

Raziskovalni prispevek/Research article

AVTOIMUNSKI VIDIKI PREZGODNJE MENOPAVZE

AUTOIMMUNE ASPECTS OF PREMATURE OVARIAN FAILURE

*Helena Meden-Vrtovec,¹ Alenka Levičnik,¹ Alojz Ihan,² Alenka Vizjak³*¹ Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Šlajmerjeva 3, 1000 Ljubljana² Inštitut za mikrobiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Korytkova 2, 1000 Ljubljana³ Inštitut za patologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Korytkova 2, 1000 Ljubljana**Izvleček**

- Izhodišča** *Prezgodnja odpoved delovanja ovarijev (POO) prizadene 1 % vseh žensk in ima pomembne psihosocialne posledice in vpliv na splošno zdravstveno stanje. Ob znanih vzrokih (kromosomski, genetski, infekcijski, iatrogeni) avtoimunski procesi prav tako lahko povzročijo POO.*
- Material in metode** *V raziskavo smo vključili 11 žensk s POO, pri katerih smo izključili vse možne vzroke za POO, razen avtoimunskega. V kontrolni skupini je bilo 13 zdravih, normoovulatornih žensk. Pri obeh skupinah smo opravili ciljano družinsko in osebno anamnezo o avtoimunskih obolenjih in meritve: FSH, LH, TSH, prolaktina, antimüllerjevega hormona (AMH), inhibina B, ščitničnega protitelesa TG in TPO. Na celični ravni smo opravili analizo limfocitnih populacij s pretočno citometrijo, na humoralni ravni pa smo določali protiovarijska protitelesa z metodo indirektna imunofluorescence na rezinah humanega ovarija. Hitri ACTH test smo opravili le pri študijski skupini.*
- Rezultati** *Pri 9 bolnicah s POO smo ugotovili pridruženo avtoimunsko bolezen. Pri 6 bolnicah (55 %) smo ugotovili zelo zvišane vrednosti TG in TPO, v kontrolni skupini zvišanih vrednosti obeh protiteles nismo našli. Hormonski izvidi žensk s POO kažejo značilnosti hipergonadotropnega hipogonadizma s posledično znižanimi vrednostima inhibina B in AMH. Subtipizacija limfocitov je pokazala pomembno večje vrednosti CD4⁺, CD19⁺ in CD8⁺ celic ter pomembno manjše število celic ubijalk (NK) in regulatornih celic T v študijski skupini. Pri 4 (36 %) bolnicah smo ugotovili protiovarijska protitelesa. Rezultati hitrega ACTH testa so bili v študijski skupini normalni.*
- Zaključki** *Bolnice s POO imajo pogosto pridruženo avtoimunsko bolezen. Prisotnost protiščitniških in protiovarijskih protiteles skupaj z abnormnostjo v celični imunosti lahko potencialno predstavlja avtoimunski mehanizem POO. Odpira se vprašanje o uporabi imunomodulatorjev pri izbrani skupini žensk s POO.*
- Ključne besede** *prezgodnja ovarijska odpoved; protiovarijska protitelesa; protiščitnična protitelesa; abnormnosti limfocitov T*

Abstract

- Background** *The prevalence of premature ovarian failure (POF) of 1 % has important psychosocial consequences and impact on general health. Besides known etiology (genetic, chromosomal, infections, iatrogenic) autoimmunity can be the pathologic mechanism for POF.*
- Material and methods** *Eleven women with POF, with excluded other reasons for the disease except autoimmunity were included in this study. The control group consisted of 13 healthy normo-ovulatory women. In both groups targeted family and personal history was taken and determinations*

Avtorica za dopisovanje / Corresponding author:

Helena Meden-Vrtovec, Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Šlajmerjeva 3, 1000 Ljubljana

of: FSH, LH, TSH, prolactin, antimüllerian hormone (AMH), inhibin B, thyroid antibodies TG and TPO. At the cellular level peripheral blood T-lymphocytes were analyzed by flow cytometry, on humoral level ovarian antibodies were detected with indirect immunofluorescence on human ovary sections. Quick ACTH test was performed in study group only.

Results	<i>In 9 patients POF was associated with another autoimmune disease. Six patients of the study group (55 %) presented very elevated thyroid autoantibodies TG and TPO, in the control group the levels of both autoantibodies were within normal range. Hormonal analyses in the study group exhibited the values of hypergonadotropic hypogonadism and consequently low levels of inhibin B and AMH. Lymphocyte subset in study group namely CD4+, CD19+ and CD8+ was significantly higher, while natural killer cells and regulatory T cells were significantly lower than in the control. group. In 4 patients (36 %) anti-ovarian autoantibodies were detected. Results of the quick ACTH test in the study group were normal.</i>
Conclusions	<i>POF is frequently associated with autoimmune disorders. The presence of antithyroid and anti-ovarian antibodies together with abnormalities of the cellular immunity can potentially represent an autoimmune mechanism of POF. The question of immunomodulatory therapy in selected patients with POF is open.</i>
Key words	<i>premature ovarian failure; anti-ovarian antibodies; antithyroid antibodies; T-lymphocytes abnormalities</i>

Uvod

Prezgodnja odpoved delovanja ovarijev (premature ovarian failure, POO) je opredeljena kot prenehanje hormonske in gametogenetske dejavnosti jajčnika pred 40. letom starosti. Diagnoza temelji na zvečani koncentraciji FSH na pomenopavzno raven (> 40 IE/l), določeni vsaj dvakrat v večtedenskem razmiku.¹ POO prizadene približno 1 % žensk, od teh je 10–28 % žensk s primarno amenorejo in 4–18 % tistih s sekundarno amenorejo.² Prezgodnje prenehanje delovanja jajčnikov ima tudi pomembne psihosocialne posledice in velik vpliv na splošno zdravstveno stanje, saj poročajo o dvakrat večji smrtnosti v tej skupini žensk v primerjavi s tistimi z ohranjenimi menstruacijskimi cikli do starosti pri fiziološki menopavzi.^{3,4}

Med znanimi patogenetskimi mehanizmi, ki privedejo do POO, so predvsem kromosomski, genetski, metabolični (galaktozemija), infekcijski (mumps), iatrogeni (obsevanje, kemoterapija, kirurški posegi) in avtoimunski.

Če vzrok ni poznan, se POO opredeljuje kot idiopatska, pri čemer se postavlja vprašanje vpletenosti avtoimunskih procesov, saj nekateri ugotavljajo, da ima kar 30 % idiopatske POO avtoimunske vzroke.⁵

Možno je, da gre za prisotnost patogenih dejavnikov, ki pospešijo proces apoptoze in atrezije ovarijskih foliklov v fetalnem in obdobju po rojstvu.⁶

Te razlage temeljijo na dogmi, da je število ovarijskih foliklov ob rojstvu dokončno in da ni možnosti regeneracije ali obnove rezerve foliklov v odrasli dobi.⁷

Johnson s sod⁸ pa je to temeljno biološko doktrino nekoliko omajal z rezultati raziskave, ki so pokazali možnost obnove rezerve foliklov iz proliferativnih germinalnih ovarijskih celic še po rojstvu. Eksperimentalno delo na živalih^{9,10} govori v prid tej hipotezi, katere preverjanje sedaj poteka v raziskavah na humanem ovariju. Rezultati raziskav kažejo, da se nediferencirane matične celice jajčnika pod določenimi laboratorijski-

mi pogoji diferencirajo v jajčnim celicam podobne strukture.^{11,12}

Ne glede na temeljno biološko doktrino o dokončnem številu primarnih oocitov po rojstvu ali na revolucionarno hipotezo o možni regeneraciji iz somatskih ali krvotvornih celic je temeljno vprašanje, ki se postavlja pri idiopatski prezgodnji menopavzi: ali je avtoimunski proces tisti, ki povzroči pospešeno degeneracijo in apoptozo oocitov, oziroma ali je avtoimunski proces tisti, ki prepreči hipotetično regeneracijo oocitov.

Izhajajoč iz doktrinarnega stališča o dokončnem številu ovarijskih foliklov po rojstvu, predvidevamo, da so pri idiopatski prezgodnji menopavzi prisotni določeni avtoagresivni imunski dejavniki, ki pospešijo degeneracijo in apoptozo oocitov.

Material in metode

V raziskavo smo vključili 15 žensk s POO, starosti od 20 do 39 let (povprečna starost: 34,2 leta). V kontrolno skupino pa je bilo vključenih 13 žensk z rednim menstruacijskim ciklusom, starih od 18–40 let (povprečna starost: 31,83 let), brez anamnestičnih podatkov o avtoimunskih boleznih in brez uporabe oralne hormonske kontracepcije.

Vse testiranke v okviru študijske skupine pred začetkom raziskave 4 mesece niso prejemale hormonskih zdravil. Pri vseh ženskah študijske in kontrolne skupine smo opravili natančno osebno anamnezo o morebitnih avtoimunskih procesih (alergija, astma, diabetes, tiroiditis, revmatoidni artritis, SLE, atopični ekcemi) in izključili možnosti genetskih in iatrogenih vzrokov (kirurški posegi, obsevanje, kemoterapija).

Pri vseh ženskah študijske in kontrolne skupine smo opravili ginekološki pregled, vaginalno ultrazvočno preiskavo, osnovne hormonske preiskave (LH, FSH, E2, Prolaktin, Inhibin B, TSH) določili antimüllerjev hormon (AMH) ter imunološke preiskave na celični in humoralni ravni.

Hitri ACTH test smo opravili le pri študijski skupini z intravensko aplikacijo nizkega odmerka (1 µg) Synactena (proizvajalca ALLIANCE PHARMACEUTICAL WILTSHIRE, UK). V časovnem presledku 30 min smo določili vrednost kortizola. Test je patološki (insuficienca nadledvične žleze) v primeru, da koncentracija kortizola po 30 minutah ne preseže 500 nmol/l.

Koncentracijo AMH v periferni krvi smo določili na analizatorju Personal Lab v ELISA postopku. Normalne vrednosti so od 1–4 µg/l.

Hormonske določitve so bile opravljene na analizatorju LIAISON s kvantitativno, direktno kompetitivno kemiiluminescentno imunsko preiskavo (CLIA). Vsak test je modificiran dvostopenjski poskus, ko se specifična protitelesa omenjenega hormona vežejo na magnetne celice. Normalne vrednosti za folikularno fazo ciklusa so FSH: 3,5–9,2 IE/l, LH: 1,1–11,6 IE/l – LH ob ovulaciji pa 17–77 IE/l – prolaktin: 6,2–23,5 µg/l, estradiol: 0,17–0,14 nmol/l, TSH: 0,3–3,6 mE/l.

Protitelesa proti tiroglobulinu (aTG) in protitelesa proti protiščitnični peroksidazi (aTGO) smo določili s kompetitivno imunometrično metodo: na analizatorju ADVIA CENTAUR, Siemens Medical Solutions Diagnostics, Tarrytown, ZDA. Normalne vrednosti za TG in TPO v serumu so do 60 KE/l.

Na humoralni ravni smo določali tudi protiovarijska protitelesa z metodo indirektno imunofluorescence na kriostatkih rezinah humanega ovarija. Preparate smo analizirali s fluorescenčnim mikroskopom. Ocenili smo lokalizacijo in semikvantitativno intenzivnost pozitivne reakcije (od 1 do 4).

Na celični ravni smo opravili analizo limfocitnih populacij z metodo pretočne citometrije (Beckton Dickinson FACS) in določili v krvi deleže in koncentracije limfocitnih populacij: celic T (CD3+), celic T pomagalk (CD4+), citotoksičnih limfocitov T (CD8+), celic NK (CD56+CD16+) in regulatornih limfocitov T (CD3+CD25+) ter celic B (CD 19+). Napravili smo predhodno diferencialno krvno sliko s standardnim laboratorijskim postopkom in dobili koncentracije posameznih podvrst limfocitov.

Rezultati

Splošni klinični parametri

V Tabeli 1 so prikazani karakteristični klinični endokrinološki parametri bolnic s POO in vrednosti pri zdravih ženskah.

Tab. 1. *Hormonski izvidi bolnic s POO in vrednosti pri zdravih ženskah.*

Table 1. *Hormone levels in women with premature ovarian failure and healthy individuals.*

Povprečna vrednost Mean value	Študijska skupina Study group (n = 11)	Kontrolna skupina Control group (n = 13)
FSH	81,12 E/l	6,643 E/l
LH	30,18 E/l	7,022 E/l
E2	0,106 nmol/l	0,3 nmol/l
PRL	8,503 µg/l	8,321 µg/l
INH B	<10 pg/ml	33,16 pg/ml
AMH	0 µg/l	3,79 µg/l

Pri eni bolnici s POO smo odkrili kariotip 45 XO v obliki mozaika, ki je lahko povzročitelj prezgodnje odpovedi jajčnikov. Ostale bolnice imajo kariotip 46 XX.

Analiza osebnih anamnestičnih podatkov žensk s prezgodnjo menopavzo je pokazala, da so kar 3 bolnice prebolele mumps v otroštvu.

Bolnico z genetsko nepravilnostjo ter vse tri bolnice, ki so prebolele mumps v otroštvu, smo izključili iz naše analize.

V klinični sliki bolnic s POO se je izkazalo, da imajo te ženske manjšo maternico in tanjši endometrij v primerjavi z ženskami v kontrolni skupini. Ultrazvočna preiskava rodil žensk iz študijske skupine je pokazala manjše število ali odsotnost antralnih foliklov (pri 6 od 11) v primerjavi s kontrolno skupino, kjer smo ugotovili primerno število folikularnih struktur jajčnikov.

Med temelje laboratorijske preiskave sodi določitev FSH, LH, prolaktina, E2 in TSH. Hormonski parametri teh bolnic so značilni za hipergonadotropni hipogonadizem. AMH in INH B sta posledično zmanjšana. Endokrini parametri v kontrolni skupini so vsi v mejah normale za ženske z normalnim menstruacijskim ciklusom.

Prevalenca avtoimunskih bolezni v anamnezi

Tabela 2 prikazuje anamnestične in klinične podatke o prisotnosti avtoimunskih bolezni. Izkazalo se je, da ima 9 bolnic s POO pridružena dodatna avtoimunska obolenja v osebni anamnezi ali kliničnem pregledu. Najpogosteje smo našli tiroiditis oblike Hashimoto, kar je potrjeno s protitelesom proti TG in proti TGO. Pri eni bolnici iz te skupine je bila diagnoza že pred začetkom raziskave znana in prejema ustrezno terapijo, pri ostalih petih bolnicah smo v sklopu raziskave odkrili hipertirozo v latentni fazi pred klinično manifestacijo. Štiri od šestih žensk v tej skupini so navedle še dodatno avtoimunsko bolezen: ena bolnica psorazio, druga atopični dermatitis, ostali dve imata alergije na hrano. Vse štiri bolnice kažejo tudi v družinski anamnezi pogostejšo povezavo z avtoimunskimi boleznimi.

Tab. 2. *Osebni in družinski anamnestični in klinični podatki o prisotnosti avtoimunskih bolezni pri bolnicah s POO in pri ženskah z normalnim menstruacijskim ciklusom.*

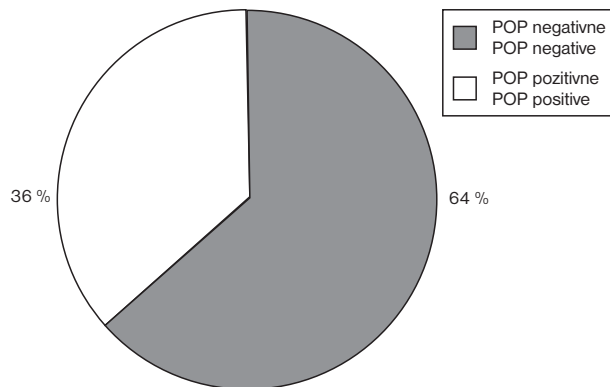
Table 2. *Personal and family history and clinical data on autoimmune diseases in patients with premature ovarian failure and in healthy control individuals.*

	Študijska skupina Study group (n = 11)		Kontrolna skupina Control group (n = 13)	
	Družinska anamneza Family history	Osebna anamneza Personal history	Družinska anamneza Family history	Osebna anamneza Personal history
Diabetes / Diabetes	1		1	
Psoriza / Psoriasis	1	1	1	
Dermatitis / Dermatitis		1		2
Revmatizem / Rheumatism	1			
Hipertiroza / Hyperthyreosis		6	1	
Vitiligo / Vitiligo	1	1		
Alergije / Allergies		3		2

Zdrave ženske so v osebni anamnezi najpogosteje navele ekcem v obliki atopičnega dermatitisa in alergijo na hrano. Tri ženske v tej skupini so potrdile različne avtoimunske bolezni v družinski anamnezi.

Protiovarijska protitelesa

Slika 1 prikazuje prevalenco protiovarijskih protiteles v serumu bolnic s POO in pri ženskah z normalnimi menstruacijskimi cikli.



Sl. 1. Prevalenca protiovarijskih protiteles (POP) v serumu pri bolnicah s POO.

Figure 1. Prevalence of serum anti-ovarian antibodies (POP) in patients with premature ovarian failure.

Analizo protiovarijskih protiteles v serumu smo opravili pri vseh ženskah s prezgodnjo menopavzo, ki so bile ob začetku raziskave vključene v študijsko skupino. Pri 30 % (5 od 15) bolnic s POO smo potrdili protiovarijska protitelesa s prepričljivo imunofluorescenčno reakcijo.

Izkazalo se je, da imajo kar tri bolnice v tej skupini še dodatno avtoimunsko obolenje v obliki Hashimoto tiroiditisa.

Pri eni ženski, ki je prebolela mumps v otroštvu, smo kljub tem podatkom v sklopu naše študije opravili vse diagnostične postopke. Pokazala se je jasna pozitivna imunofluorescenčna reakcija protiovarijskih protiteles v serumu.

Po izključitvi treh bolnic s POO, ki so prebolele mumps, in ene bolnice s kromosomsko nepravilnostjo smo v skupini 11 bolnic ugotovili prevalenco protiovarijskih protiteles pri štirih (36 %).

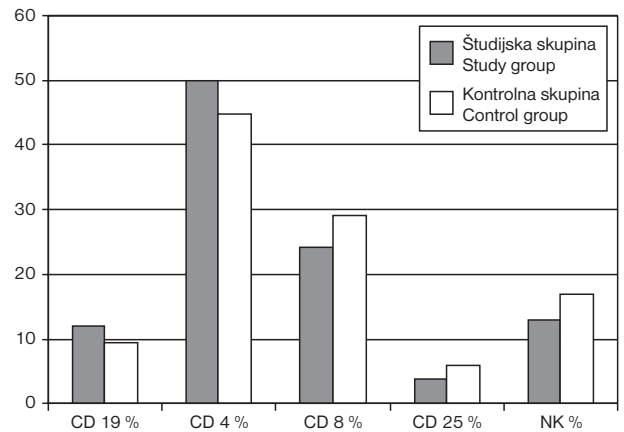
Pri ženskah v kontrolni skupini je bila imunofluorescenčna reakcija negativna (Sl. 1).

Subtipizacija limfocitov

Ker je možno, da je vzrok za nastanek POO celična avtoimunska reakcija, ki je posledica spremembe v delovanju T celic, smo analizirali posebnosti teh v študijski in kontrolni skupini. Rezultati kažejo več celičnih nepravilnosti pri ženskah s POO v primerjavi z zdravimi. Rezultati so prikazani v Sliki 2.

Raven perifernih celic T je izražena v odstotkih za različne površinske markerje celične membrane.

Absolutno število in odstotna vrednost perifernih CD4+ celic T pri bolnicah s POO sta v primerjavi z zdravimi ženskami povečana ($p = 0,0153$).



Sl. 2. Prevalenca perifernih celic T je izražena v odstotkih za različne površinske označevalce celične membrane pri ženskah s POO in zdravih ženskah.

Figure 2. Prevalence (in %) of analyzed lymphocyte samples for various cell surface markers in women with POF and healthy controls.

Analiza je prav tako pokazala, da imajo bolnice s POO večje število CD 19+ celic ($p = 0,0129$).

Dokazali smo tudi zmanjšano število celic NK ($p = 0,0883$) in regulatornih celic T ($p = 0,1037$).

Limfociti bolnic s POO so pokazali povečano število citotoksičnih CD8+ celic ($p = 0,0484$).

T-limfocitni parametri v kontrolni skupini so vsi v mejah normale.

Razpravljanje

Različne organsko specifične in sistemske avtoimunske bolezni so lahko vzrok za nastanek avtoimunske okvare jajčnika pri 30 % žensk s POO.⁵

Povezava med avtoimunskim procesom na nadledvični žlezi in odpovedjo jajčnika je bila prvič opisana že pred več kot 70 leti.

Pri vseh bolnicah s POO v naši raziskavi nismo ugotovili nepravilnosti v delovanju nadledvične žleze, ocenjenim s hitrim ACTH-testom, čeprav so v literaturi podatki, da je 2-10 % POO povzročene z avtoimunskim procesom v nadledvični žlezi.¹⁴

Hitri ACTH test je pokazatelj delovanja nadledvične žleze, vendar je možno, da so pri sistemskem učinku pomembna tudi pozitivna protitelesa proti nadledvični žlezi, ki so za nekatere raziskovalce pogoj za izvedbo ACTH-testa.¹⁴

Motnje v delovanju ščitnice in prisotnost protitiroidnih protiteles so pogosto omenjeni vzrok za nastanek POO.¹⁵ Pri naših bolnicah s POO smo našli večjo udeležbo prisotnosti protiteles TG in TPO kot pri kontrolni skupini, kar kaže na dejstvo, da je okvara jajčnikov lahko prisotna že v latentni fazi bolezni ščitnice.¹⁶

Kot ugotavljajo številni avtorji, je motnja v delovanju ščitnice najpogostejša avtoimunska bolezen, povezana s POO, saj jo ugotavljajo pri 12-33 % bolnic.¹⁷⁻¹⁹

V prid avtoimunskemu vzroku POO govorijo tudi podatki o večji udeležbi drugih alergijskih manifestacij (atopični dermatitis, psoriza) v študijski skupini, kar

je skladno z navedbami v literaturi.²⁰ Na možnost, da gre pri POO za poliendokrino avtoimunsko bolezen, sta že pred več kot tremi desetletji opozorila Irvine²¹ in Forbes.²²

Avtoimunska bolezen je posledica neustreznega odziva imunskega sistema na strukture v lastnem organizmu. Imunske celice pomotoma prepoznajo lastne strukture kot tujek in posledica je avtoimunski odziv. Prizadeta so lahko različna tkiva ali organi.

Znano je, da bolniki z avtoimunsko boleznijo razvijejo specifična avtoprotitelesa na določen ciljni organ. Številne ovarijske strukture so lahko tarča pri avtoimunskem dogajanju POO. Dolga leta so bila protiovarijska protitelesa najpomembnejši diagnostični dejavnik pri določanju te vrste bolezni. S pomočjo indirektna imunofluorescence je možno tudi identificirati molekularne tarče pri imunološkem celičnem napadu na celični ravni.

Prevalenca protiovarijskih protiteles, ocenjena na rezinah humanega jajčnika, pri ženskah s POO zelo variira: od 2 %²³ do 50 %.²⁴

Številne raziskave na področju ovarijskih protiteles so pokazale, da v serumu prisotna protitelesa ne korelirajo s klinično manifestacijo POO. Nekateri avtorji menijo, da je kljub temu, da so ta protitelesa prisotna, njihova patogenetska vloga zelo vprašljiva.^{25, 26} Avto-protitelesa so lahko posledica celične destrukcije, tako kot nastanejo pri destrukciji srčne mišice pri miokardnem infarktu. Drugi avtorji so prepričani, da se protiovarijska avtoprotitelesa lahko pojavijo več let pred nastankom kliničnih simptomov, saj so jih odkrili pri 33–61 % pri ženskah z nepojasnjeno neplodnostjo, kar lahko pomeni tudi zgodnjo stopnjo avtoimunske okvare jajčnika.²⁷

Ženske, ki so neplodne in imajo ovarijska protitelesa, imajo tudi slabši odziv na stimulacijo z gonadotropini²⁸ in manjšo stopnjo nosečnosti po zdravljenju.²⁹ Ženske, ki so slabo odzivne (low-responders) in imajo ovarijska protitelesa, so mlajše kot slabo odzivne brez ovarijskih protiteles.³⁰ Te ugotovitve kažejo na pomembno vlogo prisotnosti avtoimunskega procesa, ki vpliva na ovarijski odziv in ga je treba pri zdravljenju neplodnosti vključiti v diagnostične postopke, zlasti pri slabo odzivnih ali na gonadotropine neodzivnih žensk v reproduktivni dobi.³¹

Določanje ovarijskih protiteles je vsekakor specifičen, neinvaziven test, pomemben za diagnozo bolezni z avtoimunsko etiologijo. Na ta način lahko odkrijemo bolnice, pri katerih bi prišla v poštev imunomodulacijsko zdravljenje, kar bi lahko, vsaj začasno vzpostavilo ovarijsko funkcijo in tako tudi plodnost.

Abnormnosti celične imunosti limfocitov T, makrofagov in dendritičnih celic imajo pomembno vlogo pri avtoimunskih dogajanjih, zlasti pri nastanku avtoimunskih lezij. Nekaj teh abnormnosti so ugotovili tudi pri bolnicah s POO, kar potrjuje možnost avtoimunskega mehanizma bolezni. Tako kot pri drugih avtoimunskih boleznih so ugotovili, da je absolutno število in odstotki limfocitov T v periferni krvi, zlasti CD4⁺ celic T, pri bolnicah s POO povečano.³² Ugotovili so tudi, da imajo bolnice s POO nizke vrednosti CD8⁺/CD57⁺ celic T (citotoksični T limfociti) in povečano razmerje CD4⁺/CD8⁺.³³

Kot prvi mediatorji zaviranja avtoimunskih bolezni pri miših so bile odkrite celice T CD4⁺ s stalno izraženo verigo α (CD25) receptorja za IL-2.³⁴ Celice T CD4⁺CD25 imajo zaviralno funkcijo *in vitro* in *in vivo*. Te celice so med drugim udeležene pri obrambi proti avtoaktivnim celicam T, kot je opisano pri številnih avtoimunskih boleznih.

Skladno z raziskavami pri pacientih z multiplo sklerozo, revmatoidnim artritisom, avtoimunskimi vaskulitisi in lupusom eritematozusom smo potrdili zmanjšano število regulatornih celic T v periferni krvi.

V naši študiji smo dokazali povečano število B celic v periferni krvi. Podobno sliko najdemo tudi pri drugih avtoimunskih endokrinopatijah. Torej lahko povišano raven B celic interpretiramo kot aktivacijo humoralnega imunskega sistema, ki je ključen za produkcijo avtoprotiteles. Celo terapevtska substitucija estrogena pri bolnicah s POO ni imela vpliva na raven perifernih celic B.^{35, 36}

Dokazali smo tudi zmanjšano populacijo celic ubijalk v periferni krvi bolnic s POO. Zmanjšano število teh celic so tudi opazili pri pacientih z bazedovko.³⁵ Ker imajo celice ubijalke ključno vlogo pri imunoregulaciji celic B in T, lahko pri zmanjšani ravni celic NK v periferni krvi pride do stvarjanja avtoprotiteles.³⁷

Kot možni označevalci za stopnjo prizadetosti funkcionalnega parenhima jajčnikov sta opisana hormona inhibin B in antimüllerjev hormon. Granulozne celice v foliklu izločajo AMH, tako da je ta hormon vključen v razvoj foliklov.

AMH je povezan s starostjo in s številom antralnih foliklov jajčnika. Ker je dokazano, da raven AMH s časom pri normoovulatornih ženskah upada, medtem ko FSH, estradiol in inhibin B niso spremenjeni, je AMH zelo občutljiv kazalec ovarijske rezerve.^{3, 4}

Pri naši študijski skupini bolnic smo – skladno z literaturo – dokazali manjše število antralnih foliklov ali pa te strukture ultrazvočno sploh niso več vidne. Hormonski parametri teh bolnic so značilni za hiper-gonadotropni hipogonadizem.

Pri mladih, ovulatornih ženskah je merjenje AMH v zgodnji folikularni fazi v 3 letnih intervalih pokazalo, da koncentracija serumskega AMH značilno pada, medtem ko so bili koncentraciji FSH in inhibina B in število antralnih foliklov v tem obdobju nespremenjeni. Stratifikacija po starosti pokaže, da serumska raven AMH in število antralnih foliklov z leti upada.³⁸ Rezultati raziskav, ki opredeljujejo ovarijsko rezervo in označevalce te rezerve, kažejo, da je AMH najboljši kazalec ovarijske rezerve, saj se zniža že v času, ko sta koncentraciji FSH in inhibina še normalni, zato predlagajo, naj bi se koncentracije AMH uporabljale kot označevalec staranja ovarijev.^{39, 40}

V raziskavi smo upoštevali osebno in družinsko anamnezo bolnic s POO in jo primerjali z zdravimi ženskami v kontrolni skupini. Skladno z navedbami v literaturi smo tudi pri naših bolnicah ugotovili pridružena avtoimunska obolenja.^{1, 2}

Zaključki

Klinična in biološka značilnost žensk s POO, pri katerih so izključeni znani vzroki bolezni, kažeta na mo-

žnost avtoimunske patogeneze. Kombinacija različnih kazalcev, ki opredeljujejo sistemsko in organsko-specifično avtoimunost, potrjuje prisotnost avtoagresivnih procesov pri nekaterih bolnicah. Hkrati pa se kaže tudi potreba, da bi našli zanesljiv in preprost diagnostični postopek, da bi ugotovili resnično prevalenco avtoimunske etiologije ovarijske bolezni.

Literatura

- Conway GS. Premature ovarian failure. *Br Med Bull* 1999; 56: 643-9.
- Anasti IN. Premature ovarian failure: an update. *Fertil Steril* 1998; 70: 1-15.
- Taylor AE. Systemic adversities of ovarian failure. *J Soc Gynecol Investig* 2001; 8: S7-S9.
- Snowdown DA, Kane RL, Beeson WL, Burke GL, Sprafka SM, Potter J, et al. Is early natural menopause a biologic marker of health and aging? *Am J Public Health* 1989; 79: 709-14.
- Conway GS, Kaltsas G, Patel A, Davies MS, Jacobs HS. Characterisation of idiopathic premature ovarian failure. *Fertil Steril* 1996; 65: 337-41.
- Morita Y, Tilly IL. Oocytic oophoritis: like sand through an hourglass. *Dev Biol* 1999; 213: 1-17.
- Zuckerman S. The number of oocytes in the mature ovary. *Recent Prog Horm Res* 1951; 6: 63-108.
- Johnson J, Canning J, Kaneko T, Pru SK, Tilly JL. Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature* 2004; 428: 145-50.
- Byskof AG, Faddy MJ, Lemmen JG, Andersen CY. Eggs forever? *Differentiation* 2005; 73: 438-46.
- Liu Y, Wu C, Lyu Q, Yang D, Albertini DF, Keefe DL, et al. Germline stem cells and neo-oogenesis in the adult human ovary. *Dev Biol* 2007; 306: 112-20.
- Bukovsky A, Virant-Klun I, Svetlikova M, Willson I. Ovarian germ cells. *Methods Enzymol* 2006; 419: 208-58.
- Bukovsky A, Virant-Klun I. Adult stem cells in the human ovary. In: Carlos S, Pellicer A, eds. *Stem cells in reproductive medicine: Basic science and therapeutic potential*. London: Informa Healthcare; 2006. p. 53-69.
- Duff GL, Bernstein C. Five cases of Addison's disease with so-called atrophy of the adrenal cortex. *Bull Johns Hopkins Hospital* 1933; 52: 637-40.
- Bakalov VK, Vanderhoof VH, Body CA, Nelson LM. Adrenal autoantibodies detected asymptomatic auto-immune adrenal insufficiency in young women with spontaneous premature ovarian failure. *Hum Reprod* 2002; 17: 2096-100.
- Betterle C, Volpato M. Adrenal and ovarian autoimmunity. *Eur J Endocrinol* 1998; 138: 16-25.
- Dalpra C, Chen S, Furmaniak J. Autoantibodies to steroidogenic enzymes in patients with premature ovarian failure and Addison's disease. *Eur J Endocrinol* 2003; 148: 565-70.
- De Moraes-Ruehsen M, Blizzard RM, Garcia-Bunner R, Jones GS. Autoimmunity and ovarian failure. *Am J Obstet Gynecol* 1972; 112: 693-703.
- Betterle C, Ross A, Dalla Pria S, Artifoni A. Premature ovarian failure: autoimmunity and natural history. *Clin Endocrinol* 1993; 39: 35-43.
- Alper MM, Garner PR. Premature ovarian failure: its relationship to autoimmune disease. *Obstet Gynecol* 1985; 66: 27-30.
- Forges T, Monnier-Barbarino P, Faure GC, Bene MC. Autoimmunity and antigenic targets in ovarian pathology. *Hum Reprod Update* 2004; 10: 163-75.
- Irvine WJ. Premature menopause in autoimmune disease. *Lancet* 1969; 1: 565-70.
- Vallotton MB, Forbes AP. Antibodies to cytoplasm of ovary. *Lancet* 1966; 2: 264-5.
- Ho PC, Tang GWK, Fu KH, Fan MC, Lawton WM. Immunologic studies in patients with premature ovarian failure. *Obstet Gynecol* 1988; 71: 622-6.
- Damewood MD, Zacur HA, Hoffman GJ, Rock JA. Circulating antiovarian antibodies in premature ovarian failure. *Obstet Gynecol* 1986; 68: 850-4.
- Coulam CB, Ryan RJ. Premature menopause. Etiology. *Am J Obstet Gynecol* 1979; 133: 639-43.
- Coulam CB, Ryan RJ. Prevalence of circulating antibodies directed towards ovaries among women with premature ovarian failure. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1985; 9: 23-4.
- Luborsky J, Llanes B, Davies S, Binor Z, Radwanska E, Pong R. Ovarian autoimmunity: greater frequency of autoantibodies in premature menopause and unexplained infertility than in the general population. *Clin Immunol* 1999; 90: 368-74.
- Meyer W, Lavy G, De Cherney A, Visintin I. Evidence of gonadal and gonadotropin antibodies in woman with suboptimal ovarian response to exogenous gonadotropin. *Obstet Gynecol* 1990; 75: 795-9.
- Luborsky J, Pong R. Pregnancy outcome and ovarian autoimmunity in infertility patients undergoing controlled ovarian hyperstimulation. *Am J Reprod Immunol* 2000; 44: 261-5.
- Luborsky J, Thirupathi P, Rivany B. Evidence for different etiologies of low estradiol response to FSH: age-related accelerated luteinization of follicles of presence of ovarian autoantibodies. *Hum Reprod* 2002; 17: 2641-9.
- Luborsky J. Ovarian autoimmune disease and aovarian autoantibodies: a review. *J Womens Health Gender Based Med* 2002; 11: 585-99.
- Mignot MH, Drexhage HA, Kleingeld M. Premature ovarian failure II. Considerations of cellular immunity defects. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1989; 30: 67-72.
- Miyake T, Sato Y, Takeuchi S. Implications of circulating autoantibodies and peripheral blood lymphocyte subset for the genesis of premature ovarian failure. *J Reprod Immunol* 1987; 12: 163-71.
- Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995; 155: 1151-64.
- Chernysmov VP, Radysh TV, Gura IV, Tatarshuk TP, Khominskaya ZB. Immune disorders in women with premature ovarian failure. *Am J Reprod Immunol* 2001; 46: 220-5.
- Ho PC, Tang GW, Lawton JW. Lymphocyte subsets and serum immunoglobulins in patients with premature ovarian failure before and after estrogen replacement. *Hum Reprod* 1993; 8: 714-6.
- Hoek A, Schoemaker J, Drexhage HA. Premature ovarian failure and ovarian autoimmunity. *Endocrine Rev* 1997; 11: 107-34.
- Fanchin R, Schonauer LM, Righini C. Serum anti-Mullerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH, LH on day 3. *Hum Reprod* 2003; 18: 323-7.
- Van Rooij IA, Tonkelaar I, Broekmans FJ. Anti-Mullerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause* 2004; 11: 601-6.
- Van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ. Serum anti mullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril* 2005; 83: 979-87.