



Vodič za reproduktivnu imunologiju

Deo serije brošura Vodič za lečenje

Važno obaveštenje:

Informacije u ovoj brošuri ne mogu zameniti savete ili informacije koje vam pruža vaš doktor, koji će vam pomoći da odaberete najbolji postupak za vas.

© 2024 Europe IVF International s.r.o.

Uvod

Neploidnost kod oba pola može biti uzrokovana poremećajima imunog sistema. Postoji nekoliko desetina imunopatologija koje mogu dovesti do steriliteta ili neplodnosti.

Reproduktivna imunologija se bavi prirodom, funkcijom i razvojem zametnih ćelija kao što su spermatozoidi i jajne ćelije. Ona se bavi međusobnim odnosima imunološkog sistema, posebno u razvoju spermatozoida i jajnih ćelija, embriona i njegove veze sa majkom, kao i ranom i kasnom trudnoćom u vidu različitih – takođe imunološki uslovljenih – poremećaja trudnoće, kao što su pobačaj, preeklampsija ili druge komplikacije kod majke povezane sa osnovnom

bolešću, eventualno povezane sa samom vantelesnom oplodnjom.

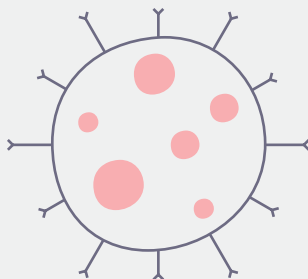
Procenjuje se da oko 10% parova sa poremećajima plodnosti ima neravnotežu u imunološkim odgovorima.

U IVF-u se fokusiramo na lečenje neravnoteža imunološkog sistema kod oba partnera, što može uticati na vašu reproduktivnu sposobnost, kao i na sam proces lečenja. Imunološki test će otkriti da li problem sa vašim imunološkim sistemom uzrokuje vašu neplodnost. Ako je tako, naš imunolog će vam pomoći da tretirate ovu neravnotežu kako biste maksimalno povećali svoje šanse za začeće.

Kome se preporučuju imunološki testovi?

Imunološki test se preporučuje:

- nakon što se isključe ili otklone drugi etiološki uzroci steriliteta
- nakon dva neuspešna IVF ciklusa ili dva neuspešna transfera embriona
- ako je jednom od partnera dijagnostikovana imunološka poremećaj (npr. sistemska autoimuna bolest, malignitet, bolest štitne žlezde itd.)



Imunolog koristi pacijentovu medicinsku istoriju i trenutno zdravstveno stanje kako bi planirao potrebne testove za otkrivanje ili isključivanje imunološkog uzroka neplodnosti. Nakon analize rezultata preporučenih testova, on kreira plan lečenja i zakazuje kontrole kako bi utvrdio efekat lečenja.



Laboratorijski testovi za žene

Sterilitet

Žene sa sterilitetom nisu u mogućnosti da spontano zatrudne. Zato tražimo uzrok problema odmah na početku procesa, tj. u fazi kontakta spermatozoida i jajne ćelije, i dopunjujemo ga ispitivanjima osnovnih imunoloških bolesti i testovima ćelijskog imuniteta.

Pratimo:

- ✓ Osnovne parametre, tj. nivoe serumskih imunoglobulina, broj i tip belih krvnih zrnaca, kompletnu krvnu sliku, CRP – osnovne inflamatorne markere.
- ✓ Reproductivna antitela, tj. antitela protiv spermatozoida, jajnika i zone pellucida (omotač jajne ćelije) – ispitivanje prati reakciju protiv reproduktivnih antigena.
- ✓ AMH (Anti-Mullerian hormon) – količina ovog hormona je u korelaciji sa rezervom jajnika.

- ✓ Autoantitela – su antitela koja izazivaju napad organizma na sopstvene ćelije. Antinuklearna antitela (ANA) su opšti marker autoimunih bolesti, TPO antitela su tiroidna antitela, tTG antitela se nalaze u celijakiji, a antifosfolipidna antitela su usmerena protiv faktora zgrušavanja krvi
- ✓ Aktivnost NK ćelija – kultiviramo pacijentove NK limfocite zajedno sa stimulacijom sperme, trofoblastnom ćelijskom linijom i nespecifičnim aktivatorom i pratimo ekspresiju markera aktivacije CD69 na površini NK i NKT ćelija. Visoka ekspresija markera aktivacije nakon stimulacije sperme ili trofoblasta ukazuje na povećanu citotoksičnu reaktivnost usmerenu na partnerske/fetalne antigene i može uticati na uspeh začeća ili povećati rizik od pobačaja. Broj NK i NKT ćelija u krvi takođe ne sme biti previsok.
- ✓ Proizvodnja citokina – uzgajamo pacijentove T-limfocite zajedno sa stimulacijom sperme, trofoblastnom ćelijskom linijom i nespecifičnim aktivatorom i pratimo količinu citokina unutar ćelija. Poželjna je proizvodnja embrioprotektivnih IL-4 i IL-10, dok je velika količina embriotoksičnog IFN-gama i TNF-alfa znak proinflamatornih citokina koji predstavljaju rizik u trudnoći.

Neplodnost

Neplodnost je stanje koje karakterišu ponovljeni pobačaji. Žene mogu da ostanu trudne, ali nisu u mogućnosti da iznesu trudnoću do kraja i rode živo dete, a problemi sa imunološkim sistemom mogu se javiti u bilo kom stadijumu trudnoće.

- ✓ Osnovni parametri, odnosno nivoi imunoglobulina u serumu, broj i vrsta belih krvnih zrnaca, kompletna krvna slika, CRP – osnovni inflamatorni markeri.
- ✓ Autoantitela – su antitela koja izazivaju napad organizma na sopstvene ćelije.. Antinuklearna antitela (ANA) su opšti marker autoimunih bolesti, dok neka od njih (ENA antitela) predstavljaju i rizik za razvoj fetusa. Anti-TPO antitela javljaju se kod oboljenja štitne žlezde, tTG antitela se javljaju kod celijakije, a antifosfolipidna antitela su usmerena protiv faktora zgrušavanja krvi.
- ✓ Komplementarni komponenti – komplement je kompleksan sistem proteina plazme koji imunološki sistem koristi za identifikaciju štetnih supstanci i odlučuje kako da se reši tih štetnih supstanci. Ako neki komplementarni komponenti ne funkcionišu dovoljno ili ispravno, imunološki sistem može imati smanjenu šansu za pravilnu imunološku toleranciju majke. Ovo može rezultirati ranim i kasnim pobačajima, preeklampsijom i drugim komplikacijama tokom trudnoće. Komplement koji pratimo je manozno-vezujući laktin (MBL).

- ✓ AMH (Anti-Mullerian hormon) – količina ovog hormona je u korelaciji sa rezervom jajnika.
- ✓ Aktivnost NK ćelija – kultiviramo pacijentove NK limfocite zajedno sa stimulacijom sperme, trofoblastnom ćelijskom linijom i nespecifičnim aktivatorom i pratimo ekspresiju markera aktivacije CD69 na površini NK i NKT ćelija. Visoka ekspresija markera aktivacije nakon stimulacije sperme ili trofoblasta ukazuje na povećanu citotoksičnu reaktivnost usmerenu na partnerske/fetalne antigene i može uticati na uspeh začeća ili povećati rizik od pobačaja.
- ✓ Proizvodnja citokina – uzgajamo pacijentove T-limfocite zajedno sa stimulacijom sperme, trofoblastnom ćelijskom linijom i nespecifičnim aktivatorom i pratimo količinu citokina unutar ćelija. Poželjna je proizvodnja embrioprotektivnih IL-4 i IL-10, dok je velika količina embriotoksičnog IFN-gama i TNF-alfa znak proinflamatornih citokina.

Ponekad testovi reproduktivne imunologije pokažu normalne rezultate, ali i dalje sumnjamo na imunološki uzrok steriliteta ili neplodnosti. U takvim slučajevima možemo izvršiti testove na belim krvnim zrnima prisutnim direktno u endometrijumu - ovaj proces se naziva imunofenotipizacija. U određenoj fazi menstrualnog ciklusa sprovedi se bezbolan postupak u kojem se uzima mali uzorak sluzokože iz unutrašnjosti materične šupljine (oko 1 mm), a zatim se testiraju bela krvna zrnca, posebno NK ćelije materice.

Moguće je da ovih korisnih krvnih ćelija ima veoma malo u materici (nedovoljna aktivacija na licu mesta), ili da ih ima dovoljno, ali da pokazuju pogrešnu 'ubilačku' aktivnost (citotoksični imunofenotip); pored prevlasti 'ubilačkih' NK limfocita, takođe može se utvrditi nedostatak zaštitnih/ embrioprotektivnih NK limfocita. Na osnovu ovih rezultata, lekar može prilagoditi terapijsku imunomodulaciju.

Za sveobuhvatni pregled problema, ključno je da i muški partner prođe analizu sperme.



Dr. Karin Černa
Klinička imunologija i alergologija

Laboratorijski testovi za muškarce

Prvi izbor za imunološko testiranje kod muškaraca je analiza sperme prema SZO standardima iz 2010. godine. Za tačne rezultate važno je poštovati osnovna pravila za prikupljanje sperme. Preporučuje se seksualna apstinencija minimalno tri do četiri dana pre uzorkovanja. Uzorak se sakuplja u sterilnu posudu. Ejakulat ne sme biti uzet iz kondoma koji obično sadrži spermicidne supstance. Uzorak se mora transportovati do laboratorije u roku od 60 minuta na temperaturi bliskoj telesnoj temperaturi.

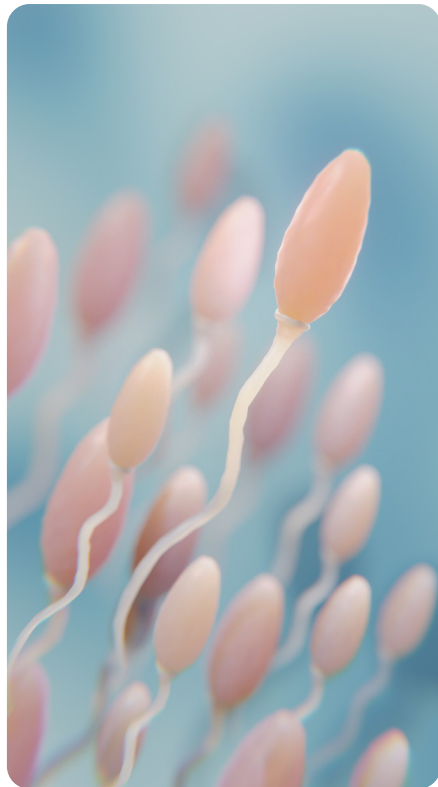
Kombinacija klasične svetlosne mikroskopije (pokretljivost, morfologija) i protočne citometrije koristi se za određivanje gore navedenih parametara sperme, ispituje se broj spermatozoida i leukocita zajedno sa vitalnošću spermatozoida. Ovom metodom takođe se verifikuje integritet akrozoma spermatozoida i prisustvo intra-akrozomalnih proteina. Akrozom sadrži enzime hijaluronidazu i akrozin, koji razgrađuju spoljašnju membranu jajne ćelije nazvanu zona pellucida, omogućavajući haploidnom spermatozoidnom jezgru da uđe u jajnu ćeliju.

Glavni parametri koje procenjujemo uključuju

- ✓ zapreminu ejakulata i pH
- ✓ koncentraciju, pokretljivost, morfologiju i vitalnost spermatozoida
- ✓ broj leukocita

Vitalnost spermatozoida

Vitalnost spermatozoida meri se pomoću propidijum jodida, koji prodire kroz oštećenu membranu mrtvih ćelija i vezuje se za DNK. Vitalnost računamo kao procenat živih spermatozoida u ukupnom broju.



Broj spermatozoida i leukocita

Broj spermatozoida i leukocita određuje se dodavanjem unutrašnjeg standarda (fluorescentne kuglice poznatog broja) uzorku ejakulata.

Oligozoospermija se karakteriše brojem spermatozoida manjim od 15 miliona/ml. Leukociti u uzorku detektuju se pomoću anti-CD45 PE-Cy™5 antitela. Kod povećanog broja leukocita ($> 1 \times 10^6$ /ml), preporučujemo mikrobiološku analizu ejakulata kako bismo isključili infektivni uzrok.

Merenje integriteta akrozoma

Integritet akrozoma meri se testom za intra-akrozomski protein (IAP), koji je prisutan u akrozomu. Ako akrozom spermatozoida nije oštećen, ovaj protein se ne može detektovati. U spermatozoidima sa oštećenom membranom, ovaj protein je dostupan i detektuje se pomoću anti-IAP antitela. Normalne vrednosti su $< 30\%$ abnormalnih spermatozoida.



Prisustvo intra-akrozomskog proteina

Nakon oštećenja ili permeabilizacije membrane spermatozoida, intra-akrozomski protein (IAP) postaje dostupan za antitelo protiv IAP i može se detektovati. U slučaju da spermatozoidi ne sadrže intra-akrozomalni protein, on neće biti detektovan nakon permeabilizacije spermatozoida antitelom protiv IAP. Normalne vrednosti su $> 65\%$ spermatozoida. Ako je barijera krv-testis

narušena (povreda, upala, operacija, tumor...), imunokompetentne ćelije dospevaju na površinu spermatozoida i mogu se formirati antispermatozoidna antitela. Merenje antispermatozoidnih antitela u IgA i IgG klasi vršimo direktnim MAR testom i evaluiramo ih pod mikroskopom. Normalan nalaz je $< 50\%$ pokretnih spermatozoida sa vezanim antitelom.

Testiranje kod parova sa problemima plodnosti

Imunološko testiranje oba partnera trebalo bi da bude sastavni deo nege parova sa problemima plodnosti. Veruje se da oko 10% svih steriliteta ima imunološki uzrok. Poremećaji mogu biti prisutni i u humoralnoj (posredovanom antitelima) i u ćelijskoj imunosti. Imunopatološka oboljenja često su skrivena bez očiglednih simptoma, ali pokreću inflamatornu reakciju u organizmu, narušavajući ravnotežu imunoloških mehanizama. Trudnoća zahteva imunološku

toleranciju fetusa od strane majčinog imunološkog sistema, jer inflamacija može štetiti fetusu.

Cilj imunološkog testiranja je utvrditi uzrok neravnoteže i zatim ga odgovarajuće lečiti i obnoviti. Bez dovoljno dugoročnog, ciljanog imunološkog tretmana, IVF tretmani se ponavljaju neuspešno, partneri su stresom, a njihovo zdravlje se nastavlja pogoršavati.

Ciljna grupa za lečenje

- ✓ Parovi (posebno stariji od 35 godina) koji nisu postigli trudnoću nakon godinu dana redovnog nezaštićenog odnosa.
- ✓ Parovi koji nisu postigli trudnoću posle jednog, dva ili više IVF ciklusa (važan je faktor godina).
- ✓ Pacijentkinje koje su imale dva ili više pobačaja (faktor godina se mora uzeti u obzir, posebno kod žena).
- ✓ Pacijentkinje koje su doživele kasni pobačaj, sa istorijom preeklampsije, HELLP sindroma ili drugih komplikacija trudnoće sa mogućim imunološkim poremećajem.
- ✓ Parovi sa autoimunom bolešću, onkološkom ili drugom ozbiljnom osnovnom dijagnozom.
- ✓ Pre krioprezervacije spermatozoida ili jajnih ćelija zbog ozbiljne onkološke dijagnoze i pre medicinskih procedura (hirurgija, hemoterapija).

Imunoterapija - imunointervencija

Termin imunointervencija se odnosi na veštačku i ciljanu modulaciju imunoloških odgovora tela. Imunointervencionna terapija obuhvata imunosupresiju (suzbija imuni odgovor), imunosupstituciju (dopunjuje nedostajuće komponente imuniteta), imunonormalizaciju i imunomodulaciju (utiče samo na određene procese u imunološkim reakcijama).

Imunointervencija za imunološke uzroke neplodnosti se poslednjih godina ubrzano razvija. Naša medicinska oprema trenutno

uključuje kortikosteroide, antimalarike, tiopurine, inhibitore fosfodiesteraze, antiagregante, intralipide, polispecifične imunoglobuline i još mnogo toga.

Pratimo preporuke Evropskog društva za reproduktivnu imunologiju i Međunarodnog društva za imunologiju reprodukcije u pripremi procedura lečenja. U Češkoj smo takođe članovi Češkog društva za alergiju i kliničku imunologiju u okviru Češkog medicinskog udruženja J.E. Purkine.



Internet stranica www.europeivf.com/sr ima širok spektar informacija prilagođenih različitim fazama putovanja bračnog para kroz celi proces.

Da li ste spremni da napravite prvi korak?

Ako ste spremni, zakažite svoje prve konsultacije na našoj klinici. Naši koordinatori vam mogu ponuditi lične, telefonske ili video sastanke. Dostupni smo da vas primimo tokom uobičajenog radnog vremena. Ako je potrebno, možemo prilagoditi i vreme koje odgovara vašim potrebama.

Zakažite konsultacije sa jednim od naših specijalista za plodnost



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

Ako imate bilo kakvih pitanja, slobodno nas kontaktirajte.



You dream. We care.

**Svakođ dana jedna
žena nakon lečjenja
kod nas sazna da
je trudna.**

**Zahvaljujući
izvanrednom radu
našeg tima, svakođ
dana uspemo da
usrećimo jednu ženu.**

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