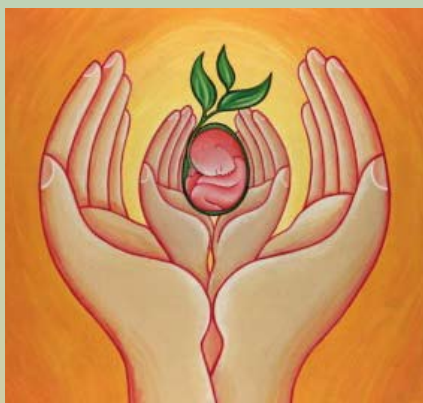


# Informačný bulletin

pomáhame zlepšovať zdravotnú starostlivosť

2/2014

## Imunologické príčiny neplodnosti



Liečba neplodnosti prešla v posledných desaťročiach veľkým pokrokom. Medicína dokáže zasahovať do hormonálneho riadenia menštruačného cyklu. Laparoskopickými postupmi dokáže spresniť

diagnostiku a zjednodušiť odstránenie rôznych vývojových chýb v pohlavnom ústrojenstve ženy. Ultrazvuk je neoceniteľný nielen pre diagnostiku gynekologických ochorení, ale aj pre sledovanie rastu a vývoja zárodka v maternici v priebehu tehotenstva. Možnosť mimotelového oplodnenia (IVF) umožňuje rodičovstvo mužom s rôznymi anomáliami spermií a ženám s nepriechodnými vajíčkovodmi, ale je možné použiť aj darované vajíčko. Nové molekulárne genetické metódy dokážu určiť genetické vady.

Aj napriek tomu existuje mnoho párov, ktorým tieto techniky nevedia pomôcť. Žena buď vôbec neotehotnie, a to ani po opakovaných cykloch IVF, alebo opakovane potráca. Vtedy je potrebné vyšetriť imunitný systém.

Imunitné prekážky oplodnenia sú rôzne. Najdlhšie známymi u mužov sú autoprotilátky proti vlastným spermiám. Príčiny ich vzniku sú infekčné a neinfekčné: kvapavka, príušnice, úraz testes a iné. Protilátky sú naviazané na hlavičkách spermií, a tak bránia splynutiu spermie s vajíčkom. Pri bežnom vyšetrení

V čísle 2/2014:

## Reprodukčná imunológia

sa takéto spermie javia ako celkom zdravé. Protilátky na nich naviazané odhalí len špeciálny test. Protilátky proti spermiám môže vytvárať i žena. Najčastejšie sa nachádzajú v hliene hrdla maternice. Naviažu sa na prenikajúce spermie, a buď ich znehybnia, alebo obalia ich hlavičky (akrozómy) a tak znemožnia splynutie spermie s vajíčkom.

Pretože imunitné reakcie proti spermiám žene inak väčšinou neprekážajú, je i tu jednoduchšie ich obísť. Je možné využiť vnútromaternicovú insemináciu, keď sa spermie do maternice aplikujú pomocou špeciálnej kanyly a vôbec neprídu do styku s hlienom hrdla maternice. Na ochranu spermií v tele pred útokom imunity vyvinula príroda špeciálne mechanizmy. Tie ale fungujú za predpokladu „v správny čas na správnom mieste“.

Je potrebné si uvedomiť, že na rozdiel od človeka párenie u živočíchov nastáva len v dobe ovulácie samice. Vtedy je hlien, uzatvárajúci hrdlo maternice číry a pre spermie prestopný. Naproti tomu mimo ovulácie je hustý a kalný - je v ňom mnoho leukocytov – imunologických „kontrolórov“, brániacich prieniku infekcie z pošvy do maternice. Avšak títo „kontrolóri“ registrujú ako votrelca i spermie, ktoré sa v pošve ocitnú v dobe mimo ovulácie.

Situáciu môže zhoršiť ešte napríklad zápal, ktorý súčasne prebieha v pošve a na krčku maternice. Vtedy je obranný imunitný systém v pohlavnom ústrojenstve ženy zvlášť „podráždený“, môže proti spermiám tvrdo zaútočiť, a keďže má veľmi dobrú pamäť, útočí na ne i neskôr.

Ďalším miestom, kde môžu protilátky prekážať oplodneniu, je blanka kryjúca zrelé vajíčko, zvaná zona pellucida. Ak si žena vytvára protilátky proti tejto blanke – antizonálne protilátky, je opäť sťažené splnutie spermií s vajíčkom a následné oplodnenie. Príčinou vzniku antizonálnych protilátok môžu byť prekonané zápaly vaječníkov a ich okolia, ale i chronický alebo komplikovaný zápal slepého čreva (apendicitída).

Zatiaľ čo imunologické problémy s oplodnením vajíčka môžeme obvykle vyriešiť niektorou z techník asistovanej reprodukcie (IUI, IVF), pri imunologicky podmienenej zábrane uhniezdzenia (nidácie) zárodka v maternici nepomôže asistovaná reprodukcia.

Ak je materská imunita aktivovaná, napadne zárodok bez ohľadu na to, či sa do maternice dostal prirodzenou alebo umelou cestou. Vtedy je jedinou možnosťou imunitnú reakciu utlmiť, aspoň pokiaľ sa zárodok spoľahlivo „uhniezdi“.

Ak pri imunologickej zábrane oplodnenia hrajú dôležitú úlohu protilátky (proti spermiiám alebo proti zona pellucida), je rozhodujúcou imunologickou zbraňou proti zárodku tzv. bunkami sprostredkovaná imunita. Ide o súbor imunitných mechanizmov – cytotoxické lymfocyty, embryotoxické a zápalové cytokíny, perforíny, adhezívne molekuly a ďalšie.

Problémom je, že zbrane bunkovej imunity majú v porovnaní s protilátkami omnoho väčší „rozptyl“ (sú menej antigénne špecifické). V praxi to znamená, že bunková imunita vyvolaná spermiami alebo infekciou môže v ženskom pohlavnom ústrojenstve napadnúť i iných „votrelcov“, napr. zárodok, ktorý sa snaží uhniezdiť v maternici. Inokedy je bunková imunita aktivovaná priamo tou časťou zárodka (trofoblast), ktorá sprostredkuje jeho nidáciu (napr. u žien trpiacich opakovanými potratmi).

Takáto nežiaduca imunita buď zabráni zárodku v usadení v maternici, alebo ho napadne neskôr a spôsobí potrat.

Ale i protilátky môžu mať svoj podiel na neúspechu tehotenstva. Dlho je to známe o autoprotilátkach proti niektorým fosfolipidom, hlavne kardiolipidom. Tieto protilátky sú časté u žien trpiacich autoimunitným ochorením (systémový lupus erythematoses,



reumatoidná artritída, niektoré poruchy štítnej žľazy, niektoré typy cukrovky a i.). Môžu sa však vyskytnúť i samostatne.

Napadajú membrány buniek tvoriacich výstelku krvných ciev v materskej časti placenty a spôsobujú vznik drobných zrazenín, ktoré cievy upchávajú. Výsledkom je zhoršený prietok krvi placentou so všetkými následkami, od časného potratu cez spomalenie rastu plodu až po predčasný pôrod a preeklampsiu. Miest, kde môže chorobná imunita narušiť plodnosť, je ešte viac. No tie, o ktorých sme sa zmienili sú najčastejšie a najdôležitejšie.

Liečebný postup imunologických príčin neplodnosti by mal byť cieleň. Ak sa potvrdí imunologická príčina, je väčšinou možné liečebne zasiahnuť. Imunologické prekážky oplodnenia vajíčka je možné často obísť metódami asistovanej reprodukcie.

Imunologické prekážky uhniezdzenia zárodka v maternici nie je možné takto obísť a je nutné imunitu „upokojiť“. Princípom je dočasne obmedziť akékoľvek dráždenie pohlavného ústrojenstva ženy cudzородými látkami. Preto je nutné vyliečiť všetky zápaly pošvy, maternice, vajcovodov a vaječníkov.

Ďalším logickým krokom je dočasne zamedziť styku ženinho genitálu s antigénmi mužských pohlavných buniek (dôsledné používanie kondómu). Imunitu je možné pomôcť zabúdať malými dávkami imunosupresívnych liekov. Zásadou je, že imunitu je potrebné vyliečiť ešte pred oplodnením.

Rozmnožovanie je jedna zo základných vlastností živej hmoty. Neplodnosť má mnoho príčin. Je vždy potrebné myslieť na všetky, vrátane imunologických príčin.

## Súčasné možnosti laboratórnej diagnostiky v reprodukčnej imunológii

Reprodukčná imunológia patrí medzi lekárske disciplíny, ktoré majú významný podiel na výskume, diagnostike a liečbe neplodných párov. Imunitný systém sa podieľa na reprodukčných neúspechoch 20%. Nesprávne regulovaný IS zasahuje do procesov reprodukcie na mnohých úrovniach a negatívne ovplyvňuje funkciu endokrinných žliaz, priamo poškodzuje zárodočné tkanivo, negatívne pôsobí na kvalitu pohlavných buniek a na proces fertilizácie, nidácie, vývoj embrya i placenty. Tieto procesy môžu mať za následok stratu plodu. Poznáme niekoľko desiatok porúch imunity, ktoré môžu vyústiť do sterility alebo infertility. Podiel imunologickej príčiny na zníženej plodnosti (neplodnosti) je potrebné sledovať vždy komplexne s ohľadom na ostatné funkcie neuroendokrinného aparátu.

### Vyšetrenie muža

| Vyšetrenie ejakulátu*           |                                 |
|---------------------------------|---------------------------------|
| Kvalita spermií<br>(SpermFlow)  | Počet spermií, počet leukocytov |
|                                 | Vitalita spermií                |
|                                 | Integrita akrozómu              |
|                                 | Intra-akrozomálne proteíny      |
| Autoprotilátky<br>(MAR test)    | Anti-sperm protilátky           |
| Autoprotilátky                  |                                 |
| ASA-Anti-sperm                  |                                 |
| ANA IgG skrining                |                                 |
| Anti-Transglutamináza IgG, IgA  |                                 |
| Anti-TPO tyreoperoxidáza        |                                 |
| Anti-TG (tyreoglobulín)         |                                 |
| Bunková imunita                 |                                 |
| CD3, CD19, CD4, CD8, NK, HLA-DR |                                 |
| Infekčná PCR diagnostika        |                                 |
| Chlamydia trachomatis           |                                 |

V reprodukčnej imunológii vyšetrujeme tieto parametre: protilátky proti spermiám v ejakuláte, protilátky proti spermiám v sére (ASA), protilátky proti zona pellucida, antiovariálne protilátky, protilátky proti membránovým fosfolipidom, protilátky proti annexinu V, bunkovú imunitu proti spermiám (funkčná aktivita NK buniek, MIF), bunkovú imunitu proti trofoblastu, spermogram, stanovenie kvality ejakulátu, screening systémového imunopatologického ochorenia (ANA, ATTG, ATPO, anti-endomysium), ev. ďalšie parametre.

Laboratórne imunologické vyšetrenie, spolu so stanovením kvality ejakulátu vrátane akrozómu spermií, vytvára mozaiku pomocou ktorej je možné odhaliť mnohé imunopatologické stavy. Podiel imunologickej príčiny na znížení plodnosti nemôžeme ale sledovať oddelene, ale vždy komplexne.

Prevalencia imunopatológie v reprodukčnej oblasti má stúpajúcu tendenciu. Zaradenie metodík v reprodukčnej imunológii do diagnostického a liečebného procesu by mohlo niekoľkonásobne zvýšiť pravdepodobnosť úspešnosti prirodzeného počatia, alebo prípadne následne použitých invazívnych metód asistovanej reprodukcie.

### Vyšetrenie ženy

| Autoprotilátky                     |
|------------------------------------|
| ASA-Anti-sperm                     |
| AOA-Anti-ovarium                   |
| Anti-zona pellucida                |
| ANA IgG skrining                   |
| ENA IgG skrining                   |
| EMA IgA                            |
| Anti-Transglutamináza IgG, IgA     |
| Vyšetrenie cervikálneho hlienu     |
| ASA-Anti-sperm (nepriamy MAR test) |
| Infekčná serológia                 |
| Chlamydia trachomatis IgG, IgA     |
| Toxoplasma gondii IgG, IgM         |
| Infekčná PCR diagnostika           |
| Chlamydia trachomatis              |



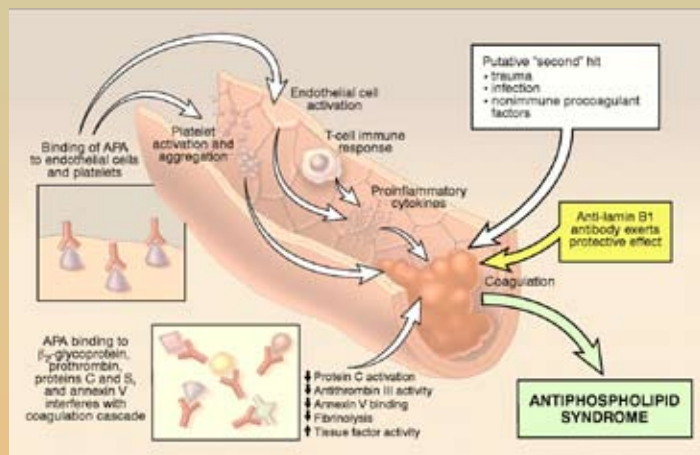
## Infertilita a antifosfolipidový syndróm



Jednou zo závažných príčin infertilit a abortov u žien môžu byť imunologicky podmienené procesy iniciované auto alebo alloimunitnými materskými protilátkami.

K autoimunitným faktorom patria **antifosfolipidové protilátky** – atakujúce **proteíny naviazané** na dôležitú zložku biologických membrán – fosfolipidy.

**Fosfolipidy** sú lipidové zložky bunkových membrán a krvných doštičiek. Zodpovedajú za udržiavanie štruktúry plazmatickej membrány vo funkčnom stave. Majú nezastupiteľnú úlohu tiež v rámci procesov zrážania krvi, kde ich prítomnosť je kritická v niekoľkých krokoch vonkajšej aj vnútornej cesty aktivácie koagulačie, ako aj na koncovej spoločnej ceste koagulačnej kaskády. Prítomnosť fosfolipidov vyžaduje v rámci vnútornej cesty aktiváciu faktorov IX a X, faktoru X v rámci vonkajšej cesty a faktoru II počas spoločnej cesty.



**Antifosfolipidové protilátky** zahŕňajú veľkú skupinu autoprotilátok izotypu IgG, IgA alebo IgM, namierenou proti rôznym proteínom viazaných na fosfolipidové štruktúry, ktorých prítomnosť je spájaná nielen s komplikáciami v gravidite ale aj s infekčnými ochoreniami, niektorými psychiatrickými liekmi,

neurologickými ochoreniami, infarktom myokardu. V tehotenstve sa dávajú do súvisu s **recidivujúcimi habituálnymi potratmi**, trombocytopéniou (autoimunitnou) a trombózou.

Predpokladaný mechanizmus účinku antifosfolipidových protilátok je celá rada. Dostatočne je dokázaná ich väzba na povrchové proteíny naviazané na fosfolipidy trombocytov, buniek cievnej výstelky a bunky trofoblastu. Prítomnosť vysokých hladín antifosfolipidových protilátok môže ovplyvniť normálnu fertilizáciu tým, že sa tieto protilátky naviažu na proteíny naviazané na fosfolipidy ovariálneho tkaniva tak, že zabránia vytvoreniu a uvoľneniu funkčného oocyty. Samotný fertilizačný proces môže byť ovplyvnený i priamymi väzbami antifosfolipidových protilátok na proteíny povrchových komponentov oocyty a spermie. Podľa novších názorov, primárne poškadzujú cievy deciduy a placenty, kde sa nachádzajú trombózy a rozsiahle infarkty. Ich vznik podmieňuje zníženie pomeru medzi vazodilatačným prostacyklínom a vazokonstrikčným tromboaglutinačným tromboxanom. Antifosfolipidové protilátky tlmia aktiváciu antitrombínu III, proteínu C a protetínu S, naopak po naviazaní na stimulované trombocyty zvyšujú ich aktiváciu. Prokoagulačné vlastnosti endotelových buniek sa po väzbe antifosfolipidových protilátok, prejavia vo zvýšenej expresii adhezívnych molekúl ICAM-1, VCAM-1 a PECAM-1. To umožní adhérenciu predovšetkým makrofágov, ktoré sú potom zdrojom cytokínov prehĺbujúcich protrombotické procesy. Tieto mechanizmy môžu byť zodpovedné za poruchy funkcie placentárnych ciev, ktoré vedú k vzniku eklampsie a tiež spolu zodpovedajú za niektoré prípady hypotrofie plodu. Na škodlivom pôsobení antifosfolipidových protilátok sa významnou mierou podieľajú zápalové procesy.

**Kardiolipín** bol prvý fosfolipid, u ktorého bola dokázaná asociácia s imunopatologickými stavmi. Kardiolipín sa však v membráne trombocytov nenachádza, ani nie je súčasťou koagulačnej kaskády. K fosfolipidom trombocytárnej membrány patria predovšetkým fosfatidylcholín (50-60%), fosfatidylethanolamín (20-30%), **fosfatidylserín** (10-15%) a **fosfatidylinozitol** (cca 5%).

Neskôr bolo dokázané, že tzv. **trombofilné antifosfolipidové protilátky** (ktoré sú schopné spôsobiť vznik cievnej trombózy) potrebujú k naviazaniu na fosfolipidy určitý proteín ako **kofaktor** –  **$\beta 2$  glykoproteín I, annexin V, protrombín**, proteín C a S, trombomodu-

lín. Aj proti týmto kofaktorom boli nájdené protilátky. Po naviazaní kofaktora na fosfolipid uskutoční molekula tohto proteínu konformačné zmeny, čím dôjde k odhaleniu kryptického antigénneho neo – epitopu. Protilátky proti tomuto epitopu označujeme ako **skutočné** antifosfolipidové protilátky. Protilátky, ktoré sa vyskytujú pri niektorých akútnych **infekčných ochoreniach** a ktoré reagujú so samotným fosfolipidom po odoznení infekcie obyčajne **vymiznú**.

V **placente** sa nachádzajú proteíny s antikoagulačnými funkciami, patriacimi do skupiny proteínov schopných v prítomnosti iónov vápnika viazať sa na fosfolipidy. Inhibujú kroky koagulačnej kaskády, závislé na prítomnosti fosfolipidov, pretože zabraňujú prístupu zrážacích koagulačných faktorov.

Najvýznamnejším zástupcom je **anexin V**, ktorý má najvyššiu afinitu ku kyslým fosfolipidom a je v placente prítomný v najvyššom množstve. Inhibícia jeho funkcie pôsobením antifosfolipidových protilátok v triede **IgG** môže byť spoluzodpovedná za **stratu plodu** u žien s antifosfolipidovým syndrómom.

Pozícia **antikardiolipínovej protilátky** ako „**zlatého štandardu**“ pre **detekciu antifosfolipidového syndrómu** je pomaly **prekonávaná**. Vyšetrením protilátok proti kardiolipínu nedostaneme odpoveď na otázku, či ide o **kofaktor-dependentné (a teda patologické) protilátky, či nie**. Mnoho štúdií potvrdilo, že protilátky proti iným fosfolipidom lepšie korelujú s klinickými prejavmi trombóz.

Napr. výsledok pozorovania Gleichera a kol.: v **prípade recidivujúcich potratov u žien s antifosfolipidovým syndrómom nebolo testovaním protilátok proti kardiolipínu zachytených dokonca 91% chorých v porovnaní s testmi protilátok proti jednotlivým fosfolipidom**.

Liečba antifosfolipidového syndrómu je založená na podávaní kyseliny acetylsalicylovej, ktorá blokuje trombogénnu aktiváciu. S úspechom sa taktiež vyžíva heparín či fraxiparín. Pre imunosupresívny účinok je využívaná aj liečba glukokortikoidmi. U pacientiek s iným primárnym systémovým ochorením je možné využiť plazmaferézu pri imunosupresívnej terapii s návaznosťou na in vitro fertilizáciu.

Všeobecne však platí, že pacientky s autoimunitným ochorením musia byť sledované skupinou odborníkov (gynekológ, reumatológ, imunológ).

**Analyticko-diagnostické laboratórium a ambulancia v rámci diagnostiky infertility ponúka komplet-**

**nú škálu parametrov identifikácie protilátok antifosfolipidového syndrómu.**

### ***Kardiolipín protilátky triedy IgM/ IgG /IgA (ACLA)***

Antikardiolipínové protilátky sú v organizme prítomné buď prechodne napr. pri infekčných najmä vírusových chorobách alebo trvalo pri autoimunitných ochoreniach ako sú systémový lupus erythematosus a **antifosfolipidový syndróm**. Antifosfolipidový syndróm sa prejavuje opakovanými vaskulárnymi trombózami. V sére pacientov s týmto ochorením sa nachádzajú antifosfolipidové protilátky, ktoré sa viažu na negatívne nabité fosfolipidy alebo komplexy fosfolipidov s proteínmi a táto väzba spôsobí spustenie patologických procesov. V prípade pozitivity ACLA sa vyšetrenie môže doplniť dôkazom protilátok proti iným fosfolipidom.

Antifosfolipidové protilátky sa triedia do dvoch skupín podľa metódy ktorou sú dokazované : Lupusové antikoagulačné protilátky a antikardiolipínové protilátky. Tieto protilátky môžu byť typu IgG, IgM a IgA ale podľa výsledkov publikovaných štúdií je zrejmé, že IgM majú minimálny klinický význam, zvýšená hladina IgG najčastejšie koreluje s komplikáciami choroby a IgA majú vyššiu preukaznú hodnotu pri trombocytopéniách ako IgG a IgM. Medzi ďalšie choroby spojené s prítomnosťou

ACLA patria arteriálne a venózne trombózy, **opakované potraty a spomalenie rastu plodu**, mozgové porážky a infarkty myokardu najmä u mladších pacientov, trombocytopénia, autoimunitná hemolytická anémia.

### ***\*β-2-Glykoproteín I, protilátky triedy IgG a IgM (GPI)***

Beta-2-glykoproteín I (β2GP I) je glykozylovaný jednoreťazcový plazmatický proteín zložený z 326 aminokyselín s molekulovou hmotnosťou 50 kDa. Patrí do skupiny „komplement kontrolujúcich proteínov“. V komplexe s fosfolipidmi vytvára antigénne miesto pre antifosfolipidové protilátky, ale aj samotný môže byť pre ne epitopom. Stanovenie anti-β-2-GP I protilátok dopĺňa diagnostiku antikardiolipínových protilátok, umožňuje lepšie rozlíšiť nebezpečné autoprotilátky a včas odhaliť hroziace riziko klinických komplikácií. Pre diagnostiku antifosfolipidového syndrómu je špecifita anti- β2GP I protilátok IgG aj IgM 98%. Senzitivita v triede IgM je 43,8% a v triede IgG 83,6%.

**\*Fosfatidylserín, protilátky triedy IgG a IgM**

Niektorí autori pokladajú protilátky proti fosfatidylserínu (prípadne jeho komplexom s  $\beta$ 2GP I, alebo s protrombínom) za relevantnejšie v patogenéze antifosfolipidového syndrómu ako ACLA. Antikardiolipínové a antifosfatidylserínové protilátky sa neobjavujú vždy spolu. V prípade suspektného APS a negativity ACLA protilátok sa vyšetrenie antifosfatidylserínových protilátok obzvlášť odporúča. Detekcia týchto protilátok tiež umožňuje **posúdenie rizika trombózy či potratu** u pacientov so SLE alebo kolagenózou. Senzitivita pre APS v triede IgG je 80,8%, IgM 39,7%. Špecificita IgG 96%, IgM 98%.

**\*Protrombín, protilátky triedy IgG a IgM**

Protilátky proti protrombínu rozširujú „rodinu“ antifosfolipidových protilátok proti bielkovinám viažúcim sa na fosfolipidy. Detekcia antiprotrombínových protilátok poukazuje na antifosfolipidový syndróm. Test je indikovaný pri podozrení na antifosfolipidový syndróm a súčasnej negatívite antikardiolipínových protilátok. Okrem toho stanovenie protilátok proti protrombínu umožňuje posúdenie rizika trombózy u vysokorizikových skupín, ako sú pacienti so SLE alebo sklerodermiou. Špecificita protilátok IgM pre antifosfolipidový syndróm 98,7%, IgG 97,3%, senzitivita v prípade IgM aj IgG je 33,3%.

**\*Fosfatidylinozitol, protilátky triedy IgG a IgM**

Protilátky proti fosfatidylinozitolu, ďalšiemu fosfolipidu bunkových membrán, rozširujú rodinu APLA protilátok. Obyčajne sa vyskytujú spolu s ACLA a protilátkami proti fosfatidylserínu, avšak boli detegované aj samostatne u pacientov s antifosfolipidovým syndrómom. Zvlášť u mladších pacientov s mozgovou ischémiou nejasného pôvodu sú tieto protilátky najpočetnejšie antifosfolipidové protilátky.

Výrobcom udávaná špecificita pre APS v triede IgG je 96,0%, IgM 97,3%. Senzitivita v triede IgG – 78,1%, IgM – 35,6%.

**\*Annexin V, protilátky triedy IgG a IgM**

Annexin V je proteín, ktorého biologický význam spočíva v inhibícii fosfolipid - dependentnej koagulačnej kaskády krvi. V prítomnosti vápnika sa silne a špecificky viaže na fosfatidylserín. Tento proteín má tiež dôležitú **trombomodulačnú funkciu v placentárnej cirkulácii** a programovanej bunkovej smrti (apoptó-

ze). Protilátky proti annexinu V nachádzame u pacientov s APS, SLE alebo inými kolagenózami, ako aj s reumatoidnou artritídou. Je možné, že tieto protilátky majú význam v **patogenéze komplikácií v tehotenstve**. V klinickom rámci antifosfolipidového syndrómu protilátky proti annexinu V môžu byť detegovateľné aj pri negatívite antifosfolipidových protilátok. Na základe súčasných poznatkov sa pre komplexnú diagnostiku APS preto odporúča súčasne vykonávať stanovenie protilátok proti annexinu V s protilátkami proti kardiolipínu, beta-2- glykoproteínu I a proti protrombínu.

**Informácie k uvedeným vyšetreniam :**

**Materiál :** Zrazená krv, 5ml

**Odber materiálu :** Odber krvi za štandardných podmienok

**Frekvencia vyšetrenia :** 1 krát za týždeň

**Princíp :** EIA

**Interferencie :** Neodporúča sa vyšetrovať ikterické, lipemické, hemolyzované alebo bakteriálne kontaminované sérum

Antifosfolipidový syndróm môže byť **primárny**, ak sa vyskytuje izolovane bez prítomnosti iného autoimunitného ochorenia alebo **sekundárny**, ak je spojený s výskytom iného systémového či orgánovo špecifického ochorenia (reumatoidná artritída, SLE, myastenia gravis...). Súčasne s laboratórnym nálezom antifosfolipidových protilátok sa dá očakávať aj výskyt auto-protilátok typu lupus antikoagulans. Prítomnosť vysokých hladín antifosfolipidových protilátok je dôvodom k vyšetreniu ďalších autoprottilátkových aktivít : **ANA, ENA, ds-DNA, RF** a pod.





## Celiakia a neplodnosť

Celiakia je vrodené autoimunitné ochorenie, ktoré má množstvo podôb, klinických príznakov, preto je dôležité preveriť aj túto **závažnú možnosť príčiny neplodnosti**.

V súčasnosti sa vyskytuje približne u jedného zo sto ľudí, z toho je pravdepodobne diagnostikovaných asi len 5%. Celiakia je vyvolaná neznášanlivosťou bielkovín obilnín, najmä pšenice, jačmeňa a raže. Predpokladá sa, že ide o vrodenú poruchu metabolizmu s poruchou aktivity enzýmov odbúravajúcich glutén. Vznikajú toxické zložky molekuly gluténu, ktoré sa hromadia v sliznici tenkého čreva a poškodzujú ju. Choroba je charakterizovaná podstatnou stratou klkov v tenkom čreve a zmenšením absorpčného povrchu. Výsledkom uvedených mechanizmov je porucha rezorpcie všetkých zložiek potravy. Pri vzniku celiakie sú dôležité aj genetické faktory, až 80% pacientov je nositeľom molekúl HLA DQ2, DQ8.

Klinické príznaky celiakie môžeme zatriediť do troch skupín: celkové príznaky, gastrointestinálne a extraintestinálne príznaky celiakie. Do prvej skupiny patrí nízky vzrast, ktorý je často opísaný ako jediný symptóm celiakie u niektorých starších detí a adolescentov. Ďalšími príznakmi sú strata hmotnosti, neprospevanie, únava, letargia, oneskorená puberta, edémy. Medzi gastrointestinálne príznaky celiakie patrí: hnačka, steatorea, brušný diskomfort, anorexia, nauzea, vomitus, rekurentná aftózna stomatitída a steatóza pečene. Extraintestinálne príznaky celiakie sú kožné, hematologické, kostrosvalové, neurologické (periférna neuropatia, ataxia), psychiatrické (depresia, iritabilita), laboratórne a ochorenie má vplyv na reprodukciu (neplodnosť mužov aj žien, potraty u žien).

Laboratórne výsledky môžu preukázať nízke hladiny minerálov Ca, Fe, K, Mg, vitamínu B12 a kyseliny listovej. Ženy s nedávno zistenou celiakiou by mali pred otehotnením a počas tehotenstva užívať zvýšené dávky kyseliny listovej, lepkom poškodené črevo môže spôsobiť zhoršené vstrebávanie tohto vitamínu. Ak bola bezlepková diéta zavedená viac ako 2 roky pred otehotnením, nie je potrebné dodržiavať špeciálne opatrenia, stačí dodržiavať bezlepkovú diétu a dbať na pestrú stravu s dostatkom živín.

Pri neliečenej celiakii bezlepkovou diétou sú zvýšené sérologické protilátky proti gliadínu (AGA), endomýziu (EMA) a tkanivovej transglutamináze (tTG).

Protilátky by mali byť vyšetrované 1, 3, 6 a 12 mesiacov po nasadení diéty a potom 1-krát ročne. Pri prísnej diéte a odpovedi na liečbu by mali byť všetky negatívne, časové súvislosti sú však veľmi individuálne. Nie vždy korelujú (najmä EMA a tTG) s histologickou aktivitou. Pri relapse, resp. odpovedi na diétu je známa postupnosť (AGA, tTG, EMA) objavenia sa, resp. vymiznutia protilátok. Mierne a krátkodobé expozície antigénom nemusia viesť k objaveniu sa cirkulujúcich protilátok. Pri interpretácii výsledkov cirkulujúcich autoprotilátok treba zohľadniť vek pacienta, histologickú aktivitu ochorenia, vzťah k diéte, imunologický stav pacienta a tiež charakter resp. kvalitu laboratórneho pracoviska.

### Protilátky proti gliadínu

Protilátky proti gliadínu pšenice sú pri celiakii vyšetrované často. V jednotlivých štúdiách sa u detí s celiakiou senzitivita IgG a IgA protilátok proti gliadínu pohybuje medzi 89% až 100%. Špecifickosť bola 86% pre IgG protilátky a 95,5% pre IgA protilátky. Je známe, že IgA protilátky sú pre celiakiu viac špecifické ako senzitivne, ale oproti protilátkam triedy IgG sú viac senzitivne ako špecifické. U 2 – 3% osôb s celiakiou, ktorí sú IgA deficientní, nie je IgA protilátková odpoveď. Z tohto dôvodu skrining pre celiakiu zahŕňa aj vyšetrovanie protilátok triedy IgG nielen proti gliadínu, ale aj proti tkanivovej transglutamináze. Pri každom sérologickom skriningu je preto dôležité vyšetriť aj hladiny imunoglobulínov IgA. Pri deficencii IgA vyšetrujeme iba IgG protilátky. Pozitívne výsledky protilátok triedy IgA sú falošne pozitívne aj pri IgA nefropatii. Pozitívitu protilátok proti gliadínu nachádzame aj pri iných stavoch, ako je Crohnova choroba, eozinofilná enteritída, tropická sprue a niekedy aj u zdravých osôb.

### Protilátky proti deaminovaným peptidom gliadínu

Výšetrenie je určené na kvantitatívne stanovenie špecifických protilátok triedy IgA proti deaminovaným gliadínovým peptidom v ľudskom sére, ktoré je špecifickejšie i senzitivnejšie ako stanovenie protilátok proti naturálnemu gliadínu. Tkanivová transglutamináza špecificky deaminuje miesta, kde sa vyskytuje aminokyselina glutamín premenou na glutamát. Tieto negatívne nabité peptidy sa prednostne viažu na HLA receptory II. triedy a tiež na receptory T-lymfocytov, čím navodzujú autoimunitu.

### Protilátky proti tkanivovej transglutamináze

Poznanie, že enzým tkanivová transglutamináza (tTG) sa priamo zúčastňuje na patogenéze celiakie a teda že

je antigénom pre endomyziálne protilátky, umožnilo vývoj vyšetrenia ELISA metódou pre obe podtriedy - IgA aj IgG tkanivovej transglutaminázy pre skrining celiakie. Vyšetrenie tTG IgA dosiahlo senzitivitu minimálne 95% a špecifickosť 94% pri neliečenej celiakii. Pri IgA deficiencii sa vyšetrujú protilátky proti transglutamináze triedy IgG. tTG sa zúčastňuje na deaminácii peptidov gliadínu a ovplyvňuje tak väzbu týchto peptidov na HLA komplex u predisponovaných osôb. Stanovenie anti tTG má vysokú diagnostickú hodnotu porovnateľnú so stanovením protilátok proti endomýziu.

### *Vzťah urogenitálnych infekcií k neplodnosti*

Zápaly pohlavných orgánov patria medzi najčastejšie gynekologické ochorenia. Predstavujú približne 20% všetkých gynekologických ochorení. Ide o ochorenia infekčného charakteru vyvolané baktériami, kvasinkami, vírusmi a menej častejšie ich spôsobujú aj parazity. Pri polymikróbnej infekcii spôsobuje gynekologický zápal niekoľko pôvodcov naraz. Gynekologické zápaly majú v súčasnosti stúpajúcu tendenciu a neliečené môžu spôsobiť množstvo dlhodobých zdravotných obtiaží.

Zápal sa môže šíriť vzostupnou cestou pri poruche prirodzených ochranných mechanizmov organizmu, keď infekcia preniká z pošvy ku krčku maternice, cez dutinu maternice až k vaječným; alebo zostupnou cestou, krvnou či lymfatickou, zo zápalových ložísk zo susedných orgánov.

Jednoduchý, ale neliečený zápal v pošve sa môže rozšíriť aj na vnútorné pohlavné orgány a spôsobiť zápaly maternice, jej krčka alebo výstelky, zápaly vaječníkov a vajíčkovodov. Pri gynekologickom zápale vonkajších pohlavných orgánov spôsobených bakteriálnou alebo kvasinkovou infekciou prichádza k narušeniu rovnováhy mikrobiálnej flóry, ktoré sa prejavuje svrbením, začervenaním a pálením. K ochoreniam vonkajších orgánov patrí napríklad vírusový herpes, kondylómy HPV, zápal Bartholinskej žľazy, zápal folikulov.

K zápalom vnútorných pohlavných orgánov patria zápal pošvy, zápal vaječníkov a vajíčkovodov a zápal maternice.

Zápal pošvy je jedným z najčastejšie sa vyskytujúcich

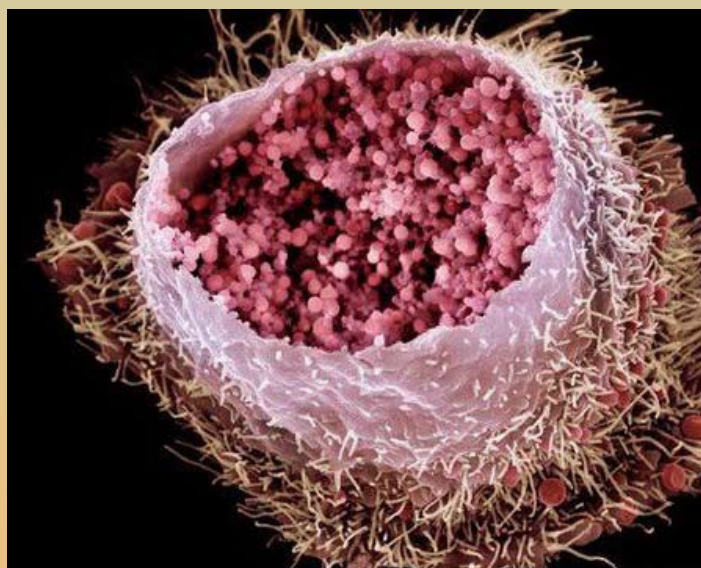
ochorení u sexuálne aktívnych žien. Premnoženie choroboplodných organizmov v pošvovom prostredí brzdí činnosť mliečnych baktérií *Lactobacillus vaginalis*, ktoré produkciou kyseliny mliečnej vytvárajú prostredie s priaznivým ochranným mechanizmom. Narušenie rovnováhy ekosystému vedie k vzniku zápalu.

Zápal krčka maternice vzniká presunom choroboplodných baktérií z pošvy do vyšších oblastí pohlavných orgánov. Najčastejšími pôvodcami infekcie sú chlamýdie, mykoplazmy a gonokoky. Jeho chronické formy sa môžu prejavovať bolestivou menštruáciou, bolesťami pri sexuálnom styku, prípadne neplodnosťou.

Záchyt jasných patogénov, ako sú sexuálne prenosné trichomonády, gonokoky alebo chlamýdie vyžaduje okamžitú liečbu nielen pacientky ale i všetkých sexuálnych partnerov.

Významné postavenie má diagnostika a liečba hlbokého pánvového zápalu (pelvic inflammatory disease – PID). Súčasťou vyšetrenia pri podozrení na hlboký pánvový zápal by mal byť vždy odber na diagnostiku prítomnosti kvapavky, ale hlavne chlamýdiovej infekcie.

### *Chlamydia trachomatis*



*Chlamydia trachomatis* predstavuje obligátneho intracelulárneho parazita z čeľade *Chlamydiaceae* schopného napádať slizničné povrchy a štruktúrou pripomínajúci gramnegatívne baktérie, na rozdiel od ktorých však



nemá v bunkovej stene kyselinu muramovú. Veľkosť jednej baktérie je v rozmedzí od 0,2 po 1 µm.

*Ch. trachomatis* je schopná infikovať mukózne povrchy urogenitálneho traktu, rekta, nazofaryngu, prípadne očných spojiviek (prenos na dieťa počas pôrodu). Tento patogén je jedným z najčastejších pôvodcov sexuálne prenosných chorôb (STD – Sexually transmitted diseases).

Infekcie spôsobujú celú paletu ochorení: negonokoková uretritída, cervicída, lymfogranuloma venerum, konjunktivitída, prostatitída a trachóm. Aj vo vyspelých krajinách predstavujú tieto infekcie až 50 % všetkých urogenitálnych nákaz.

### Klinické príznaky:

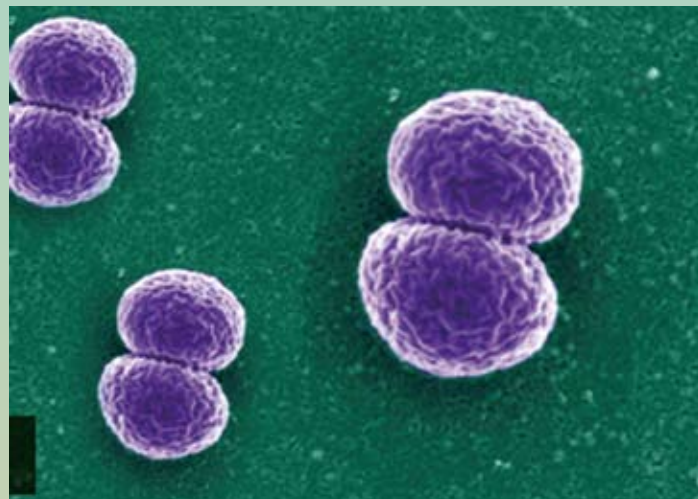
U mužov sa primárne chlamýdiové infekcie vyskytujú vo forme uretritídy (zápal močovej trubice), asi v 3% dochádza k veľmi bolestivej epididymitíde (zápal nadsemenníkov) a k prostatitíde (zápalové ochorenie prostaty). Dochádza taktiež k poškodeniu spermií (zníženie ich počtu a kvality), čo môže **viest' k mužskej neplodnosti**. Infekcia môže byť sprevádzaná bolestivým zápalom niektorého z veľkých kĺbov.

U žien je postihnutý najmä krčok maternice, kde môže spôsobiť ženskú sterilitu a býva spojovaná aj s karcinómom krčka maternice. Často je prítomná sekrécia hnisavého cervikálneho hlienu. Nebezpečné sú následky neliečenej chlamýdiovej infekcie, ako sú bolestivé zápalové ochorenia panvových orgánov so zjazvením vajcovodov, močovej rúry.

Ich následkom dochádza k **neplodnosti** a k **mimo-maternicovej gravidite, potratom** alebo k **predčasnemu pôrodu**. Pri prechode plodu pôrodným kanálom je u detí infikovaných matiek veľké riziko získania novorodeneckého zápalu spojiviek a chlamýdiového zápalu pľúc. Správna diagnostika je základom úspešnej liečby. Kultivačné vyšetrenie je náročné a zdĺhavé a v praxi sa takmer nevyužíva.

Sérologická diagnostika je málo informatívna a býva zaťažovaná možnosťou falošne pozitívnych výsledkov. V poslednej dobe je diagnostika chlamýdiových infekcií založená na detekcii DNA. Úspešne sa tu uplatňuje metóda PCR, ktorá je o 20 – 30 % citlivejšia ako všetky ostatné používané metódy a navyše je veľmi špecifická.

## *Neisseria gonorrhoeae*



*Neisseria gonorrhoeae* je gramnegatívny, aeróbný, nepohyblivý a nesporulujúci diplokok, ktorý je zaradený do čeľade *Neisseriaceae* a rodu *Neisseria*. Ochorenie je známe ako kvapavka. *Neisseria* parazituje výhradne na sliznici genitálneho traktu u ľudí.

Baktéria je veľmi citlivá na vonkajšie vplyvy a preto sa prenáša takmer výhradne pohlavným stykom (nie len vaginálnym, ale aj orálnym a análnym). Infekcia sa prejavuje u mužov i žien ako uretritída s hnisavým výtokom z močovej trubice, prípadne ako cervicitída u žien, ktorá môže viesť až k **neplodnosti**.

Klinické prejavy mimogenitálnej infekcie: infekcia hrdla a konečníka, infekcie oka a niektoré zriedkavé prejavy, ako napr. sepsa („otrava krvi“), meningitída (zápal mozgových blán), endokarditída (zápal vnútornej srdcovej blany).

### Klinické prejavy urogenitálnej infekcie:

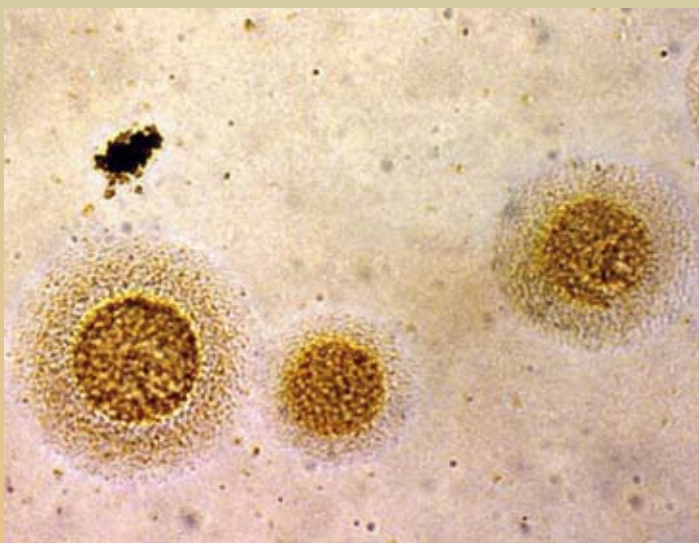
#### Muži

- bezpríznakový priebeh do 10% prípadov
- hnisavý výtok z močovej rúry, bielej až žltej farby
- rezanie alebo pálenie pri močení, časté močenie, problém udržať moč
- napätie alebo bolesť v semenníkoch

**Ženy**

- bezpríznakový priebeh i viac ako 50% žien, riziko prechodu do chronického štádia so zápalom sliznice močovej rúry alebo krčka maternice
- výtok z pošvy, hlienovitý až hnisavý, bolesť pri pohlavnom styku a v podbruší, v niektorých prípadoch krvácanie s rôznou intenzitou, často v strede cyklu
- postupujúca infekcia môže ďalej postihnúť Bartoliniho žľazu a ďalšie orgány malej panvy (PID pelvic inflammatory disease)

**Medzi možné následky u mužov patrí zúženie močovej rúry a neplodnosť. U žien neplodnosť v dôsledku pozápalovej obštrukcie vajcovodov a vyššie riziko mimomaternicového tehotenstva.**

***Mycoplasma sp.***

Mykoplazmy zaradujeme do triedy Mollicutes, rad Mycoplasmatales, čeľaď Mycoplasmataceae s dvoma rodmi: *Mycoplasma* a *Ureaplasma*. Veľkosť ich buniek je veľmi malá, pohybuje sa od 100 do 800 nm a sú najmenšie známe prokaryotické organizmy schopné samostatného rastu a rozmnožovania sa. Neprítomnosť

bunkovej steny podmieňuje ich plasticitu, citlivosť na vonkajšie vplyvy, ale tiež rezistenciu na betalaktámové antibiotiká a sulfonamidy. Jednoduchosť vnútornej štruktúry ich predurčuje na parazitický spôsob života s vysokými nutričnými nárokmi.

V urogenitálnom trakte nájdeme najčastejšie *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, zriedavo *Mycoplasma spermatophilum*, *Mycoplasma primum*, *Mycoplasma penetrans*. Urogenitálne kmene sa často nachádzajú pri negonokokových uretritídach, prostatitídach, alebo vaginitídach, no je možné ich nájsť aj pri niektorých ostatných ochoreniach (epidymitída, endometritída, akútna pyelonefritída). Spojované sú so **ženskou sterilitou a poškodením spermií**.

Mykoplazmy rastú na kultivačných médiách, majú ale veľké nutričné nároky. V diagnostike je najvhodnejšia metóda PCR, ktorou je možné jednoducho rozlíšiť jednotlivý sledovaný druh od ostatných.

***Ureaplasma urealyticum***

Je veľmi často izolovaný z urogenitálneho traktu mužov aj žien (aj u zdravých ľudí). Je často súčasťou normálnej mikrobiálnej flóry, i keď u chorých s nešpecifickou uretritídou tvoria až polovicu prípadov. Vyskytuje sa pri zápaloch močovej trubice (uretritídach), spôsobuje bolesti pri močení, bolesti močových ciest a neliečená infekcia môže viesť ku zápalu nadsemeníkov (epididymitis), akútnemu a neskôr aj chronickému zápalu prostaty (prostatitidis). U žien sú časté zápaly močovej trubice a cervixu sprevádzané bolesťami a nepríjemnými pocitmi pri močení, ktoré môže viesť až ku zápalom vajcovodov (salpingitis).

**Neliečená infekcia môže viesť ku neplodnosti mužov i žien.** Po infekcii a následnom tehotenstve dochádza ku kongenitálnym nákazám novorodencov. Okrem urogenitálnych infekcií sa často vyskytujú ako príčina chorioamnionitídy a následných **predčasných pôrodov**. U žien sa izoluje pri potratoch alebo mŕtvo narodených plodoch. Ureaplazmy boli izolované z CNS a dolného respiračného traktu novorodencov narodených infikovaným matkám. Podieľali sa na perinatálnej morbidite a



mortalite. Morfológicky je podobná s mykoplazmami.

Kultivácia ureaplaziem je možná, ale len a špeciálnych pôdach, preto sa na ich stanovenie stále častejšie používa metóda PCR.

## *Treponema pallidum*

Ide o primárny patogén pre človeka, pôvodcu syfilisu (lues). Má špirálovitý tvar tela s pravidelnými závitmi. Je infekčný len pre človeka, ktorý je jeho jediným hostiteľom v prírode. Prenáša sa takmer výhradne pohlavným stykom, zriedkavo kontaminovaným predmetom. U tehotných žien prechádza placentárnou bariérou na plod (adnatný syfilis).

Vrodený syfilis je dôsledkom neliečeného alebo nedostatočne liečeného syfilisu matky. Keďže sa infekcia z matky na dieťa počas tehotenstva prenáša krvou cez placentu, chýbajú príznaky primárneho štádia. Pôvodca syfilisu sa nachádza vo všetkých orgánoch plodu a tehotenstvo môže skončiť potratom.

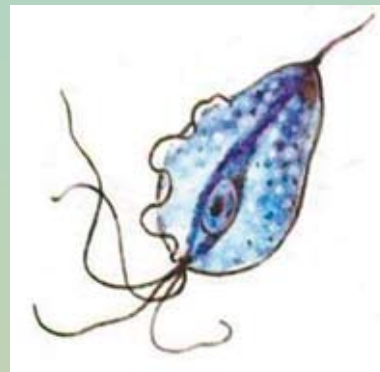


Prejavy včasného vrodeného syfilisu zodpovedajú sekundárnemu štádiu - kožné vyrážky, zväčšená pečeň. Potom nastáva fáza latencie (infekcia bez viditeľných prejavov). Po viac ako dvoch rokoch infekcie hovoríme o neskorom vrodenom syfilise, pri ktorom sa objavujú ťažké poškodenia orgánov (hluchota, perforácie podnebia, deformácie nosa, súdkovitý tvar rezákov).

Diagnostika je na úrovni sérologických vyšetrení, prípadne detekcia nukleovej kyseliny pomocou PCR.

## *Trichomonas vaginalis*

*Trichomonas vaginalis* je parazitický jednobunkový živočích. Patrí medzi bičíkovce (*Flagelata*). Prenáša sa pohlavným stykom, mimo tela hostiteľa má malú odolnosť a rýchlo hynie. Iný prenos (predmet znečistený močom alebo vaginálnym sekrétom) je mimoriadne vzácny. Ide o špecifický parazit urogenitálneho traktu u ľudí. Najčastejšie sa vyskytuje v pošve.



U žien je priebeh infekcie od asymptomatického (20 – 45%), až po ťažké zápaly pošvy (vaginitída), charakteristické žltozeleným, sladko zapáchajúcim výtokom sprevádzanými nepríjemnými pocitmi (pálenie, svrbenie). Postihnutá sliznica má zvýšenú tendenciu ku krvácanosti.

U mužov je priebeh infekcie vo väčšine (50 – 90 % nákaz) asymptomatický. Ak sa príznaky objavujú, zvyčajne ide o pálenie pri močení, uretritídu, svrbenie a biely riedky výtok z penisu. Ak sa infekcia včas nelieči, môže prestúpiť a rozšíriť sa cez močovú rúru až na sliznicu močového mechúra, do prostaty alebo nadsemenníky.

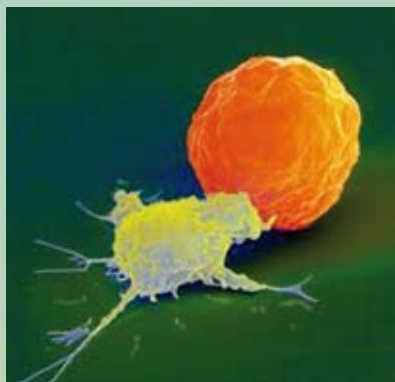
Infekcia trichomonádami nezanecháva dlhotrvajúcu imunitnú ochranu. Po prekonaní infekcie do 6 – 12 mesiacoch úplne vymiznú protilátky špecifické proti mikroorganizmom, ktoré vyvolali ochorenie, to znamená, že opakovaná infekcia vyvolá nové ochorenie.

Diagnostika predstavuje niekoľko možností: v natívnom preparáte, ktorý sa robí bez použitia farbiacich techník, sú pri akútnej trichomonóze masovo dokázateľné pohyblivé trichomonády, u ktorých však do 6 hodín dochádza k strate pohyblivosti a ich odumieraniu, alebo po zafarbení podľa Giemsa.

Pri chronických infekciách bývajú spoľahlivejšie kultivačné metódy kultivácia prebieha na špeciálnych trichomonádových pôdach (lepší záchyt), prípadne z tampónového steru diagnostika nukleovej kyseliny pomocou metódy PCR.



## NK bunky



NK (natural killer) bunky s fenotypom CD3 - CD16 + 56 + majú významnú úlohu v ochrane pred cudzorodými prvkami. Ich úlohou je ničenie štruktúr (buniek), ktoré sa snažia uniknúť cytotoxickým T lymfocytom tak, že potlá-

čajú expresiu MHC glykoproteinov na svojom povrchu.

NK bunky sa zúčastňujú obrany organizmu proti vírusom a iným mikróboch, významne sa uplatňujú v protinádorovom dohľade. Na slizniciach ženského genitálu, a to výlučne v endometriu netehotných a v decidue tehotných žien, sa nachádzajú celkom unikátne, tzv. uterinné natural killer (uNK).

V postovulačnej fáze menštruačného cyklu sa endometrium účinkom zvýšenej hladiny progesterónu mení na deciduálne tkanivo. Decidua je výrazne infiltrovaná funkčne jedinečnými lymfocytmi, ktoré majú tieto vlastnosti:

- **tlmia imunitné reakcie**
- **pôsobia cytotoxicky**
- **stimulujú rast niektorých buniek**

Asi 70% leukocytov tvoria tieto špecifické NK bunky (prirodzené zabijáče), ktoré exprimujú molekulu CD56. Infiltrácia NK bunkami je súčasťou cyklických zmien endometria. Regulujú ju pohlavné hormóny. Asi dva dni pred začiatkom menštruácie dochádza ku zníženiu hladiny progesterónu v krvi (involúcia žltého telieska). NK bunky v maternici odumierajú.

Ak dôjde k oplodneniu vajíčka, NK bunky vytvoria okolo trofoblastu infiltrát a až v druhej polovici tehotenstva začína ich počet klesať v súvislosti s ukončením stavby placenty. Ich funkcia nie je dostatočne preskúmaná. Produkujú cytokíny (VEGF – Vaskulárny endotelový rastový faktor) - regulujú invazívne vlastností

trofoblastu na optimálnu úroveň. Bunky trofoblastu embrya erodujú arteriálne štruktúry steny maternice za účelom zabezpečiť dostatočne zásobovanie plodu kyslíkom a živinami z krvného obehu matky.

Nevyvážená aktivita medzi matkou a plodom vedie k imunitnej odpovedi proti bunkám embrya a potratu, resp. závažnému poškodeniu materského tkaniva.

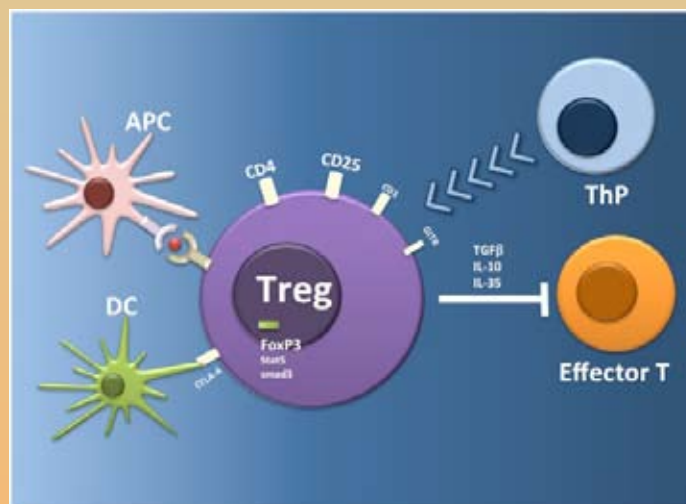
Funkčná aktivita NK buniek sa stanovuje kultiváciou buniek periférnej krvi s antigénmi spermii (stimulácia vlastnými spermiami, spermiami partnera, antigénmi trofoblastu). Dôsledkom je expresia aktivačných molekúl (CD69). Vyšetrenie funkčnej aktivity NK buniek je metódou voľby v prípade:

- **spontánnych potratov**
- **opakovaných IVF neúspechov**
- **pozitívite APLA**
- **endometrióze**

Zdá sa, že NK bunky majú významnú úlohu v procese nidácie embrya a v skorých fázach gravidity. Tieto bunky sa nachádzajú hlavne perivaskulárne a podieľajú sa na vývoji a remodelácii uterinných špirálovitých artérií.

## T lymfocyty a gravidita

Pomocné T lymfocyty ovplyvňujú zásadným spôsobom ľudskú reprodukciu. V priebehu gravidity musí organizmus matky akceptovať semialogénny plod. Tolerancia plodu imunitným systémom matky je zaisťovaná komplexom navzájom súvisiacich imunitných



mechanizmov nazývaných Th1/Th2/Th17/Treg paradigmatom.

Predominancia maternálnej Th2 imunitnej odpovede je dôležitým, ale nie jediným predpokladom pre úspech tehotenstva. Skôr sa uplatňuje rovnováha všetkých zúčastnených systémov. Regulačnú funkciu s cieľom zamedziť excesívnej zápalovej odpovedi plnia v tehotenstve T regulačné lymfocyty (Treg) s fenotypom CD4+CD25+Foxp3+. Ich úlohou je indukcia maternofetálnej tolerancie.

Už 2-3 dni po koite (ešte pred implantáciou blastocysty) sa Treg akumulujú v regionálnych lymfatických uzlinách. Na ich akumuláciu a proliferáciu má vplyv pravdepodobne estrogén.

Špecifická tolerancia voči paternálnym antigénom je indukovaná proteínami seminálnej plazmy. Paternálne antigén-špecifické Treg už okolo 8. – 12. dňa po koite putujú pod vplyvom hCG priamo do maternice a tu predstavujú hlavný mechanizmus zaisťujúci toleranciu semialogénneho plodu.

Neschopnosť otehotnieť (sterilita) sa môže vyskytnúť i u párov, ktoré do snáh o počatie vstupujú so zdravými (fyziologickými) gamétami a zdravým reprodukčným ústrojenstvom. U týchto idiopatických sterilít sa predpokladá vplyv dysregulácie imunitných funkcií, ktoré majú za následok neúspech implantácie blastocysty. K zlyhaniu implantácie alogénneho embrya môže tiež viesť pokles počtu a /alebo funkčných schopností Treg.

Pri opakovanom zlyhaní implantácie embrya, pri habituálnom potrácaní alebo predčasných pôrodoch nesmieme zabúdať aj na Th1/Th2/Th17/Treg paradigma, ktorého súčasťou sú Treg lymfocyty.

### **Vyšetrenie kvality ejakulátu (Spermflow)**

V súčasnej dobe sa uvádza, že až 20% párov trpí poruchami plodnosti. Asi u 1/3 je príčina na strane muža. Neinvazívne vyšetrenie ejakulátu patrí medzi základné metódy – vylúčenie alebo potvrdenie andrologickej príčiny neplodnosti.

Vyšetrenie ejakulátu sa riadi kritériami WHO z roku 1999 (WHO manual for Semen analysis, r.1999) a využíva svetelný mikroskop. Takto realizované vyšetrenie ejakulátu je subjektívne a závisí na osobnej skúsenosti. Prietoková cytometria vyšetrenie objektivizuje. Dochádza k meraniu veľkého počtu spermií na základe detekcie buniek pomocou špecifického značenia. Parametre ovplyvňujúce schopnosť oplodnenia sú tieto:

- **Počet spermií**
- **Životnosť spermií**
- **Integrita akrozómu**
- **Prítomnosť intra - akrozomálneho väzbového proteínu (IAP)**
- **Pohyblivosť spermií a morfológia spermií**

Princípom stanovenia počtu spermií je pridanie fluorescenčných guľôčiek so známou koncentráciou a výpočet podľa matematického vzorca. Normálny počet spermií v ejakuláte je  $> 20 \times 10^6$  spermií/ml.

Prítomnosť leukocytov v ejakuláte upozorní na ev. prebiehajúci zápal či infekciu pohlavného ústrojenstva. Leukocyty detegujeme pomocou protilátky anti-CD45/PE-DY647. Normálna hodnota podľa WHO je  $< 1 \times 10^6$  leukocytov/ml.

Vitalitu spermií stanovujeme pomocou propidium jodidu, ktorý preniká narušenou membránou mŕtvych buniek a viaže sa na DNA. Norma:  $> 75\%$ .

Akrozóm obsahuje enzýmy hyaluronidázu a akrozín. Rozložia vonkajšiu membránu vajíčka (zona pelúcida) a umožnia prieniku haploidného jadra spermie do vajíčka. Veľmi dôležitým parametrom je integrita akrozómu. Meranie integrity je založené na detekcii intra-akrozomálneho proteínu v akrozóme.

Ak nie je akrozóm spermie narušený, nie je možné potvrdiť jeho prítomnosť. U spermií s narušenou membránou je proteín dostupný pre protilátku proti IAP (Intra - akrozomálny proteín). Normálne hodnoty akrozómu (WHO):

Integrita akrozómu spermií:  $< 30\%$  poškodených  
Prítomnosť intra-akrozomálneho proteínu:  $> 85\%$  spermií.

Nepermeabilizované normálne spermie vykazujú nízke zastúpenie spermií s poškodeným akrozómom – menej ako 30%. Permeabilizované normálne spermie:

vykazujú pozitivitu po ofarbení protilátkou proti intra-akrozomálnemu proteínu (IAP/FITC).

Nepermeabilizované patologické spermie vykazujú vysoké zastúpenie spermií s poškodeným akrozómom – viac ako 30%. Sú pozitívne po ofarbení protilátkou anti IAP. Permeabilizované patologické spermie vykazujú pozitivitu po ofarbení protilátkou anti IAP, ale majú vyššiu variabilitu fluorescenčného signálu.

Prietoková cytometria vyšetrenie objektivizuje. Dochádza k meraniu veľkého počtu spermií a detekcii buniek na základe špecifického značenia.

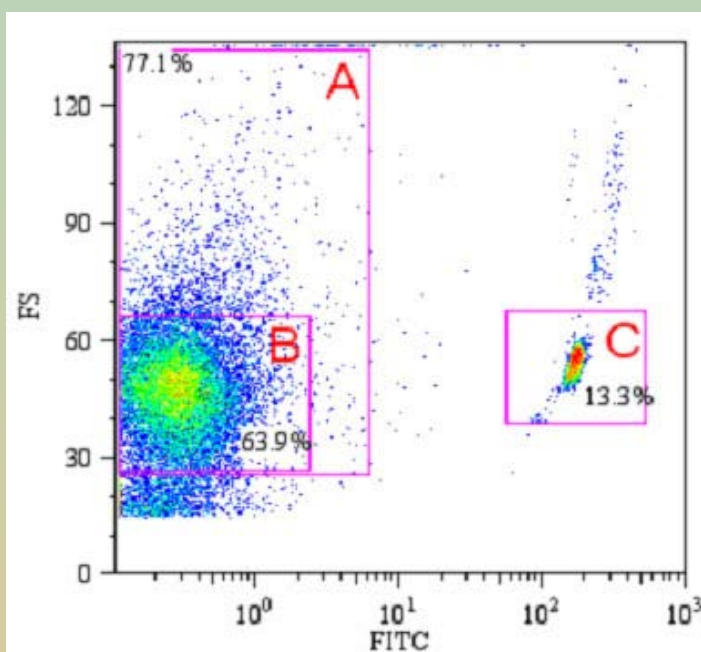


Fig. 1a Measurement of sperm count in semen

### **MIF test** **(Inhibícia migrácie leukocytov** **pod agarózou)**

Imunologické príčiny sú významnými činiteli v etiológii opakovaných abortov. Uvádza sa že, 40 % až 60 % abortov má za následok práve imunita. Významnú úlohu tu zohrávajú rôzne druhy protilátok, ako autoprotilátky tak aj aloprotilátky, cytokíny a v neposlednom rade sa na opakovaných abortochoch môže podieľať aj bunkami sprostredkovaná imunita.

### **Princíp**

Základným mechanizmom tejto reakcie je produkcia biologicky aktívnych látok v priebehu interakcie vysoko senzitivných lymfocytov so špecifickým antigénom (spermie, trofoblast). Jedna skupina týchto látok sa nazýva migračné inhibičné faktory a má schopnosť potlačiť migračnú aktivitu testovaných buniek.

Podľa druhu efektorových buniek ide o inhibíciu migrácie makrofágov alebo polymorfonukleárných leukocytov.

Metóda inhibície migrácie leukocytov pod agarózou vychádza zo skutočnosti, že leukocyty umiestené do kruhových jamiek vykrojených v agarózovom géle migrujú centrifugálne v kapilárnej vrstve medzi agarózou a podložkou. Migrujúcimi bunkami v tomto systéme sú polymorfonukleárne leukocyty.

Táto *in vitro* diagnostická metóda je využívaná k hodnoteniu stavu bunkami sprostredkovanej imunitnej reakcie. Metóda sa používa u párov s poruchami plodnosti a slúži k vyhodnoteniu bunkami sprostredkovanej imunity proti antigénom spermií a trofoblastu.

Hodnotenie imunologickej reaktivity sa uskutočňuje posúdením veľkosti migračnej zóny voči kontrole.

### **Materiál**

K vyšetreniu sa používa nezrazená venózna krv (cca 8 ml), ktorá sa odoberá do skúmaviek s heparínom a spermie odobrané po trojdňovej sexuálnej abstinencii. Kratší odstup od predošlej ejakulácie môže znížiť objem ejakulátu a koncentráciu spermií, ďalšia abstinencia naopak môže znížiť motilitu spermií.

Na odber vzoriek sa používajú najlepšie sterilné jednorazové odberové nádoby. Pri odbere mimo ambulancie je dôležité dopraviť vzorku do 60 minút pri pokojovej teplote do laboratória.

Cieľom je udržať optimálnu motilitu spermií. Pre vyšetrenie bunkovej imunity je potreba živých buniek, preto je nutný správny odber a rýchly transport do laboratória.



### **Interpretácia výsledkov**

V teste sa stanovuje pomer plochy migračnej zóny leukocytov kultivovaných v prítomnosti antigénov



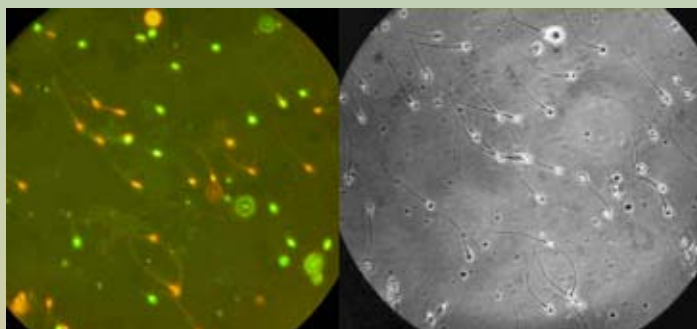
spermií a migračné zóny leukocytov kultivovaných bez týchto antigénov.

### Hodnotenie

Spermie, fyziologické hodnoty 65% - 120%

Trofoblast, fyziologické hodnoty 75 % - 120 %

## *Protilátky proti ováriám, zona pellucida a spermiám*



Imunitný systém, zložený z množstva buniek, nás chráni pred vonkajšími škodlivými vplyvmi. Musí byť správne nastavený, aby rozpoznal tkanivá vlastného tela a toleroval ich. Pri porušení funkcie imunitného systému, kedy nedokáže správne rozlíšiť medzi vlastným a cudzím antigénom má za následok vznik autoimunitných ochorení. Výsledkom takejto nadmernej alebo precitlivej aktivity je napádanie vlastných buniek a tkanív s ich následným poškodením.

Reprodukčná imunológia sa zaoberá súborom imunitných reakcií organizmu namierených proti reprodukčným tkanivám, bunkám a štruktúram, ale aj ostatným systémom organizmu, ktoré sa nepriamo podieľajú na procesoch súvisiacich s oplodnením.

Z pohľadu imunologických príčin infertilit u žien sú dôležitými diagnostickými parametrami:

- stanovenie protilátok proti ováriám,
- stanovenie protilátok proti zona pellucida,
- stanovenie protilátok proti spermiám.

### Protilátky proti ováriám

Ovária (vaječníky) sú párové orgány mandľového tvaru, uložené v malej panve po stranách maternice.

Tvar, veľkosť a povrch sa mení v závislosti od veku a reprodukčného cyklu. Funkcia vaječníkov spočíva v produkcii vajíčok (ženských pohlavných buniek) a ženských pohlavných hormónov (estrogénov).

Jedným z faktorov, ktorý môže mať za následok imunologickú infertilitu, je tvorba protilátok proti ováriám. Antiovariálne protilátky sú namierené proti bunkám produkujúcim steroidy a germinálnym komponentom (ooplazma a zona pellucida). Zatiaľ nie je jasné, či prítomnosť týchto protilátok je patogenetická alebo je dôsledkom poškodenia buniek ovárií.

Stanovenie protilátok je indikované pri predčasnom ovariálnom zlyhaní, pri polycystických ováriách, pri zlej odpovedi na stimuláciu gonotropínmi alebo idiopatickej sterilite.

### Protilátky proti zona pellucida

Zona pellucida je glykoproteínový obal vajíčka produkovaný vajíčkom v priebehu oogenézy. Funkcia spočíva v selekcii spermií (iba nepoškodené spermie sú schopné prechádzať cez ZP) a zároveň má zabrániť tzv. polyspermii. Je kľúčovým miestom vzájomného stretnutia spermie a vajíčka pri fertilizácii. Taktiež zotrváva okolo zárodka až do štádia blastocysty.

Protilátky proti zona pellucida bránia vstupu spermií do vajíčka pri prirodzenej alebo umelej fertilizácii a môžu negatívne ovplyvňovať včasný vývoj zárodka. Príčinou ich tvorby môžu byť prekonané zápaly vaječníkov, ich okolia a dokonca aj chronický alebo komplikovaný zápal slepého čreva. Vyšetrenie uvedených protilátok je indikované pri opakovaných potratoch, neúspešnej in vitro fertilizácii, endometrióze I. a II. stupňa alebo idiopatickej sterilite.

### Protilátky proti spermiám

Protilátky proti spermiám môžu byť prítomné v cervikálnom hliene, dutine maternice, folikulárnej tekutine, tekutine vajcovodu, peritoneálnej tekutine a v sére. Podobne ako u mužov zasahujú do rôznych štádií fertilizačného procesu, čo vedie k vážnym poruchám plodnosti. Napr. zabráňujú prieniku spermií cervikálnym hlienom, potláčajú interakciu medzi spermiou a oocytom a uvažuje sa aj o negatívnom vplyve na implantáciu a včasný vývoj embrya.

Spermie sú pre ženu antigénne a geneticky cudzo-

rodé látky. K ochrane cudzorodých spermií sa pred útokom imunity v tele ženy vyvinuli špeciálne mechanizmy. V čase ovulácie je cervikálny hlien uzatvárajúci hrdlo maternice číry a priepustný pre spermie.

Naproti tomu, mimo ovulácie je hustý so zvýšeným množstvom bielych krviniek, brániacich prieniku infekcie z pošvy do maternice. Pri opakovaných zápaloch pošvy alebo krčku maternice je imunitný systém ženy „podráždený“, čo môže viesť k tvorbe protilátok proti spermiám a na základe pamäťovej stopy tvorí ženský imunitný systém tieto protilátky aj pri opakovanom stretnutí so spermiami.

Ak ostatné vyšetrenia (stav a priechodnosť vajčkovodov, anatómia maternice, hormonálny profil, spermogram a i.) neprinesú neplodnému páru riešenie, je vhodné indikovať imunologické vyšetrenie.

Laboratórna diagnostika protilátok pôsobiacich proti spermiám, ováriám a zona pellucida je nepopierateľne dôležitým krokom pri odhaľovaní imunologických príčin infertility.

## Anti-Müllerov hormón

Anti-Müllerov hormón (AMH), taktiež známy pod názvom Müllerian Inhibiting Substance, patrí do rodiny transformujúceho rastového faktoru beta (TGF $\beta$ ). Jedná sa o glykoproteínový dimér tvorený dvoma identickými podjednotkami o molekulovej hmotnosti 70 kDa, spojenými disulfidickými väzbami.

AMH zohráva zásadnú úlohu pri diferenciácii plodov mužského pohlavia. Jeho tvorba prebieha prenatálne i postnatálne v Sertoliho bunkách testes. V prenatálnom období produkcia tohto hormónu indukuje regresiu premeny ductus Mülleri na uterus. V postnatálnom období pretrváva vysoká hodnota AMH až do dosiahnutia puberty, s dozrievaním Sertoliho buniek jeho produkcia klesá a v dospelosti je hladina AMH nízka.

Pohlavná diferenciácia je u plodov ženského pohlavia nezávislá na hormónoch – bez prítomnosti AMH

sa z ductus Mülleri vyvíjajú tuba uterina, uterus a horná časť vagíny. U žien začína produkcia perinatálne s miernym zvýšením pri nástupe puberty a koncentrácia klesá k nedetekovateľným hodnotám v menopauze. Produkcia AMH prebieha v ováriách, presnejšie granulózovými bunkami vyvíjajúcich sa folikulov.

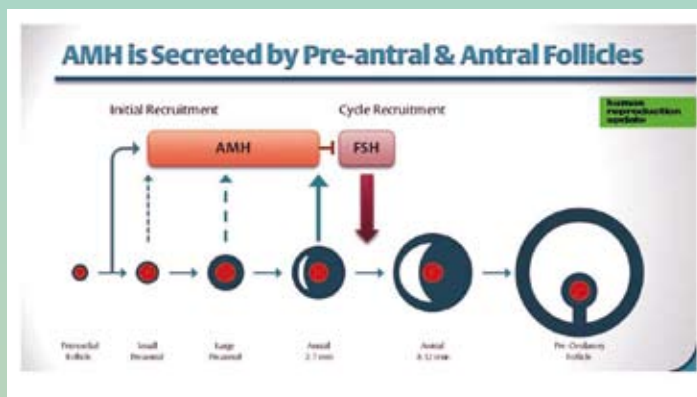
Najvyššiu expresiu hormónu vykazujú preantrálne a malé antrálne folikuly do veľkosti 4 mm. So zvyšujúcou sa folikulárnou veľkosťou hladina AMH klesá, pri folikule s veľkosťou 8 mm sú nedetekovateľné. Vysoká koncentrácia AMH inhibuje stimuláciu rastu týchto folikulov folikulostimulačným hormónom (FSH) a ďalej inhibuje na FSH nezávislý výber primordiálneho folikulu.

Pokiaľ by AMH v priebehu folikulogenézy chýbal, dochádzalo by k neustálej premene folikulov na zrelé a množstvo folikulov by sa predčasne vyčerpalo. Koncentrácia AMH v sére sa počas menštruačného cyklu nemení.

### Klinické využitie AMH

Využitie hormónu v klinickej praxi je široké. Najväčšiu pozornosť si v posledných rokoch získal hlavne v oblasti asistovanej reprodukcie. Tu sa uplatňuje predovšetkým ako **ukazovateľ ovariálnej rezervy**. Z hladín koncentrácie AMH je možné odhadnúť, aká bude odozva vaječníkov a aká je šanca na úspešné otehotnenie. Okrem spomínaného uplatnenia má jeho stanovenie využitie aj v nasledujúcich oblastiach:

- **Diagnostika predčasnej a oneskorenej puberty u chlapcov**
- **Diagnostika niektorých prípadov porúch biosyntézy testosterónu**
- **Diagnostika a liečba nádorov z granulózových buniek folikulov**
- **Sledovanie nástupu a priebehu menopauzy**
- **Diagnostika skrytého predčasného ovariálneho zlyhania**
- **Individualizácia liečby**
- **Diagnostika a sledovanie pacientok so syndrómom polycystických ovárií (PCOS), kde sú koncentrácie AMH 2-3x vyššie, než u kontrolnej skupiny.**



## Deficit vitamínu D a neplodnosť



Vitamín D je v tukoch rozpustný prekurzor steroidných hormónov a je produkovaný hlavne v pokožke pôsobením slnečného žiarenia.

Pre prax majú význam jeho dve najdôležitejšie formy, a to vitamín D<sub>3</sub> (cholekalci-ferol) a vitamín D<sub>2</sub> (ergokalci-ferol).

Na rozdiel od vitamínu D<sub>3</sub> si ľudské telo nedokáže vyrobiť vitamín D<sub>2</sub>, ktorý je prijímaný buď potravou alebo potravinovými doplnkami.

V posledných rokoch je venovaná značná pozornosť vitamínu D nielen v odbornej ale aj v laickej verejnosti. Existuje niekoľko štúdií, ktoré zisťujú optimálne hodnoty tohto vitamínu v krvi, denný odporúčaný príjem ako aj jeho účinky. Vitamín D je nevyhnutný pre správne fungovanie kalcium-fosfátového metabolizmu, pre zdravé kosti a svaly a má v ľudskom organizme ešte mnoho ďalších funkcií.

Vitamín D má svoje nezastupiteľné miesto aj

pri správnom fungovaní testes, ovárií, placenty a úspešnom priebehu tehotenstva. Vo vaječníkoch podporuje syntézu pohlavných hormónov, ako aj folikulogézu a podieľa sa na dozrievaní a uvoľňovaní vajíčok pripravených k oplodneniu.

U žien s nedostatkom vitamínu D sa častejšie vyskytuje endometrióza. U mužov podporuje tento vitamín syntézu androgénov, spermatogézu a maturáciu spermií. Vyplýva z toho teda aj jeho nezastupiteľná úloha v procese oplodnenia. Preukázaný bol jeho priaznivý vplyv na implantáciu oplodneného vajíčka do maternice.

Jeho ďalším producentom v tele je pri vnútro-maternicovom vývoji plodu aj placenta. Klinické štúdie preukázali súvislosť medzi nízkou hladinou vitamínu D a poruchami fertility. Ide pravdepodobne o dôsledok zápalových a imunologických procesov, ktoré sú patologicky stupňované pri nedostatku vitamínu D.

U žien, ktoré podstupujú in vitro fertilizáciu (IVF) sú zisťované nízke koncentrácie vitamínu D. Jeho suplementácia je súčasťou liečby neplodnosti. Nízke hladiny zrejme súvisia s nižšou úspešnosťou IVF a so zníženou kvalitou embryí. Infertilita je jedným z príznakov u žien so syndrómom polycystických ovárií. Okrem toho je pre tento syndróm typická aj inzulinová rezistencia, obezita a vyššia produkcia androgénov.

Na týchto nepriaznivých znakoch sa čiastočne podieľajú aj nízke hladiny vitamínu D v tele. Po rozsiahlych odborných diskusiách o optimálnej hladine vitamínu D bol zvolený kompromis o odporúčanom rozmedzí pre väčšinu populácie 50 – 125 nmol/l.

V mnohých krajinách bol na základe štúdií zistený vo veľkej časti populácie deficit alebo insuficiencia vitamínu D. Hovorí sa aj epidémii deficitu vitamínu D. Epidemiologické štúdie poukázali na súvislosť nízkych hladín tohto vitamínu s mnohými chorobami a je pravdepodobné, že prevencia a liečba deficitu vitamínu D je dôležitejšia ako



obava z hypervitaminózy. V niektorých štátoch je odporúčaná substitúcia vitamínom D nielen u chorých pacientov ale suplementuje sa aj zdravá populácia.

### Odporúčané dávky vitamínu D

(Česká endokrinologická spoločnosť, 2011):

|                    | Celková populácia (IU/deň) |             |
|--------------------|----------------------------|-------------|
| Vek                | DDD                        | Horný limit |
| 0 - 6 mesiacov     | 600                        | 1000        |
| 7 - 12 mesiacov    | 600                        | 1500        |
| 1 - 3 roky         | 600                        | 2500        |
| 4 - 8 rokov        | 800                        | 3000        |
| 9 - 18 rokov       | 800                        | 4000        |
| 19 - 70 rokov      | 800                        | 3000        |
| > 70 rokov         | 800                        | 4000        |
| Tehotné a dojčiace |                            |             |
| 14 - 18 rokov      | 600 - 800                  | 4000        |
| 19 - 50 rokov      | 800 - 1000                 | 4000        |

|                    | Riziková populácia (IU/deň) |             |
|--------------------|-----------------------------|-------------|
| Vek                | DDD                         | Horný limit |
| 0 - 6 mesiacov     | 600 - 1000                  | 2000        |
| 7 - 12 mesiacov    | 600 - 1000                  | 2000        |
| 1 - 3 roky         | 600 - 1000                  | 4000        |
| 4 - 8 rokov        | 600 - 1000                  | 4000        |
| 9 - 18 rokov       | 600 - 1000                  | 4000        |
| 19 - 70 rokov      | 600 - 1000                  | 4000        |
| > 70 rokov         | 600 - 1000                  | 4000        |
| Tehotné a dojčiace |                             |             |
| 14 - 18 rokov      | 600 - 1000                  | 4000        |
| 19 - 50 rokov      | 1500 - 2000                 | 10 000      |

## Faktor V Leiden

Počas tehotnosti dochádza ku fyziologickému hyperkoagulačnému stavu, v priebehu ktorého nastáva prevaha prokoagulačných faktorov nad fibrinolytickými, čo má minimalizovať krvné straty počas gravidity a pôrodu.

Na druhej strane tento stav významne zvyšuje riziko VTE (venózneho tromboembolizmu) v tehotnosti a ešte výraznejšie v šestonedelí. VTE v gravidite predstavuje závažné ohrozenie života tehotnej ženy. Vo viacerých štúdiách bolo potvrdené výrazne zvýšené riziko VTE u tehotných žien s vrodeným alebo získaným trombofilným stavom.

Okrem prejavov žilovej trombózy sa u žien s trombofiliou často vyskytuje aj tzv. syndróm straty plodu. Správnym postupom v rámci sekundárnej prevencie trombózy je u nich možné predísť opakovanému rozvoju VTE, zabezpečiť optimálny priebeh tehotnosti a donosenie zdravého novorodenca.

Vrodená (dedičná) trombofília je vrodený sklon k zvýšenej zrážanlivosti krvi. Táto choroba je charakteristická tvorbou krvných zrazenín - tzv. trombov na stenách ciev, ktoré sú veľmi nebezpečné tým, že sa môžu uvoľniť z miesta svojho vzniku a pútať cievami až na nové miesto, ktoré buď cievu úplne uzavrie alebo tu aspoň skomplikujú prietok krvi. Následok je čiastočná alebo úplná porucha prekrvenia životne dôležitých orgánov (napr. pľúc) a ich následné poškodenie a eventúalna smrť chorého.

Zámena báze guanin (G) za adenin (A) v DNA na pozícii 1691 v génu pre Faktor V má za následok predĺženie aktivity Faktoru V a jeho zvýšenú pohotovosť pre zrážanie krvi (trombofília) pri hyperkoagulačných stavoch (napr. znížená

pohyblivosť, hormonálna liečba, gravidita, operácie, úrazy, dlhé cestovanie).

Človek, ktorý je nositeľom trombofilnej mutácie, je ohrozený vyšším rizikom rozvoja hlbokožilovej trombózy. Výška tohoto rizika je daná počtom a typom nesených mutácií. Riziko vzniku hlbokožilovej trombózy je pri jednej mutovanej alele vyššie 5-7x v porovnaní s priemerným rizikom, ktoré má človek bez mutácií. U človeka, ktorý nesie dve mutácie pre faktor V Leiden, je toto riziko vyššie už 80x.

Nie je však pravidlom, že u každého nositeľa týchto mutácií dôjde k tvorbe trombóz. Tie sú často následkom až spolupôsobení ďalších rizikových faktorov.

V tejto súvislosti ešte spomeniem nasledovné rizikové faktory:

**Faktor XIII A V34L**

**MTHFR A1298C a C677T**

**(Metyléntetrahydrofolát reduktáza)**

**PAI-1 (Plasminogen activator inhibitor – 1)**

## ***SNP genotypizačná analýza a mužská neplodnosť***

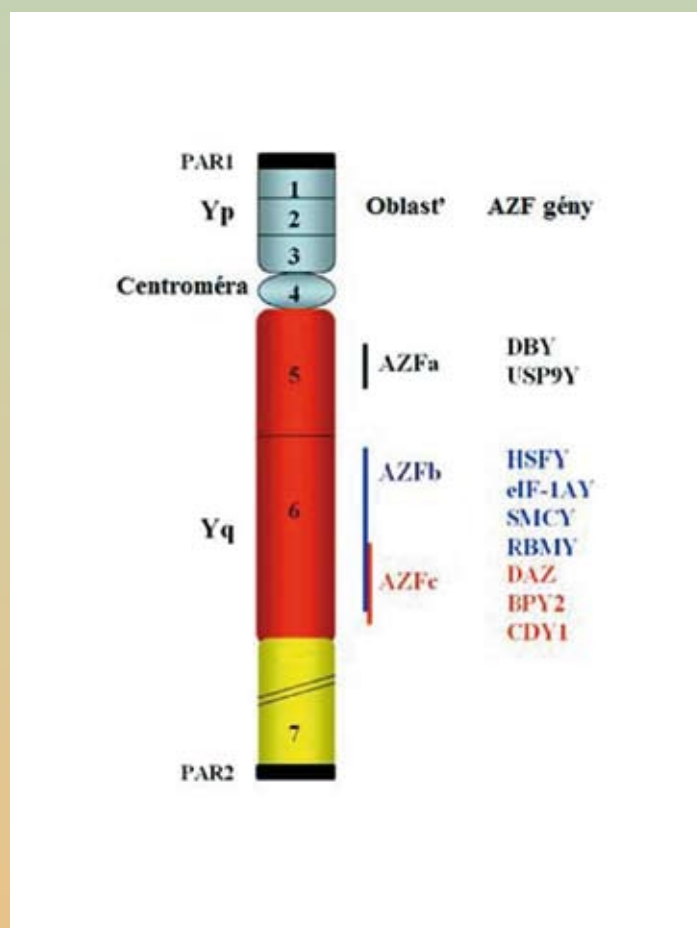
Neplodnosť je rastúci problém na celom svete. Je to dynamicky sa rozvíjajúce civilizačné ochorenie 21. storočia s osobnými, ekonomickými ale aj sociálnymi následkami.

V roku 1977 WHO neplodnosť označila za chorobu, ktorá má byť liečená. Je to diagnóza páru, aj keď je diagnostikovaná len u jedného z partnerov. V posledných rokoch progresívne narastá mužská neplodnosť. S rozvojom genetiky a molekulárnej biológie sa rozvíjajú aj molekulárno-genetické metódy, ktoré nachádzajú uplatnenie pri odhaľovaní príčin mužskej neplodnosti.

Azoospermický faktor (AZF) je oblasť s mikroskopicky detegovateľnými deléciami Y chromozómu. Ľudský gén DDX3Y (DBY) sa nachádza v delečnom intervale AZFa oblasti Y chromozómu (Yq11) a zohráva kľúčovú úlohu v procese spermatogenézy.

Polymorfizmus M201 génu DDX3Y je asociovaný s poruchami mužskej plodnosti, s poruchami spermatogenézy a so Sertolli-cell only syndrómom.

V dôsledku nákladov na liečbu neplodných mužov je molekulárno-genetické vyšetrenie považované za výhodnú a prínosnú prevenciu pri odhaľovaní príčin mužskej neplodnosti.



Obr. Schematické znázornenie Y chromozómu a oblasti AZF a kandidátnych génov AZF oblasti.

## Zoznam metód reprodukčnej imunológie podľa odbornosti:

| Gynekológ                               | Imunológ                                                                          |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Factor V Leiden                         | Imunoglobulíny IgG, IgA, IgM, IgE                                                 |
| MTHFR (PCR)                             | Komplement C3, C4                                                                 |
| Anti-TG                                 | CH50                                                                              |
| Anti-TPO                                | CIK PEG                                                                           |
| CRP                                     | CRP                                                                               |
| RF                                      | RF                                                                                |
| Anti - Kardiopín skrining               | Základná imunofenotypizácia lymfocytov (CD3, CD19, CD4, CD8, NK)                  |
| Anti - Kardiopín IgG, IgM               | ANA skrining                                                                      |
| ACLA skrining                           | ENA skrining                                                                      |
| ACLA IgG, IgM                           | Anti - Kardiopín skrining                                                         |
| Anti- $\beta$ 2 Glycoprotein IgG, IgM   | Anti - Kardiopín IgG, IgM                                                         |
| Anti -Protrombín IgG, IgM               | ACLA scrining                                                                     |
| Anti-Fosfatidylserín IgG, IgM           | ACLA IgG, IgM                                                                     |
| Anti-Fosfatidylinositol IgG, IgM        | Anti- $\beta$ 2 Glycoprotein IgG, IgM                                             |
| Anti- Annexin V IgG, IgM                | Anti -Protrombín IgG, IgM                                                         |
| GPI IgG, IgM                            | Anti-Fosfatidylserín IgG, IgM                                                     |
| Anti-Transglutamináza IgG, IgA          | Anti-Fosfatidylinositol IgG, IgM                                                  |
| EMA IgA                                 | Anti- Annexin V IgG, IgM                                                          |
| Anti-spermie (ASA)                      | GPI IgG, IgM                                                                      |
| Anti-ovarium (AOA)                      | Anti-Transglutamináza IgG, IgA                                                    |
| Anti- zona pellucida                    | EMA IgA                                                                           |
| Müllerov hormón, protilátky (AMH)       | Anti-TG                                                                           |
| Vitámín D                               | Anti-TPO                                                                          |
| Chlamydia trachomatis (PCR)             | Anti-spermie (ASA)                                                                |
| Chlamydia trachomatis IgG, IgA          | Anti-ovarium (AOA)                                                                |
| Toxoplasma gondii IgG, IgM              | Anti- zona pellucida                                                              |
| EBV (VCA IgG, IgM, EBNA IgG)            | Anti-spermie - MAR test                                                           |
| CMV IgG, IgM                            | <b>Výšetrenie ejakulátu (Spermflow):</b> počet spermií, počet leukocytov,         |
| Základná imunofenotypizácia lymfocytov: | integrita akrozómov, intra-akrozomálne proteíny                                   |
| CD3, CD19, CD4, CD8, NK                 | MIF test (test inhibície migrácie leukocytov s antigénmi spermií, s trofoblastom) |
|                                         | Vitámín D                                                                         |
|                                         | Chlamydia trachomatis IgG, IgA                                                    |
|                                         | Toxoplasma gondii IgG, IgM                                                        |
|                                         | EBV (VCA IgG, IgM, EBNA IgG)                                                      |
|                                         | CMV IgG, IgM                                                                      |

Informačný bulletin 2/2014

Editor

Do čísla prispeli

Vydal

Grafické spracovanie a tlač

Náklad

November 2014

Nepredajné

RNDr. Anikó Kužmová

MUDr. Emília Gerlašinská, RNDr. Alena Bučková,

RNDr. Ľubomír Müller, MVDr. Zuzana Sýkorová,

Mgr. Lenka Košťáliková, Mgr. Tomáš Jurčo, Mgr. Ivana Borodáčová,

Mgr. Mária Zemanová, Ing. Lýdia Fejerčáková

Analyticko-diagnostické laboratórium a ambulancie, s. r. o.,

Vajanského 1, 080 01 Prešov

Grafotlač Prešov s. r. o.

500 výtlačkov