its receptors with spontaneous abortion after in vitro fertilization and embryo transfer // Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. — 2005. — Vol. 40, № 5. — P. 299–301.
15. Circulating level of macrophage colony-stimulating factor can be predictive for human in vitro fertilization outcome/Salmassi A. [et al.] // Fertil. Steril. — 2010. — Vol. 93, № 1. — P. 116–123.
16. Clinical use of colony-stimulating factor-1 in ovulation induction for poor responders/Takasaki A. [et al.] // Fertil. Steril. — 2008. — Vol. 90, № 6. — P. 2287–2290.
17. Coexpression of pinopodes and leukemia inhibitory factor, as well as its receptor, in human endometrium/Aghajanova L. [et al.] // Fertil. Steril. — 2003. — Vol. 79, suppl. 1. — P. 808–814.
18. Concentration of leukaemia inhibitory factor (LIF) in uterine flushing fluid is highly predictive of embryo implantation/Lédée-Bataille N. [et al.] // Hum. Reprod. — 2002. — Vol. 17, № 1. — P. 213–218.
19. Controlled natural in vitro fertilization may be an alternative for patients with repeated unexplained implantation failure and a high uterine natural killer cell count/Lédée-Bataille N. [et al.] // Fertil. Steril. — 2004. — Vol. 82, № 1. — P. 234–236.
20. Culture of human oocytes with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor has no effect on embryonic chromosomal constitution/Agerholm I., [et al.] // Reprod. Biomed. — 2010. — Vol. 20, № 4. — P. 477–484.
21. Cytokines and chemokines during human embryo implantation: roles in implantation and early placentation/Salamonsen L. A. [et al.] // Reprod. Med. — 2007. — Vol. 25, № 6. — P. 437–444.
22. Cytokines in recurrent pregnancy loss/Saini V. [et al.] // J. Clin. Chim. Acta. — 2011. — Vol. 412, № 9–10. — P. 702–708.
23. Cytokine profile in the endometrium of normal fertile and women with repeated implantation failure/Rajaei S. [et al.] // J. Immunol. — 2011. — Vol. 8, № 4. — P. 201–208.
24. Detection of implantation-related cytokines in cervicovaginal secretions and peripheral blood of fertile women during ovulatory menstrual cycles/Gargiulo A. R. [et al.] // Fertil. Steril. — 2004. — Vol. 82, suppl. 3. — P. 1226–1234.
25. Effect of in vitro culture of human embryos on birthweight of newborns/Dumoulin J. C. [et al.] // Hum. Reprod. — 2010. — Vol. 25, № 3. — P. 605–612.

26. Embryo implantation/Carson D.D. [et al.] // *Dev. Biol.*— 2000.— Vol. 223, № 2.— P. 217–237.
27. Endometrial claudin-4 and leukemia inhibitory factor are associated with assisted reproduction outcome/Serafini P.C. [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.*— 2009.— Vol. 19, № 7.— P. 30.
28. Endometrial receptivity is affected in women with high circulating progesterone levels at the end of the follicular phase: a functional genomics analysis/Labarta E. [et al.] // *Hum. Reprod.*— 2011.— Vol. 26, № 7.— P. 1813–1825.
29. Epithelial cells are the major source of biologically active granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human endometrium/Giacomini G. [et al.] // *Hum. Reprod.*— 1995.— Vol. 10, № 12.— P. 3259–3263.
30. Expression of activating and inhibitory receptors on peripheral blood natural killer cell subsets of women with reproductive failures/Baltadzheiva D. [et al.] // *Akush. Ginekol.*— 2010.— Vol. 49, № 4.— P. 12–17.
31. Expression of endometrial protein markers in infertile women and the association with subsequent in vitro fertilization outcome/Seo W.S. [et al.] // *Fertil. Steril.*— 2011.— Vol. 95, № 8.— P. 2707–2710.
32. Expression of interleukin (IL)-11 receptor by the human endometrium in vivo and effects of IL-11, IL-6 and LIF on the production of MMP and cytokines by human endometrial cells in vitro/Cork B.A. [et al.] // *Hum. Reprod.*— 2002.— Vol. 8, № 9.— P. 841–848.
33. Expression of leukemia inhibitory factor and its receptor is not altered in the decidua and chorionic villi of human anembryonic pregnancy/Chen H.F. [et al.] // *Hum. Reprod.*— 2004.— Vol. 19, № 7.— P. 1647–1654.
34. Flushing the endometrium prior to the embryo transfer does not affect the pregnancy rate/Berkkanoglu M. [et al.] // *Reprod. Biomed.*— 2006.— Vol. 13, № 2.— P. 268–271.
35. Transforming growth factor — beta stimulates trophoblast oncofetal fibronectin synthesis in vitro: implications for trophoblast implantation in vivo/Feinberg R.F. [et al.] // *Clin. Endocrinol. Metab.*— 1994.— Vol. 78, № 5.— P. 1241–1248.
36. GM-CSF and pregnancy: evidence of significantly reduced blood concentrations in unexplained recurrent abortion efficiently reverted by intravenous immunoglobulin treatment/Perricone R. [et al.] // *J. Reprod. Immunol.*— 2003.— Vol. 50, № 3.— P. 232–237.
37. Granulocyte-colony stimulating factor as treatment option in patients with recurrent miscarriage/Santjohanser C. [et al.] // *Arch. Immunol.*— 2013.— Vol. 61, № 2.— P. 159–164.
38. Granulocyte macrophage-colony stimulating factor production by autologous endometrial co-culture is associated with outcome for in vitro fertilization patients with a history of multiple implantation failures/Spandorfer S.D. [et al.] // *J. Reprod. Immunol.*— 1998.— Vol. 40, № 5.— P. 377–381.
39. High pregnancy rates with administration of granulocyte colony-stimulating factor in ART-patients with repetitive implantation failure and lacking killer-cell immunoglobulin-like receptors/Würfel W. [et al.] // *Hum. Reprod.*— 2010.— Vol. 25, № 8.— P. 2151–2152.
40. Human preembryo development on autologous endometrial coculture versus conventional medium/Barmat L.I. [et al.] // *Fertil. Steril.*— 1998.— Vol. 70, № 6.— P. 1109–1113.
41. Immunolocalisation of phosphorylated STAT3, interleukin 11 and leukaemia inhibitory factor in endometrium of women with unexplained infertility during the implantation window/Dimitriadis E. [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.*— 2007.— Vol. 29, № 5.— P. 44.
42. Immunological status in patients undergoing in vitro fertilisation: responses to hormone treatment and relationship to outcome/Persson M. [et al.] // *Reprod. Immunol.*— 2012.— Vol. 96, № 1–2.— P. 58–67.
43. Impact of follicular G-CSF quantification on subsequent embryo transfer decisions: a proof of concept study/Lédée N. [et al.] // *Hum. Reprod.*— 2013.— Vol. 28, № 2.— P. 406–413.
44. Implantation and antigenicity of human endometrium/Halbersztadt A. [et al.] // *Postepy Hig Med. Dosw.*— 2006.— Vol. 60.— P. 71–77.
45. Increased expression of macrophage colony-stimulating factor and its receptor in patients with endometriosis/Budrys N.M. [et al.] // *Fertil. Steril.*— 2012.— Vol. 97, № 5.— P. 1129–1135.
46. Interleukin-11 and leukemia inhibitory factor regulate the adhesion of endometrial epithelial cells: implications in fertility regulation/Marwood M. [et al.] // *Endocrinology.*— 2009.— Vol. 150, № 6.— P. 2915–2923.
47. Interleukin-11, IL-11 receptor alpha and leukemia inhibitory factor are dysregulated in endometrium of infertile women with endometriosis during the implantation window/Dimitriadis E. [et al.] // *J. Reprod. Immunol.*— 2006.— Vol. 69, № 1.— P. 53–64.
48. Is granulocyte colony-stimulating factor level predictive for human IVF outcome?/Salmassi A. [et al.] // *Hum. Reprod.*— 2005.— Vol. 20, № 9.— P. 2434–2440.
49. Leukaemia inhibitory factor and interleukin 11 levels in uterine flushings of infertile patients with endometriosis/Mikolajczyk M., [et al.] // *Hum. Reprod.*— 2006.— Vol. 21, № 12.— P. 3054–3058.
50. Leukaemia inhibitory factor (LIF) gene mutations in women diagnosed with unexplained infertility and endometriosis have a negative impact on the IVF outcome/Novotný Z. [et al.] // *Folia Biol.*— 2009.— Vol. 55, № 3.— P. 92–97.
51. Leukemia inhibitory factor induces cumulus expansion in immature human and mouse oocytes and improves mouse two-cell rate and delivery rates when it is present during mouse in vitro oocyte maturation/De Matos D.G. [et al.] // *Fertil. Steril.*— 2008.— Vol. 90, № 6.— P. 2367–2375.
52. Mechanisms underlying recruitment and accumulation of decidual NK cells in uterus during pregnancy/Santoni A. [et al.] // *J. Reprod. Immunol.*— 2008.— Vol. 59, № 5.— P. 417–424.
53. Morphometric analysis of the human endometrium during the implantation window. Light and transmission electron microscopy study/Zhioua A. [et al.] // *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.*— 2012.— Vol. 41, № 3.— P. 235–242.
54. New generation contraceptives: interleukin 11 family cytokines as non-steroidal contraceptive targets/Dimitriadis E. [et al.] // *Reprod. Immunol.*— 2011.— Vol. 88, № 2.— P. 233–239.

55. Noyes N., Hertig A. T. Daring the endometrial biopsy // *Fertil. Steril.* — 1950. — Vol. 1. — P. 3–25.
56. Olivennes F. J. Results of IVF in women with endometriosis // *Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* — 2003. — Vol. 32, № 8. — P. 45–47.
57. On the role of human chorionic gonadotropin (hCG) in the embryo-endometrial microenvironment: implications for differentiation and implantation/Licht P. [et al.] // *Semin. Reprod. Med.* — 2001. — Vol. 19, № 1. — P. 2915–2923.
58. Ovarian stimulation for in vitro fertilization alters the intrauterine cytokine, chemokine, and growth factor milieu encountered by the embryo/Boomsma C. M. [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2010. — Vol. 94, № 5. — P. 1764–1768.
59. Paulson R. J. Hormonal induction of endometrial receptivity // *Fertil. Steril.* — 2011. — Vol. 96, № 3. — P. 530–535.
60. "Pinopodes" and implantation/Lopata A. [et al.] // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* — 2002. — Vol. 3, № 2. — P. 77–86.
61. Promotion of human early embryonic development and blastocyst outgrowth in vitro using autocrine/paracrine growth factors/Kawamura K. [et al.] // *PLoS One.* — 2012. — Vol. 7, № 11. — e49328.
62. Psychoyos A. Uterine receptivity for nidation // *Acad. Sci.* — 1986. — Vol. 476. — P. 36–42.
63. Quinn C. E., Casper R. F. Pinopodes: a questionable role in endometrial receptivity // *Hum. Reprod.* — 2009. — Vol. 15, № 2. — P. 229–236.
64. Recombinant human leukemia inhibitory factor does not improve implantation and pregnancy outcomes after assisted reproductive techniques in women with recurrent unexplained implantation failure/Brinsden P. R. [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2009. — Vol. 91, suppl. 4. — P. 1445–1447.
65. Regulatory T helper cells in pregnancy and their roles in systemic versus local immune tolerance/Ernerudh J. [et al.] // *Reprod. Immunol.* — 2011. — Vol. 66, suppl. 1. — P. 31–43.
66. Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, based on 1,294 cycles of in vitro fertilization with transfer of two blastocyst-stage embryos/Richter K. S. [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2007. — Vol. 87, № 1. — P. 53–59.
67. Review: LIF and IL11 in trophoblast-endometrial interactions during the establishment of pregnancy/Dimitriadis E. [et al.] // *Placenta.* — 2010. — Vol. 31, suppl. — P. S99–104.
68. Rituximab plus CHOP for treatment of diffuse large B-cell lymphoma during second trimester of pregnancy/Decker M. [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2006. — Vol. 7, № 8. — P. 693–694.
69. Roles of cell adhesion molecules nectin and nectin-like molecule-5 in the regulation of cell movement and proliferation/Ogita H. [et al.] // *J. Microsc.* — 2008. — Vol. 231, № 3. — P. 455–465.
70. Simon A., Laufer N. Repeated implantation failure: clinical approach/*Fertil. Steril.* — 2012. — Vol. 97, № 5. — P. 1039–1043.
71. The assessment of LIF in uterine flushing — a possible new diagnostic tool in states of impaired fertility/Mikołajczyk M. [et al.] // *Reprod. Biol.* — 2003. — Vol. 3, № 3. — P. 259–270.
72. The expression, activity and regulation of granulocyte macrophage-colony stimulating factor in human endometrial epithelial and stromal cells/Chegini N. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 1999. — Vol. 5, № 5. — P. 459–466.
73. The LIF receptor antagonist PEGLA is effectively delivered to the uterine endometrium and blocks LIF activity in cynomolgus monkeys/Aschenbach L. C. [et al.] // *Contraception.* — 2013. — Vol. 87, № 6. — P. 813–823.
74. The role of growth factors and cytokines during implantation: endocrine and paracrine interactions/GuzelogluKayisli O. [et al.] // *Semin. Reprod. Med.* — 2009. — Vol. 27, № 1. — P. 62–79.
75. The role of the endometrium and embryo in human implantation/Diedrich K. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2007. — Vol. 13, № 4. — P. 365–377.
76. Transforming growth factor Beta regulates proliferation and invasion of rat placental cell lines/Lafontaine L. [et al.] // *Biol. Reprod.* — 2011. — Vol. 84, № 3. — P. 553–559.
77. Transforming growth factor-beta1, estradiol, progesterone and lutropin levels in follicular fluid after ovarian stimulation/Ge M. X., [et al.] // *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao.* — 2003. — Vol. 23, № 5. — P. 463–465.
78. T-helper 2 and 3 type immunity to trophoblast in successful in vitro fertilization-embryo transfer/Ginsburg E. S. [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2005. — Vol. 83, № 6. — P. 1659–1664.
79. Ultrasonographical predictive factors of ovarian response to stimulation prior to in vitro fertilization/Ebrard-Charra S. [et al.] // *Gynecol. Obstet. Fertil.* — 2005. — Vol. 33, № 10. — P. 762–767.
80. Use of granulocyte colony-stimulating factor for the treatment of unexplained recurrent miscarriage: a randomised controlled trial/Scarpellini F. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2009. — Vol. 24, № 11. — P. 2703–2708.
81. Vascular endothelial growth factor expression in cycling human endometrium/Torry D. S. [et al.] // *Fertil. Steril.* — 1996. — Vol. 66, № 1. — P. 72–80.
82. White C. A., Jones R. L., Salamonsen L. A. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation/Dimitriadis E. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2005. — Vol. 11, № 6. — P. 613–630.

Статья представлена И. М. Кветным,
ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН,
Санкт-Петербург

CYTOKINES AND GROWTH FACTORS AS MARKERS OF ENDOMETRIUM IMPLANTATION CAPACITY IN IVF

Sharfi Y. N.

■ **Summary:** The implantation is the foundation is basic event of the successful pregnancy, which requires the participation of various endocrine, paracrine and autocrine mechanisms on the hormonal, cellular and molecular levels. The result is an adequate growth and differentiation of endometrium, adhesion and invasion of the blastocyst and formation of a normal placenta. The success of implantation depends on embryo quality, presence of receptive endometrium and normally function-

ing immune system to provide an active dialogue between the blastocyst and endometrium. The cytokines and growth factors play an important role in the process of implantation. Imbalance synthesis of these molecules leads to partial or complete failure of the implantation process. LIF cytokine and GM-CSF, TGF β , VEGF growth factors are the most important factors involved in the process of implantation. This review reflects the role of these molecules in the process of implantation and modern methods of their determination to predict pregnancy rate in IVF.

■ **Key words:** implantation, receptivity; cytokines; in vitro fertilization (IVF).

■ **Адрес автора для переписки**

Шарфи Юлия Нажибовна — аспирант кафедры акушерства, гинекологии и репродуктологии медицинского факультета СПбГУ.

Санкт-Петербургский государственный университет. Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9.

E-mail: youlia03@yandex.ru

Sharfi Yulia Najibovna – PhD student of the Department of Obstetrics, Gynecology and Reproduction, Medical Faculty, St. Petersburg State University. St. Petersburg State University Russia.

199034, St. Petersburg, Universitetskaya nab. D. 7-9.

E-mail: youlia03@yandex.ru