



Průvodce reprodukční imunologií

Součást série brožur Průvodce léčbou

Důležité upozornění:

Informace uvedené v této brožuře nenahrazují žádné informace, ani rady poskytované lékařem.
Váš lékař vám pomůže vybrat pro vás ten, nejlepší postup.

© 2024 Europe IVF International s.r.o.

Úvod

Jednou z příčin poruch plodnosti může být u obou pohlaví porucha imunitního systému. V současnosti je popisováno několik desítek imunopatologií, které mohou vyústit ve sterilitu, případně neplodnost.

Reprodukční imunologie zasahuje do charakteru, činnosti a vývoje zárodečných buněk jako jsou spermie a vajíčko. Zabývá se vzájemnými vztahy imunitního systému, především ve vývoji spermie a oocyty, embrya a jeho vazby na matku, a dále časnou i pozdní graviditou v podobě různých – též imunologicky podmíněných – poruch těhotenství, kam patří např. potrácení, preeklampsie či jiné komplikace u matky

spojené se základní onemocněním, eventuálně vázané na samotnou in vitro fertilizaci.

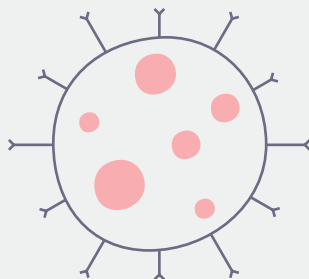
Dnes se odhaduje, že asi 10 % párů s poruchou plodnosti má dysbalanci právě v imunologických reakcích.

V IVF se zaměřujeme na léčbu nerovnováhy imunitního systému obou partnerů, která může ovlivňovat vaši reprodukční schopnost i proces léčby. Imunologické vyšetření odhalí, zda je příčinou vaší neplodnosti problém s imunitním systémem. Pokud ano, náš imunolog vám pomůže tuto nerovnováhu léčit, aby vaše šance na otěhotnění byly co nejvyšší.

Kdy je imunologické vyšetření vhodné?

Imunologické vyšetření je indikováno:

- po vyloučení či vyřešení jiných etiologických příčin sterility
- po dvou neúspěšných cyklech mimotělního oplodnění nebo po dvou neúspěšných embryotransferech
- je-li u jednoho z partnerů známá diagnóza s poruchou imunity (např. systémové autoimunity, malignity, onemocnění štítné žlázy, apod.)



Na základě anamnézy a aktuálního klinického stavu, vám imunolog naplánuje vyšetření, která jsou k odhalení nebo vyloučení imunologického faktoru neplodnosti potřebná. Při analýze výsledků doporučených vyšetření sestaví léčebný plán a naplánuje kontroly k zjištění efektu léčby.



Laboratorní vyšetření ženy

Sterilita

Ženám se sterilitou se nedaří spontánně otěhotnět. Hledáme proto příčinu problémů hned na začátku procesu, tj. ve fázi kontaktu spermií a vajíčka, a doplňujeme je vyšetřeními základních imunologických onemocnění a testy buněčné imunity.

Sledujeme:

- ✓ Základní parametry, tzn. sérové hladiny imunoglobulinů, základní počty a druhy bílých krvinek, případně krevní obraz, CRP – vyšetření zaměřené na základní markery zánětu.
- ✓ Protilátky reprodukčního souboru, tzn. protilátky proti spermiím, ováriím a zona pellucida (obal vajíčka) – vyšetření sleduje reakci proti reprodukčním antigenům.
- ✓ AMH (anti-müllerianský hormon) – množství tohoto hormonu koreluje s individuální ovariální rezervou vajíček.

- ✓ Autoprotilátky – protilátky proti strukturám vlastního těla. Protilátky proti jaderným antigenům (ANA) jsou obecným markerem autoimunitních chorob, anti-TPO se vyskytují při postižení štítné žlázy, anti-tTG se vyskytují u celiakie, antifosfolipidové protilátky jsou namířeny proti faktorům srážení krve.
- ✓ Aktivita NK buněk – kultivujeme NK lymfocyty pacientky spolu se stimulačními agens-spermii, linií trofoblastu a nespecifickým silným aktivátorem a sledujeme expresi znaku CD69 na povrchu NK a NKT buněk. Vysoká exprese aktivačních znaků po stimulaci spermii nebo trofoblastem svědčí o zvýšené cytotoxické reaktivitě namířené proti antigenům partnera/plodu a může ovlivnit úspěšnost početí nebo zvýšit riziko potratů. Také počty NK a NKT buněk v krvi nesmí být příliš vysoké.
- ✓ Produkce cytokinů – kultivujeme T-lymfocyty pacientky spolu se stimulačními agens-spermii, linií trofoblastu a nespecifickým silným aktivátorem a sledujeme množství cytokinů uvnitř buněk. Produkce embryoprotektivních IL-4 a IL-10 je žádoucí, vysoké množství embryotoxických IFN-gama a TNF-alfa je znakem prozánětlivého ladění organismu a rizikem vzhledem k těhotenství.

Infertilita

Infertilita je stav opakovaného potrácení. Ženy s infertilitou otěhotní, ale nejsou schopny donosit a porodit životaschopný plod, přičemž k imunologickému problému může dojít v jakékoli fázi těhotenství.

- ✓ Základní parametry, tzn. sérové hladiny imunoglobulinů, základní počty a druhy bílých krvinek, případně krevní obraz, CRP – vyšetření zaměřené na základní markery zánětu.
- ✓ Autoprotilátky – protilátky proti strukturám vlastního organismu. Protilátky proti jaderným antigenům (ANA) jsou obecným znakem autoimunitních chorob, přičemž některé z nich (protilátky ENA) jsou rizikové i z hlediska vývoje plodu. Anti-TPO se vyskytují při postižení štítné žlázy, anti-tTG se vyskytují u celiakie, antifosfolipidové protilátky jsou namířeny proti faktorům srážení krve.
- ✓ Složky komplementu. Komplement je složitá soustava krevních bílkovin, s jejichž pomocí imunitní systém identifikuje škodlivinu a do značné míry rozhoduje, jak se tato škodlivina bude likvidovat. Pokud některé složky komplementu nefungují dostatečně nebo správně, může mít imunitní systém zhoršenou šanci na navození řádné tolerance plodu. Důsledkem mohou být časné i pozdní těhotenské ztráty, preeklampsie a některé další těhotenské komplikace. V tomto ohledu je vyšetřovanou složkou komplementu zejména manóza vázající lektin (MBL).

- ✓ AMH (anti-mülleriánský hormon) – množství tohoto hormonu koreluje s individuální ovariální rezervou vajíček.
- ✓ Aktivita NK buněk – kultivujeme NK lymfocyty pacientky spolu se stimulačními agens-spermii, linií trofoblastu a nespecifickým silným aktivátorem a sledujeme expresi znaku CD69 na povrchu NK a NKT buněk. Vysoká exprese aktivizačních znaků po stimulaci spermii nebo trofoblastem svědčí o zvýšené cytotoxické reaktivitě namířené proti antigenům partnera/plodu a může ovlivnit úspěšnost početí nebo zvýšit riziko potratů.
- ✓ Produkce cytokinů – kultivujeme T-lymfocyty pacientky spolu se stimulačními agens-spermii, linií trofoblastu a nespecifickým silným aktivátorem a sledujeme množství cytokinů uvnitř buněk. Produkce embryoprotektivních IL-4 a IL-10 je žádoucí, vysoké množství embryotoxických IFN-gama a TNF-alfa je znakem prozánětlivého ladění organismu.

Někdy může nastat situace, že reprodukčně-imunologická vyšetření krve jsou normální, avšak nadále máme podezření na imunologickou příčinu poruchy plodnosti.

Týká se to jak sterility, tak infertility.

V takovém případě lze provést imunologické vyšetření bílých krvinek přítomných přímo v děložní sliznici, takzvanou uNK imunofenotypizaci. Nebolestivým způsobem se v určité fázi menstruačního cyklu odebere malý kousek sliznice z děložní dutiny (cca 1 mm), ve kterém se zkoumá počet a charakter jednotlivých bílých krvinek, především děložních NK lymfocytů.

Těchto velmi užitečných krvinek může být v děloze málo (tzv. nedostatečná in situ aktivace), může jich být dostatek, avšak s nesprávnou – „zabíječskou“ aktivitou (tzv. cytotoxický imunofenotyp), nebo kromě převahy „zabíječských“ NK lymfocytů je současně problémem i chybění ochranných/embryoprotektivních NK lymfocytů.

V závislosti na nálezu je pak lékař schopen individualizovat léčebnou imunomodulaci.

V rámci komplexního pohledu na danou problematiku je zásadní, aby vyšetření podstoupil i muž. U něj se zaměřujeme na analýzu spermií.



MUDr. Karin Černá
Lékařka klinické imunologie a alergologie

Laboratorní vyšetření muže

Metodou první volby při imunologickém vyšetření muže je spermiogram dle standardů WHO z roku 2010. Pro správné stanovení spermiogramu je důležité dodržet základní pravidla odběru. Před odběrem se doporučuje minimálně tři až čtyřdenní pohlavní abstinence. Provádí se do sterilní odběrové nádoby. Ejakulát nesmí být z prezervativu, který obvykle obsahuje spermicidní látky. Vzorek musí být dopraven do laboratoře do 60 minut při teplotě blízké teplotě těla.

Pro stanovení výše uvedených parametrů ejakulátu se využívá kombinace klasické světelné mikroskopie (pohyblivost, morfologie) a metoda průtokové cytometrie, jíž se vyšetří počet spermií a leukocytů a také vitalita spermií. Touto metodou se navíc ověří integrita akrozomu spermií a přítomnost intraakrozomálního proteinu v jejich hlavičce. Akrozom obsahuje enzymy hyaluronidázu a acrosin, které natráví vnější membránu vajíčka zvanou zona pellucida, čímž umožní průnik haploidního jádra spermie do vajíčka.

Mezi základní hodnocené parametry patří především

- ✓ objem a pH ejakulátu
- ✓ koncentrace spermií, jejich pohyb, morfologie a vitalita
- ✓ počet leukocytů

Vitalita spermií

Vitalita spermií se měří pomocí propidium jodidu, který proniká narušenou membránou mrtvých buněk a váže se na DNA. Vitalitu spočítáme jako procento živých spermií z jejich celkového počtu



Počet spermií a počet leukocytů

Měření počtu spermií a leukocytů je založeno na přidání vnitřního standardu (fluorescenčních kuliček o známém počtu) ke vzorku ejakulátu.

O oligozoospermii mluvíme u spermiogramu s koncentrací spermií menší než 15 milionů/ml.

Měření integrity akrozomu

Měření integrity akrozomu se zakládá na detekci intraakrozomálního proteinu (IAP), který se vyskytuje v akrozomu. Pokud akrozom spermie není narušen, není tento protein možno detekovat. U spermií s narušenou membránou je tento protein dostupný pro protilátku proti IAP a je detekován. Normální hodnoty: < 30 % patologických spermií.

Přítomnost intraakrozomálního proteinu

Po narušení či permeabilizaci membrány spermií se intraakrozomální protein (IAP) stává dostupným pro protilátku proti IAP a je detekován. V případě, že spermie intraakrozomální protein neobsahují, není po permeabilizaci spermií protilátkou proti IAP detekován. Normální hodnoty: > 65 % spermií. Pokud u muže dojde k porušení hematotestikulární bariéry (poraněním,

Detekce leukocytů ve vzorku se provádí pomocí protilátky anti-CD45 PE-Cy™5. Při zvýšeném počtu leukocytů ($> 1 \times 10^6/\text{ml}$) je vhodné indikovat mikrobiologické vyšetření ejakulátu k vyloučení infekční příčiny.



zánětem, operačním výkonem, následkem nádoru...), dostanou se imunokompetentní buňky k povrchovým znakům spermie a mohou se vytvořit antispermatozoální protilátky. V ejakulátu stanovujeme protilátky vázající se na spermie ve třídě IgA a IgG pomocí přímého MAR testu. Hodnotíme pod mikroskopem. Normální nález: < 50 % motilních spermií s navázanou protilátkou.

Vyšetření páru s poruchami plodnosti

Vyšetření imunitního systému obou partnerů by mělo být součástí péče o páry s poruchami plodnosti. Předpokládá se, že přibližně 10 % všech sterilit má imunologickou příčinu. K poruchám může docházet jak v tzv. humorální (protilátkové), tak v buněčné imunitě. Tzv. imunopatologická onemocnění mohou probíhat skrytě, bez zjevných obtíží. Ale nastartují zánětlivou reakci v organismu, a tak naruší rovnováhu imunitních mechanismů. Těhotenství potřebuje

navození tzv. imunologické tolerance plodu ze strany matčina imunitního systému, zánět mu škodí.

Cílem imunologického vyšetření je diagnostikovat příčinu nerovnováhy, tu následně vhodně léčit a obnovit. Bez dostatečně dlouhé a cílené imunologické léčby dochází k opakovaným selháním IVF léčby, partneři se dostávají do stresu a jejich zdravotní stav se nadále zhoršuje.

Cílová skupina pro léčbu

- ✓ Páry (zejména od 35 let výše), které po roce pravidelného nechráněného pohlavního styku nepočaly.
- ✓ Páry, které nepočaly po jednom až dvou a více IVF programech (důležitý je věkový faktor).
- ✓ Pacientky po dvou a více potratech (je třeba respektovat věkový faktor, hlavně u ženy).
- ✓ Pacientky po jakékoli ztrátě pokročilého těhotenství, s anamnézou preeklampsie, HELLP syndromu nebo jiných těhotenských komplikací s možným podílem poruchy imunity.
- ✓ Páry s autoimunitním onemocněním, onkologickou zátěží či jinou závažnou základní diagnózou.
- ✓ Páry před kryokonzervací spermií nebo vajíček z důvodu závažné onkologické diagnózy a před léčebnými zákroky (operace, chemoterapie).

Imunologická terapie - imunointervence

Pojmem imunointervence se označuje umělé a cílené ovlivňování imunitních reakcí organismu. Imunointervenční terapie může být imunosupresivní (potlačující imunitní odpověď), imunosubstituční (doplňující chybějící složky imunity), imunonormalizační nebo imunomodulační (ovlivňující jen některé pochody v imunitních reakcích).

Imunointervenční terapie imunologických faktorů neplodnosti se v posledních letech prudce rozvíjí. Do našeho léčebného armamentaria aktuálně patří především kortikosteroidy, antimalarika, thiopuriny,

inhibitory fosfodiesterázy, antiagregancia, intralipidy, polyspecifické imunoglobuliny a další.

Při volbě a použití léčebných postupů se řídíme doporučeními Evropské společnosti reprodukční imunologie (ESRI), Mezinárodní společnosti pro imunologii reprodukce (ISIR). V České republice spolupracujeme mj. na platformě Pracovní skupiny pro reprodukční imunologii České společnosti alergologie a klinické imunologie České lékařské společnosti J. E. Purkyně.



Na webových stránkách www.europeivf.com najdete řadu informací přizpůsobených různým fázím cesty páru.

Jste připraveni udělat první krok?

Pokud jste připraveni, rezervujte si první schůzku na naší klinice.

Naše koordinátorky vám mohou nabídnout osobní, telefonické či video schůzky. Jsme pro vás k dispozici v běžné pracovní době. V případě vašeho požadavku poté i v čase, který vyhovuje vašim preferencím.

Objednejte si konzultaci s jedním z našich specialistů na plodnost



Europe IVF International s.r.o.
www.europeivf.com
info@europeivf.com
+420 257 225 751

**Pokud si nejste ničím jisti,
zeptejte se nás.**



You dream. We care.

**Každý den jedna žena
zjistí, že je po léčbě
u nás těhotná.**

**Díky vynikající práci
našeho týmu učiníme
každý den jednu ženu
šťastnou.**

Europe IVF International s.r.o.
www.europeivf.com
info@europeivf.com
+420 257 225 751