

Diagnostické kritériá imunologických porúch plodnosti

Katarína Bergendiová, Elena Tibenská

Výsledky výskumov posledného desaťročia priniesli množstvo dôkazov o význame imunitného systému pre úspech tehotenstva. Poznáme množstvo biomarkerov, ktoré sa dajú použiť pri diagnostike imunologických príčin porúch plodnosti. Táto diagnostika je umožnená špecifickými laboratórnymi testami, ktoré prispievajú k identifikácii, vyhodnoteniu a diagnostike týchto faktorov porúch plodnosti. Liečba nasadená na základe výsledkov vyšetrenia potom môže prispieť k dosiahnutiu úspešného výsledku tehotenstva. Klinická imunológia už disponuje širokým spektrom testov na identifikáciu imunologicky podmienených porúch plodnosti. Po zlyhaní implantácie sú tieto vyšetrenia kľúčové a nevyhnutné pre dosiahnutie gravidity. Významný podiel porúch plodnosti je viazaný práve na obdobie implantácie embrya. K zlyhaniu implantácie môže dôjsť tiež z imunologických príčin. U žien s diagnózou imunologicky podmienenej poruchy plodnosti je po dosiahnutí gravidity často potrebné monitorovať stav imunitného systému so zaistením zodpovedajúcej liečby. Úlohou reprodukčnej imunológie je hľadať imunologickú príčinu zníženej plodnosti.

Kľúčové slová: reprodukčná imunológia, NK bunky, embryotoxické cytokíny

Diagnostic criteria for immunological disorders of infertility

In the last decade, the research results have brought a lot of evidence about the importance of the immune system for the successful pregnancy. We know plenty of biomarkers, which might be used in the diagnosis of immunological reasons of infertility disorders. This diagnosis is enabled with specific laboratory tests, which contribute to identification, assessment and diagnosis of these factors in the fertility disorders. Then the treatment based on the results of examination might contribute to the successful pregnancy. Clinical immunology has a full scale of testing sets for identification of immunologically conditioned fertility disorders at disposal. After the failure of implantation, these examinations are crucial and inevitable for achieving gravidity. A significant share of fertility disorders is bound to the period of embryo implantation. Immunological reasons might also cause the failure of implantation. Women with the diagnosis of immunologically conditioned fertility disorder after being pregnant need to have the immunological system monitored, with the provision of adequate treatment. The role of reproductive immunology is to search for the immunological reasons for lowered fertility.

Keywords: reproductive immunology, NK cells, embryotoxic cytokines

Gynekol. prax 2020; 18 (3): 148-150

Úvod

Tehotenstvo predstavuje najvýznamnejšiu výnimku z imunologických zákonov, pri ktorom matka toleruje a všestranne podporuje semialogénne tkanivá zárodokov. Pozoruhodná tolerancia je zaistovaná zložitými imunoregulačnými mechanizmami na strane matky aj plodu. Ich zlyhanie patrí k najčastejším príčinám neúspechu gravidity. Kľúčovým krokom k úspešnému otehotneniu je implantácia – nidácia oplodneného vajíčka. Tieto mechanizmy sú v poslednom období intenzívne študované. Cieľom je definovať konkrétne implantačné poruchy, zodpovedné nielen za opakované aborty, ale i značnú časť sterilít a neúspešných embryotransferov. Postupne sa rozširujú a zdokonaľujú diagnostické metódy príčin sterility a porúch tehotnosti, čím sa zvyšuje úspešnosť ich prevencie a liečby⁽¹⁾.

Porušenie neuro-endokrinnno-imunitnej rovnováhy, ktorej rozmnožovací proces podlieha, môže byť príčinou porúch reprodukcie. Pri reprodukčných poruchách z imunologickej príčiny sa zameriavame na poruchy bunkovej (napr. zlyhávajúca bunková imunologická regulácia, znížená imunologická tolerancia, nadmerný výskyt embryotoxických cytokínov, deficit alebo nadmerná reakcia supresorových buniek a iné) aj humorálnej imunity (výskyt protilátok proti spermiami, oproti zona pellucida, proti hormónom štítnej žľazy, proti trofoblastu, patologické hladiny antifosfolipidových protilátok, nedostatok blokujujúcich protilátok a pod.)⁽²⁻⁴⁾.

Tento článok má informovať o diagnostických možnostiach párov so zníženou úrovňou plodnosti z pohľadu reprodukčnej imunológie a možnostiach racionálne indikovať vyšetrenia reprodukčnej imunológie^(5,6).

Indikácie na vyšetrenie reprodukčnej imunológie

Indikáciou na vyšetrenie je nevysvetliteľná primárna alebo sekundárna neplodnosť, infertilita, opakované IVF zlyhávajúce po dvoch neúspešných IVF cykloch, preeklampsia, pôrod hypotrofickeho plodu, endometrióza, autoimunitné ochorenia, hematologické a onkologické ochorenia, vekový faktor a pod. O imunologickom vyšetrení uvažujeme tiež u žien a mužov so známou diagnózou imunitného ochorenia ako súčasťou základného vyšetrenia príčin sterility⁽⁷⁾.

Vyšetrenia nie sú výpovedné, ak pacientku vyšetrujeme počas akútneho infekčného ochorenia, po nedávnom potrate alebo po chirurgickom zákroku v brušnej dutine, pri abúze drog, alkoholu, nikotínu či liekov. Po závažných infekciách, abortoch či operácii by mal byť časový odstup najmenej 6 týždňov.

Imunologické vyšetrenia prvej voľby

1. *Protilátky proti spermiami* môžu byť dôvodom nemožnosti prirodzeného počatia a znižujú úspech IUI (intrauterinnej inseminácie). Imunointervenčná liečba môže byť prínosom, vhodný je však komplexný prístup s riešením možných príčin

- indukcie tvorby aloprotilátok (napr. sanácia gynekologických a urologických zápalov)⁽⁶⁾.
- 2. Protilátky proti zona pellucida.** Zona pellucida je kľúčovým miestom vzájomného stretnutia spermie a vajíčka pri fertilizácii a antizonálne protilátky bránia vstupu spermie do vajíčka pri prirodzenej alebo umelej fertilizácii a môžu ovplyvňovať i včasný vývoj zárodka. Pozitívne sú častejšie u žien po opakovaných ovariálnych hyperstimuláciách a punkciách ovariálnych folikulov a u pacientok s endometriózou ovárií. Pozitivita je indikáciou na IVF ICSI a na asistovaný hatching. Pred liečbou technikami asistovanej reprodukcie môže byť indikovaná imunointervenčná liečba s cieľom znížiť sérové hladiny týchto autoprotilátok⁽⁶⁾.
 - 3. Protilátky proti ováriám** sa vyskytujú častejšie u žien s polyglandulárnou autoimunitou, ale predovšetkým u žien s predčasným ovariálnym zlyhaním. U väčšiny žien s pozitívou protilátok proti ováriám treba počítat s neuspokojivou odpoveďou na hormonálnu ovariálnu hyperstimuláciu v IVF cykloch. Ide o epifenomén iného poškodenia ovárií a ich pozitivita nie je dôvodom na zvažovanie imunointervenčnej liečby. Pri pozitívite je vhodné vyšetriť ovariálnu rezervu⁽⁶⁾.
 - 4. Protilátky proti fosfolipidom-APS.** Protilátky proti fosfolipidom sa môžu vyskytovať aj u zdravých jedincov ako náhodný nález, prechodne po infekciách – trieda IgM. Pri patogenetických mechanizmoch sú APS prevažne triedy IgG, niekedy aj IgA a je to heterogénna množina protilátok namierených proti rôznym bielkovinovým štruktúram naviazaným na fosfolipidové povrchy. Výsledkom ich pôsobenia je protrombotický efekt, čiže dysregulovaná aktivácia trombocytov, endotelových buniek a monocytov, aktivácia komplementu, narušenie interakcie medzi inhibítormi koagulácie a fosfatidylserínovým povrchom, narušenie fibrinolýzy. Prognóza neliečených prípadov antifosfolipidového syndrómu je závažná a pri rôznych typoch APLA môže byť závažnosť ich vplyvu na graviditu rôzna. Pri ich pozitívite ide o rizikové tehotenstvo a je potrebná prekonceptne imunomodulačná, antiagregačná a/alebo antikoagulačná liečba^(7,9-11).
 - 5. Protilátky proti tkanivovej transglutamináze.** Ide o vysokosenzitívny biomarker celiakie, ktorý je významne exprimovaný v trofoblaste. Cirkulujúce protilátky proti tkanivovej transglutamináze môžu zvyšovať riziko sterility a vzniku abnormalít placenty. Pri pozitívite je nutné diagnostikovať celiakiu a dodržiavať prísnu bezlepkovú diétu⁽¹²⁾.
 - 6. Pozitivita antinukleárných protilátok** môže byť sprievodným javom a patogenetickým faktorom rozvoja závažných imunopatologických chorôb. Vysoké percento žien má nízke hladiny ANA, keď môžeme uvažovať o epifenoméne opakovaných infekcií a pri negativite ostatných faktorov. Imunointervenčná liečba nie je potrebná. Pacientku je vhodné sledovať s ohľadom na rozvoj systémového autoimunitného ochorenia⁽¹³⁾.
 - 7. Počet NK buniek.** NK bunky, tzv. prirodzené bunkové zabijáče, sa podieľajú na bunkovej apoptóze predovšetkým pri infekcii a onkologickom ataku. Ich účasť na „napadnutí“ embrya je preukázaná v lokálnom, uterinnom náleze bunkovej imunity, predovšetkým v podobe buniek so znakmi CD57+ na endometriu u pacientok so zníženou plodnosťou. NK bunky maternice síce majú významné postavenie pri implantácii včasného embrya, ale nevyváženosť ich počtu a aktivity vedie k zlyhaniu vývoja včasnej gravidity. Vysoké počty cirkulujúcich NK buniek sú pri Th1 lymfocytárnom fenotype

združené s vysokým rizikom prevládajúceho cytotoxického fenotypu uterinných uNK buniek (možný recruitment z periférnych NK buniek) a je potrebná prekonceptná imunomodulačná liečba^(10,14-16).

- 8. Protilátky proti tyreoperoxidáze** sú markerom autoimunitného postihnutia štítnej žľazy a je potrebné jej podrobné vyšetrenie a adekvátne liečba^(17,18).

Imunologické laboratórne vyšetrenie druhej voľby

- 1. Embryotoxické (TNF-alfa, IFN-gama, IL-6, IL-17) cytokíny** sú prozápalové cytokíny pri Th1-fenotyp imunitnej odpovedi. Ak sú hladiny embryotoxických cytokínov vysoké, podieľajú sa na deštrukcii buniek trofoblastu, čo negatívne vplyva na rast a vývoj embrya. Ich vysoké zastúpenie môže viesť k potratom a spôsobujú trombotické a zápalové procesy v maternálnych uteroplacentárnych krvných cievach. *TNF-α* – stimuluje apoptózu buniek trofoblastu, čiže mediovanú smrť a *IFN-γ* – inhibuje embryonálny a fetálny vývoj, podporuje *TNF-α* mediovanú „smrť“ trofoblastu, inhibuje rast TH2 buniek a môže zvyšovať aktivitu NK buniek. Pri vyšších hladinách je potrebná imunointervenčná liečba^(3,20,21).
- 2. Komplementopatia.** Ku klinicky najvýznamnejším komplementopatiám patrí deficiencia lektínovej cesty, podmienená predovšetkým deficienciou lektínu viažuceho manózu (*mannose-bindinglectin, MBL*). Pre klinický priebeh je významný atypický priebeh infekcií s protrahovaným priebehom a so zvýšenou náchylnosťou na infekčné ochorenia spôsobené predovšetkým extracelulárnymi patogénmi – *Candida albicans, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Haemophilus influenzae, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli*. MBL deficiencia môže byť u dospelých žien klinicky významnejšia v gravidite, keď dochádza k tzv. fyziologickej imunopresii a deficiencia lektínovej cesty aktivácie komplementu sa môže klinicky prejaviť formou subklinickej infekcie. Táto infekcia môže viesť k predčasnému predtermínovému odtoku plodovej vody (PPROM) aj k potratu/predčasnému pôrodu a je potrebná protizápalová a imunomodulačná liečba v gravidite⁽²²⁾.
- 3. Regulačné T-lymfocyty (Treg).** Plnia regulačnú funkciu s cieľom zamedziť excesívnej zápalovej odpovedi v gravidite a sú garantom udržania fetomaternálnej tolerancie. Sú nevyhnutné pri imunitnej tolerancii, majú protizápalové účinky, sú potrebné v mieste implantácie na obmedzenie zápalovej reakcie, pomáhajú pri remodelácii ciev. Nevysvetliteľná nepłodnosť, potrat a preeklampsia sú spojené s nižším počtom a funkčnými zmenami Treg. Pokles zastúpenia periférnych Treg bol dokázaný u žien s preeklampiou, s HELLP syndrómom i v súboroch predčasne rodiacich žien. Pri poklese je vhodná protizápalová a imunomodulačná liečba v gravidite⁽²¹⁾.

Hodnotenie výsledkov

Sledovanie periférnej bunkovej imunity lymfocytov, predovšetkým so znakmi CD3, CD4, CD8, CD19, CD5, CD56, CD16, a ich regulácia má obmedzený význam pre všetky ženy so zníženou plodnosťou. Odporúčame ich vyšetriť u pacientok so základným autoimunitným ochorením alebo u pacientok opakovane potrácajúcich, u ktorých boli vylúčené ostatné príčiny tehotenských strát vrátane genetických (predimplantačná genetická diagnostika), alebo u žien s opakovaným implantačným

zlyháváním. Vzhľadom na to, že periférna bunková aktivita sa nikdy nezohoduje s lokálnou, domnievame sa, že štandardné sledovanie celkovej bunkovej imunity u žien (s výnimkou uvedeníých ťažkostí) nemá praktický význam.

Záver

Fyziologické tehotenstvo, ktoré je ukončené pôrodom zdravého novorodenca, je podmienené vzájomnou súhrou neuroendokrinnnej sústavy a imunitného systému a je charakterizované výraznými adaptačnými zmenami v organizme matky. Plod ako imunologicky cudzie tkanivo v tele matky je chránený pred reekciou mnohými mechanizmami: vzájomným vplyvom hormónov, imunokompetentných buniek, cytokínov. Okrem toho počas celej svojej životnosti placenta vytvára a reaguje na veľkú rozmanitosť zápalových stimulov. V placentárnych bunkách bolo identifikovaných mnoho signálnych molekúl a súbežných dráh, zodpovedných za šírenie zápalovej reakcie. Napriek nedávnym pokrokom v poznaní týchto procesov sú potrebné ďalšie štúdie.

Podľa súčasných poznatkov môžeme konštatovať, že poznanie a sanácia imunopatologických mechanizmov môžu mať významný podiel na regulácii reprodukčných schopností človeka. Využitie súčasných diagnostických metód a ovplyvnenie funkcií imunitného systému má svoje nezastupiteľné miesto v starostlivosti o neplodné páry.

Vyhlasenie o bezkonfliktnosti: Nemám potenciálny konflikt záujmov.

Adresa pre korešpondenciu:
MUDr. Katarína Bergendiová, PhD.
ImunoVital Centrum
Jašíkova 2, 821 03 Bratislava
e-mail: bergendiova@imunovital.sk

RNDr. Elena Tibenská, PhD.
Medirex, a. s., Bratislava
Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava

Literatúra

1. Drahošová M, Madar J, Janatková I, a spol. Diagnostic infertility – immunological laboratory markers. *J Reprod Immunol* 2009; 81(2): 168-169.
2. Kwak-Kim JY, Chung-Bang, HS, Ng SC, et al. Increased T helper 1 cytokine responses by circulating T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple implantation failures after IVF. *Hum Reprod* 2003; 18: 767-773.
3. Kwak-Kim J, Yang KM, Gilman-Sachs A. Recurrent pregnancy loss: a disease of inflammation and coagulation. *J Obstet Gynaecol Res* 2009; 35: 609-622.
4. Mettler L, Bachmann J, Schmutzler A. High prevalence of markers for immunological disorders in IVF patients. *Int J Gynaecol Obstet* 2004; 86: 59-60.
5. Madar J, Nouza K, Nováková D. Imunologické aspekty habituálneho potráce. *Mod Gynek Porod* 2002; 11: 621-627.
6. Ulčová-Gallová Z. Normální a patologická imunologie těhotenství. *Moder Gynekol Porod* 2001; 10: 1.
7. Madar J, Pěkníková J, Šůla K, a spol. Anti-trophoblast and anti cardiolipin immunity in repeated miscarriages – diagnosis and treatment. *J Reprod Immunol* 2003; 58: 179-183.
8. Robertson SA, Chin PY, Femia JG, et al. Embryotoxic cytokines – Potential roles in embryo loss and fetal programming. *J Reprod Immunol* 2020; 139: 103-118.
9. Meroni PL, Gerosa M, Raschi E, et al. Updating on the pathogenic mechanisms 5 of the antiphospholipid antibodies-associated pregnancy loss. *Clin Rev Allergy Immunol* 2008; 34: 332-337.
10. Subrt I, Ulčová-Gallová Z, Bibkova K, a spol. Recurrent pregnancy loss and frequency of eight antiphospholipid antibodies and genetic thrombophilic factors in Czech women. *Am J Reprod Immunol* 2008; 59: 193-200.
11. Ulčová-Gallová Z, Bouse V, Krizanovská K, a spol. Beta 2-glycoprotein I is a good indicator of certain adverse pregnancy conditions. *Int J Fertil Womens Med* 2001; 46: 304-308.
12. Ulcova-Gallová Z, Krauz V, Novakova P, a spol. Anti-phospholipid antibodies against phosphatidylinositol, and phosphatidylserine are more significant in reproductive failure than antibodies against cardiolipin only. *Am J Reprod Immunol* 2005; 54: 112-117.
13. Vanciková Z, Chlumecký V, Sokol D, et al. The serologic screening for celiac disease in the general population (blood donors) and in some high-risk groups of adults (patients with autoimmune diseases, osteoporosis and infertility) in the Czech republic. *Folia Microbiol (Praha)* 2002; 47: 753-758.
14. Purvis MT, Kaider BD, Roussev RG, et al. Antinuclear antibody prevalence in patients with reproductive failure. *Am J Reprod Immunol* 1996; 35: 463-468.
15. Gilman-Sachs A, DuChateau BK., Aslakson CJ, et al. Natural killer (NK) cell subsets and NK cell cytotoxicity in women with histories of recurrent spontaneous abortions. *Am J Reprod Immunol* 1999; 41: 99-105.
16. Kwak-Kim J., Gilman-Sachs A. Clinical implication of natural killer cells and reproduction. *Am J Reprod Immunol* 2008; 59: 388-400.
17. Pribylova P, Malickova K. Peripheral blood natural killer cell assay in infertile women. *Prague Med Reprod* 2008; 108: 298304.
18. Stagnaro-Green A, Roman SH, Cabin RH, et al. Detection of at-risk pregnancy by means of highly sensitive assays for thyroid antibodies. *JAMA* 1990; 264: 1422-1425.
19. Fen S, Hongxia CH, Chunyu W, et al. The correlation of thyroid autoimmunity and peripheral and uterine immune status in women with recurrent miscarriage. *J Reprod Immunol* 2018; 125: 80-88.
20. Chaouat G, Ledee-Bataille N, Dubanchet S, et al. Cytokines in pregnancy/early abortion: reexamining the TH1/TH2 paradigm. *Int Arch Allergy Immunol* 2004; 134: 93-119.
21. Nardo LG, Nikas G, Makrigiannakis A. Molecules in blastocyst implantation. Role of matrix metalloproteinases, cytokines and growth factors. *J Reprod Med* 2003; 48(3): 137-147.
22. Saito S. Cytokine network at the fetomaternal interface *J Reprod Immunol* 2000; 47(2), 87-103. Tang Qizhi, Bluestone J. The Foxp3+ regulatory T cells: a jack of all trades, master of regulation. *Nature Immunology* 2008; 9: 239-244.
23. Regal JF, Burwick RM, Fleming SD. The Complement System and Preeclampsia. *Curr Hypertens Rep* 2017; 19(11): 87.