doi: 10.17116/repro20172318-14

Цитокины в регуляции овариального фолликулогенеза (обзор литературы)

Асп. Е.А. АНДРЕЕВА[1], д.м.н., вед.н.с. Н.А. ХОНИНА[1], д.м.н., проф., зав. каф. Н.М. ПАСМАН[2], д.м.н., проф., член-корр. РАН, зав. лаб. Е.Р. ЧЕРНЫХ[1]

[1]ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия, 630099; [2]Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия, 630000

Представлены данные литературы о регуляторном влиянии цитокинов на различных этапах фолликулогенеза, начиная от развития примордиального фолликула до созревания зрелого ооцита и овуляции. Нарушение цитокиновой регуляции связано со снижением качества ооцитов и неудачной имплантацией эмбриона. Уровень одних цитокинов (TGF-β_1, LIF, GDF-9, G-CSF, IGF) в фолликулярной жидкости ассоциируется со зрелостью ооцитов, количеством и качеством получаемых эмбрионов, а также с позитивным исходом цикла ЭКО. Повышенное содержание других цитокинов (TNF-α, IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, IL-17) может негативно влиять на эмбриогенез и исход ЭКО. Уровень цитокинов в фолликулярной жидкости можно рассматривать как маркер качества эмбрионов и прогностический критерий исходов ЭКО.

Ключевые слова: бесплодие, фолликулогенез, ооцит, цитокины, ЭКО, фолликулярная жидкость.

Cytokins in the regulation of ovarian folliculogenesis (a review)

E.A. ANDREEVA[1], N.A. KHONINA[1], N.M. PASMAN[2], E.R. CHERNYKH[1]

[1]Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia, 630099; [2]Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia, 630000

This review is devoted to the regulatory role of cytokines on the different stages of folliculogenesis, from primordial follicle development to oocyte maturation and ovulation. Disturbance of cytokine regulation is associated with reduced quality of oocyte and embryo implantation failure. The level of some cytokines (TGF-β1, LIF, GDF-9, G-CSF, IGF) in follicular fluid is associated with the maturity of the oocytes, the number and quality of embryos, as well as a positive outcome of an IVF cycle. Elevated levels of other cytokines (TNF-α, IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, IL-17) may have negative affect on the IVF outcome and embryogenesis. Cytokine levels in the follicular fluid can be considered as a marker and predictor of IVF outcome.

Keywords: infertility, folliculogenesis, oocyte, cytokines, IVF, follicular fluid.

Полученные за последние годы данные показали, что контроль за процессами фолликулогенеза и овуляции осуществляется посредством тесного двунаправленного взаимодействия эндокринной и иммунной систем. Изменение уровня гормонов оказывает непосредственное влияние на активность иммунокомпетентных клеток, которые в свою очередь через цитокин-опосредованные механизмы регулируют продукцию гормонов в тканях яичника. Соответственно, иммунокомпетентные клетки (ИКК) участвуют во всех этапах репродуктивного процесса, включая процессы гаметогенеза, оплодотворения, раннего эмбрионального развития и имплантации эмбрионов [1, 2]. В яичниках, как и в матке, присутствуют все типы ИКК: Т- и В-лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки, NK- и NKT-клетки [3]. Изменение содержания NK- и NKT-клеток в фолликулярной жидкости (ФЖ) может влиять на исход экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) [4]. Совместно с эпителиальными клетками ИКК секретируют большое количество цитокинов (IL-1β, IL-6, IL-18, IFN-γ, IFN-α, TNF-α, IL-12, IL-23, G-CSF, MIP-1α, MIP-1β, MCP-1, RANTES, IL-8), которые регулируют созревание фолликула и овуляцию благодаря аутокринным и паракринным механизмам [3, 5, 6]. Цитокины способны стимулировать или ингибировать клеточный рост, регулировать клеточную пролиферацию, индуцировать хемотаксис и модулировать экспрессию других цитокинов [7]. Регуляторное влияние цитокинов прослеживается на всех этапах фолликулогенеза, начиная от развития примордиального фолликула до созревания зрелого ооцита.

© Коллектив авторов, 2017

e-mail: nkhonina@mail.ru; evga_91@mail.ru

Влияние цитокинов на различных этапах фолликулогенеза

Развитие примордиального фолликула. Примордиальный фолликул состоит из незрелой яйцеклетки, окруженной фолликулярным и гранулезным эпителием и клетками теки. Процесс развития примордиального пула характеризуется взаимообусловленным влиянием цитокинов и ростовых факторов между ооцитом и клетками гранулезы. Такое циклическое взаимодействие носит двунаправленный характер и осуществляется благодаря щелевым контактам на оболочке ооцита. Клетки гранулезы экспрессируют фактор стволовых клеток (SCF), фактор роста фибробластов-2 (FGF-2) и лейкемияингибирующий фактор (LIF) [8], в то время как клетки теки и ооциты синтезируют фактор роста фибробластов-7 (FGF-7), способствуя развитию примордиального фолликула [9].

Среди многочисленных факторов, секретируемых ооцитом, наиболее изучены: фактор роста дифференциации-9 (GDF-9), костный морфогенетический белок-15 (BMP-15), антимюллеров гормон (АМГ). Данные факторы относятся к семейству трансформирующего ростового фактора-β (TGF-β), участвуют в дифференцировке клеток кумулюса и гранулезы, влияют на ранний фолликулогенез, предотвращают преждевременный апоптоз клеток гранулезы и теки [10]. Установлено, что BMP-15 экспрессируется в примордиальных фолликулах и в желтом теле. Мутации в гене, кодирующем BMP-15, связаны с гипергонадотропным угасанием функции яичников, что указывает на его ключевую роль в фолликулогенезе [11, 12]. Высокая концентрация CDF-9 в клетках гранулезы способствует их высокой митотической активности и экспрессии инсулиноподобного фактора роста I (IGF-I). Более низкая концентрация CDF-9 вызывает экспрессию рецептора к лютеинизирующему гормону (ЛГ), что негативно отражается на развитии фолликулов. В работе F. Otsuka и соавт. [12] показано, что мыши с мутацией CDF-9 страдают гипергонадотропным гипогонадизмом. Яичники животных содержат первичные фолликулы, однако клеток теки не обнаружено. Это явление получило название теории градиента CDF-9. Клетками гранулезы растущих фолликулов вырабатывается АМГ, который блокирует выход примордиального фолликула из покоящегося пула и является антагонистом BMP-15 [13].

Развитие преантрального фолликула. Процесс созревания фолликулов от стадии первичного до преантрального фолликула — гормонально независимая фаза фолликулогенеза, когда рост фолликулов не зависит от уровня гормонов гипофиза. На данном этапе клетки теки и гранулезы еще не имеют рецепторов к фолликулостимулирующему гормону (ФСГ) и ЛГ, которые необходимы для завершения фолликулогенеза и выхода ооцита. На данном этапе рост и созревание фолликулов поддерживаются локально вырабатываемыми ростовыми факторами и цитокинами. Влияние цитокинов семейства TGF-β прослеживается не только на этапе развития примордиального фолликула, но также на этапе роста преантрального фолликула. Так, созревание антрального фолликула сопровождается усилением продукции GDF-9, BMP-15 (ооцитами); BMP-4, TGF-β (клетками гранулезы); BMP-7, TGF-β (клетками теки). BMP-15 экспрессируется в первичных фолликулах и желтом теле, активирует пролиферацию клеток гранулезы [12]. В экспериментальных работах [12] была показана связь мутаций в BMP-15 гене с гипергонадотропным угасанием функции яичников. GDF-9 наряду с BMP-15 стимулирует рост преантральных фолликулов [11]. Продукция TGF-β регулируется эпидермальным фактором роста (EGF), который блокирует рецепторы к цитокину [14]. Семейство ростовых факторов FGF и EGF участвует в паракринном диалоге между ооцитом и клетками гранулезы, что вызывает активацию митоза клеток гранулезы, способствуя росту фолликула и усилению процессов ангиогенеза [15]. Кроме того, FGF участвует в регуляции продукции половых гормонов. Так, FGF влияет на превращение предшественников эстрогенов в эстрадиол, подавляя стимулирующее действие фоллитропина на внутрифолликулярный синтез эстрадиола [16]. Одновременно FGF усиливает стимулирующий эффект действия ФСГ на образование прогестерона. Согласно исследованиям *in vitro*, FGF-10 сопровождает рост фолликула от примордиального до первичного [17]. Для роста и развития фолликулов большое значение имеет перифолликулярное кровоснабжение, которое формируется при непосредственном участии фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), продуцируемого клетками гранулезы и теки [18]. Как следует из работ R. Wu и соавт. [5], на процесс созревания антрального фолликула влияют и другие цитокины. Показано, что макрофаги теки продуцируют IL-1β, IL-6, GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор), TNF-α, которые стимулируют клеточную пролиферацию и ингибируют апоптоз клеток гранулезы и теки.

Рост и селекция антральных фолликулов. Антральный фолликул характеризуется наличием нескольких слоев кубических клеток гранулезы, между которыми образуются лакуны, формируются слои и клетки theca interna и theca externa [19]. Формирование пула антральных фолликулов — гормонально-зависимая стадия фолликулогенеза, которая регулируется ФСГ. На данном этапе происходит селекция фолликулов, в результате которой остается единственный доминирующий фолликул [20]. Известно, что TGF-β_1 и TGF-β_2 стимулируют экспрессию рецепторов к ФСГ на клетках гранулезы, а также синергично с ФСГ стимулируют продукцию VEGF и инициируют ангиогенез [21]. TGF-β_1 также участву-

ет в селекции фолликулов, ингибирует продукцию эстрадиола в ФСГ-стимулированных фолликулах, что позволяет развиваться доминантному фолликулу [1]. Необходимым фактором для роста преовуляторных фолликулов является SCF, который обусловливает взаимодействие между клетками теки и гранулезы и стимулирует созревание ядра ооцита и стероидогенез [22].

На этапе созревания и селекции антральных фолликулов большую роль играют провоспалительные цитокины и факторы — TNF-α, IL-6, IL-8, MCP-1 (моноцитарный хемотаксический фактор-1). Последний секретируется разными типами клеток, включая клетки гранулезы, стромальные клетки яичника, макрофаги, и регулируется ЛГ и провоспалительными цитокинами IL-1 и TNF-α [23]. Известно, что IL-1 усиливает экспрессию рецепторов к ЛГ и стимулирует продукцию андрогенов [24]. TNF-α взаимодействует с инсулиноподобными рецепторами (IGF) клеток гранулезы, инициируя ее пролиферацию [25]. Экспрессия IL-6 описана в клетках гранулезы, теки, в фолликуле и желтом теле. В зрелых фолликулах содержание IL-6 выше, чем в незрелых фолликулах [26]. IL-8 продуцируется клетками теки и гранулезы и участвует в процессе созревания ооцитов [1]. Отмечена позитивная корреляция с размером фолликула и содержанием IL-8 [7]. Негативная регуляция осуществляется посредством синтеза АМГ, который блокирует ароматазу в клетках гранулезы, что приводит к невосприимчивости преантральных и мелких антральных фолликулов к ФСГ, способствуя атрезии фолликулов [27].

Овуляция. Необходимым условием полноценного завершения гаметогенеза является формирование зрелого преовуляторного фолликула, представляющего собой систему функционально связанных друг с другом элементов: ооцита, клеток гранулезы, теки, фолликулярной жидкости и капилляров фолликула. Процесс овуляции представляет собой скоординированный процесс разрыва стенки фолликула и выхода из него ооцита. Во время овуляции происходит активное ремоделирование внеклеточного матрикса, формирование аваскулярной области в месте будущего разрыва [28]. Данный процесс можно рассматривать как воспалительную реакцию, для которой характерен приток лейкоцитов [29, 30], секретирующих хемоаттрактанты, цитокины и вазоактивные факторы [1]. Макрофаги участвуют в фагоцитозе атретических клеток гранулезы, секреции матричных металлопротеиназ, которые опосредуют ремоделирование внеклеточного матрикса [5]. Активация и пролиферация макрофагов обеспечиваются макрофагальным колониестимулирующим фактором (M-CSF), который в высокой концентрации обнаружен в яичнике [24]. Повышение продукции M-CSF обусловлено индуцирующим действием TNF-α, который принимает активное участие в овуляции, усиливая продукцию хемокинов (MCP-1) и запуская процесс апоптоза атретических клеток гранулезы [5]. Макрофаги продуцируют ряд провоспалительных цитокинов и факторов, в том числе TNF-α, IL-1, GM-CSF, RANTES (хемокин, экспрессируемый и секретируемый Т-клетками при активации) и др. Секреция RANTES считается одним из ключевых механизмов в воспалительном процессе, так как RANTES выступает как посредник для активации Т-клеток и хемоаттрактант для эозинофилов и тучных клеток [5]. На завершающем этапе овуляции клетки теки начинают продуцировать GM-CSF, получивший название эмбриокин за способность оказывать положительное влияние на имплантацию эмбриона [31].

Цитокины фолликулярной жидкости как биомаркеры исходов ЭКО

Цитокины, позитивно влияющие на исход цикла ЭКО. Появление методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) позволило повысить эффективность лечения женского и мужского бесплодия. Однако частота наступления беременности при проведении ЭКО до сих пор остается на уровне 30—40% [32]. Одним из наиболее важных условий успешного цикла ЭКО является получение зрелых ооцитов, а впоследствии эмбриона высокого качества. В настоящее время существует ряд критериев оценки качества развивающихся эмбрионов. Наряду с морфологической оценкой используются генетические и биохимические критерии качества эмбрионов. В частности, широкое распространение получил метод преимплантационной генетической диагностики (ПГД) для установления возможных хромосомных перестроек или моногенных заболеваний. Благодаря ПГД отбор и перенос генетически здоровых эмбрионов позволяют в 2—3 раза повысить частоту наступления и вынашивания беременности [33]. Другой метод определения потенциала эмбриона основан на определении метаболитов в культуральной среде эмбриона. Предполагается, что скорость протекания метаболизма зависит от потенциала эмбриона. Так, концентрация глутамата, который образуется при катаболизме аминокислот, была значительно выше в среде эмбрионов у женщин с позитивным исходом ЭКО по сравнению с отрицательным исходом [34]. В других исследованиях [35] также отмечена позитивная связь между содержанием метаболитов в культуральной среде эмбрионов и исходом цикла ЭКО.

В литературе последних лет активно обсуждается возможное влияние цитокинов, содержащихся в ФЖ, на исходы ЭКО. Однако представленные данные о позитивном или негативном влиянии некоторых цитокинов на количество зрелых ооцитов различаются **(см. таблицу)**. Одним из наиболее изученных цитокинов по влиянию на эмбриогенез является представитель IL-6 семейства — LIF. Показано, что

Ключевые цитокины ФЖ как предикторы исхода ЭКО

Цитокины	Клетки-продуценты	Функция	Источники литературы
		Положительное влияние	
LIF	Клетки стромы	Влияют на количество и качество ооцитов, эмбрионов, коррелируют с уровнем гормонов в ФЖ	A. Winship и соавт. (2015) [37]
GDF-9, BMP-15	Ооциты, клетки гранулезы	Улучшают показатели оплодотворения, дробления	F. Gode и соавт. (2011) [38]; F. Otsuka (2011) [12]
IGF-I, II, IGFBP-1	Клетки трофобласта	IG-1 и IGFBP-1 в ФЖ положительно коррелируют с качеством и зрелостью ооцитов, эмбрионов	T. Wang и соавт. (2006) [25]
G-CSF, M-CSF, GM-CSF	Макрофаги теки, нейтрофилы	Участвуют в процессе овуляции, влияют на положительный исход цикла ЭКО	E. Adashi и соавт. (2000) [24]; T. Gaafar и соавт. (2014)]40]
		Отрицательное влияние	
IL-1β	Лимфоциты, клетки теки, гранулезы	Содержание IL-1β в ФЖ выше при отрицательном исходе ЭКО	C. Mendoza и соавт. (2002) [44]
IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, TNF-α	Т-клетки, NK	Негативно влияют на качество ооцитов и эмбрионов; коррелируют с отрицательным исходом ЭКО	T. Wang и соавт. (2006) [25]; N. Malhotra и соавт. (2013) [46]
ИФН-γ	Т-клетки, NK	Негативно влияют на оплодотворение, овуляцию; вызывают выкидыши	A. Sarapik и соавт. (2012) [7]
		Противоречивые данные	
IL-8, IL-18	Клетки гранулезы, теки	Положительно коррелируют с количеством ооцитов; ассоциированы с развитием СГЯ	S. Field (2014) [1]; A. Singh и соавт. (2016) [45]; V. Günther и соавт. (2016) [47]
VEGF	Клетки теки, гранулезы	Высокий уровень VTGF связан с высоким качеством ооцитов, эмбрионов, положительным исходом ЭКО; содержание VEGF в ФЖ значительно ниже в группе беременных	P. Monteleone и соавт. (2008) [49]; S. Chen и соавт. (2010) [48]; M. Kudsy и соавт. (2016) [18]

LIF играет важную роль в процессе овуляции, продукции эстрогена и раннего эмбрионального развития, регулируя рост и дифференцировку эмбриональных стволовых клеток. Согласно данным, содержание LIF коррелирует с уровнем эстрадиола и прогестерона в ФЖ, а также с количеством и качеством ооцитов и эмбрионов [36, 37]. Важная роль LIF в имплантации была показана на экспериментальной модели мышей, нокаутированных по LIF, у которых беременность не наступала [37].

Примечательно, что цитокины семейства TGF-β играют важную роль на всех этапах фолликулогенеза, в том числе позитивно влияют на качество ооцитов и эмбрионов. Так, содержание TGF-β_1 в ФЖ положительно коррелирует с оплодотворением и беременностью в цикле ЭКО [1]. Повышенное содержание GDF-9 и BMP-15 в ФЖ связано с более высокими показателями оплодотворения и дробления и соответственно с высоким качеством эмбрионов [38]. В ФЖ оплодотворенных и развивающихся эмбрионов обнаруживается более высокий уровень BMP-15 по сравнению с ФЖ неоплодотворенных ооцитов [38]. При этом показано, что концентрация BMP-15 в ФЖ позитивно коррелирует с уровнем эстрадиола [39]. Ростовые факторы, такие как IGF и IGF-связывающие белки (IGFBP), необходимы для полноценного роста и развития ооцитов. Уровень IGF-2, IGFBP-3 и IGFBP-4 в ФЖ позитивно коррелирует с оплодотворенными ооцитами и последующим дроблением и развитием эмбриона [25]. В других исследованиях также показано, что содержание IGF-1 и IGFBP-1 в ФЖ положительно коррелирует с качеством и зрелостью ооцитов, а соотношение IGF-1/IGFBP-1 значительно выше в ФЖ и сыворотке крови у женщин с успешным циклом ЭКО [25]. Другой ростовой фактор — G-CSF также положительно влияет на количество оплодотворенных ооцитов и наступление беременности [40].

Цитокины, негативно влияющие на исход цикла ЭКО. Умеренные концентрации провоспалительных цитокинов в ФЖ необходимы для усиления пролиферации клеток гранулезы, стимуляции апоптоза и атрезии фолликулов [7]. Однако повышенное содержание таких цитокинов, как TNF-α, IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, IL-17, может негативно влиять на эмбриогенез **(см. таблицу)** [41]. В исследованиях T. Gaafar и соавт. [40] показана связь TNF-α с уменьшением количества оплодотворенных ооцитов в цикле ЭКО. Аналогичные данные получены в экспериментальных работах P. Soto и соавт. [42], продемонстрировавших, что повышенное содержание TNF-α в ФЖ тормозит созревание ооцитов и приводит к увеличению частоты хромосомных аномалий [42]. IL-2 стимулирует продукцию IL-6 и TNF-α, совместно с IL-6 индуцирует созревание фолликулов, участвует в созревании желтого тела. В работе F. Kawasaki и соавт. [43] показано, что уровень IL-6 в ФЖ зрелых фолликулов значительно выше, чем в ФЖ незрелых фолли-

кулов. Но высокая концентрация IL-6 неблагоприятно влияет на качество ооцитов и эмбрионов, увеличивает частоту отрицательных исходов ЭКО, провоцирует развитие синдрома гиперстимуляции яичников [26]. Известно, что IL-2 оказывает супрессорное действие на чХГ-стимулированную продукцию прогестерона клетками гранулезы, что негативно влияет на имплантацию эмбриона [44]. Отрицательные исходы ЭКО чаще регистрировались у женщин с высоким содержанием IL-1β, MIP-1α и RANTES в ФЖ, чем у пациенток с позитивным исходом и наступлением последующей беременности [44]. Аналогичные данные получены при исследовании содержания IL-4 и IL-12 в ФЖ, высокий уровень которых связан со сниженной оплодотворяющей способностью ооцитов, низким процентом зрелых ооцитов, плохим качеством эмбрионов и отрицательным исходом ЭКО [7, 45, 46]. Повышение уровня IFN-γ ингибирует овуляцию и вызывает ранние потери беременности [7].

Цитокины осуществляют взаимодействие между развивающимся ооцитом и окружающими клетками, контролируя все этапы фолликулогенеза. Логично предположить, что уровень тех или иных факторов в ФЖ может послужить прогностическим маркером в получении эмбрионов высокого качества и наступлении беременности, что в последующем, возможно, послужит основанием для разработки иммунотерапии для женщин с негативным исходом ЭКО. Вместе с тем относительно влияния некоторых цитокинов на эмбриогенез имеются противоречивые сообщения. Так, рядом авторов [7] отмечено позитивное влияние IL-8 на процесс созревания ооцитов. Также показано, что высокий уровень IL-18 положительно коррелирует с количеством ооцитов [7] и может рассматриваться как прогностический маркер эффективности ЭКО [47]. Другие авторы [7, 45, 46] связывают высокую концентрацию IL-8 и IL-18 с идиопатическим бесплодием и отрицательным исходом ЭКО. Негативный эффект IL-8 и IL-18 связан с возникновением серьезного осложнения цикла ЭКО — синдромом гиперстимуляции яичников [46, 48]. Развитие синдрома гиперстимуляции яичников также ассоциировано с повышенным содержанием VEGF в ФЖ [18]. Высокий уровень VEGF связывают с плохим оплодотворением и преждевременной лютеинизацией [48]. Однако в работе P. Monteleone и соавт. [49] отмечалась противоположная связь — ооциты, полученные из фолликулов с большим содержанием VEGF, показали более высокую частоту оплодотворения, эмбрионы лучшего качества и более частое наступление беременности.

Суммируя представленные данные, можно заключить, что различные этапы фолликулогенеза контролируются с вовлечением широкого спектра цитокинов, продуцируемых клетками гранулезы, теки и локализованными среди них ИКК. Нарушение цитокиновой регуляции ассоциировано со снижением качества ооцитов и неудачной имплантацией эмбриона. При этом концентрация отдельных цитокинов в образцах фолликулярной жидкости может характеризоваться прогностической значимостью в отношении качества эмбрионов и эффективности ЭКО.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Field S, Dasgupta T, Cummings M, Orsi NM. Cytokines in ovarian folliculogenesis, oocyte maturation and luteinisation. *Molecular reproduction and Development*. 2014;81(4):284-314.
   doi: 10.1002/mrd.22285
2. Ye H, Li X, Zheng T, Liang X, Li J, Huang J, Pan Z, Zheng Y. The effect of the immune system on ovarian function and features of ovarian germline stem cells. *Springerplus*. 2016;5(1).
   doi.org/10.1186/s40064-016-2390-3
3. Carlock C, Wu J, Zhou C, Ross A, Adams H, Lou Y. Ovarian phagocyte subsets and their distinct tissue distribution patterns. *Reproduction*. 2013;146(5):491-500.
   doi: 10.1530/rep-13-0134
4. Krízan J, Cuchalová L, Síma P, Králícková M, Madar J, Vetvicka V. Altered distribution of NK and NKT cells in follicular fluid is associated with IVF outcome. *J Reprod Immunol.* 2009;82(1):84-88.
   doi: 10.1016/j.jri.2009.05.005
5. Wu R, Hoek KH, Ryan NK, Norman RJ, Robker RL. Macrophage contributions to ovarian function. *Hum Reprod Update*. 2004;10(2):119-133.
   doi: 10.1093/ humupd/dmh011
6. Останин А.А., Айзикович Б.И., Айзикович И.В.,Черных Е.Р. Роль цитокинов в регуляции репродуктивной функции. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2007;143(1): 75-79.
   doi.org/10.1007/s10517-007-0021-2
7. Sarapik A, Velthut A, Haller-Kikkatalo K, Faure GC, Béné MC, Bittencourt MC, Massin F, Uibo R, Salumets A. Follicular proinflammatory cytokines and chemokines as marker of IVF success. *Clinical and Developmental Immunology*.2012;2012:10.
   doi:10.1155/2012/606459
8. Nóbrega JJ, Goncalves PB, Chaves RN, Magalhães DM, Rossetto R, Lima-Verde IB, Pereira GR, Campello CC, Figueiredo JR, Oliveira JF. Leukemia inhibitory factor stimulates the transition of primordial to primary follicle and supports the goat primordial follicle viability in vitro. *Zygote*. 2012;20(1):73-78.
   doi: https: //doi.org/10.1017/s0967199411000074
9. Kezele P, Nilsson EE, Skinner MK. Keratinocyte growth factor acts as a mesenchymal factor that promotes ovarian primordial to primary follicle transition. *Biol Reprod.* 2005;73(5):967-973.
   doi.org/ 10.1095/biolreprod.105.043117

10. Hennet ML, Combelles CM. The antral follicle: a microenvironment for oocyte differentiation. *Int J Dev Biol*. 2012;56:819-831.
doi: 10.1387/ijdb. 120133cc

11. Castro FC, Cruz MH, Leal CL. Role of Growth Differentiation Factor 9 and Bone Morphogenetic Protein 15 in Ovarian Function and Their Importance in Mammalian Female Fertility. *Asian-Australas J Anim Sci*. 2016;29(8):1065-1074.
doi: 10.5713/ajas.15.0797

12. Otsuka F, Tavish KM, Shimasaki S. Integral Role of GDF-9 and BMP-15 in Ovarian Function. *Mol Reprod Dev*. 2011;78(1):9-21.
doi: 10.1002/mrd.21265

13. Nilsson E, Rogers N, Skinner MK. Actions of anti-Müllerian hormone on the ovarian transcriptome to inhibit primordial to primary follicle transition. *Reproduction*. 2007;134:209-221.
doi: 10.1530/rep-07-0119

14. Fujihara M, Comizzoli P, Keefer CL, Wildt DE, Songsasen N. Epidermal Growth Factor Sustains In Vitro Primordial Follicle Viability by Enhancing Stromal Cell Proliferation via MAPK and PI3K Pathways in the Prepubertal, but Not Adult, Cat Ovary. *Biology of Reproduction*. 2014;90(4):1-10.
doi: 10.1095/biolreprod.113.115089

15. Chaves RN, Matos MH, Buratini JJ, Figueiredo JR. The fibroblast growth factor family: involvement in the regulation of folliculogenesis. *Reprod Fertil Dev*. 2012;24:905-915.
doi: 10.1071/rd11318

16. Mishra SR, Thakur N, Somal A, Parmar MS, Reshma R, Rajesh G, Yadav VP, Bharti MK, Bharati J, Paul A, Chouhan VS, Sharma GT, Singh G, Sarkar M. Expression and localization of fibroblast growth factor (FGF) family in buffalo ovarian follicle during different stages of development and modulatory role of FGF2 on steroidogenesis and survival of cultured buffalo granulosa cells. *Res Vet Sci*. 2016;108:98-111.
doi: 10.1016/j.rvsc.2016.08.012

17. Almeida AP, Magalhães-Padilha DM, Araújo VR, Costa SL, Chaves RN, Lopes CA, Donato MA, Peixoto CA, Campello CC, Junior JB, Figueiredo JR. Effect of sequential medium with fibroblast growth factor-10 and follicle stimulating hormone on in vitro development of goat preantral follicles. *Anim Reprod Sci*. 2015;152:32-38.
doi: 10.1016/j.anireprosci. 2014.11.010

18. Kudsy M, Alhalabi M, Quobaili FA. Follicular fluid Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) could be a predictor for pregnancy outcome in normo-responders and polycystic ovary syndrome women undergoing IVF/ICSI treatment cycles. *Middle East Fertility Society Journal*. 2016;21(1):52-56.
doi.org/10.1016/j.mefs.2015.11.001

19. Young JM, McNeilly AS. Theca: the forgotten cell of the ovarian follicle. *Reproduction*. 2010;140:489-504.
doi.org/10.1530/rep-10-0094

20. Dumesic DA, Meldrum DR, Katz-Jaffe MG, Krisher RL, Schoolcraft WB. Oocyte environment: follicular fluid and cumulus cells are critical for oocyte health. *Fertil Steril*. 2015;103(2):303-316.
doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.11.015

21. Rimon-Dahari N, Yerushalmi-Heinemann L, Alyagor L, Dekel N. Ovarian Folliculogenesis. *Results Probl Cell Differ*. 2016;58:167-190.
doi: 10.1007/978 -3-319-31973-5_7

22. Gizzo S, Quaranta M, Andrisani A, Bordin L, Vitagliano A, Esposito F, Venturella R, Zicchina C, Gangemi M, Noventa M. Serum Stem Cell Factor Assay in Elderly Poor Responder Patients Undergoing IVF: A New Biomarker to Customize Follicle Aspiration Cycle by Cycle. *Reprod Sci*. 2016;23(1):61-68.
doi: 10.1177/1933719115594020

23. Dahm-Kähler P, Runesson E, Lind AK, Brännström M. Monocyte chemotactic protein-1 in the follicle of the menstrual and IVF cycle. *Mol Hum Reprod*. 2006;12(1):1-6.
doi.org/10.1093/ molehr/gah256

24. Adashi EY. Periovulatory Changes in Ovarian. In: Adashi E.Y. (Ed.). *Ovulation: Evolving Scientific and Clinical Concepts*. New York: Springer. 2000;265-276.

25. Wang TH, Chang CL, Wu HM, Chiu YM, Chen CK, Wang HS. Insulin-like growth factor-II (IGF-II), IGF-binding protein-3 (IGFBP-3), and IGFBP-4 in follicular fluid are associated with oocyte maturation and embryo development. *Fertil Steril*. 2006;86(5):1392-1401.
doi: 10.1016/ j.fertnstert.2006.03.064

26. Altun T, Jindal S, Greenseid K, Shu J, Pal L. Low follicular fluid IL-6 levels in IVF patients are associated with increased likelihood of clinical pregnancy. *J Assist Reprod Genet*. 2011;28(3):245-251.
doi: 10.1007/s10815-010-9502-8

27. Dewailly D, Robin G, Peigne M, Decanter C, Pigny P, Catteau-Jonard S. Interactions between androgens, FSH, anti-Müllerian hormone and estradiol during folliculogenesis in the human normal and polycystic ovary. *Hum Reprod Update*. 2016;22(6):709-724.
doi.org/10.1093/ humupd/dmw027

28. Zackrisson U, Lofman CO, Janson PO, Wallin A, Mikuni M, Brannstrom M. Alterations of follicular microcirculation and apex structure during ovulation in the rat. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2011;157:169-174.
doi: 10.1016/j.ejogrb. 2011.03.025

29. Boots CE, Jungheim ES. Inflammation and Human Ovarian Follicular Dynamics. *Semin Reprod Med*. 2015;33(4):270-275.
doi: 10.1055/s-0035-1554928

30. Oakley OR, Kim H, Amouri I, Lin PC, Cho J, Bani-Ahmad MK. Periovulatory leukocyte infiltration in the rat ovary. *Endocrinology*. 2010;151:4551-4559.
doi: 10.1210/en.2009-1444

31. Hansen PJ, Dobbs KB, Denicol AC. Programming of the preimplantation embryo by the embryokine colony stimulating factor-2. Animal Reproduction Science. 2014;149(1-2):59-66.
doi: 10.1016/j.anireprosci.2014.05.017

32. Calhaz-Jorge C, Geyter C, Kupka MS, Mouzon J, Erb K, Mocanu E, Motrenko T., Scaravelli G, Wyns C, Goossens V. Assisted reproductive technology in Europe, 2012: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod*. 2016;31(8):1638-1652.
doi: 10.1093/ humrep/dew151

33. Kuliev A, Verlinsky Y. Meiotic and mitotic nondisjunction: lessons from preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod Update*. 2004;10(5):401-407.
doi.org/10.1093/humupd/dmh036

34. Seli E, Botros L, Sakkas D, Burns DH. Noninvasive metabolomic profiling of embryo culture media using proton nuclear magnetic resonance correlates with reproductive potential of embryos in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2008;90(6):2183-2189.
doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.07.1739

35. Uyar A, Seli E. Metabolomic Assessment of Embryo Viability. *Semin Reprod Med*. 2014;2(32):141-152.
doi: 10.1055/s-0033-1363556

36. Salleh N, Giribabu N. Leukemia inhibitory factor: roles in embryo implantation and in nonhormonal contraception. *Scientific World Journal*. 2014;2014:10.
doi.org/10.1155/2014/201514

37. Winship A, Correia J, Krishnan T, Menkhorst E, Cuman C, Zhang JG, Nicola NA, Dimitriadis E. Blocking Endogenous Leukemia

Inhibitory Factor During Placental Development in Mice Leads to Abnormal Placentation and Pregnancy Loss. *Sci Rep*. 2015;5.

doi: 10.1038/srep13237

38. Gode F, Gulekli B, Dogan E, Korhan P, Dogan S, Bige O, Cimrin DA. Influence of follicular fluid GDF-9 and BMP-15 on embryo quality. *Fertil Steril*. 2011;95:2274-2278.

doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.03.045

39. Revelli A, Piane LD, Casano S, Molinari E, Massobrio M, Rinaudo P. Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics. Reproductive *Biology and Endocrinology*. 2009;7(40).

doi: 10.1186/ 1477-7827-7-40

40. Gaafar TM, Hanna MO, Hammady MR, Amr HM, Osman OM, Nasef A, Osman AM. Evaluation of cytokines in follicular fluid and their effect on fertilization and pregnancy outcome. *Immunol Invest*. 2014;43(6):572-584.

doi: 10.3109/08820139.2014.901974

41. Southcombe J, Lédée N, d'Hauterive SP, Turner K, Child T, Snider JV, Redman SW, Sargent SL, Granne I. Detection of Soluble ST2 in Human Follicular Fluid and Luteinized Granulosa Cells. *PLOS ONE*.2013;8(9).

doi: 10.1371/journal.pone. 0074385

42. Soto P, Natzke RP, Hansen PJ. Actions of tumor necrosis factor-alpha on oocyte maturation and embryonic development in cattle. *Am J Reprod Immunol*. 2003;50(5):380-388.

doi.org/10.1034/j.1600-0897. 2003.00101.x

43. Kawasaki F, Kawano Y, Kosay Hasan Z, Narahara H, Miyakawa I. The clinical role of interleukin-6 and interleukin-6 soluble receptor in human follicular fluids. *Clinical and Experimental Medicine*. 2003;3(1):27-31.

doi.org/10.1007/s102380300012

44. Mendoza C, Ruiz-Requena E, Ortega E, Cremades N, Martinez F, Bernabeu R, Greco E, Tesarik J. Follicular fluid markers of oocyte developmental potential. *J Hum Reprod*. 2002;17(4):1017-1022.

doi.org/10.1093/humrep/17.4.1017

45. Singh AK, Dutta M, Chattopadhyay R, Chakravarty B, Chaudhury K. Intrafollicular IL-8, IL-12 and adrenomedullin are the promising prognostic markers of oocyte and embryo quality in women with endometriosis. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(10):1363-1372.

doi: 10.1007/s10815-016-0782-5

46. Malhotra N, Srivastava A, Rana H, Bahadur A, Sengupta J, Ghosh D. Comparative multiplex analysis of cytokines, chemokines and growth factors in follicular fluid of normoresponder women undergoing ovum donation with gonadotropin-releasing hormone agonist versus gonadotropin-releasing hormone antagonist protocols. *J Hum Reprod Sci*. 2013;6(3):205-212.

doi: 10.4103/0974-1208.121424

47. Günther V, Alkatout I, Fuhs C, Salmassi A, Mettler L, Hedderich J, Maass N, Elessawy M, Schmutzler AG, Eckmann-Scholz C. The Role of Interleukin-18 in Serum and Follicular Fluid during In Vitro Fertilization and Intracytoplasmic Sperm Injection. *Biomed Res Int*. 2016;2016:1-8.

doi.org/10.1155/2016/6379850

48. Chen SU, Chou CH, Lin CW, Lee H, Wu JC, Lu HF, Chen CD, Yang YS. Signal mechanisms of vascular endothelial growth factor and interleukin-8 in ovarian hyperstimulation syndrome: Dopamine targets their common pathways. *Hum Reprod*. 2010;25:757-767.

doi: 10.1093 /humrep/dep432

49. Monteleone P, Giovanni P, Simi G, Casarova E, Celo V, Genazzani A. Follicular fluid VEGF levels directly correlate with perifollicular blood flow in normoresponder patients undergoing IVF. *J Assist Reprod Genet*. 2008;25(5):183-186.

doi: 10.1007/s10815-008-9218-1