



Н. Г. Грищенко, А. Г. Геродес,
Ю. А. Котлик

Харьковский национальный
медицинский университет

Институт проблем
криобиологии и криомедицины
НАНУ, г. Харьков

Центр репродукции «Имплант»,
г. Харьков

© Н. Г. Грищенко, А. Г. Геродес,
Ю. А. Котлик

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМНОГО ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ С ТРУБНО- ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМ БЕСПЛОДИЕМ ДО И ПОСЛЕ КОНТРОЛИРУЕМОЙ ГИПЕРСТИМУЛЯЦИИ ЯИЧНИКОВ В ПРОГРАММЕ ЭКО

Резюме. Было проведено исследование сыворотки крови 41 пациентки с бесплодием, обусловленным перенесенными хроническими заболеваниями органов малого таза, которые были включены в программу экстракорпорального оплодотворения, и 30 добровольных доноров яйцеклеток. У более чем 40% больных обнаружены нарушения системного гуморального иммунитета по типу аутоенсибилизации. Приоритетная роль в нарушении системного гуморального иммунитета у больных с трубно-перитонеальной формой бесплодия принадлежит процессам аутоенсибилизации к овариальной ткани, что подтверждает патогенетическую значимость хронического воспалительного процесса в органах малого таза. Процесс индукции суперовуляции оказывает существенное иммуномодулирующее действие, направленное на ослабление аутоенсибилизации организма больных с бесплодием, обусловленным хроническим воспалительным процессом в органах малого таза.

Ключевые слова: бесплодие, хронические воспалительные заболевания органов малого таза, экстракорпоральное оплодотворение, гуморальный иммунитет.

Вступление

Нарушение репродуктивной функции является одной из важнейших проблем современной науки. Трубно-перитонеальные факторы бесплодия выявляют у 35—60% пациенток с нарушением генеративной функции [7]. Воспалительные заболевания органов малого таза занимают ведущее место в формировании трубно-перитонеального бесплодия [5]. В многочисленных исследованиях, посвященных изучению бесплодия, обусловленного хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза (ХВЗОМТ), авторы указывают на роль иммунных механизмов в развитии данного заболевания [4, 9, 12, 19].

Под влиянием хронических воспалительных заболеваний на фоне патологических иммунных реакций в организме женщины могут образовываться аутоантитела к антигенам блестящей оболочки яйцеклетки, что также является причиной бесплодия [2, 11, 13, 16, 18, 19]. В ряде случаев у страдающих бесплодием женщин, у которых обнаруживались антитела против блестящей оболочки, наблюдалось повышение уровня циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), содержащих IgG [13, 15].

Есть данные, подтверждающие, что при иммунологическом бесплодии в крови пациенток было обнаружено высокое содержание аутоиммунных лимфоцитотоксических антител, а также гетерофильных гемолизиннов [6].

Антиспермальный иммунный ответ развивается на фоне местной инфекции в половых органах за счет перекрестно реагирующих антигенов, которые стимулируют действие инфекционных

агентов и благодаря местным воспалительным реакциям облегчают всасывание в кровь антигенов [14, 20]. В женском организме антигены сперматозоидов выступают как изоантигены, таким образом, антиспермальные антитела женского организма относятся к изоантителам [10]. Механизм действия антиспермальных антител различен. Они могут угнетать акросомальные ферменты, препятствуя прикреплению сперматозоидов к блестящей оболочке яйцеклетки, предотвращают имплантацию вследствие наличия антител, продуцирующихся в эндометрии и вызывающих отторжение бластоцисты [17].

Учитывая тот факт, что активация иммунного ответа при трубно-перитонеальном бесплодии имеет важное значение, поскольку может приводить к неудачам в программах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), было решено провести исследование некоторых показателей гуморального иммунитета в периферической крови у пациенток с бесплодием, обусловленным хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза, до и после контролируемой гиперстимуляции яичников.

Материалы и методы

Было проведено обследование 41 супружеской пары, обратившейся для лечения трубно-перитонеального бесплодия в Центр репродукции «Имплант» (Харьков), и 30 добровольных доноров яйцеклеток.

Клинический материал был разделен на 2 группы. Первую составили пациентки с бесплодием, обусловленным перенесенными хроническими за-

болеваніями органів малого таза ($n=41$); другу, контрольну, — клінічно здорові жінки — добровільні донори яйцекліток ($n=30$).

Перед включенням в протокол контролюваної гіперстимуляції яєчників (КГЯ) безплідні подружні пари і донори ооцитів були обстежені в загальноприйнятій кількості, згідно клінічному протоколу МЗ України регламентуючому тактику ведення жінки з безпліддям (Наказ від 15.12.2003 № 582 «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги»).

При індукції суперовуляції був використаний загальноприйнятий «довгий протокол» з десенситизацією гіпофіза, починаючись в лютеїнової фазі циклу, передшествуючого лікуванню, з використанням «дейлі»-форм аналогів гонадотропіна — релізинг-гормона (Трипторелін, Dipherelin, «Beaufour Ipsen Pharma»). Для КГЯ застосовували препарат рекомбінантного фолікулостимулюючого гормону (Gonal-F, «Serono»). Для моніторингу фолікулогенезу і зміни структури ендометрія проводили динамічну фолікулометрію при допомозі ультразвукового сканування органів малого таза з інтервалом 1—3 днів. Дослідження проводили при допомозі ультразвукового експертного монохромного сканера Falcon 2101 EXL B-K Medical (Данія). При цьому застосовували вагінальний секторальний датчик з частотою сканування 7,5 МГц. Через 34—35 годин після введення триггерної дози хоріонічного гонадотропіна (10 000 ЕД, Прегніл, «Schering-Plough»), імітуючого ендогенний пік лютеїнізуючого гормону, у всіх пацієнток, включених в дослідження, під ультразвуковим контролем в асептичних умовах була проведена аспірація вмісту фолікулів з використанням спеціалізованого аспіратора (Cook Aspiration Unit, K-MAR-5200 Vacuum Pump, COOK MEDICAL INC).

До початку протоколу стимуляції і в день одержання яйцекліток проводили забор крові пацієнток.

Вміст неспецифічних лімфотоксических аутоантітел в периферическій крові досліджували шляхом проведення лімфотеста за методикою Ivachkova [8]. Гетерофільні гемолізину визначали за методикою, запропонованою Л. В. Антипенської і соавт. [1]. Вміст ЦИК визначали за методикою В. Г. Передерія і соавт. [5].

Антиоваріальні, антиспермальні антітела і антітела до *zona pellucida* визначали імуноферментним методом з використанням набору реактивів DRG anti-Ovarian Ab ELISA (EIA-2937), DRG Sperm Antibody EIA-1826, DRG Zona Pellucida Ab Ig-Typing (EIA-3778), DRG International, Inc., U.S.A. відповідно рекомендацій виробника.

Сопоставлення досліджуваних показувачів в групах проводилось з допомогою неоднорідної

послідовності процедур Вальда—Генкіна з розподілом кожного значення показувача в діапазоні з наступним визначенням прогностического коефіцієнта і інформативності градації визначення [3].

Результати досліджень і їх обговорення

Характеристика досліджуваних показувачів гуморального імунітету представлено в табл. 1. З наведених даних випливає, що в об'єднаному варіанті як до, так і після стимуляції достовірні відмінності від контролю з усіх показувачів гуморального звена імунітету встановлено тільки для показувача вмісту ЦИК. При цьому достовірні відмінності виявлені тільки між групою хворих з безпліддям, обумовленим ХВЗОМТ, до індукції суперовуляції і контролем. Відмінності між групами до і після КГЯ були недостовірні.

В зв'язі з можливими різнонаправленими відхиленнями значень показувачів гуморального звена імунітету від нормативу був проведений аналіз розподілу частоти хворих згідно наступним градаціям: вище нормативних, нижче нормативних і відповідних нормативу (табл. 2).

Результати ранжування загальносумарного кількості хворих з відхиленнями від норми значеннями показувачів гуморального імунітету представлено в табл. 2.

З даних табл. 2 випливає, що до КГЯ по всім показувачам частота хворих з відхиленнями від нормативу їх значеннями була достовірно вище ($p<0,05$), ніж пацієнток з нормативними значеннями показувачів. Число хворих з нормативними значеннями показувачів було невелике і варіювало від 10,2 до 32,44%. При цьому домінування частоти хворих з підвищеним значенням показувача по порівнянню з його зниженими значеннями було характерно для ЦИК (в 2,3 рази), лімфотоксических аутоантітел (в 1,1 рази), гемолізину (в 4 рази) і антиспермальних антітел (в 1,5 рази).

Що стосується рівня антітел до ЗР і антиоваріальних антітел, то частота хворих з підвищеними і зниженими їх значеннями були приблизно рівними.

Таким чином, в цілому у 47,61% хворих відмічено порушення системного гуморального імунітету по типу аутосенсibiliзації (досліджені показувачі гуморального звена імунітету вище нормативних), що, по-видимому, зв'язано з наявністю у них в анамнезі хроніческого запального процесу. Встановлено, що при хроніческом запаленні мікроорганізми в різній ступені включають в свою структуру антигенні мікрорганізми, що визначає індукцію аутоімунних реакцій [9].



Из данных табл. 2 следует, что при анализе суммарной доли больных с отклоненными от норматива показателями первое и второе ранговые места занимали антиовариальные антитела и антитела к ZP (89,8 и 88,7% соответственно); третий ранг — нарушение содержания антиспермальных антител (85,71%). Затем следовали ЦИК (81,08%), лимфоцитотоксические аутоантитела (69,44%) и гетерофильные гемолизины (67,56%). При ранжировании по преобладанию повышенных значений показателей первое место занимал показатель ЦИК (56,8%), второе ранговое место — гетерофильные гемолизины (54,1%).

Из приведенных данных следует, что приоритетная роль в нарушении системного гуморального иммунитета принадлежит процессам ауто-

сенсibilизации. Наибольшее патогенетическое значение имеет сенсibilизация к овариальной ткани, что подтверждает патогенетическую значимость хронического воспалительного процесса, локализованного в органах малого таза [2]. Вероятно, хроническое воспаление приводит к усилению процессов апоптоза в области очага воспаления с возникновением избыточного количества тканевых секвестров, которые полностью не элиминируются из организма фагоцитарной системой. Избыток секвестров в организме приводит к выработке аутоантител к ним [9].

После КГЯ, как и до нее, у большинства больных были отмечены нарушения показателей гуморального иммунитета. Доля пациентов с нормативными значениями исследованных показателей

Таблица 1

Значения показателей гуморального иммунитета в периферической крови до и после индукции суперовуляции в выделенных клинических группах (M±m)

Показатель	Больные с ХВЗОМ до КСО, n=41	Больные с ХВЗОМ в день получения ооцитов, n=48	Контроль (здоровые доноры ооцитов), n=30
Антиспермальные АТ, Е/мл	34,8±3,3	34,2±2,8	36,3±4,1
Антитела к ZP, Е/мл	2,2±0,2	2,8±0,2	2,8±0,4
Антиовариальные АТ, Е/мл	5,1±0,5	5,3±0,4	4,7±0,5
ЦИК, е.о.п.	0,049±0,01 *	0,073±0,02	0,076±0,01
Лимфоцитотоксические аутоантитела, %	22,1±2,5	18,6±2,1	20,9±3,5
Гетерофильные гемолизины, е.о.п.	1,1±0,1	0,9±0,1	1,0±0,2

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контролем; 0 — $p < 0,05$ — при сравнении групп больных до и после КСО.

Таблица 2

Распределение больных согласно значениям доверительного интервала норматива показателей системного гуморального иммунитета до и после контролируемой гиперстимуляции яичников

Показатель	Градации показателя	%		Доверительный интервал
		до КГЯ	после КГЯ	
Антиспермальные АТ, Е/мл	ниже норматива выше норматива нормативный	34,69	44,78	28,89—43,71
		51,02	35,82 Δ	
		14,29	19,40	
		$p < 0,01$	$p < 0,01$	
Антитела к ZP, Е/мл	ниже норматива выше норматива нормативный	45,84	40,30	1,70—3,90
		42,86	34,33	
		11,30	25,37	
		$p < 0,01$	$p < 0,01$	
Антиовариальные АТ, Е/мл	ниже норматива выше норматива нормативный	44,90	32,84	4,30—5,10
		44,90	56,72	
		10,20	10,44	
		$p < 0,01$	$p < 0,01$	
ЦИК, е.о.п.	ниже норматива выше норматива нормативный	24,32	5,71	0,034—0,042
		56,76	40,0	
		18,92	54,29 *	
		$p < 0,01$	$p > 0,05$	
Лимфоцитотоксические аутоантитела, %	ниже норматива выше норматива нормативный	33,33	42,67	18,20—23,6
		36,11	23,00	
		30,56	34,33	
		$p < 0,05$	$p < 0,05$	
Гетерофильные гемолизины, е.о.п.	ниже норматива выше норматива нормативный	13,51	36,11	0,84—1,16
		54,05	30,56 Δ	
		32,44	33,33	
		$p < 0,05$	$p < 0,05$	

Примечание: Δ — $p < 0,05$ по отношению к показателю до КГЯ (односторонний критерий), * — двусторонний критерий.



варьировала от 10,44 до 54,29%. При этом важно отметить, что реакция гуморального звена иммунитета характеризовалась неоднородностью: некоторые показатели существенно не изменились после стимуляции, другие переходили в ранг нормативных у значительного количества больных. Так, после КГЯ было установлено увеличение доли больных с нормативным значением ЦИК ($p < 0,01$) и антител к ЗР ($p < 0,05$), а также снижение числа наблюдений с повышенным содержанием гемолитинов ($p < 0,05$) и антиспермальных аутоантител ($p < 0,05$).

При анализе средней частоты больных с нормативными значениями показателей после стимуляции экзогенными гонадотропинами в целом было установлено достоверное ($\varphi = 2,73$; $p < 0,01$) увеличение доли пациенток с нормативными значениями исследованных показателей гуморального звена иммунитета с 19,61 до 29,52%.

Следовательно, можно сделать вывод, что КГЯ проявляет существенное иммуномодулирующее действие, направленное на ослабление процессов аутоенсибилизации организма больных с бесплодием, обусловленным ХВЗОМТ.

При анализе структуры нарушений показателей системного гуморального иммунитета выявлено, что после КГЯ первые три отклонения от нормативных значений были представлены аналогичными показателями. При этом первый ранг также был у отклонения от норматива показателя уровня антиовариальных аутоантител (89,56%).

Кроме того, на второе место среди первых трех показателей переместились антиспермальные антитела (80,60%), а на третье — антитела к ЗР (74,63%). Затем следовали отклонения от норматива содержания гетерофильных гемолитинов (66,67%) и лимфоцитотоксических аутоантител (65,67%). Последнее ранговое место у содержания ЦИК (45,71%).

При сопоставлении ранговых структур доли больных с отклонениями в значениях показателей системного гуморального иммунитета было вы-

явлено, что структурные изменения под влиянием КГЯ отмечены в отношении содержания гетерофильных гемолитинов и ЦИК. Первые до стимуляции занимали последний шестой ранг, а после стимуляции — четвертый. Показатель ЦИК, наоборот, до стимуляции были на четвертом ранговом месте, а после КГЯ — на шестом.

Уменьшение доли больных с отклонениями в показателях содержания ЦИК после стимуляции гонадотропинами имеет принципиальное значение. Превышение их продукции и концентрации приводит к целому ряду отклонений в состоянии микроциркуляторного русла, активации фагоцитирующих клеток [12]. В отношении других признаков существенных структурных изменений не выявлено. В целом, коэффициент ранговой корреляции ($\rho_s = 0,71$) свидетельствует о тесной прямой связи между ранговыми структурами показателей до и после стимуляции и указывает на незначительную структурную перестройку гуморального иммунитета у больных с бесплодием, обусловленным хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза, под влиянием КГЯ.

Выводы

У более чем 40% больных с трубно-перитонеальным бесплодием отмечено нарушение системного гуморального иммунитета по типу аутоенсибилизации (показатели выше нормативных), что, по-видимому, связано с наличием у них хронического воспалительного процесса в анамнезе. Приоритетная роль в нарушении системного гуморального иммунитета принадлежит процессам аутоенсибилизации к овариальной ткани, что подтверждает патогенетическую значимость хронического воспалительного процесса в этой анатомической зоне. Процесс индукции супероуляции оказывает существенное иммуномодулирующее действие, направленное на ослабление процессов аутоенсибилизации организма больных с ХВЗОМТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. с. 1246006 А1. СССР, А 61 К 39/00 Способ диагностики угрозы самопроизвольного прерывания беременности / Л. В. Антипенская, В. В. Щербакова, Л. А. Тагаева, Н. И. Ткачева (СССР). — Оpubл. 23.07.86; Бюл. № 27.
2. Аутоиммунный оофорит (патогенез, диагностика, перспективы лечения) / Э. К. Айламазян, К. А. Габелова, А. М. Гзгян, В. В. Потин // Акушерство и гинекология. — 2002. — № 2. — С. 7—10.
3. Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа и распознавание патологических процессов / Е. В. Гублер. — Л.: Медицина, 1978. — 295 с.
4. Жегулина С. Г. Иммунологические показатели состояния репродуктивного здоровья женщин — жительниц Калининградской области / С. Г. Жегулина, Т. С. Будикина, А. Б. Полетаев // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2002. — № 4. — С. 8—12.
5. Иммуный статус, принципы его оценки и коррекции иммунных нарушений / В. Г. Передерий, А. М. Земсков, Н. Г. Бычкова, В. М. Земсков. — Киев: Здоров'я, 1995. — 211 с.
6. Кирющенко П. А. Современные подходы к лечению невынашивания малых сроков беременности иммунологического генеза / П. А. Кирющенко, З. С. Ходжаева, В. П. Верясов // Вестник Российской ассоциации акушеров-гинекологов — 2001. — № 1. — С. 53—56.
7. Кулаков В. И. Современные подходы к диагностике и лечению женского бесплодия / В. И. Кулаков, И. Е. Корнеева // Акушерство и гинекология. — 2002. — № 2. — С. 56—60.
8. Профилактика и лечение невынашивания беременности и лейкоцитарной несовместимости: метод. реком. / А. Д. Исаева, Т. М. Новаченко, Ю. П. Делевский [и др.] — Харьков: Изд-во ХГУ, 1975. — 19 с.



9. *Совместимость* супругов по антигенам системы HLA при бесплодии / Г.Н. Дранник, И.Ф. Юнда, Т.С. Монтанг [и др.] // *Акушерство и гинекология*. — 1986. — № 7. — С. 19—21.

10. *Antisperm antibodies and sterility: insoluble problem or perspective trend of research?* / M. A. Nikolaeva, A. Y. Krutskikh, I. V. Korotkova [et al.] // *Bull. Exp. Biol. Med.* — 2001. — Vol. 131, № 1. — P. 24—28.

11. *Autoimmune antiovarian antibodies and their impact on the success of an IVF/ET program.* / J. Horejsi, J. Martinek, D. Nováková [et al.] // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 2000. — Vol. 900. — P. 351—356.

12. *Cytologic and immunologic prognosis of infertility. II Prognostic value of studies of immunoglobulins A, M, and G in peritoneal fluid and blood of infertile patients* / T. K. Kudaibergenov, R. B. Samuratova, L. S. Dzos [et al.] // *Tsitologiya*. — 2002. — Vol. 44, № 7. — P. 665—667.

13. *Decreased suppression of antibody-dependent cellular cytotoxicity by seminal plasma in unexplained infertility* / F. Sakin-Kaindl, D. R. Wagenknecht, T. Strowitzki [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2001. — Vol. 75, № 3. — P. 581—587.

14. *Human sperm proteome: immunodominant sperm surface antigens identified with sera from infertile men and*

women / J. Shetty, S. Naaby-Hansen, H. Shibahara [et al.] // *Biol. Reprod.* — 1999. — Vol. 61, № 1. — P. 61—69.

15. *Impact of antiovarian antibodies (AOA) on ovarian responsiveness in vitro fertilization and embryo transfer.* / S. H. Zou, P. Zhang, D. P. Song [et al.] // *Neuro. Endocrinol. Lett.* — 2008. — Vol. 29, № 6. — P. 949—952.

16. *Kutteh W.H.* Autoimmune factors in assisted reproduction / W. H. Kutteh // *Minerva Ginecol.* — 2002. — Vol. 54, № 3. — P. 217—224.

17. *Loke Y.W.* Immunological aspects of human implantation / Y. W. Loke, A. King // *J. Reprod. Fertil. Suppl.* — 2000. — Vol. 55. — P. 83—90.

18. *Some thoughts on the reproductive autoimmune failure syndrome (RAFS) and Th-1 versus Th-2 immune responses* / J. Y. Kwak-Kim, H. S. Chung-Bang, S. C. Nag [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* — 2002. — Vol. 48, № 4. — P. 252—254.

19. *The influence of different types of antibodies on in vitro fertilization Results* / T. Mardesic, Z. Ulcova-Gallova, R. Huttelova [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* — 2000. — Vol. 43, № 1. — P. 1—5.

20. *Validity of a rapid assay for antisperm antibodies in semen* / S. Kipersztok, B. D. Kim, L. Morris [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2003. — Vol. 79, № 3. — P. 522—528.

**ОСОБЛИВОСТІ
СИСТЕМНОГО
ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ
У ХВОРИХ ІЗ ТРУБНО-
ПЕРИТОНЕАЛЬНИМ
БЕЗПЛІДДЯМ ДО І ПІСЛЯ
КОНТРОЛЬОВАНОЇ
ГІПЕРСТИМУЛЯЦІЇ
ЯЄЧНИКІВ У ПРОГРАМІ ЕКЗ**

*М. Г. Грищенко, А. Г. Геродес,
Ю. О. Котлік*

Резюме. Проведено дослідження низки показників гуморальної ланки імунітету у фолікулярній рідині 41 пацієнтки з безпліддям, обумовленим перенесеними хронічними захворюваннями органів малого тазу, які включені до програми екстракорпорального запліднення і 30 добровільних донорів яйцеклітин. У більш ніж 40% хворих із безпліддям виявлені порушення системного гуморального імунітету за типом аутосенсibiliзації до антигенів репродуктивних структур.

Пріоритетна роль у порушенні системного гуморального імунітету у хворих із трубно-перитонеальною формою безпліддя належить процесам аутосенсibiliзації до оваріальної тканини, що підтверджує патогенетичну значущість хронічного запального процесу в органах малого тазу. Процес індукції супероуляції має істотну імуномодуючу дію, спрямовану на ослаблення аутосенсibiliзації організму хворих із безпліддям, обумовленим хронічним запальним процесом в органах малого тазу.

Ключові слова: *безпліддя, хронічні запальні захворювання органів малого тазу, екстракорпоральне запліднення, гуморальний імунітет.*

**ANTIOVARIAN AND
ANTISPERM ANTIBODIES
LEVEL IN BLOOD
SERUM OF IVF PATIENT
WITH STERILITY
CAUSED BY CHRONIC
INFLAMMATORY PELVIC
DISEASE BEFORE AND
AFTER SUPEROVULATION
INDUCTION**

*N. G. Gryshchenko,
A. G. Gerodes, Yu. A. Kotlik*

Summary. Analysis of blood serum antiovarian and antisperm antibodies in 41 IVF patient with sterility caused by chronic inflammatory pelvic disease and 30 oocyte donors was carried out. More than 40% of patients with tubal infertility revealed signs of sensitization to the antigens of the reproductive structures that appears in blood serum. Priority role in the violation of antibody levels in patients with tubal infertility belong to a process of sensitization to ovarian tissue, which confirms the importance of chronic inflammation in pelvic organs in pathogenesis of reproductive disorders. Induction of superovulation had a significant immunomodulating effect, expressed in the weakening of auto-sensitization process in patients with sterility caused by chronic inflammatory pelvic disease.

Key words: *infertility, chronic inflammatory disease of the pelvic organs, in vitro fertilization, humoral immunity.*