

УРОВНИ ЦИТОКИНОВ, АЛЬФА-2-МАКРОГЛОБУЛИНА И ЕГО АКТИВНОЙ ТРАНСПОРТНОЙ ФОРМЫ У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ ТРУБНОГО ГЕНЕЗА ПРИ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОМ ОПЛОДОТВОРЕНИИ

Зорина В.Н.¹, Маркина Л.А.², Архипова С.В.¹,
Зорина Р.М.¹, Зорин Н.А.¹, Рябичева Т.Г.³

¹ ГОУ ДПО Новокузнецкий ГИУВ

² МЛПУ ГКБ № 1 г. Новокузнецка

³ ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ», г. Новосибирск

Резюме. Мы исследовали сывороточные уровни интерлейкина-6 (IL-6), гамма-интерферона (IFN γ), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), а также общее содержание в сыворотке крови альфа-2-макроглобулина (МГ) и концентрацию его активной транспортной формы – циркулирующих комплексов с плазмином (МГ-ПЛ) у женщин репродуктивного возраста с бесплодием трубного генеза, участвующих в программе экстракорпорального оплодотворения. Мы выявили, что группа женщин с бесплодием трубного генеза изначально гетерогенна по иммунному статусу и состоит из женщин с более выраженной активацией либо клеточного, либо гуморального звена иммунной системы. Стимуляция суперовуляции при ЭКО у женщин с повышенной иммунореактивностью по гуморальному типу способствует нормализации уровней цитокинов, увеличивает общее содержание МГ и его активной формы (МГ-ПЛ), транспортирующей необходимые для деления и роста эмбриона биологически активные вещества, облегчает за счет снижения уровней IFN γ доступ МГ-ПЛ в клетку. Это, в конечном счете, и приводит к положительному результату при процедуре ЭКО. У женщин с повышенной иммунореактивностью по клеточному типу изначально низкие уровни МГ и высокие уровни IFN γ , затрудняющие транспорт биологически активных веществ в клетки при помощи МГ-ПЛ, а также высокая и не снижающаяся после стимуляции суперовуляции концентрация TNF α и, возможно, повышенная активность натуральных киллеров и цитотоксических лимфоцитов. Это минимизирует возможность благоприятного исхода при ЭКО. Учитывая выявленные нами тенденции, мы рекомендуем исследование уровней сывороточных цитокинов и комплексов МГ-ПЛ в качестве дополнительного прогностического критерия при проведении программ ЭКО.

Ключевые слова: макроглобулин, экстракорпоральное оплодотворение, TNF α , IFN γ , IL-6.

Zorina V.N., Markina L.A., Arkhipova S.V., Zorina R.M., Zorin N.A., Ryabicheva T.G.

LEVELS OF CYTOKINES, α 2-MACROGLOBULIN, AND ITS ACTIVE TRANSPORT FORM IN THE WOMEN WITH TUBAL INFERTILITY DURING *IN VITRO* FERTILIZATION.

Адрес для переписки:

Зорина Вероника Николаевна, НГИУВ, ЦНИЛ,
654005, Кемеровская обл., г. Новокузнецк,
пр. Строителей, 5.

Тел./факс: +7(3843) 45-56-41, 45-42-19.

E-mail: zorin@giduv.nkz.ru

Abstract. We performed measurements of serum interleukin-6 (IL-6), interferon- γ (IFN γ), tumor necrosis factor- α (TNF α), as well as total contents of α 2-macroglobulin (MG) in blood and concentration of its active transport form, i.e., circulating complexes with plasmin (MG-PL) in women at their reproductive

age, suffering with tubal infertility, who participated in an *in vitro* fertilization (IVF) program. We have found that the cohort of women with tubal infertility is initially heterogeneous and consists of persons with relative enhancement of either humoral, or cellular immune response. Stimulation of superovulation upon IVF in the women with increased humoral immune reactivity promotes normalization of cytokine levels, increases total contents of MG and maintains its active form (MG-PL), both by transporting bioactive substances, which are necessary to growth of the embryo, favors better access of MG-PL to cells due to reduction of IFN γ levels. Finally, it brings about positive results of the IVF procedure. In women with increased cellular-type immune reactivity, the MG levels are initially low, along with high IFN γ levels, thus diminishing transport of biologically active substances to the cells by MG-PL, as well as high and non-decreasing TNF α concentrations after stimulated superovulation, and, probably, an increased activity of NK-cells and cytotoxic lymphocytes. These factors minimize the possibility of favorable IVF outcome. With respect of the trends revealed, we would like to recommend determinations of serum cytokines and MG-PL complexes, as an additional prognostic tool when carrying out IVF programs. (*Med. Immunol.*, 2007, vol. 9, N 4-5, pp 389-396)

Введение

Трубно-перитонеальное бесплодие — самая частая и самая изученная, но и наиболее трудная для коррекции форма бесплодия у женщин. Трубно-перитонеальные факторы бесплодия в виде нарушения проходимости и функциональной несостоятельности маточных труб у женщин, по сводным литературным данным, выявляют у 35-60% пациенток с нарушением генеративной функции [6], причем при первичном бесплодии частота поражения маточных труб составляет 29,5-70%, при вторичном бесплодии — 42-83% [7]. Важнейший и принципиальный этап в лечении бесплодия — внедрение в клиническую практику методов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), однако более чем в 60% случаев применяемые методики оказываются неэффективными [5]. По некоторым данным, одной из вероятных причин плохой «приживаемости» эмбриона является изначально высокая иммунореактивность организма [14]. Так, показано, что у женщин в нерезультативных программах ЭКО повышено количество клеток, продуцирующих фактор некроза опухоли альфа (TNF α), и увеличено соотношение Th1/Th2-клеток, но не отмечены изменения количества клеток, синтезирующих интерферон гамма (IFN γ) по сравнению с фертильными женщинами [13]. Считается, что при таких патологиях репродуктивной системы как эндометриоз, поликистоз и трубная непроходимость высокая частота выкидышей связана с повышением уровней провоспалительных цитокинов интерлейкина-1 (IL-1) и TNF α , IFN γ и свободных радикалов, способных повреждать различные белки, изменяя их антигенные характеристики и провоцируя иммунный ответ [11]. В целом, работ по изучению уровней цитокинов и связанных с ними белков при бесплодии, в том числе и трубного генеза, мало. Авторы проведенных исследований в большинстве случаев ограничиваются констатацией того очевидного фак-

та, что бесплодие трубного генеза часто является последствием патогенной инфекции (*Chlamidia trachomatis* и пр.) и, как следствие, что у женщин данной группы усилен гуморальный и клеточный иммунный ответ на патогенные антигены [12]. Из отдельных сообщений известно, что повышенные уровни интерлейкина-2 (IL-2), растворимого рецептора альфа к IL-2, TNF α и IFN γ , ассоциируются с повышенным риском потери плода. Показано, что через 11 дней после эмбриотрансфера при ЭКО повышенный или даже просто позитивный уровень IFN γ в крови удваивает риск потери плода, тогда как уровень TNF α не связан с результатами имплантации [10]. Отмечено повышение сывороточных уровней интерлейкина-6 (IL-6) и TNF α при поликистозе яичников и их дополнительное повышение при подготовке к программам ЭКО [9]. Зафиксировано сопоставимое повышение уровней IL-6 при эндометриозе и бесплодии трубного генеза [16]. Показано, что TNF α обнаруживается в крови примерно у половины женщин как до ЭКО, так и после проведения программ и не зависит от исхода ЭКО [15]. Таким образом, на сегодняшний день не существует полной картины, отражающей уровни хотя бы наиболее известных цитокинов при бесплодии трубного генеза и их роль в исходе программ ЭКО. Более того, при данной патологии совершенно неизученными остаются уровни единственного белка-транспортера альфа-2-макроглобулина (МГ), доставляющего цитокины в клетки-мишени, а также уровни той активированной конформационной формы МГ (комплекса МГ с протеиназой), которая и осуществляет эту доставку. Между тем при применении дорогостоящих методик экстракорпорального оплодотворения крайне важно определить наиболее информативные и прогностически значимые критерии, которые были бы приемлемы для раннего прогноза результативности лечения бесплодия с помощью программ ЭКО.

Целью нашего исследования было изучение сывороточных уровней IL-6, IFN γ , TNF α , а также общего содержания в сыворотке МГ и концентрации активной формы МГ – циркулирующих комплексов МГ-плазмин (МГ-ПЛ) при бесплодии трубного генеза и оценить роль вышеперечисленных факторов в исходе программ ЭКО.

Материалы и методы

Нами было обследовано 30 женщин (30,26 \pm 0,62 лет) с верифицированным диагнозом бесплодия трубного генеза, участвующих в программах вспомогательных репродуктивных технологий. Были изучены сывороточные концентрации IL-6, IFN γ , TNF α , а также общее содержание в сыворотке МГ и уровень циркулирующих комплексов МГ-ПЛ. Забор крови для исследования производился по следующей схеме: 1 – перед началом программы ЭКО; 2 – в день трансвагинальной пункции под контролем УЗИ и аспирации ооцитов из преовуляторных фолликулов, подготовленных проведением медикаментозной стимуляции суперовуляции с использованием человеческого менопаузального гонадотропина (чМГ) или рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) на фоне агонистов гонадотропин-релизинг-гормона; 3 – через 4-6 недель от начала проведения программы ЭКО и ПЭ.

Согласно исходу программ ЭКО женщины основной группы были разделены на 2 группы:

1) 15 женщин (30,58 \pm 0,85 лет) с индуцированной беременностью после проведенного ЭКО (ЭКО+) в сроке 3-4 недели;

2) 15 женщин (30,09 \pm 0,85 лет), у которых беременность не наступила (ЭКО–).

Помимо женщин основной группы было обследовано 15 практически здоровых не беременных женщин (30,25 \pm 0,90 лет), отобранных по результатам диспансеризации в качестве контрольной группы, и 15 женщин с физиологической беременностью в сроке 3-4 недели, которые обратились для прерывания беременности с неотягощенным соматическим и акушерско-гинекологическим анамнезом, в качестве группы сравнения.

Концентрацию МГ определяли методом ракетного иммуноэлектрофореза [1]. Уровень комплексов МГ-ПЛ оценивали при помощи иммуноферментного анализа. Использовалась модификация метода определения комплексов МГ-IgG [2]: отличия от описанного метода заключались в том, что в качестве первичных антител использовали поликлональные кроличьи антитела против плазмин/плазминогена человека, в качестве образца – сыворотку крови, разведенную в 40 раз в забуференном физио-

логическом растворе (ЗФР), а для проявления реакции – конъюгат пероксидазы хрена с поликлональными кроличьими антителами против МГ человека. Концентрацию цитокинов определяли методом иммуноферментного анализа с использованием сертифицированных тест-систем «ПроКон» (Санкт-Петербург), для определения IL-6, и «ВекторБест» (Новосибирск), для определения IFN γ , TNF α .

Статистическая обработка полученных данных проводилась при помощи сертифицированной PC программы для биостатистики InStat 2.0 (Sigma, США). Параметры, приводимые в работе, имеют следующее обозначение: М – средняя, m – ошибка средней, n – численность выборки, р – достоверность различий. Парное межгрупповое сравнение показателей производилось по критерию Стьюдента. Критическое значение уровня значимости – 0,05.

Результаты

Установлено, что при физиологической беременности уровень IFN γ значимо повышается по сравнению с контролем (р = 0,0049) (табл. 1).

Среднестатистические значения IFN γ в группе ЭКО+ до начала проведения программы и после стимуляции суперовуляции достоверно не отличались от контроля. Однако после стимуляции суперовуляции в этой группе было отмечено снижение концентрации IFN γ по сравнению с физиологической беременностью (р = 0,028). Через 4-6 недель от начала проведения программы ЭКО среднестатистические уровни IFN γ были выше, чем в группе здоровых (р = 0,0289), и не отличались от уровней IFN γ при нормальной беременности.

В группе ЭКО– среднестатистические значения концентрации IFN γ были значимо повышены по сравнению с контролем как на этапе первичного обследования (р = 0,0008), так и после стимуляции суперовуляции (р = 0,0086). Однако через 4-6 недель средний уровень IFN γ в данной группе не отличался от контрольных показателей. Выявлено достоверное различие концентраций IFN γ у групп ЭКО+ и ЭКО– после стимуляции суперовуляции (р = 0,0434).

Анализ индивидуальных показателей выявил следующее. У группы ЭКО+ при первичном обследовании IFN γ превышал нормальные значения в 33,4% случаев, при этом у 58,3% пациенток он вообще не выявлялся. После стимуляции суперовуляции IFN γ превышал норму только у 20% пациенток, и у 55% – не выявлялся. При наступившей клинической беременности повышенные значения IFN γ наблюдались у 30,8% женщин, у 30,8% они были нулевыми.

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИИ ИЗУЧЕННЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ПРОГРАММАХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ (ЭКО)

Группы женщин	IFN γ (пкг/мл)	IL-6 (пкг/мл)	TNF α (пкг/мл)	МГ (г/л)	МГ-ПЛ (мкг/мл)
Здоровые небеременные – контроль	10,40 \pm 1,71	4,65 \pm 1,04	0,76 \pm 0,11	2,16 \pm 0,05	0,872 \pm 0,047
Физиологически протекающая беременность (3-4 недели) – группа сравнения	31,11 \pm 9,77*	5,96 \pm 3,24	1,22 \pm 0,35	2,61 \pm 0,15*	1,629 \pm 0,231*
Бесплодие трубного генеза, положительный результат ЭКО (ЭКО+)	Начало программы	18,02 \pm 7,35	1,69 \pm 0,67*	2,29 \pm 0,21	1,296 \pm 0,263*
	После стимуляции суперовуляции	10,98 \pm 3,80 ** ***	27,79 \pm 9,87	1,17 \pm 0,33	1,646 \pm 0,179*
	Через 4-6 недель (беременность 3-4 недели)	21,62 \pm 5,86*	46,25 \pm 18,52* **	1,92 \pm 0,51*	2,97 \pm 0,23* ****
Бесплодие трубного генеза, отрицательный результат ЭКО (ЭКО-)	Начало программы	24,99 \pm 4,28*	9,66 \pm 6,53***	1,38 \pm 0,23*	1,305 \pm 0,085*
	После стимуляции суперовуляции	23,58 \pm 4,64* ***	16,98 \pm 10,28	1,53 \pm 0,29*	1,230 \pm 0,133*
	Через 4-6 недель	17,63 \pm 5,53	6,11 \pm 2,60	0,74 \pm 0,19	2,86 \pm 0,45* ****

Примечания: * – статистически достоверное отличие от здоровых; ** – от женщин с физиологической беременностью;

*** – от женщин с бесплодием трубного генеза с результатом ЭКО, отличным от данной группы на том же этапе наблюдений;

**** – от показателей, характерных для женщин данной группы при первичном обследовании

У группы ЭКО– при первичном обследовании IFN γ был повышен в 38,9% случаев и ни в одном случае концентрация не была нулевой. После стимуляции суперовуляции IFN γ был повышен в 38,1% случаев, и только у 14,3% женщин концентрация IFN γ была близка к нулю. Через 4-6 недель уровень IFN γ был повышен у 28,6% женщин, и ни у одной женщины в группе не выявлено нулевых значений.

Согласно результатам наших исследований, уровни IL-6 у здоровых женщин контрольной группы и у группы сравнения при физиологической беременности на ранних сроках не различались.

При анализе среднестатистических показателей в группе ЭКО+ выявлены достоверно повышенные по сравнению со здоровыми и физиологической беременностью уровни IL-6 на этапе десенсилизации ($p = 0,0001$ и $p = 0,0037$ соответственно), однако после стимуляции суперовуляции эти различия недостоверны. Наконец, при наступившей клинической беременности через 4-6 недель среднестатистические уровни IL-6 вновь повышаются ($p = 0,0109$ и $0,0461$ соответственно).

В группе ЭКО– среднестатистические уровни IL-6 не превышали нормальные значения на всех этапах исследования и не отличались ни от уровней контрольной группы, ни от уровней, характерных для физиологической беременности. Кроме того, было выявлено статистически достоверное различие между группами ЭКО+ и ЭКО– до вступления в программу ($p = 0,0295$).

При анализе индивидуальных показателей было отмечено, что на момент вступления в программу у пациенток группы ЭКО+ концентрация IL-6 была повышена у 91,7% женщин (ни одного нулевого значения). После стимуляции суперовуляции повышенные уровни IL-6 наблюдались у 45,6% женщин, тогда как у 31,8% женщин IL-6 был равен нулю. Наконец, при наступившей беременности уровень IL-6 был повышен у 90% женщин.

У пациенток группы ЭКО– до начала программы концентрации IL-6 превышали норму в 30% случаев, а у 70% пациенток уровень IL-6 был равен нулю. После мероприятий по стимуляции суперовуляции IL-6 оставался повышенным у 31,6% женщин, нулевые значения были выявлены у 57,9% обследованных в группе. Через 4-6 недель IL-6 был повышен у 50% женщин, а у 10% женщин он не выявлялся.

Уровни TNF α в крови пациенток контрольной группы и группы сравнения с физиологической беременностью не различались. До вступления в программу концентрация TNF α была повышена по сравнению с контролем как в груп-

пе ЭКО– ($p = 0,0082$), так и в группе ЭКО+ ($p = 0,0312$). После стимуляции суперовуляции содержание этого цитокина нормализовалось в группе ЭКО+ и оставалось повышенным по сравнению с контролем в группе ЭКО– ($p = 0,0082$). Через 4-6 недель от начала проведения программы ЭКО уровень TNF α повышался в группе ЭКО+ ($p = 0,0029$) и снижался до контрольных значений в группе ЭКО–.

Повышенные уровни TNF α были выявлены у 20% пациенток в группе ЭКО+ (у 20% женщин они были равны нулю). После стимуляции суперовуляции содержание TNF α было повышено у 22,7% пациенток и у 36,4% равнялось нулю. При наступившей беременности концентрация TNF α была повышенной у 30,8% женщин, нулевых значений не обнаружено.

В группе ЭКО– повышение уровня TNF α зафиксировано у 7,1% пациенток до начала программы (без нулевых значений в группе), у 13,6% – после стимуляции суперовуляции (у 9,1% женщин выявлены нулевые концентрации TNF α). Наконец, через 4-6 недель концентрации TNF α не превышали установленные пределы нормы у всех обследованных (нулевых значений не обнаружено).

Согласно полученным нами результатам, сывороточный уровень МГ в группе сравнения при физиологической беременности на ранних сроках был достоверно выше уровня МГ, определенного для здоровых женщин контрольной группы ($p = 0,0027$). При исследовании женщин в группе ЭКО+ показано, что до вступления в программу концентрация МГ не отличалась ни от контрольной группы, ни от группы сравнения, после стимуляции суперовуляции уровень МГ достоверно повышался ($p = 0,0001$) и через 4-6 недель оставался повышенным по сравнению с контролем ($p < 0,0001$), но не отличался от показателей группы сравнения. Было выявлено достоверное увеличение уровней МГ в группе ЭКО+ при наступлении клинической беременности через 4-6 недель от начала проведения ЭКО ($p = 0,0446$) по сравнению с данными, полученными до начала программы.

В группе ЭКО– содержание МГ у пациенток до вступления в программу не отличалось от показателей контрольной группы, но было сниженным по сравнению с физиологической беременностью ($p = 0,0116$). После стимуляции суперовуляции уровень МГ повышался по сравнению с данными при первичном обследовании ($p = 0,0020$) и по сравнению с контролем ($p < 0,0001$), однако достоверно не отличался от показателей при физиологической беременности. В результате констатировано достоверное отличие от контрольной группы и отсутствие отличий при сравнении со здоровы-

ми беременными. Через 4-6 недель от начала проведения программы ЭКО концентрация МГ оставалась повышенной по сравнению с данными, полученными до начала программы ($p = 0,0405$) и контролем ($p = 0,0027$).

Наконец, при изучении концентраций комплексов МГ-ПЛ нами отмечено, что при физиологической беременности у здоровых женщин содержание комплексов достоверно выше, чем у здоровых небеременных женщин ($p < 0,0001$). При первичном обследовании группы ЭКО+ показано, что уровень комплексов изначально выше, чем у контрольной группы ($p = 0,0110$), но не у группы сравнения при физиологической беременности. После мероприятий по стимуляции суперовуляции и через 4-6 недель эта тенденция сохранялась и даже усиливалась – в обоих случаях $p < 0,0001$ при сравнении с контрольной группой и не значимо при сравнении с нормальной беременностью.

При исследовании содержания МГ-ПЛ у группы ЭКО– также выявлено достоверное повышение комплексов по сравнению со здоровыми небеременными как до вступления в программу ($p < 0,0001$), так и после стимуляции суперовуляции ($p = 0,0028$), но не через 4-6 недель от начала проведения ЭКО.

Обсуждение

Полученные нами результаты позволяют предположить, что при бесплодии трубного генеза имеет место изначально повышенная иммунореактивность. Однако тип иммунной реакции может быть различным, более того, от него напрямую зависит исход программы ЭКО. Так, по результатам наших исследований был зафиксирован неотличимый от здоровых лиц уровень IL-6 (у 70% он вообще не регистрировался в доступных для измерения количествах) и достоверно повышенный уровень IFN γ (при отсутствии нулевых результатов), в группе женщин с неэффективной программой ЭКО. Напротив, мы продемонстрировали, что при эффективных программах ЭКО уровни IL-6 повышены более чем у 90% женщин, а IFN γ не регистрируется почти у 60% обследованных. При этом уровни TNF α в обеих группах не различались, что подтверждает ранее опубликованные данные [10]. Известно, что IFN γ продуцируется Th1 хелперами, натуральными киллерами, цитотоксическими лимфоцитами и свидетельствует о развитии иммунного ответа по клеточному типу, в то время как IL-6 синтезируется Th2 хелперами при развитии гуморального иммунного ответа, а TNF α синтезируется обоими типами хелперов [8]. Таким образом, у женщин с наступившими клини-

ческими беременностями в ходе программ ЭКО изначально активировано гуморальное звено иммунной системы, а у женщин с неэффективными программами ЭКО, напротив, активировано клеточное звено.

Нами показано, что после стимуляции суперовуляции несколько снижается как общий уровень $IFN\gamma$, так и абсолютное количество женщин с концентрациями $IFN\gamma$ выше предельно допустимых значений (в группе ЭКО+ в большей степени, чем в группе ЭКО-). В то же время стимуляция суперовуляции нормализует уровни IL-6 примерно у половины женщин в группе ЭКО+ и не оказывает значительного влияния на концентрации IL-6 в группе ЭКО-. Можно предположить, что мероприятия по стимуляции суперовуляции в определенной степени нивелируют проявления гуморального иммунитета и на момент их окончания мало влияют на клеточный. Так или иначе, стимуляция суперовуляции при ЭКО в целом изменяет баланс цитокинов в благоприятную сторону в группе ЭКО+ (нормализуются уровни $IFN\gamma$, $TNF\alpha$, препятствующих имплантации эмбриона и остается немного повышенным IL-6, способный стимулировать пролиферацию эмбриона), но не влияет на их соотношение в группе ЭКО- ($IFN\gamma$ и $TNF\alpha$ остаются повышенными, IL-6 значимо не меняется).

Необходимо отметить, что через 4-6 недель от начала проведения программы ЭКО в группе с наступившей клинической беременностью отмечается в большей или меньшей степени повышение уровней всех трех изученных цитокинов. При этом у женщин с физиологической беременностью в сопоставимом сроке наблюдается только повышение концентраций $IFN\gamma$. Напротив, у пациенток с нерезультативными программами ЭКО наблюдается тенденция к снижению уровней всех изученных цитокинов.

В этой связи особый интерес представляют данные, полученные при изучении концентрации альфа-2-макроглобулина. Оказалось, однако, что у женщин с бесплодием трубного генеза вне зависимости от исхода ЭКО уровень МГ изначально не различается между собой и не отличается от нормы. Отмеченное нами повышение МГ в обеих группах после стимуляции суперовуляции, вероятнее всего, является результатом применения экзогенных эстрогенов в процессе стимуляции – известно, что уровень МГ зависит от уровня эстрогенов в крови [2]. Интересно, что в группе ЭКО+ повышение концентрации МГ после стимуляции суперовуляции в среднем не столь выражено, как в группе ЭКО-, но в дальнейшем при беременности содержание МГ продолжает немного повышаться, в то время как в группе ЭКО- через 4-6 недель оно остается

неизменным или снижается до нормальных значений. Ранее показано, что $IFN\gamma$ способствует ингибированию экспрессии липопротеин-ассоциированного рецепторного белка (LRP) – основного рецептора МГ, через который данный белок транспортирует биологически активные субстанции, включая цитокины [2]. Повышение концентраций МГ и некоторое снижение уровней $IFN\gamma$ в крови у пациенток из группы ЭКО- после стимуляции суперовуляции, вероятнее всего, способствует мобилизации защитных резервов организма – увеличивается количество транспортера веществ, необходимых для борьбы с воспалением, увеличивается доступность к его рецепторам. Все это позволяет организму лучше справляться с последствиями воспалительной реакции, что и приводит к нормализации содержания большинства изученных нами реактантов воспаления в крови через 4-6 недель от начала проведения процедуры ЭКО.

Таким образом, изучение общей концентрации МГ не эффективно в плане прогнозирования исхода ЭКО. Однако, для того чтобы говорить об эффектах МГ и транспорте цитокинов, необходимо учитывать не только его общую концентрацию, но и уровень его активной формы – МГ-ПЛ, так как только активированный связыванием с протеиназами МГ способен доставлять цитокины в клетку [2]. Согласно полученным результатам, уровни МГ-ПЛ изначально повышены при бесплодии трубного генеза. Этот факт можно объяснить тем, что сывороточное содержание комплексов МГ-ПЛ увеличивается не только при физиологической беременности, что продемонстрировало наше исследование, но и при воспалениях различного генеза [4]. Таким образом, изначально высокие уровни МГ-ПЛ вероятнее всего являются либо одной из причин, либо следствием повышенной иммунореактивности, рост содержания МГ-ПЛ после стимуляции суперовуляции очевидно связан с повышением общего содержания МГ в крови, а продолжающееся повышение концентрации МГ-ПЛ в группе ЭКО+ объясняется наступлением беременности. Необходимо отметить, что изначально повышенные уровни МГ-ПЛ в группе ЭКО- не имеют существенного значения, так как концентрации IL-6 и $TNF\alpha$ относительно невысоки, к тому же высокий уровень $IFN\gamma$ ограничивает доставку комплекса в клетку за счет подавления экспрессии МГ рецептора. Однако, несмотря на неизменность уровня МГ-ПЛ после стимуляции суперовуляции, количество способных связываться с этим комплексом провоспалительных цитокинов возрастает, что может негативно отразиться на имплантации эмбриона, так как известно, что высокий уровень $TNF\alpha$ препятствует имплантации

и может провоцировать апоптоз клеток эмбриона. Мы также предполагаем, что параллельное повышение уровней изученных провоспалительных цитокинов и концентрации комплексов МГ-ПЛ примерно у 30% женщин в группе ЭКО+ может оказать негативное влияние на развитие плода. Возможно, именно этим, а не несовершенством техники при процедурах ЭКО объясняется повышенное по сравнению с физиологической беременностью количество врожденных аномалий новорожденных. Так или иначе, мы считаем, что такие пациентки нуждаются в постоянном наблюдении после проведения ЭКО.

Обобщая все вышеперечисленное, можно сделать следующее заключение. Группа женщин с бесплодием трубного генеза изначально гетерогенна и состоит из женщин с выраженной активацией либо клеточного, либо гуморального звена иммунной системы. Стимуляция суперовуляции при ЭКО в целом оказывает положительное влияние на женщин с повышенной иммунореактивностью по гуморальному типу в отношении вынашивания плода. Она способствует нормализации уровней цитокинов, увеличивает общее содержание их транспортера (МГ) и содержание его активной формы (МГ-ПЛ), транспортирующей необходимые для деления и роста эмбриона вещества, облегчает доступ МГ-ПЛ в клетку (за счет снижения уровней $IFN\gamma$) что, в конечном счете, и приводит к положительному результату при процедуре ЭКО. У женщин с повышенной иммунореактивностью по клеточному типу изначально меньше шансов к успешной имплантации эмбриона — низкие уровни МГ и высокие уровни $IFN\gamma$, затрудняющие транспорт веществ в клетки при помощи МГ-ПЛ, а также высокая и не снижающаяся после стимуляции суперовуляции концентрация $TNF\alpha$ и, возможно, повышенная активность натуральных киллеров и цитотоксических лимфоцитов минимизируют возможность благоприятного исхода. Однако благоприятные изменения, происходящие во время проведения программ ЭКО позволяют надеяться, что у ряда пациенток данной группы возможен и даже более вероятен результативный исход программ при повторной процедуре ЭКО.

Список литературы

1. Зорин Н.А., Жабин С.Г., Лыкова О.Ф., и др. Белки плазмы и сыворотки крови доноров // Клинич. лаб. диагностика. — 1992. — № 9-10. — С. 13-15.
2. Зорин Н.А., Зорина В.Н., Зорина Р.М., Левченко В.Г. Универсальный регулятор — $\alpha 2$ -макроглобулин (Обзор литературы) // Клинич. лаб. диагностика. — 2004. — № 11. — С. 18-22.
3. Зорина В.Н., Зорина Р.М., Левченко В.Г., Воронина Е.А., Зорин Н.А. Концентрация комплексов макроглобулин IgG как возможный критерий для прогнозирования гестоза и оценки степени его тяжести // Клинич. лаб. диагностика. — 2001. — № 8. — С. 48-49.
4. Зорина В.Н., Трофименко Н.А., Архипова С.В., Зорина Р.М., Зорин Н.А. Комплексы альфа-2-макроглобулина с антителами класса G, плазмином и их взаимосвязь с другими факторами гуморального иммунитета при развитии ревматоидного артрита // Мед. иммунология. — 2005. — Т. 7, № 5-6. — С. 557-562.
5. Корсак В.С. Российский национальный регистр ВРТ: отчет за 2005 год // Материалы XVI международной конференции РАРЧ «Вспомогательные репродуктивные технологии сегодня и завтра». — Ростов-на-Дону, 2006. — С. 74-75.
6. Кулаков В.И., Серов В.Н. Медицинские аспекты репродукции: пути их решения // Материалы XVI международной конференции РАРЧ «Вспомогательные репродуктивные технологии сегодня и завтра». — Ростов-на-Дону, 2006. — С. 61-62.
7. Кулаков В.И. Трубно-перитонеальное бесплодие. Бесплодный брак — М.: ГЭОТАР-МЕДИА, 2005. — С. 94.
8. Ярилин А.А. Основы иммунологии: Учебник. — М.: Медицина, 1999. — 608 с.
9. Amato G., Conte M., Mazziotti G., Lalli E., Vitolo G., Tucker A.T., Bellastella A., Carella C., Izzo A. Serum and follicular fluid cytokines in polycystic ovary syndrome during stimulated cycles // Obstet. Gynecol. — 2003. — Vol. 101, N 6. — P. 1177-1182.
10. Fasouliotis S.J., Spandorfer S.D., Witkin S.S., Schattman G., Liu H.C., Roberts J.E., Rosenwaks Z. Maternal serum levels of interferon-gamma and interleukin-2 soluble receptor-alpha predict the outcome of early IVF pregnancies // Hum. Reprod. — 2004. — Vol. 19, N 6. — P. 1357-1363.
11. Iborra A., Palacio J.R., Martinez P. Oxidative stress and autoimmune response in the infertile woman // Chem. Immunol. Allergy. — 2005. — Vol. 88 — P. 150-162.
12. Kinnunen A., Surcel H.M., Halttunen M., Titinen A., Morrison R.P., Morrison S.G., Koskela P., Lehtinen M., Paavonen R. Chlamydia trachomatis heat shock protein-60 induced interferon-gamma and interleukin-10 production in infertile women // Obstet. Gynecol. — Vol. 131, N 2. — P. 299-303.
13. Kwak-Kim J.Y., Chung-Bang H.S., Ng S.C., Ntrivalas E.I., Mangubat C.P., Beaman K.D., Beer A.E., Gilman-Sachs A. Increased T helper 1 cytokine responses by circulating T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple implantation failures after IVF // Hum. Reprod. — 2003. — Vol. 18, N 4. — P. 767-773.

14. Ng S.C., Gilman-Sachs A., Thaker P., Beaman K.D., Beer A.E., Kwak-Kim J.Y. Expression of intracellular Th1- and Th2-cytokines in women with recurrent spontaneous abortion, implantation failures after IVF/ET or normal pregnancy // Am. J. Reprod. Immunol. – 2002. – Vol. 48, N 2. – P. 77-86.

15. Witkin S.S., Liu H.C., Davis O.K., Rosenwaks Z. Tumor necrosis factor is present in maternal sera and embryo culture fluids during in vitro fertilization // J. Reprod. Immunol. – 1991. – Vol. 19, N 1. – P. 85-93.

16. Yamashita Y., Ueda M., Takehara M., Yamashita H., Suzuki Y., Hung Y.C., Terai Y., Ueki M. Influence of severe endometriosis on gene expression of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in granulosa cells from patients undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization-embryo transfer // Fertil. Steril. – 2002. – Vol. 78, N 4. – P. 865-871.

поступила в редакцию 12.02.2007

принята к печати 30.05.2007