**IMMUNOLOGICAL ASPECTS OF DEVELOPMENT OVARIAN INSUFICIENCY**

**O.A.Kuzmina, I.U.Kuzmina.**

**Abstract: Introduction.** При воспалении гениталий начальной стадией развития аутоиммунного процесса является активация Т и В-клеток иммунитета чужеродными микроорганизмами, которые повышают экспрессию провоспалительных цитокинов и приводят к овариальной недостаточности.

**Sources of data.** Проведен анализ иммунного статуса у 237 женщин с воспалительными процессами гениталий.

**Areas of agreement**. Пациентки были разделены на группы: 1-я -109 женщин с циркулирующими овариальными (OV) антителами (OV+); 2-я -128 пациенток без циркулирующих антител (OV-). группах пациенток..

**Areas of controversy.** Понижение СD3 и СD4-лимфоцитов у больных с первичной овариальной недостаточностью является прогностическим критерием аутоиммунного повреждения ткани гонад.

**Growing points.** При воспалении гениталий происходит сложная перестройка иммунного гомеостаза, затрагивающая иммунокомпетентные клетки. Определение овариальных аутоантител, может служить клиническим маркером для ранней диагностики и терапии овариальной недостаточности.

**Keywords:** овариальная недостаточность, воспаление гениталий, иммунология.

**О.А. Кузьмина, И.Ю.Кузьмина**

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ ОВАРИАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

**Харьковский национальный медицинский университет**

Развитие аутоиммунного процесса протекает по закономерностям, характерным для синдрома системного воспалительного ответа, который, наряду с защитным эффектом, может оказывать повреждающее влияние на органы и системы больного [1]. Моделирование аутоиммунного процесса яичников в эксперименте, привели к предположению, что при аутоиммунном оофорите (АО) имеет место процесс непрекращающейся атрезии фолликулов, протекающий в циклическом режиме [2]. Воспалительные реакции и патологическая продукция цитокинов оказывают цитолитическое действие, приводящее к процессу атрезии фолликулов и к стимуляции роста антиовариальных антител с развитием ановуляторного синдрома [3].

В патогенезе АО условно можно выделить два взаимодополняющих процесса: развитие воспалительной реакции в яичнике и активация аутореактивных клеток. Большинство современных концепций отводит ведущую роль в развитии и регуляции аутоиммунного воспалительного процесса цитокинам, которые синтезируются преимущественно макрофагами и лимфоцитами на активацию антигеном [4]. Согласно этой схеме, начальной стадией развития аутоиммунного процесса является активацияТ и В-клеток иммунитета чужеродными микроорганизмами, собственными белками или микробными суперантигенами. После контакта с антигенами Т-лимфоциты дифференцируются в клетки, продуцирующие различные типы цитокинов [5]. Активация лимфоцитов и моноцитов проводит к повышению экспрессии провоспалительных цитокинов IFN-y, TNF-a и IL-1, которые в свою очередь стимулируют молекулы главного комплекса гистосовместимости (HLA-D) класса II [6]. Определение аутоантител, может служить клиническим маркером для ранней диагностики заболеваний и позволит своевременно и качественно назначать соответствующую терапию.

**Purpose of investigation-** оптимизация методов диагностики овариальной недостаточности на основании определения иммунологических маркеров активности аутоиммунных процессов.

**Materials and methods of investigation.** Обследовано 237 женщин репродуктивного возраста с клинико-анамнестическими данными о перенесенных хронических воспалительных заболеваний органов малого таза (ХВЗОТ) длительностью более 1-го года, которые были разделены на клинические группы по признаку наличия или отсутствия циркулирующих антиовариальных антител в сыворотке крови. 1-я группа**:** 109 пациенток с циркулирующими OV – антителами (OV+); 2-я группа**:** 128 пациенток без циркулирующих OV- антител (OV-). Проведен анализ иммунного статуса в клинических группах пациенток.

Количественное определение Т-лимфоцитов (CD3), субпопуляций (CD4, CD8,CD16) и В-лимфоцитов (CD 19) проводили при помощи реакции непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител (АО «Сорбент», Москва). Количественное определение иммуноглобулина IgA, IgM, IgG, IgE производили иммуноферментным анализом (ИФА) в сыворотке крови, (ЗАО «Вектор-Бест»). Определение TNF-a в сыворотке крови выполняли при помощи ИФА (ProCon TNF-α ), антител к ткани яичника – ИФА («Biosor» Германия) - нормальные значения 0-10 Ед/мл, повышенные значения 11 и более Ед/мл).

**Results of investigation and their discussion.**

Показатели содержания цитокинов и иммуноглобулинов у обследованных женщин представлены в таблице 1.

Таблица 1 **Содержание цитокинов и иммуноглобулинов в группах пациенток**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Цитокиныпкг/мл | Клинические группы |
| 1 группа (OV+) n=109 | 2 группа (OV-)n=128 |
| 1 | Интерлейкин -1 | 1053,41±l,14\* | 368,82 ±0,10\* |
| 2 | Интерлейкин -4 | 181,68 ± 21,13\* | 78,60 ±1,71\* |
| 3 | Интерлейкин -6 | 83,87± 0,63\* | 57,61±0,51\* |
| 4 | Интерлейкин - 10 | 18,65±0,17 | 28,63±2,1 |
| 5 | Интерлейкин- 12 | 74,16±0,52 | 100,40±2,7 |
| 6 | TNF-a | 1250,0±4,70\* | 196,88 ±0,43\* |
| 7 | IFN-y | 122,37±0,91\* | 59,99±1,1\* |
| 8 | IFN-a | 29,61± 0,21 | 27,84±1.9 |
| 9 | IgA | l,54±0,05 | l,77±0,03 |
| 10 | IgM | l,56±0,17 | l,67±0,02 |
| 11 | IgG | 4,22± 0,04 | 5,73±0,07 |
| 12 | IgE | 79,99±0,60\* | 72,02±l,ll |

\*- достоверные отличия показателей

Из полученных данных видно, что изменения отмечены у женщин 1-ой группы в концентрации IgE, что указывало на активность аутоиммунных процессов IgM-антитела, образующиеся на начальных этапах иммунного ответа, обладают низким сродством к антигену. IgG антитела, представляющие собой основной тип антител, обладают более высоким сродством к антигену и разнообразным спектром биологических эффектов [7]. IgA - антитела, которые способны проникать сквозь эпителиальные клетки слизистых оболочек и обеспечивать их защиту - снижение их сывороточного содержания у пациенток обследуемых групп характеризует снижение активности гуморального иммунитета при длительных ХВЗОТ. При этом повышенный уровень IgE приводит к запуску аллергических реакций, вероятно, снижению ауторезистентности при ХВЗОТ [8].

Исследования изменений показателей клеточного иммунитета установили повышение общего числа Т-лимфоцитов (CD3) (1-я группа-41,2±1,1%, 2-я группа - 69,8±2,4%, р<0,05). Процентное содержание Т-хелперов-индукторов (CD4) также повышалось в группах соответственно (1-я группа-30,6±1,4%, 2-я группа-36,9±1,9%, р<0,05). В то же время количество Т-супрессоров (CD8) (1-я группа - 27,8±2,4%, 2-я группа-21,5±3,6%, при тенденции к увеличению в OV-серопозитивной группе, достоверно не отличалось от данного показателя 2-ой клинической группы). Коэффициент соотношения CD4/CD8 достоверно был выше у OV-серонегативных пациенток (1-я группа-1,12+0,1, 2-я группа-1,71 ±0,2, р<0,05). Содержание натуральных киллеров (CD 16) (1-я группа- 8,3±0,4%, 2-я группа-10,8±1,1%, р>0,05) достоверно в клинических группах не изменялся.

Эти тенденции, в значительной степени, отличались зависимостью от длительности течения патологического процесса (табл.2). Снижение СD3 и СD4-клеток, в зависимости от длительности хронического воспалительного процесса яичников, вероятно, приводит к интенсификации процесса внутриклеточной активности и является прогностическим критерием аутоиммунного повреждения ткани гонад [9].

Было установлено, что в отличии от Т-лимфоцитов, количество В-лимфоцитов (CD 19) отличались от контрольных значений незначительно, хотя и имела место тенденция к повышению, значимо у больных с большим длительностью заболевания (табл. 2).

Несколько снижался также уровень натуральных киллеров (CD 16). Поскольку этот вид лимфоцитов выполняет цитотоксическую функцию, уменьшение их значений вероятно способствовали хронизации инфекционного процесса.

Анализируя данные очевидно, что наиболее наглядным признаком изменений, касающихся Т-клеточного звена иммунитета, является значитель­ное уменьшение уровня иммунорегуляторного индекса, в основном за счет диспропорционального увеличения CD8, показателей "агрессивности" иммунного ответа локального или системного характера на микст-инфекцию.

Для более объективного анализа клинико-лабораторных данных обследуемые женщины были разделены на 3 подгруппы, в зависимости от длительности ХВЗОТ: 1-я подруппа - от 1 года до 5 лет, 2-я подруппа - от 5 до 10 лет, 3-я подруппа - более 10 лет. Было установлено, что частота образования поликлональных антиовариальных антител был пропорционален длительности заболевания. Иммунологическими исследованиями обнаружено, что при длительности ХВЗОТ свыше 5 лет формирование

антиовариальных антител в 2,5 раза чаще, чем у пациенток с менее длительным анамнестическим сроком заболевания.

Настоящими исследованиями было показано, что у обследуемых женщин имели место значительные «перестройки» показателей клеточного иммунитета. Так, было обнаружено снижение общего числа Т-лимфоцитов (CD3). Процентное содержание Т-хелперов/индукторов (CD4) было также снижено по сравнению с контролем. В то же время количество Т-супрессоров (CD8) уменьшалось незначительно и достоверно от контрольных данных не отличалось. Количественные данные, характеризующие описанные изменения, представлены в таблице 2.

Таблица 2

**Показатели клеточного иммунитета у обследуемых групп женщин в зависимости от длительности ХВЗОТ**

|  |  |
| --- | --- |
| 1-ая группа п=109 | Показатели, % |
| CD3 | CD4 | CD8 | CD4/CD8 | CD16 | CD19 |
| 1-я подгруппа | 51,6±2,1\* | 38,2±1,7\* | 25,6±1,3 | 1,52 | 12,7±1,1 | 9,6±0,8 |
| 2-я подгруппа | 46,5±1,9\* | 33,6±1,6\* | 2,3±1,3 | 1,37 | 10,8±0,9 | 8,8±0,6 |
| 3-я подгруппа | 40,2±1,1\* | 30,6±1,4\* | 23,5±1,2 | 1,30\* | 9,6±0,7\* | 8,3±0,4\* |
| популяция норма | 69,8±2,4 | 49,6±1,9 | 22,3±1,1 | 2,22 | 14,6±1,4 | 10,8±1,1 |

\* - отмечены показатели, достоверно отличающиеся от нормы (р<0,05)

Было обнаружено, что в отличие от Т-лимфоцитов, количество В-лимфоцитов (CD 19) отличалось от контрольных значений незначительно, хотя и имела место тенденция к снижению, особенно у больных с большей длительностью заболевания. Кроме снижения Т-хелперов незначительно снизился также уровень натуральных киллеров (CD 16) в подгруппе с длительностью ХВЗОТ более 5 лет. Поскольку этот вид лимфоцитов выполняет цитотоксическую функцию, уменьшение их значений также способствовали хронизации инфекционного процесса.

Как уже отмечено выше, в развитии аутоиммунных процессов экспериментально и клинически неоднократно подчеркивалась роль провоспалительного звена иммунитета, главным образом провоспалительных интерлейкинов цитокинового каскада (IL-1, IFN-y, TNF-a). Перечисленные белковые продукты клеток обусловливают развитие гиперчувствительности замедленного типа, формирование цитотоксических реакций, активацию макрофагов, подавление гуморального ответа. Наиболее подробно описаны свойства IL-1, который усиливает индуцированную митогенами пролиферацию Т-лимфоцитов и антигензависимую активацию В-лимфоцитов, а также трансформацию последних в плазматические клетки, продуцирующие иммуноглобулины. Очевидно, что действие IL-1 на Т-лимфоциты значительно усиливает реакцию бласттрансформации Т-лимфоцитов на митогены и стимулирующих продукцию ими интерферона. Цитотоксические Т-лимфоциты вырабатывают IL-6, усиливающий пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов [10]. Определенную роль в формировании иммунного ответа играет противовоспалительный или регулирующий IL-4, который способствует дифференцировке CD4 клеток в хелперы второго типа (Th2), которые направляют развитие иммунного ответа в сторону реакций гуморального типа.

При сравнении провоспалительных цитокинов в указанных группах выявлено достоверное различие содержания IL-1(1-я группа-1053,41 ±1,14 пкг/мл, 2-я группа-368,82+0,10 пкг/мл, р<0,05), TNF-a (1-я группа-1250,0±4,70 пкг/мл, 2-я группа-196,88±4,3 пкг/мл, р<0,05), IFN-y (1-я группа- 122,37+ 0,91 пкг/мл, 2-я группа- 59,99± 1,1 пкг/мл, р<0,05).

Как наиболее стабильный показатель интенсивности аутоиммунного процесса TNF-a был пропорционален уровню циркулирующих антиовариальных антител и длительностью заболевания. Изменения IL-1 были также достоверны при анализе указанных подгрупп.

Таким образом, проведенные исследования показали, что при ХВЗОТ происходит сложная и неоднозначная перестройка иммунного гомеостаза, затрагивающая практически все этапы дифференцировки и пролиферации иммунокомпетентных клеток. Понижение СD3 и СD4-лимфоцитов у больных с первичной овариальной недостаточностью является прогностическим критерием аутоиммунного повреждения ткани гонад.

**Литература.**

1.Bakalov K., Anasti J., Calis K. , Vanderhoof V., Premkumar A., Chen S.,
Furmaniak J., Smith В., Nelson L. Autoimmune oophoritis as a
mechanism of follicular dysfunction in women with 46, XX spontaneous
premature ovarian failure // J. Fertil Steril - 2005.-Vol.84.-№4.-P.958-65.

2.Bannatyne P., Russell P., Shearman R. Autoimmune oophoritis: a clinicopathologic assessment of 12 cases // J. Gynecol. Pathol.-1990. - Vol. 9. -N3. -P. 191-207.

3. Barbarino-Monnier P., Gobert B, Guillet-Rosso F., Bene M., Landes P.,Faure G. Antiovary antibodies, repeated attempts and outcome of in vitro fertilization // J.Fertil. Steril.- 1991.-Vol.56. - P.928-932.

4. Carnaud C, Bach J. Cellular basis of T-cell autoreactivtty in autoimmune
diseases // J. Immunol. Res. - 1993. -Vol.12 - № 2 - P. 131-148.

5.Faustman G., Deniz R. Autoimmune oophoritis // J. Gynecol. Pathol. -
2000. - Vol.4.-P.275-289.

6.Giglio Т., Imro M., Filaci G., Scudeletti M. Immune cell circulating
subsets are affected by gonadal function // J. Hum Reprod. -1994. -Vol.
54.-№18.-P. 1305-1312.

7. Luborsky J., Visintin I., Boyer S., Asarit Т., Caldwell B. Ovarian
antibodies detected by immobilized antigen immunoassay in patients with
premature ovarian failure // J.Clin. Endocrinol. Metabol.-1990.-Vol. 70.-
P.69-75.

8.Neudorf S., Jones M. et al. The CD4 molecule transmits biochemical
information important in the regulation of T-lymphocite activity // J.Cell.
Immunol. -1990. - Vol. 125. № 2 - P. 301-314.

9.Ткаченко Н.Н., Потин В.В., Бескровный СВ. Патогенез и
диагностика аутоиммуного оофорита // Акушерство и гинекология.-
1989. №10.-С. 40-43.

10. Смагина Е.Е. Роль аутоиммунных процессов в патогенезе нормогонадотропной недостаточности яичников: Автореф. дис...канд. мед. наук. - СПб., 1995. -19 с.

11.Полетаев А.Б., Шерстнев В.В., Долгов О.Н. О некоторых теоретичес­ких предпосылках новых методов диагностики и лечения заболеваний аутоиммунного генеза // Вестник АМН СССР.-1982.№ 2.-С.53-55.