

Особенности цитокинового профиля семенной плазмы и наступление беременности при проведении программы вспомогательных репродуктивных технологий

Т.В.Донцова, А.А.Бабаян, М.А.Николаева, А.С.Арефьева, Е.А.Калинина, Л.В.Кречетова
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова» Минздрава России. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4
dr.dontsova@gmail.com

Аннотация

Цель исследования – оценить эффективность программы вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) с учетом особенностей цитокинового профиля семенной плазмы (СП), поступающей в репродуктивные пути женщин при половых контактах.

Материал и методы. В проспективном исследовании приняли участие 33 супружеские пары, обратившиеся для лечения бесплодия путем экстракорпорального оплодотворения /ИКСИ (ICSI – IntraCytoplasmic Sperm Injection). Пациентам был рекомендован режим половой жизни без ограничения контактов во время лечения, последний половой акт – за 3 дня до предполагаемой трансвагинальной пункции (ТВП). Определение уровня цитокинов [трансформирующий фактор роста $\beta 1$, интерферон (ИФН)- γ , интерлейкин (ИЛ)-33, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-23, ИЛ-10, фактор некроза опухоли α , ИЛ-18, ИЛ-17А, ИФН- α , ИЛ-12 ρ , моноцитарный хемотаксический протеин-1] в образцах СП партнеров, полученных в день ТВП, было проведено с помощью мультиплексного анализа с использованием наборов LegendPlex (BioLegend, США).

Результаты. При сравнении цитокинового профиля СП между группами с наступившей (n=25) и наступившей беременностью (n=8) было выявлено повышенное содержание ИЛ-18 и пониженное содержание ИЛ-10 в СП в группе с наступившей беременностью ($p=0,017$ и $p=0,01$ соответственно). Для оценки клинической значимости содержания цитокинов в СП использовалось построение характеристических кривых (Receiver Operating Characteristics – ROC). Установлено, что наибольшую диагностическую значимость имеет определение концентрации ИЛ-18 в СП (площадь под кривой составила $0,792 \pm 0,107$, чувствительность теста – 62,5%, специфичность – 95,24% при пороговом значении концентрации более 210,43 пг/мл). Частота наступления беременности при концентрации ИЛ-18 выше пороговой составляла 83,3%, в то время как при пониженной концентрации ИЛ-18 наступление беременности наблюдалось лишь у 13,0% женщин.

Заключение. Повышенный уровень ИЛ-18 и пониженный уровень ИЛ-10 в СП партнеров пациенток с разрешенной половой жизнью во время лечения бесплодия с помощью ВРТ являются благоприятными факторами для наступления беременности.

Ключевые слова: семенная плазма, интерлейкин-10, интерлейкин-18, исходы вспомогательных репродуктивных технологий.

Для цитирования: Донцова Т.В., Бабаян А.А., Николаева М.А. и др. Особенности цитокинового профиля семенной плазмы и наступление беременности при проведении программы вспомогательных репродуктивных технологий. Гинекология. 2019; 21 (4): 9–13. DOI: 10.26442/20795696.2019.1.190233

Original Article

Features of seminal plasma cytokine profile and an occurrence of pregnancy when carrying out a program of assisted reproductive technologies

Tatiana V. Dontsova, Alina A. Babayan, Marina A. Nikolaeva, Alla S. Arefieva, Elena A. Kalinina, Lyubov V. Krechetova
V.I.Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology of the Ministry of Health of the Russian Federation. 117997, Russian Federation, Moscow, ul. Akademika Oparina, d. 4
dr.dontsova@gmail.com

Abstract

Aim. To assess an effectiveness of assisted reproductive technologies (ART) program given characteristics of the cytokine profile of seminal plasma (SP) entering the female reproductive tract during sexual intercourse.

Outcomes and methods. 33 married couples who applied for a treatment of infertility by means of in vitro fertilization /ICSI (Intracytoplasmic Sperm Injection) were included in the prospective study. Patients were recommended to have sexual intercourse with no restrictions during treatment and to have the last sexual intercourse 3 days before an intended transvaginal puncture (ITP). Testing of cytokines (transforming growth factor (TGF)- $\beta 1$, interferon (IFN)- γ , interleukin (IL)-33, IL-6, IL-8, IL-23, IL-10, tumor necrosis factor (TNF)- α , IL-18, IL-17A, IFN- α , IL-12, monocyte chemoattractant protein-1) levels in samples of partners' SP obtained on the day having ITP were carried out using multiplex analysis with LegendPlex kits (BioLegend, USA).

Results. When comparing a cytokine profile of SP in couples who did not become pregnant (n=25) and couples who become pregnant (n=8) increased IL-18 and reduced IL-10 levels ($p=0,017$ and $p=0,01$ respectively) were revealed in the group which got pregnant. To assess a clinical relevance of cytokine content in SP ROC (Receiver Operating Characteristics) curve was used. It was established that determining of IL-18 concentration in SP has the greatest diagnostic significance (the area under a curve was $0,792 \pm 0,107$, test sensitivity – 62.5%, test specificity – 95.24% at threshold concentration >210.43 pg/ml). Incidence of pregnancy at IL-18 concentration above threshold levels was 83.3% while at lower concentrations of IL-18 pregnancy occurred only in 13.0% of women.

Conclusions. Elevated IL-18 levels and decreased IL-10 levels in SP of female patients' partners who don't have restriction of sexual life when treating infertility with ART are favorable factors for a pregnancy to occur.

Key words: seminal plasma, interleukin-10, interleukin-18, outcomes of assisted reproductive technologies.

For citation: Dontsova Tatiana V., Babayan Alina A., Nikolaeva Marina A. et al. Features of seminal plasma cytokine profile and an occurrence of pregnancy when carrying out a program of assisted reproductive technologies. Gynecology. 2019; 21 (4): 9–13. DOI: 10.26442/20795696.2019.1.190233

В настоящее время с появлением успешных методов лечения бесплодия и развитием вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) существенно возросла необходимость внедрения новых методов диа-

гностики, мониторинга лечения и прогноза исходов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) [1].

Повышение результативности ВРТ невозможно без изучения механизмов регуляции имплантации [2].

| Клинико-anamnestическая характеристика пациенток с ненаступившей беременностью (1-я группа) и наступившей беременностью (2-я группа) | | | |
|--|---------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Параметры | Небеременные (1-я группа) | Беременные (2-я группа) | Значимость различий (p) |
| Возраст, лет | 30,7±4,2 | 33,3±2,5 | 0,06 |
| Возраст мужа, лет | 32,6±3,4 | 33,5±4,5 | 0,63 |
| Индекс массы тела, кг/м ² | 22,8±3,4 | 23,5±3 | 0,66 |
| Продолжительность бесплодия, лет | 5,1±2,8 | 3,9±2,2 | 0,26 |
| Регулярность половой жизни, число раз в неделю | 2,4±1,1 | 2,5±0,5 | 0,84 |
| ФСГ, МЕ/л | 7,3±2,2 | 7,9±1,0 | 0,32 |
| ЛГ, МЕ/л | 6,3±2,6 | 4,8±2,1 | 0,16 |
| АМГ, нг/мл | 3,3±2,3 | 5,2±3,6 | 0,22 |
| Количество полученных ооцитов* | 8 (2–15) | 11,5 (5–14) | 0,24 |
| Суммарная доза препарата, МЕ | 1601,7±773,8 | 1856,3±1107,2 | 0,58 |
| Длительность стимуляции, дни | 8,6±0,9 | 9,5±1,9 | 0,29 |

Примечание. Данные представлены как средние ± стандартное отклонение, t-тест. *Данные представлены как медианы с интерквартильным размахом, тест Манна-Уитни. Различия между группами статистически недостоверны (p>0,05).

В последние несколько лет появились данные, что взаимодействие женского репродуктивного тракта с семенной плазмой (СП) – этап, необходимый не только для оплодотворения и имплантации, но и для полноценного протекания беременности [3].

В естественных условиях оплодотворению у человека предшествует половой акт, завершающийся эякуляцией, в результате которой в половые пути женщины поступает полный объем эякулята мужчины, содержащий как сперматозоиды и иные клеточные компоненты, так и бесклеточную фракцию – СП. Известно, что СП богата протеинами и содержит компоненты, способствующие поддержанию жизнеспособности сперматозоидов [4].

Долгое время СП рассматривалась как транспортная среда, обеспечивающая возможность прохождения сперматозоидов через слизистый барьер цервикального канала и их выживания во «враждебной» среде женских половых путей [5]. Многочисленные исследования влияния СП на разные аспекты репродукции человека и животных показали, что СП взаимодействует с эндометрием, участвуя в формировании оптимального иммунного ответа материнского организма, необходимого для обеспечения локальной иммунорегуляции и иммунной толерантности, что способствует успеху имплантации [6].

При попадании СП в репродуктивный тракт женщины активируются биологические процессы, способствующие зачатию и дальнейшему развитию беременности. СП содержит ряд сигнальных факторов, включая гормоны и цитокины, при этом в исследованиях на животных моделях показано, что нарушения их функции оказывают отрицательное влияние на раннее эмбриональное развитие и в перспективе – на здоровье потомства [7]. Следует отметить, что сохранение данной сигнальной роли СП у разных видов животных при всем различии участвующих в молекулярных процессах белков указывает на существенное биологическое значение СП в репродуктивной сфере [8]. Тем не менее наличие или отсутствие контакта СП с половыми путями женщины, вероятно, влияет на дальнейшее течение беременности и последующее здоровье плода.

Оценка контакта женских половых путей с СП как возможного основополагающего фактора успеха ЭКО привела к неоднократным попыткам зарубежных специалистов использовать введение СП в половые пути пациенток во время программы ЭКО с целью повышения эффективности лечения. Однако как имеющиеся на сегодняшний день данные о влиянии аппликации СП в день трансвагинальной пункции яичников (ТВП), так и влияние половых контактов на результативность программы ЭКО носят весьма противоречивый характер [9]. Необходимо отметить, что среди этих работ не учитывалось содержание биологически активных молекул СП, включая цитокины и

ростовые факторы, которые могут определять эффекты СП на репродуктивную функцию женщин.

Наиболее значимой иммунорегуляторной молекулой СП считается трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (ТФР- $\beta 1$). Результаты экспериментальных исследований подтверждают, что ТФР- $\beta 1$ является ключевым фактором формирования иммунной толерантности матери к антигенам плода, влияя на уровень Т-регуляторных клеток (Трег-клеток) [10].

В последнее время появились предположения, что СП содержит целый ряд цитокинов, избыточное содержание которых может нарушать процессы имплантации и препятствовать развитию беременности [11].

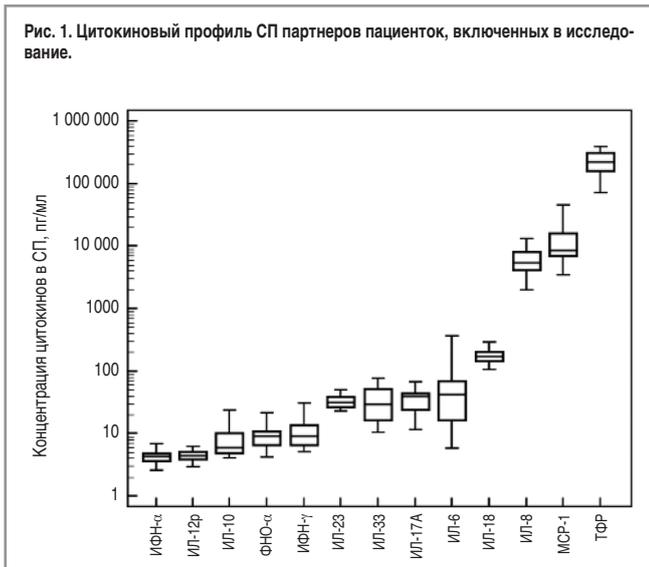
СП содержит провоспалительные [интерферон (ИФН)- γ , интерлейкин (ИЛ)-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, фактор некроза опухоли (ФНО)- α , ИЛ-1 β , ИЛ-18] и противовоспалительные (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10) цитокины, при этом возможность их влияния на эффективность программы ВРТ до сих пор не рассматривалась [12, 13].

Важным этапом изучения влияния цитокинов СП на успех программы ВРТ стала недавно выполненная в ФГБУ «НМИЦ АГП им В.И.Кулакова» работа (М.Nikolaeva и соавт., 2016), основное внимание которой было уделено возможной роли провоспалительного цитокина ИЛ-18, члена семейства цитокинов ИЛ-1, в неудачах имплантации у человека [14]. В исследовании использовался протокол ЭКО, дополненный интравагинальной аппликацией СП, но остался вопрос, может ли цитокиновый профиль СП, поступающей в половые пути женщины при половых контактах, также влиять на эффективность лечения.

В связи с этим представлялось своевременным и перспективным провести исследование, целью которого явилась оценка эффективности программы ВРТ с учетом особенностей содержания цитокинов в СП, поступающей в репродуктивные пути женщин при половых контактах.

Материал и методы

В проспективном исследовании приняли участие 33 супружеские пары, обратившиеся для лечения бесплодия путем ВРТ, с отсутствием противопоказаний к протоколу ЭКО/ИКСИ (ICSI – IntraCytoplasmic Sperm Injection). Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ АГП им В.И.Кулакова». Перед началом исследования все пациенты подписали информированное согласие. Критериями включения явились: трубный фактор бесплодия, возраст не старше 38 лет, не более 2 неудачных программ ЭКО/ИКСИ в анамнезе, сохраненный овариальный резерв, нормальное анатомическое строение матки, регулярная половая жизнь. Критериями исключения явились использование донорских гамет или суррогатного материнства, аномалии строения внутренних половых органов, выраженная патозооспермия, отягощенный соматический анамнез.



Перед включением в протокол ЭКО все женщины были обследованы согласно Приказу Минздрава России от 30.08.12 №107н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и показаниях к их применению».

Стимуляция функции яичников проводилась с применением рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (рФСГ) или комбинированного препарата рФСГ и лютеинизирующего гормона (ЛГ) и назначением антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ). Триггер овуляции вводился при наличии лидирующих фолликулов диаметром 17 мм и более. В качестве триггера использовали препарат хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) в дозе 8000–10 000 МЕ или агонист ГнРГ в дозе 0,2 мг. ТВП яичников осуществлялась через 36 ч после введения триггера овуляции под общим наркозом и ультразвуковым контролем.

На старте программы ЭКО уточняли регулярность половой жизни супружеских пар и рекомендовали половой режим без ограничения контактов во время лечения, последний половой акт – за 3 дня до предполагаемой ТВП. Оценивались параметры развернутой спермограммы и клеточного состава эякулята в день ТВП.

Оплодотворение ооцитов осуществлялось методом ЭКО – 24,2% (8/33) и ИКСИ – 75,8% (25/33). Морфологическую оценку эмбрионов проводили на 5-е сутки после ТВП согласно классификации D.Gardner и соавт. [15]. К эмбрионам отличного качества относились blastocysts IV–V класса с внутриклеточной массой и трофобластом категории А. Осуществлялся селективный перенос 1 эмбриона на 5-е сутки развития, оставшиеся эмбрионы подвергались либо витрификации, либо утилизации в соответствии с критериями криоконсервации. Ведение посттрансферного периода проводилось согласно принятым в клинической практике протоколам: поддержка лютеиновой фазы в течение 14 дней. Для диагностики беременности всем пациенткам рекомендовали анализ крови на β-субъединицу ХГЧ (β-ХГЧ) на 14-й день после переноса эмбриона в полость матки. При наличии подъема уровня β-ХГЧ через 14 дней после переноса эмбриона в полость матки регистрировали биохимическую беременность. На 21-й день после переноса эмбриона выполнялось ультразвуковое исследование для подтверждения клинической маточной беременности, визуализации плодного яйца в полости матки.

Содержание ТФР-β1 и цитокинов (ИФН-γ, ИЛ-33, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-23, ИЛ-10, ФНО-α, ИЛ-18, ИЛ-17A, ИФН-α, ИЛ-12p, моноцитарный хемотаксический протеин-1 – МСР-1) оценивали в образцах СП, полученных в день ТВП, с помощью специальных наборов для определения концентрации цитокинов – LegendPlex Multi-Analyte Flow Assay Kits, Human-Free Active/Total TGF-β1 Assay и Human Inflammation Panel

(13-plex), в соответствии с инструкциями изготовителя (BioLegend, США).

Образцы СП сначала размораживали, далее при тестировании ТФР-β1 проводили кислотную активацию образцов в соответствии с инструкцией производителя. Для анализа содержания ТФР-β1 и всех остальных цитокинов проводили разведение СП в 1:300 и 1:4 соответственно. Количественные измерения концентраций цитокинов проводили с помощью проточного цитофлуориметра FACS Calibur (Becton Dickinson, USA) с использованием программы CellQuest.

Калибровочные кривые для данных цитокинов были получены с использованием стандартных образцов, представленных в наборах. Концентрации цитокинов в каждом образце были вычислены путем обработки данных, полученных с проточного цитофлуориметра с помощью специального программного обеспечения LegendPlex v.8.0., предоставленного фирмой-производителем вместе с наборами (BioLegend, США).

Для статистического анализа использовался пакет статистических программ Medcalc. Статистический анализ проводился с применением t-теста и теста Манна–Уитни для сравнения средних величин. Метод логистической регрессии с расчетом площади под кривой (AUC – Area Under the Curve) использовался при расчете скорректированного отношения шансов для контроля множественных конфаундеров. Различия между статистическими величинами считали статистически значимыми при уровне достоверности $p < 0,05$.

Результаты

В ходе проведенного исследования у 33 женщин средняя продолжительность бесплодия составила $4,79 \pm 2,71$ года. Средний возраст пациенток $31,3 \pm 4,0$ года, а их партнеров – $32,82 \pm 3,71$ года. Средний индекс массы тела у обследованных женщин составил $22,98 \pm 3,36$ кг/м². Среднее количество полученных ооцитов в ходе лечения – $8,67 \pm 3,73$. Всего беременность наступила в 8 случаев из 33, что составило 24,2% – как частота имплантации, так и наступление клинической беременности. По факту наступления беременности – успешности проведенного лечения были сформированы две группы. Статистических различий по возрасту пациенток, возрасту партнеров, индексу массы тела, продолжительности бесплодия, базальному уровню гормонов ФСГ, ЛГ, антимюллерова гормона (АМГ), регулярности половой жизни, длительности стимуляции и суммарной дозе препарата не выявлено (см. таблицу).

Также не было статистических различий по данным спермограммы по следующим параметрам: объем, концентрация сперматозоидов, прогрессивная подвижность, число морфологически нормальных сперматозоидов (данные не приводятся). Концентрация лейкоцитов в эякуляте составила в 1-й группе 0,44 (0–1,7) млн/мл, во 2-й группе 0,43 (0,1–6,2). Данные представлены как медианы с интерквартильным размахом, тест Манна–Уитни. Различия между группами статистически не достоверны ($p > 0,05$). Определение уровня цитокинов (ТФР-β1, ИФН-γ, ИЛ-33, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-23, ИЛ-10, ФНО-α, ИЛ-18, ИЛ-17A, ИФН-α, ИЛ-12p, МСР-1) в образцах СП партнера было проведено у всех женщин, включенных в исследование (рис. 1).

Результаты оценки содержания цитокинов свидетельствуют о значительном варьировании концентрации цитокинов в СП, различающейся более чем на 6 порядков. Так, выявлены минимальные концентрации цитокинов ИФН-α и ИЛ-12p, медианные значения которых составили 4,3 и 4,4 пг/мл соответственно (см. рис. 1). Максимальная концентрация, составившая 221,5 нг/мл, выявлена для ТФР-β1, что согласуется с результатами многочисленных исследований и подтверждает, что СП является наиболее богатой ТФР-β биологической жидкостью человеческого организма. ТФР-β, вероятно, является основным стимулятором посткоитального воспалительного ответа и инициатором процесса иммунной толерантности к спермальным антигенам, играя важную роль в подготовке иммунной системы женщины к имплантации [16].

Различий в содержании цитокинов ТФР-β1, ИФН-γ, ИЛ-33, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-23, ФНО-α, ИЛ-17А, ИФН-α, ИЛ-12p, МСР-1 в СП в группах с ненаступившей (1-я группа) и наступившей беременностью (2-я группа) выявлено не было ($p>0,05$). У пациенток 1-й группы выявлено снижение содержания ИЛ-18 по сравнению с пациентками 2-й группы ($p=0,017$) – медиана составила 157,95 пг/мл (72,85–248,01) и 225,71 пг/мл (138,28–330,63) соответственно. У пациенток 1-й группы выявлено повышение содержания ИЛ-10 по сравнению с пациентками 2-й группы ($p=0,01$) – медиана составила 6,57 пг/мл (4,09–23,65) и 4,98 пг/мл (4,36–5,68) соответственно (рис. 2).

Для оценки клинической значимости определения уровня исследованных цитокинов в СП полового партнера с целью прогнозирования исходов программы ЭКО/ИКСИ нами был проведен анализ полученных результатов с помощью построения характеристических кривых (Receiver Operating Characteristics – ROC); рис. 3.

Прогностическая значимость показателя ИЛ-10 была достаточно высокой: площадь под кривой составила $0,757 \pm 0,109$, чувствительность теста – 87,50%, специфичность – 71,43% при значении показателей 5,68 пг/мл и меньше; положительная и отрицательная прогностическая значимость – 53,8 и 93,8%. Прогностическая значимость показателя ИЛ-18 также была достаточно высокой: площадь под кривой составила $0,792 \pm 0,107$, чувствительность теста – 62,5%, специфичность – 95,24% при значении показателей более 210,43 пг/мл; положительная и отрицательная прогностическая значимость – 83,3 и 87,0%. Таким образом, частота наступления беременности при повышенной концентрации ИЛ-18 (параметра, обладающего наибольшей диагностической значимостью) составляет 83,3%, в то время как при пониженной концентрации ИЛ-18 наступление беременности наблюдается лишь у 13,0% женщин.

Обсуждение

Ранее было продемонстрировано, что половая жизнь в перитрансферный период при проведении программы ЭКО/ИКСИ благоприятно влияет на результаты лечения [17]. В исследовании А.А.Алатоонян и соавт. были показаны противоположные результаты. Полученные авторами данные продемонстрировали отсутствие статистически значимой разницы в частоте наступления беременности у пациенток, ведущих активную половую жизнь за 12 ч до переноса эмбриона, и женщин, которым рекомендовалось воздержание [18].

Также было показано, что высокая концентрация ИЛ-18 приводит к резкому снижению вероятности наступления беременности в программе ЭКО, дополненной интравагинальным введением СП. При введении СП с низким содержанием ИЛ-18 наступление беременности наблюдалось в 61,2% случаев, а при высоком содержании – в 9,1% [14]. Однако оставалось неясным, связаны ли положительный и отрицательный эффекты с аппликацией СП в день ТВП или выявленная зависимость наступления беременности от уровня цитокинов в СП сохранится и при поступлении СП при естественных половых контактах в цикле ЭКО.

Мы предполагали, что отмена введения СП с высоким уровнем ИЛ-18 может нейтрализовать негативный эффект воздействия СП на имплантацию, и частота наступления беременности составит при этом 30–40%. Но оказалось, что в группе пациентов без искусственной аппликации наблюдалось существенное увеличение частоты наступления беременности, составившей 83,3%, что превышает средние значения частоты наступления беременности в отделении ЭКО.

ИЛ-18 является провоспалительным цитокином, принадлежащим к семейству ИЛ-1. Этот цитокин первоначально был идентифицирован как ИФН-γ, индуцирующий фактор, благодаря своей способности индуцировать продукцию этого цитокина Т-клетками. В то же время ИФН-γ ингибирует проведение внутриклеточных сигналов, обусловленных связыванием ТФР-β1 с поверхностными рецепторами [16]. Эти данные свидетельствуют об антагонистических свойствах цитокинов ТФР-β и ИЛ-18 в иммунной регуляции.

Рис. 2. Содержание ИЛ-18 и ИЛ-10 в СП партнеров пациенток с отсутствием беременности и беременностью после программы ВРТ.

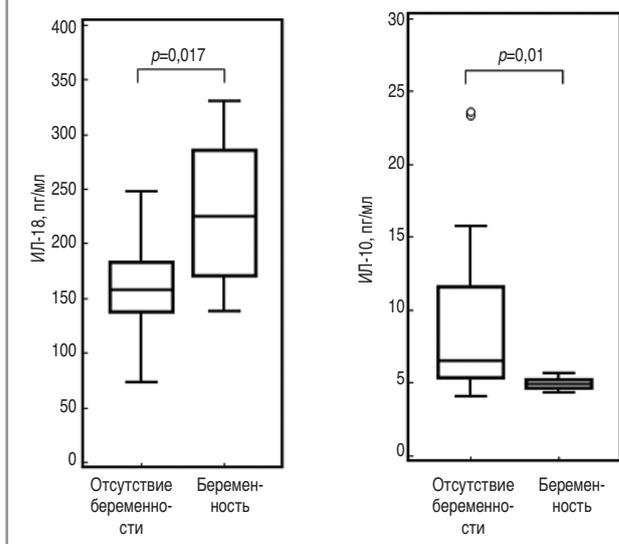
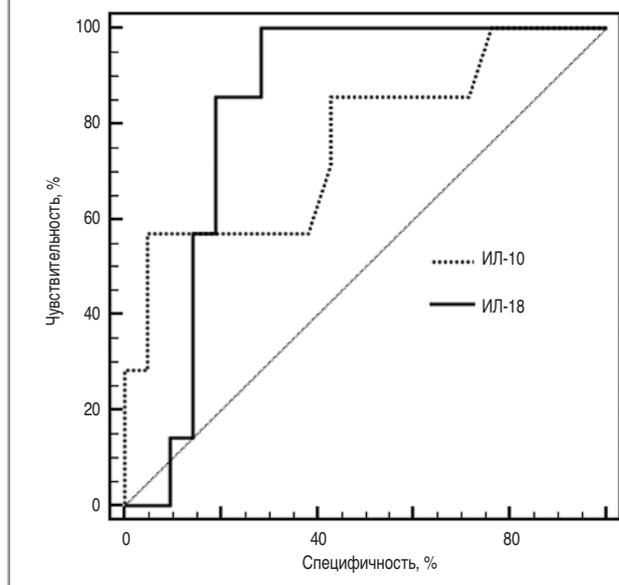


Рис. 3. ROC-кривые содержания ИЛ-18 и ИЛ-10 (пг/мл) в эякуляте для прогнозирования успеха лечения методом ВРТ.



Установлено, что концентрация ИЛ-18 может быть увеличена в СП при урогенитальных инфекциях [19]. Однако воспалительные заболевания репродуктивного тракта как у мужчин, так и у женщин являлись критериями исключения в нашей работе. Также не было выявлено различий в содержании лейкоцитов в СП в двух группах пациентов. Таким образом, повышение содержания ИЛ-18 не связано с воспалительными изменениями эякулята, повышением общего числа лейкоцитов в образце спермы.

Ранее было показано наличие ИЛ-18 в эндометрии человека и фето-материнском пространстве при беременности у человека и мышей. Вероятно, тонкая регуляция экспрессии ИЛ-18 крайне важна для нормальной имплантации и ремоделирования децидуальной ткани на ранних сроках беременности. Однако избыточное содержание ИЛ-18 в полости матки в день забора яйцеклеток связано с низким уровнем имплантации [20]. До сих пор вероятность зависимости содержания ИЛ-18 в полости матки от концентрации этого цитокина в СП не обсуждалась.

Полученные данные позволяют предположить, что аппликация СП с повышенным содержанием ИЛ-18 в день ТВП может приводить к избыточной концентрации ИЛ-18 в полости матки в день подсадки эмбриона и препятствовать имплантации, в то же время постепенное уменьшение концентрации ИЛ-18, поступившего при сексуальных контактах, может обеспечивать оптимальную рецептивность эндометрия.

При относительно низком содержании ИЛ-18 наблюдалось резкое снижение частоты наступления беременности – до 13%, в то же время при аппликации СП у 61,2% пациенток этой группы наступала беременность. Таким образом, персонифицированный режим контакта с СП в цикле ЭКО, зависящий от цитокинового профиля СП, может существенно повысить эффективность программы ЭКО.

ИЛ-10 является цитокином с плейотропным действием на многие иммунные клетки. Например, ИЛ-10 модулирует функцию антигенпрезентирующих клеток путем ингибирования фагоцитоза, подавления экспрессии главного комплекса гистосовместимости и костимулирующих молекул и уменьшения продукции провоспалительных цитокинов и хемокинов [21]. Кроме того, ИЛ-10 напрямую ингибирует дифференцировку Th-клеток и поддерживает подавляющую активность Treg-клеток. Предполагается, что секреция ИЛ-10 трофобластом может влиять на экспрессию молекул I класса HLA в зоне плодово-материнского взаимодействия, что снижает уровень иммунного ответа и таким образом защищает плод от отторжения [22].

При контакте семенной жидкости с эпителием женщины имеет место масштабная активация многочисленных путей экспрессии генов, которая может привести к выработке антиспермальных антител и провоспалительных цитокинов. Большинство из свыше 700 генов, экспрессия которых в ткани экзоцервикса изменяется после полового контакта, участвует в процессах презентации провоспалительных антигенов, а также экспрессии цитокинов и хемокинов, участвующих в рекрутировании и активации таких клеток иммунной системы, как Т-лимфоциты, дендритные клетки и макрофаги. Индуцируемые семенной жидкостью изменения экспрессии генов и наблюдаемый ответ на клеточном уровне известны как лейкоцитарная реакция [23].

Поэтому повышение концентрации ИЛ-10, обладающего мощным противовоспалительным эффектом, может блокировать посткоитальную реакцию, нарушая тем самым иммунорегуляцию процесса имплантации.

Полученные нами данные подтверждают, что воздействие СП на исход программы ЭКО может реализовываться не только при применении аппликации СП в день ТВП, но и при поступлении СП в репродуктивный тракт женщины при предшествующих сексуальных отношениях с биологическим отцом в цикле ЭКО. Полученные нами ранее данные [24], а также результаты, представленные в настоящем исследовании, свидетельствуют о том, что влияние СП на эффективность ЭКО определяется как режимом контактов с СП, так и уровнем цитокинов ИЛ-10 и ИЛ-18 в СП.

Дальнейшая научно-исследовательская работа репродуктивных биологов, иммунологов, эндокринологов и акушеров-гинекологов, специализирующихся в области репродуктивной медицины, не может не принимать во внимание возможный потенциал СП как одного из факторов, способствующих достижению необходимого баланса между регуляцией и дисрегуляцией эндометриальной функции, тем самым позволяя повысить частоту имплантации в циклах ВРТ.

Литература/References

- Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T et al. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Med* 2012; 9 (12): e1001356.
- Fox C, Morin S, Jeong JW et al. Local and systemic factors and implantation: what is the evidence? *Fertil Steril* 2016; 105 (4): 873–84.
- Schjenken JE, Robertson SA. Seminal fluid and immune adaptation for pregnancy – comparative biology in mammalian species. *Reprod Domest Anim* 2014; 49 (Suppl. 3): 27–36.
- Juyena N, Stelletta C. Seminal Plasma: An Essential Attribute to Spermatozoa. *J Androl* 2012; 33: 536–51.
- Robertson SA, Guerin LR, Bromfield JJ et al. Seminal fluid drives expansion of the CD4⁺CD25⁺ T regulatory cell pool and induces tolerance to paternal alloantigens in mice. *Biol Reprod* 2009; 80: 1036–45.
- Robertson SA, Sharkey DJ. Seminal fluid and fertility in women. *Fertil Steril* 2016; 106 (3): 511–9.
- Politch JA, Tucker L, Bowman FP, Anderson DJ. Concentrations and significance of cytokines and other immunologic factors in semen of healthy fertile men. *Hum Reprod* 2007; 22: 2928–35.
- McGraw LA, Suarez SS, Wolfner MF. On a matter of seminal importance. *Bioessays* 2015; 37: 142–7.
- Wolff M, Rösner S, Germeyer A et al. Intrauterine instillation of diluted seminal plasma at oocyte pick-up does not increase the IVF pregnancy rate: a double-blind, placebo controlled, randomized study. *Hum Reprod* 2013; 28: 3247–52.
- Tremellen KP et al. The effect of intercourse on pregnancy rates during assisted human reproduction. *Hum Reprod* 2000; 15: 2653–8.
- Meuleman T, Snaeter G, van Beelen E et al. The immunomodulating effect of seminal plasma on T cells. *J Reprod Immunol* 2015; 110: 109–16.
- Akira S. The role of IL-18 in innate immunity. *Curr Opin Immunol* 2000; 12 (1): 59–63.
- Anderson DJ, Politch JA. Role of seminal plasma in human female reproductive failure: immunomodulation, inflammation, and infections. *Adv Exp Med Biol* 2015; 868: 159–69.
- Nikolaeva MA, Babayan AA, Stepanova EO et al. The relationship of seminal transforming growth factor- β 1 and IL-18 with reproductive success in women exposed to seminal plasma during IVF/ICSI treatment. *J Reprod Immunol* 2016; 117: 45–51.
- Gardner DK, Schoolcraft WB. Culture and transfer of human blastocysts. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1999; 11 (3): 307–11.
- Sharkey DJ, Macpherson AM, Tremellen KP et al. TGF- β mediates proinflammatory seminal fluid signaling in human cervical epithelial cells. *J Immunol* 2012; 189: 1024–35.
- Tremellen KP et al. The effect of intercourse on pregnancy rates during assisted human reproduction. *Hum Reprod* 2000; 15: 2653–8.
- Abbas A, Ghandi S, Tabibnejad N. The Effect of Intercourse around Embryo Transfer on Pregnancy Rate in Assisted Reproductive Technology Cycles. *Int J Fertil Steril* 2009; 2 (4): 169–72.
- Matalliotakis IM, Cakmak H, Fragouli Y et al. Increased IL-18 levels in seminal plasma of infertile men with genital tract infections. *Am J Reprod Immunol* 2006; 55 (6): 428–33.
- Léauté-Bataille N et al. Detectable levels of interleukin-18 in uterine luminal secretions at oocyte retrieval predict failure of the embryo transfer. *Hum Reprod* 2004; 19: 968–73.
- Ouyang W, Rutz S, Crellin NK et al. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annu Rev Immunol* 2011; 29: 71–109.
- Moreau P, Adrian-Cabestre F, Menier C et al. IL-10 selectively includes HLA-G expression in human trophoblasts and monocytes. *Int Immunol* 1999; 11 (5): 803–11.
- Sharkey DJ, Schjenken JE, Mottershead DG et al. Seminal fluid factors regulate activin A and follistatin synthesis in female cervical epithelial cells. *Mol Cell Endocrinol* 2015; 417: 178–90.
- Nikolaeva MA, Babayan AA, Stepanova EO et al. The link between cytokine IL-18, female circulating regulatory T cells, and IVF/ICSI success. *Reprod Sci* 2018. Oct 16:1933719118804404.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Донцова Татьяна Владимировна – аспирант, отд-ние вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. Б.В.Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И.Кулакова». E-mail: dr.dontsova@gmail.com

Бабаян Алина Анатольевна – канд. мед. наук, врач акушер-гинеколог, отд-ние вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. Б.В.Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И.Кулакова». E-mail: alinababayan@yandex.ru

Николаева Марина Аркадьевна – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И.Кулакова». E-mail: nikolaeva_ma@mail.ru

Арефьева Алла Сергеевна – науч. сотр. лаб. клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И.Кулакова». E-mail: a_arefeva@oparina4.ru

Калинина Елена Анатольевна – д-р мед. наук, доц., рук. отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. Б.В.Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И.Кулакова». E-mail: e_kalinina@oparina4.ru

Кречетова Любовь Валентиновна – канд. мед. наук, зав. лаб. клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И.Кулакова». E-mail: l_krechetova@oparina4.ru

Tatiana V. Dontsova –

Alina A. Babayan –

Marina A. Nikolaeva –

Alla S. Arefieva –

Elena A. Kalinina –

Iyubov V. Krechetova

Статья поступила в редакцию / The article received:

Статья принята к печати / The article approved for publication: