

Білки теплового шоку у діагностиці та прогнозуванні порушень репродуктивної функції у жінок

Л.Ф. Яковенко¹, О.В. Ромащенко², І.В. Крупська¹

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, м. Київ

²Інститут урології НАМН України, м. Київ

Білки теплового шоку (Heat shock proteins – HSPs) – висококонсервативні білки, які у збільшеній кількості синтезуються прокариотичними та еукариотичними клітинами за наявності стресових умов. HSPs є імунодомінантними антигенами бактерій, розпізнаються імунною системою і спричинюють розвиток реакцій клітинного та гуморального імунітету. Їхній рівень зростає у місцях гострого та хронічного запалення, вони залучені у патогенез практично всіх захворювань.

Огляд присвячено оцінюванню діагностичного потенціалу HSPs та анти-HSPs-антитіл для визначення стану репродуктивної функції у жінок за даними літератури та результатами власних досліджень. Також розглядаються можливі механізми залучення HSPs та анти-HSPs-антитіл у розвиток трубної безплідності, ранньої недостатності яєчників, процесу втрати вагітності на ранніх термінах.

Ключові слова: білки теплового шоку, антитіла проти білків теплового шоку, безплідність, невиношування вагітності, допоміжні репродуктивні технології.

За стресових ситуацій (запалення, вірусні та бактеріальні інфекції, гіпертермія, гіпоксія, ішемія, оксидативний стрес, вплив важких металів, хімічних речовин, токсинів, психоемоційні стреси, паління) у клітинах організму зростає синтез білків теплового шоку (Heat shock proteins – HSPs). Залежно від локалізації в клітині HSPs виконують різні функції. Внутрішньоклітинні HSPs беруть участь у забезпеченні білкового гомеостазу (правильний фолдинг, деградація неправильно складених білків, формування олигомерних білкових комплексів, внутрішньоклітинний транспорт білків) та захищають клітини від апоптозу. Позаклітинні HSPs здатні модулювати сигнальні шляхи клітини (контроль клітинного циклу, стероїд-рецепторна сигналізація, запуск апоптозу оточуючих клітин). Вони можуть активувати антиген-презентуючі клітини та слугувати сигналом небезпеки для імунної системи [2, 41, 51].

Геном людини кодує понад 100 різних HSPs, які згруповано у шість родин залежно від молекулярної маси: HSPH (Hsp110), HSPC (Hsp90), HSPA (Hsp70), шапероні людини HSPD/E (Hsp60/Hsp10) та CCT, DNAJ (Hsp40), HSPB (small Hsp). Члени кожної родини HSPs можуть бути:

- 1) конститутивно експресовані, але не індукуються стресом;
- 2) конститутивно експресовані та індукуються стресом;
- 3) індукуються лише після дії стресового чинника [27].

HSPs – висококонсервативні та високоімуногенні білки. Прокариотичні та еукариотичні HSPs мають високий ступінь гомології (близько 50%) [31]. Вони є імунодомінантними антигенами бактерій, розпізнаються імунною системою і зумовлюють розвиток реакцій клітинного та гуморального імунітету. Організм може бути сенсibilізований мікробними HSPs під час інфекційних захворювань або при вакцинації. Їхній рівень зростає у місцях гострого та хронічного запалення,

вони залучені у патогенез практично всіх захворювань. Визначення рівнів HSPs та анти-HSPs-антитіл у сироватці крові, зокрема, використовується у діагностиці та прогнозуванні перебігу захворювань [11].

Даний огляд присвячено оцінюванню діагностичного потенціалу HSPs та анти-HSPs-антитіл для визначення стану репродуктивної функції, їхньої можливої ролі у розвитку безплідності та невиношуванні вагітності.

Трубна безплідність

Діагностика

Виявлення антитіл проти хламідійного Hsp60 у сироватці крові жінок з хронічними запальними захворюваннями органів малого таза (ХЗЗОМТ) вважається кращим тестом у діагностиці трубної безплідності (ТБ) [4, 20, 72, 77]. Комплексне дослідження рівнів антитіл проти хламідійного Hsp60 та *C.trachomatis*, проліферативної відповіді на хламідійний Hsp60 та елементарні тільця *C.trachomatis* дозволило підвищити чутливість тесту. Ризик розвитку ТБ зростав у 20 разів за позитивного результату трьох показників у будь-яких комбінаціях [68].

Наявність антитіл проти епітопа хламідійного Hsp60 – амінокислотні залишки (а.з.) 201-300, а.з. 401–544 хламідійного Hsp60 [6] та антитіл проти хламідійного Hsp10 [30] також розглядається як серологічний маркер ТБ.

Установлено зв'язок між наявністю підвищених рівнів антитіл проти GroEL *E.coli* та формуванням у жінок із ХЗЗОМТ порушень репродуктивної функції (ТБ, невиношування вагітності), коефіцієнт взаємної спряженості становив $K=0,475$ (середня сила зв'язку) [5]. За результатами проведених досліджень для контролю ефективності лікування ХЗЗОМТ доцільно досліджувати рівень анти-GroEL-антитіл у сироватці крові у динаміці (до лікування, через 1, 3 та 6 міс після лікування).

Для діагностування ТБ було запропоновано панель антигенів *C.trachomatis* (Hsp60, СТ376, СТ557 та СТ443), проте вона не дозволяла розрізнити жінок з ТБ та гострою хламідійною інфекцією [8].

Не виявлено зв'язку між наявністю антитіл проти Hsp60 людини та ТБ [21].

Механізми залучення HSPs до патогенезу трубної безплідності

Вважається, що антитіла проти хламідійного Hsp60 та сенсibilізовані хламідійним Hsp60 Т-лімфоцити здатні взаємодіяти з гомологічними епітопами Hsp60 людини, який у збільшеній кількості представлений на стресованих ендотеліальних клітинах маткових труб, що може призводити до розвитку аутоімунних процесів [72]. Установлено наявність В-клітинних епітопів Hsp60 *C.trachomatis* та потенційних аутореактивних епітопів Hsp60 людини [10, 78]. Під час експерименту на тваринах виявлено зв'язок між специфічними антитілами проти хламідійного Hsp60, хламідійного Hsp10

та розвитком фіброзу маткових труб [22]. Результати численних клінічних досліджень свідчать про зв'язок між наявністю антитіл проти хламідійного Hsp60 та розвитком ТБ [4]. Проте, на думку деяких авторів, наявність антитіл може свідчити лише про присутність хламідійних антигенів в організмі господаря та антиген-індуковану запальну та клітинну імунну відповідь, які й спричинюють розвиток патології [60].

Хламідійний Hsp60 – високоімуногенний білок, вважається основним антигеном, що відповідає за розвиток гіперчутливості уповільненого типу при *C.trachomatis*-асоційованому сальпінгіті [40, 49]. На моделі експериментального сальпінгіту у макак продемонстровано, що тільки рекомбінантний хламідійний Hsp60 (використовували інактивовані ультрафіолетом *C.trachomatis*, рекомбінантний хламідійний Hsp60, рекомбінантний хламідійний Hsp10, major outer membrane protein, outer membrane protein) зумовлював реакцію лімфоцитів. Максимальна відповідь лімфоцитів спостерігалась через 48 год у відповідь на використання концентрації рекомбінантного хламідійного Hsp60 50 µg (використані концентрації 0,5; 20 і 50 µg) [32]. Вважається, що в осіб, сенсibilізованих хламідійним Hsp60 у результаті персистентної хламідійної інфекції або повторних інфекцій, розвивається хронічне мононуклеарне запалення, що призводить до тканинних пошкоджень, а у подальшому – до склеротичної деструкції маткових труб [49].

Хламідійний Hsp60 є потужним антигенним стимулом, що може активувати макрофаги, епітеліальні клітини, лімфоцити до синтезу та секреції цитокінів [9]. Хламідійний Hsp60 в умовах *in vitro* стимулював значно більше продукування інтерлейкіну-10 (ІЛ-10), інтерферону-γ (ІФН-γ) мононуклеарми периферійної крові [28] та ІЛ-10, ІФН-γ, фактора некрозу пухлини-α (ФНП-α) мононуклеарами каналу шийки матки [63] жінок з ТБ порівняно з жінками з безплідністю з інших причин. Анти-Hsp60-антитіла здатні посилювати запальні реакції, зумовлені Hsp60, зокрема секрецію прозапальних цитокінів (ФНП-α, ІЛ-8) [79]. ІФН-γ здатний активувати макрофаги до вивільнення медіаторів запалення, які спричинюють проліферацію фібробластів, що супроводжується збільшенням синтезу колагену. ФНП-α здатний стимулювати макрофаги до вивільнення продуктів, які є цитотоксичними щодо епітеліальних клітин. Повторні цикли активної хламідійної інфекції, що супроводжуються синтезом прозапальних цитокінів, будуть поступово призводити до розвитку фіброзу та пошкодження цілісності епітелію маткових труб. Наслідком цього буде врешті решт порушення їхньої прохідності [77].

Вважається, що Hsp60 інших бактерій, які наявні у маткових трубах, можуть спричинювати синтез специфічних анти-Hsp60-антитіл та сенсibilізованих Т-лімфоцитів, а також активувати сенсibilізовані хламідійним Hsp60 Т-лімфоцити, що призводитиме до посилення деструкції тканин маткових труб [33].

Ектопічна вагітність

Діагностика

Антитіла проти хламідійного Hsp60 виявляють у сироватці крові жінок як за наявності ТБ, так і ектопічної вагітності [14].

Установлено зв'язок між наявністю ІgG-антитіл проти а.з. 260–272 і а.з. 411–422 хламідійного Hsp60 та формуванням перитубарних спайок у жінок з ектопічною вагітністю [65]. Присутність ІgG-антитіл проти а.з. 260–271 хламідійного Hsp60 у жінок з ектопічною вагітністю була пов'язана зі зниженням фертильності та збільшенням вірогідності несприятливого результату наступної вагітності. У жінок, сироватка крові яких була негативною до даного епітопа хламідійного Hsp60, у п'ять разів частіше фіксували позитивний результат вагітності та нормальні пологи [66].

Наявність антитіл проти Hsp60 людини, навпаки, зменшувала ймовірність ектопічної вагітності у жінок з попередньою хламідійною інфекцією [47].

Ефективним маркером прогнозування ектопічної вагітності, вагітності невідомої локалізації та спонтанного абортів на ранніх стадіях вважається, зокрема, концентрація Hsp10 та Hsp27 у сироватці крові. Установлено, що підвищені рівні Hsp10 та Hsp27 є ознакою правильної імплантації ембріона [58].

Механізми залучення HSPs до патогенезу ектопічної вагітності

Hsp10 та Hsp27 – одні з перших білків, що виявляють у сироватці крові при вагітності, є важливими для правильної імплантації ембріона. Hsp10 проявляє протизапальну активність і здатний пригнічувати продукцію медіаторів запалення, індукованих бактеріальними ліпополісахаридами [26]. Hsp27 відіграє важливу роль у пригніченні апоптозу [57]. Зниження його експресії у вагітних, хворих на системний червоний вовчак, була пов'язана з підвищенням ризику втрати вагітності [59].

Вважається, що однією з причин невдалої імплантації бластоцисти може бути активація TLR4 бактеріальним Hsp60. Можливо, Hsp60 інгібує імплантацію бластоцист шляхом зміни експресії цитокінів (ФНП-α, ІЛ-1, факторів росту) [33, 77].

Ендометріоз

Діагностика

У сироватці крові жінок з ендометріозом виявлялися ІgG-антитіла проти а.з. 401–544 хламідійного Hsp60 [6].

У жінок з ендометріозом спостерігалось підвищення проліферації лімфоцитів периферійної крові у відповідь на Hsp60 *E.coli* [29].

У перитонеальній рідині жінок з ендометріозом зростає вміст HSPs [29].

Безплідність, зумовлена наявністю антиваріальних антитіл

Діагностика

У сироватці крові жінок з безплідністю, зумовленою антиваріальними антитілами, присутні аутоантитіла проти Hsp90b [52, 53] та основного імуногенного епітопа Hsp90 EP6 (а.з. 380–389) [54].

Механізми залучення HSPs до патогенезу безплідності, спричиненої недостатністю яєчників

Hsp90 виявляють на всіх стадіях розвитку фолікулів яєчника. Вважається, що Hsp90 залучений до розвитку аутоімунних процесів у яєчниках людини і може спричинювати їхню ранню недостатність [13, 52].

HSPs присутні на поверхні стресованих клітини і є доступними для аутоантитіл та перехреснореагуючих антитіл проти мікробних HSPs [56]. Аутоантитіла проти Hsp90 можуть проникати всередину живої клітини [61] та знижувати цитоархітектуру яєчників [52]. Установлено, що у пацієнтів з глаукомою аутоантитіла проти Hsp27 здатні проникати у нейрональні клітини ретини людини та індукувати їхню загибель шляхом інактивації здатності Hsp27 стабілізувати актиновий цитоскелет [69].

Безплідність нез'ясованої етіології

Діагностика

В ендометрії жінок з безплідністю нез'ясованої етіології фіксують надекспресію Hsp70 [42]. Hsp70 є чутливим маркером окиснювального стресу в тканинах, його підвищена експресія вважається індикатором того, що біологічна система знаходиться в умовах стресу [19]. Внутрішньоклітинний Hsp70 володіє цитопротекторними властивостями, сприяє зниженню запалення та запобігає апоптозу. Позаклітинний Hsp70, навпаки, здатний індукувати апоптоз оточуючих клітин.

Синдром полікістозних яєчників

Діагностика

Концентрацію Hsp70 у сироватці крові розглядають як потенційний біомаркер ризику розвитку синдрому полікістозних яєчників. Установлено позитивну кореляцію між рівнем сироваткового Hsp70 та рівнем С-реактивного білка та ФНП-а в обстежених жінок [19].

Вторинна безплідність

Діагностика

Антитіла проти хламідійного Hsp60 можуть бути біомаркером вторинної безплідності [17].

Втрата вагітності на ранніх термінах

Діагностика

IgA-антитіла проти хламідійного Hsp60 вважаються додатковим діагностичним біомаркером невиношування вагітності [74], антитіла проти а.з. 260–271 хламідійного Hsp60 – біомаркером спонтанного абортів [75].

За результатами проведених досліджень, комбінаторне виявлення антитіл проти Hsp60 людини у сироватці крові вагітних методами твердофазного імуноферментного аналізу та Вестерн-блотингу (імуноблотингу) є доцільним для прогнозу перебігу вагітності. Висока реактивність сироватки крові вагітної за зазначеним показником на ранніх термінах вагітності є несприятливою ознакою та показанням для проведення поглибленого клініко-лабораторного обстеження [3].

Наявність аутоанти-Hsp90b-антитіл у сироватці крові може бути біомаркером втрати вагітності [52, 55].

Механізми залучення HSPs до патогенезу втрати вагітності на ранніх термінах

HSPs відіграють важливу роль у процесах імплантації. Максимальні рівні Hsp27, Hsp60 та Hsp70 виявляють в ендометрії після овуляції та у ранній секреторній фазі, що є критичним періодом для «ендометріального сприйняття» ембріона. HSPs захищають клітини ендометрія від пошкоджувального впливу цитокінів, які активно синтезуються лейкоцитами під час секреторної фази, а також беруть участь у модуляції стероїдної функції ендометрія [46]. Внутрішньоклітинні HSPs запобігають апоптозу клітини.

Вагітні можуть бути сенсibilізовані бактеріальними HSPs та мати підвищений рівень анти-HSPs-антитіл. Активність бактеріальним HSPs клітинної та гуморальної ланки імунітету може призводити до порушення імунорегуляторних механізмів, необхідних для імплантації та збереження ембріона [77].

HSPs є одними з перших білків, що синтезуються під час ембріогенезу і є необхідними для розвитку ембріона [45].

Доведено, що бактеріальні ліпополісахариди здатні знижувати експресію генів HSPs, що може призводити до індукції значних пошкоджень ДНК ембріонів, які імплантуються, а згодом до їх дегенерації та деградації. Зниження рівнів HSPs може робити ембріони більш чутливими до апоптозу [23].

Hsp60 представлений на плаценті більшою мірою на апікальній поверхні синцитіотрофобластів порівняно зі стромальними та м'язовими клітинами. Установлено, що рівень Hsp60 на клітинах плаценти не відрізнявся у жінок з нормальним перебігом вагітності та за вагітності, перерваної на ранніх термінах. Проте імунні комплекси (анти-Hsp60-антитіла–Hsp60) виявляли лише у плаценті жінок, які втратили вагітність на ранніх термінах. Імунні комплекси можуть стимулювати продукцію прозапальних цитокінів, що негативно впливатиме на результат вагітності [80].

Hsp60, який локалізований на клітинах плаценти, може бути потенційною мішенню для перехреснореагуючих антитіл проти бактеріального Hsp60, а також сенсibilізованих

бактеріальним Hsp60 Т-лімфоцитів. Взаємодія анти-Hsp60-антитіл або сенсibilізованих Т-лімфоцитів з гомологічними епітопами Hsp60 людини може призводити до імунного відторгнення ембріона [77] та втрати вагітності у жінок, інфікованих *C. trachomatis* у минулому [64].

Експериментально доведено, що антитіла проти бактеріального Hsp60 можуть потенціювати тромбоз [16]. Судинні патології можуть ускладнювати стан вагітної, спричинювати погіршення стану плаценти, пережимання судин і затримку розвитку плода, що може призводити до втрати вагітності.

Антитіла проти бактеріального Hsp60 здатні зв'язуватись з циркулюючим Hsp60 та формувати імунні комплекси, які можуть утворювати депозити у різних анатомічних місцях, наприклад у базальній мембрані гломерул [11], та здійснювати пошкоджувальний вплив на тканини нирки вагітної.

Експериментально встановлено прямий вплив антитіл проти Hsp60, Hsp70 та Hsp90 ссавців на розвиток ембріона миші *in vitro* [44]. Механізм(и) анти-HSPs-інгібіції розвитку ембріона залишаються остаточно не встановленими. Вважається, що присутність аутоанти-Hsp90b-антитіл у сироватці крові може призводити до втрати вагітності за рахунок їхньої реактивності з ооцитами та впливу на ембріон. Hsp90b відіграє важливу роль у диференціації трофобластів і є важливим для раннього ембріонального розвитку [52].

Здатність Hsp60 та Hsp70 до індукції апоптозу може бути ще однією з причин втрати вагітності на ранніх термінах. Установлено, що у жінок зі спонтанним абортном частка клітин, що зазнали апоптозу, щодо загальної кількості досліджених клітин, експресія Hsp70 та мРНК Hsp70 були вищими порівняно з контролем (жінки з індукованим абортном) [50]. Експериментально встановлено, що оброблення хламідійним Hsp60 (5мг/мл) первинних трофобластів, ізольованих на початку II триместра вагітності, у 5 разів збільшувало число апоптотичних клітин порівняно з клітинами, обробленими середовищем для культивування. Хламідійний Hsp60 в умовах *in vitro* індукував апоптоз у первинних трофобластах людини, фібробластах плаценти, JEG3-клітинній лінії трофобластів через TLR4 [18].

Установлено, що у сироватці крові здорових вагітних концентрація Hsp70 значно нижча порівняно зі здоровими невагітними жінками [38]. Виявлено негативну кореляцію концентрації Hsp70 та віку матері і позитивну кореляцію концентрації Hsp70 та терміном гестації. Зниження рівня циркулюючого Hsp70 відбувається через невстановлені регуляторні механізми, котрі спрямовані на підтримання імунної толерантності під час вагітності. Уважється, що позаклітинний Hsp70 може бути шкідливим та призводити до ішемії децидуальної оболонки, пригнічувати ріст ембріона, стимулювати імунні клітини, що у подальшому призводить до раннього переривання вагітності [67].

Звичне невиношування з нез'ясованих причин

Діагностика

У сироватці крові жінок з періодичною втратою вагітності виявляють високі рівні анти-Hsp60- та анти-Hsp70-антитіл [36].

Механізми залучення HSPs до патогенезу звичного невиношування з нез'ясованих причин.

HSPs присутні в ендотеліальних клітинах судин людини за нормальних умов, в умовах стресу їхній рівень на поверхні клітин підвищується. Вони можуть бути антиген-мішенями для анти-Hsp60- та анти-Hsp70-антитіл, у тому числі перехреснореагуючих антитіл проти бактеріальних HSPs. Експериментально встановлено, що анти-Hsp60-антитіла спричинювали лізис стресованих ендотеліальних клітин *in vitro* за наявності комплементу (комплементзалежна цитотоксичність) [37, 62]. Анти-Hsp60-антитіла, афінно очищені із високореактивної до

Hsp60 сироватки пацієнтів з системним червоним вовчаком, зв'язували Hsp60 на поверхні ендотеліальних клітин та індукували їхній апоптоз [15]. Порушення цілісності ендотелію судин внаслідок взаємодії анти-HSPs-антитіл з HSPs, локалізованими на поверхні стресованих ендотеліальних клітин, може бути причиною судинної дисфункції, що призводить до повторюваної втрати вагітності з нез'ясованих причин [36].

Високий рівень анти-Hsp60- та анти-Hsp70-антитіл може також спричинити викидень чи мертвонародження дитини через механізм, не пов'язаний із судинною дисфункцією [36]. HSPs локалізовані у плаценті і в нормі виконують захисну роль. Експериментально встановлено, що вплив ультразвуку на ворсинки хоріона шурів протягом 10 та 20 хв супроводжувався зростанням експресії Hsp70 та гальмуванням апоптозу, що сприяло зниженню пошкоджень тканин [34]. Установлено, що у ворсинках хоріона жінок, у яких була спонтанно перервана вагітність на 8–13-у тиж гестації, експресія Hsp70 була значно вищою порівняно з жінками з фізіологічним перебігом вагітності [25]. У плаценті жінок, які мали внутрішньоутробне обмеження росту плода, також було виявлено більш висці рівні Hsp27, Hsp60, Hsp70 та Hsp90 у синцитіотрофобластах та цитотрофобластах аваскулярних ворсинок і ворсинок з тромбами порівняно з контролем [70]. Вважається, що анти-HSPs-антитіла можуть перешкоджати здатності HSPs ефективно захищати тканини у разі стресових умов. Експериментально доведено пряму цитотоксичність анти-Hsp70-антитіл щодо клітин, які експресували Hsp70 [35]. Наявність анти-Hsp60- та анти-Hsp70-антитіл у сироватці крові може призвести до прямого пошкодження плаценти, якщо клітини хоріона експресують підвищений рівень Hsp60 та Hsp70. Це може бути ще одним механізмом залучення анти-HSPs-антитіл, що призводить до несприятливого наслідку вагітності [36].

Застосування допоміжних репродуктивних технологій *Діагностика*

Наявність IgA-антитіл проти хламідійного Hsp60 [71, 74] та а.з 260–271 [73] у жінок знижувала ефективність застосування допоміжних репродуктивних технологій. У жінок, фолікулярна рідина яких містила антитіла проти хламідійного Hsp60 людини, була нижча ефективність імплантації, тоді як кількість та відсоток ооцитів, які запліднилися, були однаковими [24]. Інкубація ембріонів у середовищі, що містило сироватку, позитивно до хламідійного Hsp60, пригнічувало розвиток ембріона [76]. Присутність Hsp60 людини у фолікулярній рідині була пов'язана з неможливістю завагітніти після перенесення ембріона [43].

У сироватці крові майже половини жінок з негативним результатом запліднення *in vitro* виявляли аутоантитіла проти Hsp90b [55].

Передчасні пологи *Діагностика*

Виявлення IgG-антитіл проти бактеріального Hsp60, Hsp60 людини або антитіл проти специфічних HSPs-епітопів у вагітних може бути додатковим діагностичним підходом для прогнозу ризику передчасних пологів [80].

Механізми залучення HSPs до патогенезу передчасних пологів

Імунні комплекси, бактеріальні Hsp60 можуть стимулювати продукцію прозапальних цитокінів, що може призвести до передчасного народження дитини [80]. Як вже згадувалося вище, анти-Hsp60-антитіла здатні збільшувати синтез прозапальних цитокінів, спричинений Hsp60 [79].

Прееклампсія *Діагностика*

При прееклампсії спостерігалось значне збільшення рівнів Hsp70 в ендотеліальних клітинах [48].

Не встановлено статистично достовірної різниці рівнів антитіл проти Hsp65, Hsp60 людини та Hsp70 у жінок з прееклампсією та жінок з фізіологічним перебігом вагітності [39].

Механізми залучення HSPs до патогенезу прееклампсії

У вагітних з такими ускладненнями, як прееклампсія, заримка внутрішньоутробного розвитку плода збільшувалась кількість апоптотичних трофобластів [18]. Hsp70 може спричинювати апоптоз ендотеліальних клітин та трофобластів [48].

Загибель плода

Діагностика

Підвищений рівень IgM- та IgG-антитіл проти Hsp60 людини у сироватці крові плода вважається маркером загибелі плода [7].

Вроджені дефекти плода

Діагностика

У сироватці крові вагітних, які згодом народили немовлят з розщепленням губи, піднебіння або з неврологічними розладами, виявляли підвищені рівні анти-Hsp70-антитіл [12].

За результатами проведених досліджень, у вагітних, у яких пренатально було діагностовано вроджені вади серця плода, рівень анти-GroEL-антитіл не відрізнявся від такого у жінок з нормальним перебігом вагітності, які народили здорових дітей [1].

ВИСНОВКИ

Визначення рівнів HSPs та анти-HSPs-антитіл у сироватці може використовуватись як додатковий діагностичний підхід для оцінювання ризику розвитку порушень репродуктивної функції у жінок з хронічними захворюваннями. Сьогодні наявність:

- IgG-антитіл проти хламідійного Hsp60 та хламідійного Hsp10 розглядається як ознака трубної безплідності, ектопічної вагітності;

- IgG-антитіл проти епітопа а.з. 260–272 хламідійного Hsp60 – трубної безплідності, ектопічної вагітності, спонтанного абортів;

- IgG-антитіл проти хламідійного Hsp60 – вторинної безплідності;

- IgA-антитіл проти хламідійного Hsp60 – невиношування вагітності.

Присутність IgG-аутоантитіл проти Hsp90b та його епітопа EP6 (а.з. 380–389) може свідчити про розвиток аутоімунних процесів у яєчниках, бути ознакою їхньої недостатності. Наявність аутоанти-Hsp90b-антитіл у сироватці крові також розглядається як біомаркер ризику втрати вагітності на ранніх термінах.

Наявність IgA- та IgG-антитіл проти хламідійного Hsp60, IgG-аутоантитіл проти Hsp90b у жінок може призводити до зниження ефективності застосування допоміжних репродуктивних технологій.

Для прогнозу ризику виникнення порушень репродуктивного здоров'я (безплідність, невиношування вагітності) та контролю ефективності лікування хронічних запальних захворювань органів малого таза доцільно досліджувати рівень анти-GroEL-антитіл у сироватці крові в динаміці.

Для прогнозу перебігу вагітності, ризику передчасних пологів ефективним є виявлення антитіл проти Hsp60 людини у сироватці крові вагітних методами твердофазного імуоферментного аналізу та Вестерн-блотингу (імуоблотингу); передчасних пологів – виявлення IgG-антитіл проти бактеріального Hsp60 та Hsp60 людини.

Високі рівні анти-Hsp60- та анти-Hsp70-антитіл у сироватці крові можуть бути біомаркером періодичної втрати

вагітності з нез'ясованих причин, анти-Hsp70-антитіл у вагітних – біомаркером ймовірності народження немовлят з вродженими вадами (розщеплення губи, піднебіння, неврологічні розлади).

Підвищений рівень IgM- та IgG-антитіл проти Hsp60 людини у сироватці крові плода розглядається як біомаркер загибелі плода.

Концентрація Hsp10 та Hsp27 у сироватці крові вважається ефективним біомаркером прогнозування ектопічної вагіт-

ності, вагітності невідомої локалізації та спонтанного абортів на ранніх термінах гестації. Концентрація Hsp70 у сироватці крові розглядається як потенційний біомаркер ризику розвитку синдрому полікістозних яєчників.

Застосування зазначених показників як допоміжних у клінічній практиці може сприяти виявленню на ранніх етапах ризику розвитку порушень репродуктивної функції, підвищенню ефективності лікування, а також прогнозувати перебіг вагітності.

Белки теплового шока в диагностике и прогнозировании нарушений репродуктивной функции у женщин

Л.Ф. Яковенко, О.В. Ромащенко, И.В. Крупская

Белки теплового шока (Heat shock proteins – HSPs) – высококонсервативные белки, которые в увеличенном количестве синтезируются прокариотическими и эукариотическими клетками в условиях стресса. HSPs являются иммунодоминантными антигенами бактерий, распознаются иммунной системой и вызывают развитие реакций клеточного и гуморального иммунитета. Их уровень возрастает в местах острого и хронического воспаления, они вовлечены в патогенез практически всех заболеваний.

Обзор посвящен оценке диагностического потенциала HSPs и анти-HSPs-антител для определения состояния репродуктивной функции у женщин по данным литературы и результатам собственных исследований. Также рассматриваются возможные механизмы вовлечения HSPs и анти-HSPs-антител в развитие трубного бесплодия, ранней недостаточности яичников, процесса потери беременности на ранних терминах.

Ключевые слова: белки теплового шока, антитела к белкам теплового шока, бесплодие, невынашивание беременности, вспомогательные репродуктивные технологии.

Heat shock proteins in the diagnosis and prognosis of reproductive disorders in women

L.F. Yakovenko, O.V. Romashchenko, I.V. Kroupskaya

Heat shock proteins are structurally highly conserved and abundantly expressed by prokaryotic and eukaryotic cells under stressful conditions. HSPs are immunodominant antigens for many microbes. They are overexpressed at sites of acute and chronic inflammation and involved in the pathogenesis of various diseases.

Clinical studies and results of own investigations provided evidence that HSPs and anti-HSPs antibodies can be biomarkers for the diagnosis and prognosis of reproductive disorders in women. The involvement of HSPs and anti-HSPs antibodies in pathogenesis of tubal infertility, ovarian failure, pregnancy loss is discussed.

Key words: heat shock proteins, antibodies against heat shock proteins, infertility, pregnancy loss, in vitro fertilisation.

Сведения об авторах

Яковенко Людмила Федоровна – Отдел сигнальных систем клеток Института молекулярной биологии и генетики НАН Украины, 03143, г. Киев, ул. Академика Заболотного, 150; тел.: (044) 526-55-89. E-mail: l.f.yakovenko@imbg.org.ua

Ромащенко Оксана Васильевна – Отдел восстановительной урологии и новейших технологий ГУ «Институт урологии НАМН Украины», 04053, г. Киев, ул. В. Винниченко, 9-А; тел.: (044)486-98-90. E-mail: zakon@i.ua

Крупская Ирина Владимировна – Отдел сигнальных систем клеток Института молекулярной биологии и генетики НАН Украины, 03143, г. Киев, ул. Академика Заболотного, 150; тел.: (044) 526-55-89. E-mail: i.v.kroupskaya@imbg.org.ua

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Анти-Hsp60 антитіла у новонароджених із критичною вродженою вадою серця, яким переливали аутологічну пуповинну кров у ранній та віддалений післяопераційний період / Г.М. Воробйова, Я.В. Ткаченко, Л.Ф. Яковенко [та ін.] // Клінічна хірургія. – 2014. – № 12. – С. 38–45.
2. Макаренко М. В. Шапероніни як регулятори нормальної і патологічної антистресової відповіді у репродуктивній системі людини / М. В. Макаренко, Д. О. Говсєєв, Л. Л. Сидорик // Здоров'я жінчини. – 2016. – № 5. – С. 126–129.
3. Виявлення та характеристика антитіл проти Hsp60 людини у вагітних / М.В. Макаренко, Д.А. Говсєєв, Р.М. Ворона [та ін.] // Здоров'я жінчини. – 2016. – №8 (114). – С. 75–78.
4. Яковенко Л.Ф. Антитіла до хламідійного білка теплового шоку 60 – «маркер» безпліддя у жінок із запальними захворюваннями органів малого тазу хламідійної етіології? / Л.Ф. Яковенко, О.В. Ромащенко, Л.Л. Сидорик // ПАГ. – 2009. – №6 (436). – С. 78–87.
5. Антитіла до GroE1 E.coli (гомолог Hsp60 людини) у жінок із хронічними запальними захворюваннями органів малого тазу / Л.Ф. Яковенко, О.В. Ромащенко, А.В. Руденко [та ін.] // ПАГ. – 2011. – №1. – С.91–95.
6. Serologic responses of infertile women to the 60-kD chlamydial heat shock protein (hsp60) / G. Arno, Y. Yuan, R. Cleary et al. // Fertil.Steril. – 1995. – Vol. 64. – P. 730–735.
7. Anti-60-kDa heat shock protein antibodies in fetal serum: a biomarker for unexplained small for gestational age fetuses / F. Belhia, S. Gremlich, A. Muller-Brochut et al. // Gynecol Obstet Invest. – 2010. – Vol. 70, N 4. – P. 299–305.
8. Chlamydia trachomatis antigens recognized in women with tubal factor infertility, normal fertility, and acute infection / N. Budrys, S. Gong, A. Rodgers et al. // Obstet Gynecol. – 2012. – Vol. 119, N 5. – P. 1009–1016.
9. Chlamydial heat shock protein 60 activates macrophages and endothelial cells through Toll-like receptor 4 and MD2 in a MyD88-dependent pathway / Y. Bulut, E. Faure, L. Thomas et al. // J. Immunol. – 2002. – Vol. 168. – P. 1435–1440.
10. A comparative analysis of the products of GROEL-1 gene from Chlamydia trachomatis serovar D and the HSP60 var1 transcript from Homo sapiens suggests a possible autoimmune response / C. Campanella, A. Gammazza, L. Mularoni et al. // Int J Immunogenet. – 2009. – Vol. 36. – P. 73–78.
11. Chlamydia trachomatis infection and anti-Hsp60 immunity: the two sides of the coin / F. Cappello, M. de Conway, V. Di Felice et al. // PLOS Pathog. – 2009. – Vol. 5, N 8. – P. 1–9.
12. Birth defects and anti-heat shock protein 70 antibodies in early pregnancy / D. Child, P. Hudson, C. Hunter-Lavin et al. // Cell Stress and Chaperones. – 2006. – Vol. 11, N 1. – P. 101–105.
13. Choudhury A. Immune-mediated destruction of ovarian follicles associated with the presence of HSP90 antibodies / A. Choudhury, V. Khole // Mol Reprod Dev. – 2015. – Vol. 82, N 2. – P. 81–89.
14. Serum interleukin-1β, interleukin-8 and anti-heat shock 60 Chlamydia trachomatis antibodies as markers of ectopic pregnancy / A. Daponte, S. Pourmaras, E. Deligeorgiou et al. // J Reprod Immunol. – 2012. – Vol. 93, N 2. – P. 102–108.
15. Induction of endothelial cell apoptosis by heat-shock protein 60-reactive antibodies from anti-endothelial cell autoantibody-positive systemic lupus erythematosus patients / M. Dieudé, J.-L. Senécal, Y. Raymond // Arthritis Rheum. – 2004. – Vol. 50, N 10. – P. 3221–3231.
16. Autoantibodies to heat shock protein 60 promote thrombus formation in a murine model of arterial thrombosis / M. Dieude, M. Gillis, J. Theoret et al. //

- J.Tromb.Hatmost. – 2009. – Vol. 7, N 4. – P. 710–719.
17. Chlamydia trachomatis-specific heat shock protein 60 antibodies can serve as prognostic marker in secondary infertile women / R. Dutta, R. Jha, S. Salhan et al. // *Infection*. – 2008. – Vol. 36, N 4. – P. 374–378.
18. Chlamydia Heat Shock Protein 60 Induces Trophoblast Apoptosis through TLR4 / O. Equils, D. Lu, M. Gatter et al. // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177. – P. 1257–1263.
19. Serum Heat Shock Protein 70 Concentration in Relation to Polycystic Ovary Syndrome in a Non-Obese Chinese Population / H. Gao, J. Meng, M. Xu et al. // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, N 6. – P. 1–18.
20. Microbiota-based analysis reveals specific bacterial traits and a novel strategy for the diagnosis of infectious infertility / Graspeuntner S, Bohlmann M, Gillmann K et al. // *PLoS One*. – 2018. – N1. – P. 1–15.
21. Tubal factor infertility is associated with antibodies against Chlamydia trachomatis heat shock protein 60 (HSP60) but not human HSP60 / A. Hjelholt, G. Christiansen, T. Johannesson et al. // *Hum Reprod.* – 2011. – Vol. 26, N8. – P. 2069–2076.
22. Higgins D. Association of Uterine and Salpingeal Fibrosis with Chlamydia Hsp60 and Hsp10 Antigen-Specific Antibodies in Chlamydia-Infected Koalas / D. Higgins, S. Hensley, P. Canfield // *Clin. and Diagnost. Labor. Immunol.* – 2005. – Vol. 12, N 5. – P. 632–639.
23. Jaiswal M. Lipopolysaccharide drives alternation of heat shock proteins and induces failure of blastocyst implantation in mouse / M. Jaiswal, V. Agrawal, Y. Jaiswal // *Biol Reprod.* – 2013. – Vol. 88, N 6. – P. 1–12.
24. Antibody to the Chlamydia trachomatis 60kDa heat shock protein in follicular fluid and in vitro fertilization outcome / S. Jakus, A. Neuer, S. Dieterle et al. // *American Journal of Reproductive Immunology*. – 2008. – Vol. 59, N 2. – P. 85–89.
25. Trophoblastic oxidative stress in relation to temporal and regional differences in maternal placental blood flow in normal and abnormal early pregnancies / E. Jauniaux, J. Hempstock, N. Greenwold et al. // *Am J Pathol.* – 2003. – Vol. 162. – P. 115–125.
26. Heat shock protein 10 inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory mediator production / B. Johnson, T. Le, C. Dobbin et al. // *J Biol Chem.* – 2005. – Vol. 280. – P. 4037–4047.
27. Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins / H. Kampinga, J. Hageman, M. Vos et al. // *Cell Stress Chaperones*. – 2009. – Vol. 14. – P. 105–111.
28. Chlamydia trachomatis heat shock protein-60 induced interferon-gamma and interleukin-10 production in infertile women / A. Kinnunen, H. Surcel, M. Halttunen et al. // *Clin Exp Immunol.* – 2003. – Vol. 131. – P. 299–303.
29. Cell-mediated immunity to human and Escherichia coli 60-kDa heat shock protein in women: association with a history of spontaneous abortion and endometriosis / I. Kligman, J. Jeremias, Z. Rosenwaks et al. // *Am J Reprod Immunol.* – 1998. – Vol. 40, N1. – P. 32–36.
30. Seroreactivity to Chlamydia trachomatis HSP10 correlates with severity of human genital tract disease / D. La Verda, L. Albanese, P. Ruther et al. // *Infect Immun.* – 2000. – Vol. 68. – P. 303–309.
31. Stress proteins may provide a link between the immune response to infection and autoimmunity / J. Lamb, V. Bal, A. Nendez-Samperio et al. // *Int. Immunol.* – 1989. – Vol. 1. – P. 191–196.
32. Heat Shock Protein 60 is the major antigen which stimulates delayed-type hypersensitivity reaction in the macaque model of Chlamydia trachomatis salpingitis // A. Lichtenwalner, D. Patton, W. Voorhis et al. // *Infect. Immun.* – 2004. – Vol. 72, N2. – P. 1159–1161.
33. Linhares I. Immunopathogenic consequences of Chlamydia trachomatis 60 kDa heat shock protein expression in the fetal reproductive tract / I. Linhares, S. Witkin S. // *Cell Stress Chaperones*. – 2010. – Vol. 15. – P. 467–473.
34. Effects of diagnostic ultrasound on HSP70 expression in chorionic villi in rats during early pregnancy and the role of HSP70 in apoptosis in chorionic villi / H. Liu, F. Hou, H. Liang et al. // *Int J Mol Med.* – 2013. – Vol. 32. – P. 1085–1092.
35. Evidence of a role for both anti-Hsp70 antibody and endothelial surface membrane Hsp70 in atherosclerosis / X. Leng, X. Wang, W. Pang et al. *Cell Stress Chaperones*. – 2013. – Vol. 18. – P. 483–493.
36. Increased Anti-HSP60 and Anti-HSP70 Antibodies in Women with Unexplained Recurrent Pregnancy Loss / M. Matsuda, A. Sasaki, K. Shimizu et al. // *Acta Med Okayama.* – 2017. – Vol. 71, N 3. – P. 201–208.
37. Endothelial cytotoxicity mediated by serum antibodies to heat shock proteins of Escherichia coli and Chlamydia pneumoniae: immune reactions to heat shock proteins as a possible link between infection and atherosclerosis / M. Mayr, B. Metzler, S. Kiechl et al. // *Circulation.* – 1999. – Vol. 99. – P. 1560–1566.
38. Serum heat shock protein 70 levels are decreased in normal human pregnancy / A. Molvarec, J. Rigó, B. Nagy et al. // *J Reprod Immunol.* – 2007. – Vol. 74, N 1-2. – P. 163–169.
39. Circulating anti-heat-shock-protein antibodies in normal pregnancy and preeclampsia / A. Molvarec, Z. Derzsy, J. Kocsis et al. // *Cell Stress Chaperones*. – 2009. – Vol. 14, N 5. – P. 491–498.
40. The 57-kD Chlamydia hypersensitivity antigen is a stress response protein / R. Morrison, R. Belland, K. Lyng et al. // *J. Exp. Med.* – 1989. – Vol. 170. – P. 1271–1283.
41. Muralidharan S. Cellular stress response and innate immune signaling: integrating pathways in host defense and inflammation / S. Muralidharan, P. Mandrekar // *J Leukoc Biol.* – 2013. – Vol. 94, N 6. – P. 1167–1184.
42. Expression of heat shock protein 70 kDa in human endometrium of normal and infertile women / M. Nip, D. Miller, P. Taylor et al. // *Hum Reprod.* – 1994. – Vol. 9, N 7. – P. 1253–1256.
43. Humoral immune response to membrane components of Chlamydia trachomatis and expression of human 60 kDa heat shock protein in follicular fluid of in-vitro fertilization patients / A. Neuer, K.-N. Lam, F.-W. Tiller et al. // *Hum Reprod.* – 1997. – Vol. 12. – P. 925–929.
44. Monoclonal antibodies to mammalian heat shock proteins impairs mouse embryo development in vitro / A. Neuer, C. Mele, H. Liu et al. // *Hum Reprod.* – 1998. – Vol. 13. – P. 987–990.
45. Heat shock protein expression during gametogenesis and embryogenesis [Review] / A. Neuer, S. Spandorfer, P. Giraldo et al. // *Infect Dis Obstet Gynecol.* – 1999. – Vol. 7. – P. 10–16.
46. The role of heat shock proteins in reproduction / A. Neuer, S. Spandorfer, P. Giraldo et al. // *Hum Reprod Update.* – 2000. – Vol. 6. – P. 149–159.
47. Seropositivity for the human heat shock protein (Hsp)60 accompanying seropositivity for Chlamydia trachomatis is less prevalent among tubal ectopic pregnancy cases than individuals with normal reproductive history / E. Ozyurek, T. Karacan, C. Ozdalgicoglu et al. // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2018. – Vol. 223. – P. 119–122.
48. Padmini E. HSP70-mediated control of endothelial cell apoptosis during preeclampsia / E. Padmini, S. Lavanya // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2011. – Vol. 156, N 2. – P. 158–164.
49. Patton D. Demonstration of delayed hypersensitivity in Chlamydia trachomatis salpingitis in monkeys: a pathogenic mechanism of tubal damage // D. Patton, Y. Sweeney, C. Kuo // *J. Infect. Dis.* – 1969. – P. 680–683.
50. The study of the relationship between aberrant expression of heat shock protein 70 (HSP70) and spontaneous abortion / Y.-B. Peng, H. Liu, S.-H. Huang et al. // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* – 2017. – Vol. 21. – P. 652–656.
51. Pockley A. Heat shock proteins as regulators of the immune response / A. Pockley // *Lancet*. – 2003. – Vol. 362. – P. 469–476.
52. Pires E. A block in the road to fertility: autoantibodies to heat shock protein 90-b in human ovarian autoimmunity / E. Pires and V. Khole // *Fertility and Sterility*. – 2009. – Vol. 92, N 4. – P. 1395–1409.
53. Pires E. Multiplicity of molecular and cellular targets in human ovarian autoimmunity: an update / E. Pires // *J Assist Reprod Genet.* – 2010. – Vol. 27, N 9. – P. 519–524.
54. Anti-HSP90 autoantibodies in sera of infertile women identify a dominant, conserved epitope EP6 (380-389) of HSP90 beta protein / E. Pires, A. Choudhury, S. Idicula-Thomas et al. // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2011. – Vol. 9. – P. 1–16.
55. Can anti-ovarian antibody testing be useful in an IVF-ET clinic? / E. Pires, F. Parikh, P. Mande et al. // *J Assist Reprod Genet.* – 2011. – Vol. 28, N 1. – P. 55–64.
56. Cross-reactive B-cell epitopes of microbial and human heat shock protein 60/65 in atherosclerosis / H. Perschinka, M. Mayr, G. Millonig et al. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2003. – Vol. 23, N 6. – P. 1060–1065.
57. Phosphorylation of heat shock protein 27 antagonizes TNF- α induced HeLa cell apoptosis via regulating TAK1 ubiquitination and activation of p38 and ERK signaling / Z. Qi, L. Shen, H. Zhou et al. // *Cell Signal.* – 2014. – Vol. 26. – P. 1616–1625.
58. Markers of implantation in ectopic and high-risk early eutopic pregnancies / A. Rajtar-Ciosek, J. Wyroba, O. Kacalska-Jansen et al. // *Folia Med Cracov.* – 2016. – Vol. 56, N 3. – P. 41–50.
59. Heat shock protein 27 and its regulatory molecules express differentially in SLE patients with distinct autoantibody profiles / R. Rai, S. Chauhan, V. Singh et al. // *Immunol Lett.* – 2015. – Vol. 164. – P. 25–32.
60. Association of tubal factor infertility with elevated antibodies to Chlamydia trachomatis caseinolytic protease P / A. Rodgers, J. Wang, Y. Zhang et al. // *Am J Obstet Gynecol.* – 2010. – Vol. 203, N 5. – P. 1–13.
61. Antibody penetration into living cells: pathogenic, preventive and immunotherapeutic implications / A. Ruiz-Argüelles, L. Rivadeneyra-Espinoza, D. Alarcón-Segovia // *Curr Pharm Des.* – 2003. – Vol. 9, N 23. – P. 1881–1887.
62. Autoantibodies against Heat Shock Protein 60 Mediate Endothelial Cytotoxicity / G. Schett, Q. Xu, A. Amberger et al. // *The American Society for Clinical Investigation.* – 1995. – Vol. 96. – P. 2569–2577.
63. In infertile women, cells from Chlamydia trachomatis infected site release higher levels of interferon-gamma, interleukin-10 and tumor necrosis factor-alpha upon heat shock protein stimulation than fertile women

- / P. Srivastava, R. Jha, S. Bas et al. // *Reprod. Biol. and Endocrin.* – 2008. – Vol. 6. – P. 20–29.
64. Stephens A. Antichlamydial antibodies, human fertility, and pregnancy wastage. / A. Stephens, M. Aubuchon, D. Schust // *Infect Dis Obstet Gynecol.* – 2011. – Vol. 2011: 1–9.
65. Serological responses of patients with ectopic pregnancy to epitopes of the *Chlamydia trachomatis* 60 kDa heat shock protein / I. Sziller, S. Witkin, M. Ziegert et al. // *Hum. Reprod.* – 1998. – Vol. 13. – P. 1088–1093.
66. Circulating antibodies to a conserved epitope of the *Chlamydia trachomatis* 60-kDa heat shock protein is associated with decreased spontaneous fertility rate in ectopic pregnant women treated by salpingectomy / I. Sziller, P. Fedorcsák, Z. Csapó et al. // *Am J Reprod Immunol.* – 2008. – Vol. 59, N 2. – P. 99–104.
67. Association of increased heat shock protein 70 levels in the lymphocyte with high risk of adverse pregnancy outcomes in early pregnancy: a nested case-control study / H. Tan, Y. Xu, J. Xu et al. // *Cell Stress Chaperones.* – 2007. – Vol. 12, N 3. – P. 230–236.
68. *Chlamydia trachomatis* and chlamydial heat shock protein 60-specific antibody and cell-mediated responses predict tubal factor infertility / A. Tiitinen, H.-M. Surcel, M. Halttunen et al. // *Hum Reprod.* – 2006. – Vol. 21, N 6. – P. 1533–1538.
69. Tezel G. The mechanism of hsp antibody-mediated apoptosis in retinal neuronal cells / G. Tezel, M. Wax // *J Neurosci.* – 2000. – Vol. 20. – P. 3552–3562.
70. Changed expression of heat shock proteins in various pathological findings in placentas with intrauterine fetal growth restriction / K. Wataba, T. Saito, M. Takeuchi et al. // *Med Electron Microsc.* – 2004. – Vol. 37. – P. 170–176.
71. Witkin S. Unsuspected *Chlamydia trachomatis* infection in the female genital tract and in vitro fertilization outcome / S. Witkin, K. Sultan, G. Neal // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1994. – Vol. 171. – P. 1208–1214.
72. Witkin S. Immune pathogenesis of asymptomatic *Chlamydia trachomatis* infections in the female genital tract / S. Witkin // *Infect Dis Obstet Gynecol.* – 1995. – Vol. 3. – P. 169–174.
73. Witkin S. Immune recognition of the 60 kD heat shock protein: Implications for subsequent fertility / S. Witkin, J. Jeremias, A. Neuer // *Inf. Dis. Obstet. Gynecol.* – 1996. – Vol. 4. – P. 152–158.
74. *Chlamydia trachomatis* infection, immunity, and pregnancy outcome / S. Witkin, A. Neuer, S. Spandorfer et al. // *Infect. Dis. Obstet Gynecol.* – 1997. – Vol. 5. – P. 128–132.
75. Circulating antibodies to a conserved epitope of the *Chlamydia trachomatis* 60 kDa heat shock protein (hsp60) in infertile couples and its relationship to antibodies to *C. trachomatis* surface antigens and the *Escherichia coli* and human HSP60 / S. Witkin, M. Askienazy-Elbhar, J. Henry-Suchet et al. // *Hum Reprod.* – 1998. – Vol. 13, N 5. – P. 1175–1179.
76. Witkin S. Immunity to heat shock proteins and pregnancy outcome / S. Witkin // *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology.* – 1999. – Vol. 7, N 1-2. – P. 35–38.
77. Witkin S. Immunity to Heat Shock Proteins and Pregnancy Outcome / S. Witkin // *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* – 2002. – Vol. 7. – P. 35–38.
78. Yi Y. Continuous B-cell epitopes in *Chlamydia trachomatis* heat shock protein 60 / Y. Yi, G. Zhong, R. Brunham // *Infect Immun.* – 1993. – Vol. 61. – P. 1117–1120.
79. Yokota S. Anti-HSP auto-antibodies enhance HSP-induced pro-inflammatory cytokine production in human monocytic cells via Toll-like receptors / S. Yokota, S. Minota, F. Nobuhiro // *Intern. Immun.* – 2006. – Vol. 18. – P. 573–580.
80. Heat shock proteins and heat shock protein-antibody complexes in placental tissues / M. Ziegert, S. Witkin, I. Sziller et al. // *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* – 1999. – Vol. 7. – P. 180–185.

Статья поступила в редакцию 29.07.2018

ДО УВАГИ АВТОРІВ! АЛГОРИТМ РЕЄСТРАЦІЇ ORCID

Open Researcher and Contributor ID (ORCID) – міжнародний ідентифікатор науковця

Створення єдиного реєстру науковців та дослідників на міжнародному рівні є найбільш прогресивною та своєчасною ініціативою світового наукового товариства. Ця ініціатива була реалізована через створення в 2012 році проекту Open Researcher and Contributor ID (ORCID). ORCID – це реєстр унікальних ідентифікаторів вчених та дослідників, авторів наукових праць та наукових організацій, який забезпечує ефективний зв'язок між науковцями та результатами їхньої дослідницької діяльності, вирішуючи при цьому проблему отримання повної і достовірної інформації про особу вченого в науковій комунікації.

Для того щоб зареєструватися в ORCID через посилання <https://orcid.org/> необхідно зайти у розділ «For researchers» і там натиснути на посилання «Register for an ORCID id».

У реєстраційній формі послідовно заповнюються обов'язкові поля: «First name», «Last name», «E-mail», «Re-enter E-mail», «Password2 (Пароль)», «Confirm password».

У перше поле вводиться ім'я, яке надане при народженні, по-батькові не вводиться. Персональна електронна адреса вводиться двічі для підтвердження. Вона буде використовуватися як Login або ім'я користувача. Якщо раніше вже була використана електронна адреса, яка пропонується для реєстрації, з'явиться попередження червоного кольору. **Не можна створювати нового профілю з тією самою електронною адресою.** Пароль повинен мати не менше 8 знаків, при цьому містити як цифри, так і літери або символи. Пароль, який визначається словами «Good» або «Strong», приймається системою.

Нижче визначається «Default privacy for new works», тобто налаштування конфіденційності або доступності до

персональних даних, серед яких «Public», «Limited», «Private».

Далі визначається частота повідомлень, які надсилає ORCID на персональну електронну адресу, а саме – новини або події, які можуть представляти інтерес, зміни в обліковому записі, тощо: «Daily summery», «Weekly summery», «Quarterly summery», «Never». Необхідно поставити позначку в полі «I'm not a robot» (Я не робот).

Останньою дією процесу реєстрації є узгодження з політикою конфіденційності та умовами користування. Для реєстрації необхідно прийняти умови використання, натиснувши на позначку «I consent to the privacy policy and conditions of use, including public access and use of all my data that are marked Public».

Заповнивши поля реєстраційної форми, необхідно натиснути кнопку «Register», після цього відкривається сторінка профілю учасника в ORCID з особистим ідентифікатором ORCID ID. Номер ідентифікатора ORCID знаходиться у лівій панелі під ім'ям учасника ORCID.

Структура ідентифікатора ORCID являє собою номер з 16 цифр. Ідентифікатор ORCID – це URL, тому запис виглядає як <http://orcid.org/xxxx-xxxx-xxxxxxxxx>.

Наприклад: <http://orcid.org/0000-0001-7855-1679>.

Інформація про ідентифікатор ORCID необхідно додавати при подачі публікацій, документів на гранти і в інших науково-дослідницьких процесах, вносити його в різні пошукові системи, наукометричні бази даних та соціальні мережі.

Подальша робота в ORCID полягає у заповненні персонального профілю згідно із інформацією, яку необхідно надавати.