

УДК: 616-073.916 (075.8)

## АНТИТЕЛА К ТКАНИ ЯИЧНИКОВ КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ ФОРМИРОВАНИЯ АУТОИММУННЫХ ПОРАЖЕНИЙ У ЖЕНЩИН С ПРЕЖДЕВРЕМЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ЯИЧНИКОВ



Фахрутдинова Севара Сражитдиновна

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр эндокринологии им. акад. Ё.Х. Туракулова, Республика Узбекистан, г. Ташкент

### ТУХУМДОНЛАР ТЎҚИМАЛАРИГА АНТИТАНАЧАЛАР - ТУХУМДОНЛАРНИНГ МУДДАТИДАН АВВАЛ ЕТИШМОВЧИЛИГИ БЎЛГАН АЁЛЛАРДА АУТОИММУН ЗАРАРЛАНИШЛАР ШАКЛЛАНИШИНИНГ ПРОГНОСТИК МЕЗОНИ СИФАТИДА

Фахрутдинова Севара Сражитдиновна

Республика ихтисослаштирилган эндокринология илмий – амалий тиббиёт маркази, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.

### ANTIBODIES TO OVARIAN TISSUE AS A PROGNOSTIC CRITERION FORMATION OF AUTOIMMUNE LESIONS IN WOMEN WITH PREMATURE OVARIAN FAILURE

Fakhrutdinova Sevara Srajitdinovna

Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Endocrinology named after academician Y.Kh. Turakulova, Republic of Uzbekistan, Tashkent

e-mail: [sevara-nigmatova@mail.ru](mailto:sevara-nigmatova@mail.ru)

**Резюме.** Долзарблик. Тухумдонларнинг муддатдан аввалги етишмовчилиги (ТМАЕ) аутоиммун, генетик бузилишлар оқибатида рўй бериши мумкин. Касалликнинг аутоиммун сабаблари айрим ҳолларда сезилмай қолади ва аёллар бенуштлигининг сабаби сифатида инобатга олинмайди. Аутоиммун касалликлар ТМАЕ билан хасталанган беморларнинг 10-55% да ёндош кечади. Тадқиқот мақсади: ТМАЕ билан хасталанган бемор аёлларда тухумдонининг аутоиммун зарарланганлигининг маркери сифатида қўллаш учун референс кўрсаткичларни аниқлаш ва антиовариал антитаналарни ажратиш олиши. Материал ва услублар: Тадқиқотда тухумдони турли ҳолатда бўлган 80 нафар аёллар иштирок этди. Барча текширилган аёллар уч гуруҳга ажратилди: биринчи гуруҳга ТМАЕ 44 нафар аёл киритилди (ўртача ёши  $28,0 \pm 7,6$  ёш), иккинчи гуруҳга 21 нафар аёл киритилди, уларда эрта менопауза (ЭМП) кузатилган (ўртача ёши  $41,8 \pm 1,9$  ёш), Назорат гуруҳига мунтазам хайз ва эндокрин бузилишлар бўлмаган 15 нафар аёл кирди (ўртача ёши  $30,6 \pm 8,3$  ёш). Натижалар. Аёллар учун референс интервал АТ ва ТЯ аниқланди, бунда Ме (3,35 U/ml) ва IQR (2,38-4,73) ҳисобланди. ROC-таҳлил бўйича натижаларга кўра, сезувчанлик (0,787)/ўзига хослик(0,829) оптимал ўзаро нисбатидан келиб чиққан ҳолда Ат ва ТЯ (3,90 U/ml) ажратиш олиши нуқтаси танланди. Эгри чизиқ майдони AUC =0,86 (95% ДИ 0,80-0,93) моделнинг жуда яхши сифатидан дарак беради. Хулоса. Референс интерваллар аниқланди, 95% ишончли интервал ва Ат ва ТЯ учун ўзига хос ажратиш олиши нуқталари аниқланди.

**Калит сўзлар:** тухумдонларнинг муддатидан аввалги етишмовчилиги, тухумдонлар тўқималарига антитаналар, антиовариал антитаналар, референт интерваллар.

**Abstract.** Actuality. Premature ovarian failure (POF) can develop as a result of both autoimmune and genetic disorders. Autoimmune causes of the disease sometimes go unnoticed and are not considered the cause of female infertility. autoimmune diseases coexist in approximately 10–55% of patients with POF. The purpose of the study: the establishment of reference values and points clipping of anti-ovarian antibodies for use as a marker of autoimmune ovarian damage in women with POF. Material and methods. The study involved 80 women with various ovarian reserves. All examined were divided into three groups: the first group included 44 women (mean age  $28.0 \pm 7.6$  years) with POF. The second included 21 women with early menopause (EMP) (mean age  $41.8 \pm 1.9$  years). The control group included 15 women (mean age  $30.6 \pm 8.3$  years) with regular menstruation and no known endocrine disorders. Results. The reference interval of AT to TU for women was determined, with calculated Me (3.35 U/ml) and IQR (2.38-4.73). Based on the results of the ROC analysis, the cutoff point for Ab to TU (3.90 U/ml) was selected based on the optimal ratio of sensitivity (0.787)/specificity (0.829).

*The area under the curve AUC = 0.86 (95% CI 0.80-0.93), indicates a very good quality of the model. Conclusion. Reference intervals, 95% confidence interval and cut-off point specific for Ab to TU have been established.*

**Keywords:** premature ovarian failure, antibodies to ovarian tissue, antiovarian antibodies, reference intervals.

**Актуальность.** Преждевременная недостаточность яичников (ПНЯ) может развиваться как вследствие аутоиммунных, так и генетических нарушений [7; 9]. Аутоиммунные причины заболевания иногда остаются незамеченными и не считаются причиной женского бесплодия. аутоиммунные заболевания сосуществуют примерно у 10–55% пациентов с ПНЯ. Предполагается, что аутоиммунные заболевания вызывают от 4 до 30% случаев ПНЯ [6; 10].

Яичник является общей мишенью для аутоиммунного заболевания после активации экологическими или генетическими факторами. Аутоиммунный процесс с вовлечением ткани яичника запускается различными агентами: вирусами, бактериями или собственными антигенами яичников. Наиболее известными триггерами продукции аутоантител являются вирусы эпидемического паротита и краснухи. Пациенты с ПНЯ имеют высокий инфекционный индекс. Заболеваемость эпидемическим паротитом составляет 38,5%, краснухой – 35,9 % [6; 9]

По данным литературы частота встречаемости антител к ткани яичника (Ат к ТЯ) у пациентов с ПНЯ колеблется в широких пределах (7–67%). [3; 5].

Антиовариальные антитела (АОА) выявляются у 24–73% женщин с подтвержденной ПНЯ [4; 8; 11]. АОА положительны почти у каждой третьей женщины с бесплодием. По этой причине рекомендуется каждую женщину, страдающую бесплодием обследовать на аутоиммунной ПНЯ [4].

Золотым стандартом для выявления аутоиммунной ПНЯ является биопсия яичников, однако она не рекомендуется из-за неизвестной клинической ценности, затрат и рисков [5].

Определение роли АОА в ПНЯ неоднозначно, так как методы исследования весьма разнородны, существуют также различия в формате теста на антитела и презентации антигена, отсутствие корректных референсных значений [3; 5].

**Цель исследования** установление референсных значений и точки отсечения антиовариальных антител для использования в качестве маркера аутоиммунного поражения яичника у женщин с ПНЯ.

**Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 80 женщин с различными резервами яичников. Диагноз ПНЯ устанавливался согласно рекомендациям ESHRE. Диагностические критерии ПНЯ: олиго/аменорея в течение не менее 4 месяцев и повышенный уровень ФСГ >25 МЕ/л в двух случаях с интервалом >4 недель [12].

Забор крови производили в фолликулярную фазу (3–5-й день менструального цикла) у контрольных и на фоне аменореи у женщин с подозрением на ПНЯ.

Уровни гормонов в сыворотке крови определяли (ФСГ, ЛГ, эстрадиол (E2), АМГ) электрохемилюминесцентным методом на иммунохимическом анализаторе Elecsys и cobas e. с использованием стандартных наборов Cobas Roche («Roche Diagnostics GmbH», Германия). Антитела к ткани яичника в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с помощью наборов фирмы «Human» (Германия).

Нормальные референсные диапазоны, применяемые в нашей лаборатории, были следующими: ФСГ: 3,5–12,5 мМЕ/мл; ЛГ: 2,4–12,6 мМЕ/мл; E2: 68–1269 пмоль/л; АМГ: 0,09–9,49 нг/мл; ТТГ: 0,27–4,0 мМЕ/мл; свТ4: 0,93–2,0 нг/дл; Ат - ТПО <34,0 МЕ/мл; Ат к ТЯ: 0–10 U/ml.

Так как предельный референсный диапазон ФСГ в нашей лаборатории составил 12,5 мМЕ/мл в исследование были включены женщины до 40 лет с нарушением менструального цикла (вторичная аменорея продолжительностью 6 и более месяцев), с уровнем ФСГ <25 мМЕ/мл, высоким уровнем ЛГ и низким E2, полученным дважды с интервалом в 4 недели, учитывали также концентрацию АМГ. Эта группа женщин (средний возраст 28,7±8,0 лет) не принимала лекарственные препараты (в течение 6 месяцев до обследования), которые могли бы оказать влияние на гормонально-биохимические показатели. Все женщины, участвовавшие в исследовании, подписали информированное согласие на анонимный анализ их медицинских данных.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 6.1 (StatSoft®Inc.). Исходные данные оценивались на соответствие нормальному распределению по критерию Колмогорова-Смирнова. Зависимости анализировали с помощью коэффициентов ранговой корреляции Спирмена. Так как уровни гормонов имеют ненормальное распределение, результаты анализов представлены в виде медианы (Me) [интерквартильного размаха (IQR): 25 перцентиль; 75 перцентиль]. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследований и их обсуждение.** Все обследованные были разделены на три группы: в первую группу вошли 44 женщины (средний возраст 28,0±7,6 лет) с ПНЯ. Во вторую - 21 женщина с ранней менопаузой (РМП) (средний возраст 41,8±1,9 лет). В контрольную группу вошли 15 женщин (средний возраст 30,6±8,3 лет)

с регулярными менструациями и без констатированных эндокринных нарушений.

Анализ менструальной функции пациенток показал, что средний возраст менархе в группах не различался: ПНЯ -  $12,4 \pm 1,2$  года; в РМП -  $12,6 \pm 1,5$  лет и контроль -  $12,6 \pm 1,1$  лет. Средняя продолжительность ПНЯ составила  $5,3 \pm 2,4$  года, средний возраст наступления аменореи –  $22,5 \pm 6,6$  лет. У значительной части пациенток с ПНЯ (81,8%) вторичная аменорея отмечалась после продолжительного периода регулярных менструаций. У женщин с РМП длительность выключения функции яичников составила  $2,5 \pm 1,9$  лет, средний возраст наступления менопаузы –  $39,2 \pm 2,3$  лет.

Клиническая характеристика обследованных представлена в таблице 1.

Между тремя группами не было обнаружено статистически значимых различий в индексе массы тела. Как и ожидалось, в группах ПНЯ и РМП имело место повышение уровней ФСГ и ЛГ, но снижение E2, АМГ относительно контроля.

В ходе анализа установлено, что уровень АТ к ТЯ был статистически значимо выше в группе с ПНЯ (средний показатель  $3,97 \pm 2,6$  U/ml),

по сравнению с женщинами с ранней менопаузой ( $2,36 \pm 0,7$  U/ml). Содержание АТ к ТЯ у здоровых женщин контрольной группы составило  $1,47 \pm 0,6$  U/ml.

Для всех лабораторных тестов, надёжность измерения для диагностики заболеваний зависит от использования правильно установленных референсных интервалов.

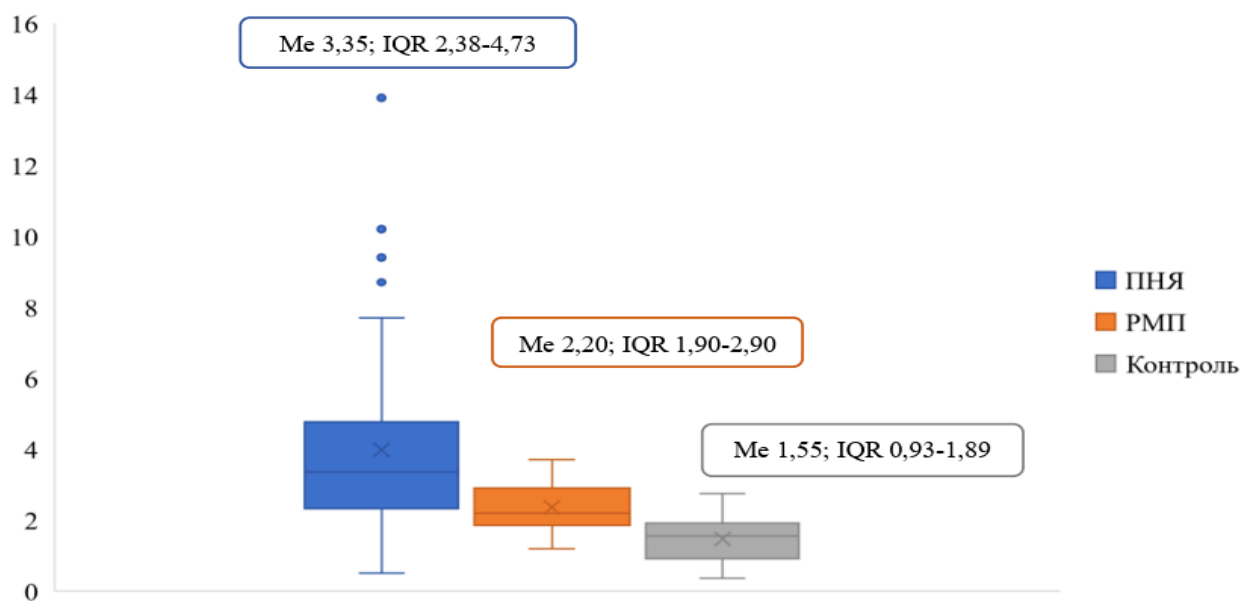
Если верхняя пороговая величина для референсного диапазона установлена слишком высокой, то это способствует снижению чувствительности диагностики, в то время как ложноотрицательные результаты являются проблемой, когда верхние пороговые значения для референсных интервалов устанавливаются слишком низкими.

Зачастую ложноположительные результаты преобладают над истинно положительными результатами и представляют собой проблему для интерпретации полученных данных. В свою очередь, пограничные положительные результаты не всегда должным образом отслеживаются, это свидетельствует о необходимости определения референсных интервалов, которые помогут свести к минимуму ложноположительные результаты, не снижая диагностическую чувствительность.

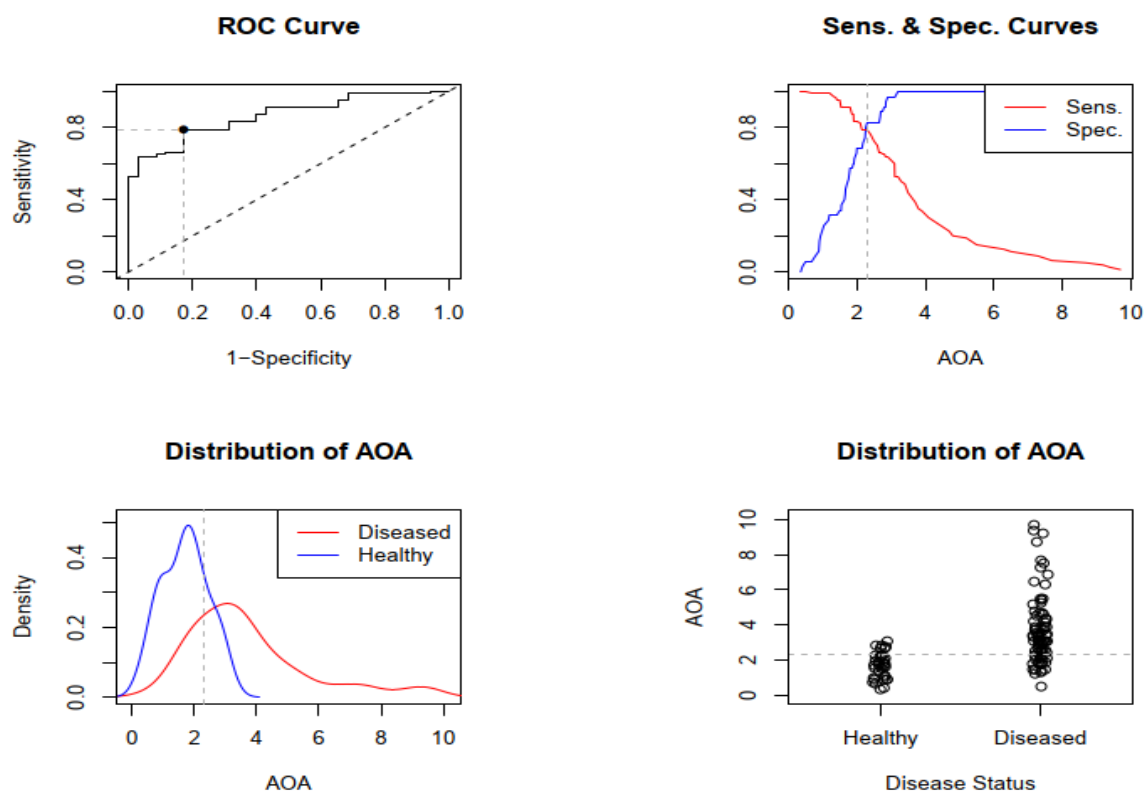
**Таблица 1.** Исходные характеристики участников исследования.

Показатели	Контроль, n=15	РМП, n=21	ПНЯ, n=44
Возраст, лет	30,0; 23,0-38	42,0; 40,0-43	26,0; 21,8-33,5#
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	24,9; 23,3-27,4	27,7; 26,5-30,8	25,9; 22,9-29,8
ФСГ, мМЕ/л	9,7; 7,2-10,7	69,6; 50,6-102,1*	48,0; 18,2-119,0*
ЛГ, мМЕ/л	8,27; 6,17-9,31	40,7; 29,3-63,2*	35,4; 23,3-47,6*#
E2, pmol/l	105,6; 87,5-178,2	15,5; 11,9-28,9*	23,7; 18,3-41,0*#
АМГ, нг/мл	3,46; 2,44-5,73	0,48; 0,09-0,73*	0,43; 0,09-0,69*

Примечание: данные представлены в виде Ме и IQR; \*- достоверность по отношению к контролю; # - достоверность между группами РМП и ПНЯ



**Рис. 1.** Коробочные графики с уровнем АТ к ТЯ у женщин



**Рис. 2.** ROC-кривая и точка отсечения для Ат к ТЯ

Наличие специфического референсного диапазона для разных групп, обследуемых имеет существенное значение в связи с отсутствием единого стандарта определения АТ к ТЯ. Даже при наличии референсного интервала АТ к ТЯ (0-10 U/ml) в инструкции производителя очень важны специфичные для каждой лаборатории и конкретной популяции значения.

Референсный интервал АТ к ТЯ для женщин, с рассчитанными Me (3,35 U/ml) и IQR (2,38-4,73), представлен на рисунке 1.

Для получения более полного спектра референсного диапазона АТ к ТЯ был определен также 95% доверительный интервал содержания АТ к ТЯ. Расчеты показали, что 95%ДИ АТ к ТЯ составляет  $3,97 \pm 0,77$  U/ml с нижней (3,20 U/ml) и верхней (4,74 U/ml) границей ДИ.

Механизм повреждения яичников, как правило, обусловлен антителами, а аутоиммунная ПНЯ обычно характеризуется наличием клеточной инфильтрации тека-клеток растущих фолликулов различными клетками воспаления. Также там могут присутствовать и другие факторы и белки, клиническая значимость которых еще не вполне определена [2].

До настоящего времени не найден надежный маркер аутоиммунного поражения яичников. Наличие Ат к ТЯ было продемонстрировано в ряде исследований с участием женщин с ПНЯ, но низкая специфичность затрудняет использование их определение в клинической практике. Эффективным путем подтверждения аутоиммунной

природы ПНЯ остается поиск сопутствующих аутоиммунных заболеваний [1]. Определение диагностически значимой точки отсечения (cut-off point) Ат к ТЯ выполнялось с помощью ROC-анализа с построением ROC-кривой и указанием площади под кривой (AUC). Выбор cut-off value осуществляли в точке графика с максимальной суммой чувствительности и специфичности (рис. 2).

В ходе проведения ROC-анализа удалось определить площадь под кривой  $AUC = 0,86$  (95% ДИ 0,80-0,93), данный показатель свидетельствует об очень хорошем качестве модели. Оптимальной точкой отсечения (cut-off point) Ат к ТЯ является показатель 3,90 U/ml, при Se - 0,787; 95%ДИ 0,682 0,871 и Sp - 0,829; 95%ДИ 0,664 0,934. Определены также другие параметры, позволяющие оценить прогностическую значимость Ат к ТЯ: положительное прогностическое значение (0,913; 95%ДИ 0,811 0,950), отрицательное прогностическое значение (0,630; 95%ДИ 0,496 0,834), положительный коэффициент правдоподобия: (4,594; 95%ДИ 2,198 9,601) и отрицательное отношение правдоподобия (0,256; 95%ДИ 0,164 0,401).

Таким образом, cut-off point Ат к ТЯ, равная 3,90 U/ml, является отправной точкой для выявления аутоиммунного поражения у женщин с ПНЯ. Полученные результаты могут явиться предпосылкой для дальнейшей отработки «точки отсечения» Ат к ТЯ для узбекской популяции, учитывая более высокий риск аутоиммунных процессов при ПНЯ, сохранение настороженно-

сти в отношении признаков и клинического развития аутоиммунных заболеваний, для ранней диагностики и лечения ПНЯ.

### Литература:

1. Блинов Д.В., Хазан П.Л., Мнацаканьян А.Н. и др. Ранняя менопауза и преждевременная недостаточность яичников: проблемы и перспективы. Акушерство, Гинекология и Репродукция. 2020; 14(3): 328–345. doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2020.173.
2. Alimjanovich R.J. et al. Clinical And Immunological Aspects Of The Relationship Of The Oral Cavity And Covid-19 //Thematics Journal of Education. – 2022. – Т. 7. – №. 2.
3. Ebrahimi M., Akbari Asbagh F. Pathogenesis and causes of premature ovarian failure: an update. Int J Fertil Steril. 2011; 5(2): 54-65.
4. Ebrahimi M., Akbari Asbagh F. The role of autoimmunity in premature ovarian failure. Iran J Reprod Med. 2015; 13(8): 461-472.
5. Goswami D., Conway G. Premature ovarian failure. Hum Reprod Update. 2005; 11(4): 391-410. doi: 10.1093/humupd/dmi012.
6. Kirshenbaum M., Orvieto R. Premature ovarian insufficiency (POI) and autoimmunity-an update appraisal. J. Assist. Reprod. Genet. 2019; 36: 2207–2215. doi: 10.1007/s10815-019-01572-0.
7. Rizaev J. A., Rizaev E. A., Akhmadaliev N. N. Current View of the Problem: A New Approach to Covid-19 Treatment //Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology. – 2020. – Т. 14. – №. 4.
8. Rizaev J. A. et al. Clinical and immunological aspects of the relationship of the oral cavity and covid-19 // TJE-Thematic journal of Education. – 2022. – Т. 7. – С. 3-15.
9. Shamilova N., Marchenko L., Dolgushina N. et al. The role of genetic and autoimmune factors in premature ovarian failure. J Assist Reprod Genet. 2013; 30(5): 617-22. doi: 10.1007/s10815-013-9974-4.
10. Sharif K., Watad A., Bridgwood, C. et al. Insights into the autoimmune aspect of premature ovarian insufficiency. Best Pr. Res. Clin. Endocrinol. Metab. 2019; 33: 101323. doi: 10.1016/j.beem.2019.101323.
11. Szeliga A., Calik-Ksepka A, Maciejewska-Jeske M. et al. Autoimmune Diseases in Patients with

Premature Ovarian Insufficiency-Our Current State of Knowledge. Int J Mol Sci. 2021; 22(5): 2594. doi: 10.3390/ijms22052594.

12. Webber L., Davies M., Anderson R. et al. ESHRE Guideline: Management of women with premature ovarian insufficiency. Hum. Reprod. 2016; 31: 926–937. doi: 10.1093/humrep/dew027.

### **АНТИТЕЛА К ТКАНИ ЯИЧНИКОВ КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ ФОРМИРОВАНИЯ АУТОИММУННЫХ ПОРАЖЕНИЙ У ЖЕНЩИН С ПРЕЖДЕВРЕМЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ЯИЧНИКОВ**

Фахрутдинова С.С.

**Резюме.** Актуальность. Преждевременная недостаточность яичников (ПНЯ) может развиваться как вследствие аутоиммунных, так и генетических нарушений. Аутоиммунные причины заболевания иногда остаются незамеченными и не считаются причиной женского бесплодия. аутоиммунные заболевания сосуществуют примерно у 10–55% пациентов с ПНЯ. Цель исследования: установление референсных значений и точки отсечения антиовариальных антител для использования в качестве маркера аутоиммунного поражения яичника у женщин с ПНЯ. Материал и методы. В исследовании приняли участие 80 женщин с различными резервами яичников. Все обследованные были разделены на три группы: в первую группу вошли 44 женщины (средний возраст  $28,0 \pm 7,6$  лет) с ПНЯ. Во вторую - 21 женщина с ранней менопаузой (РМП) (средний возраст  $41,8 \pm 1,9$  лет). В контрольную группу вошли 15 женщин (средний возраст  $30,6 \pm 8,3$  лет) с регулярными менструациями и без констатированных эндокринных нарушений. Результаты. Определен референсный интервал АТ к ТЯ для женщин, с рассчитанными Me ( $3,35$  U/ml) и IQR ( $2,38-4,73$ ). По результатам ROC-анализа выбрана точка отсечения АТ к ТЯ ( $3,90$  U/ml), исходя из оптимального соотношения чувствительности ( $0,787$ )/специфичности ( $0,829$ ). Площадь под кривой AUC =  $0,86$  (95% ДИ  $0,80-0,93$ ), свидетельствует об очень хорошем качестве модели. Заключение. Установлены референсные интервалы, 95% доверительный интервал и точка отсечения специфичные для АТ к ТЯ.

**Ключевые слова:** преждевременная недостаточность яичников, антитела к ткани яичников, антиовариальные антитела, референтные интервалы.