

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory  
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



**Kateřina Bajerová**

Imunologické příčiny ženské neplodnosti  
Immunological causes of female infertility

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Mgr. Iva Brynychová

Praha 2019

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 9.5.2019

.....

Kateřina Bajerová

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala své školitelce Mgr. Ivě Brynychové za čas, ochotu i cenné rady při zpracování mé bakalářské práce.

## **Abstrakt**

S neplodností se v současné době potýká až 15 % párů v reprodukčním věku. Až ve 40 % těchto případů je neplodnost na straně ženy. Ta je způsobena širokou škálou příčin a dalších faktorů. Mezi důležité příčiny neplodnosti patří nepochybně i příčiny imunologické. Obranné mechanismy ženského imunitního systému mohou v patologických případech cílit nejen na aloantigeny spermií, ale může docházet i k autoimunitním reakcím a tvorbě protilátek, které cílí na struktury ovariálního folikulu a oocyty, fosfolipidy, jaderné struktury, enzymy apod. Takto vytvořené protilátky pak mohou bránit možné fertilizaci, vývoji oocyty či embrya a jeho implantaci, ale mohou způsobovat také opakované potrácení.

Cílem práce je shrnout různé příčiny způsobující ženskou neplodnost se zaměřením na imunologické patologie, které se na ní podílejí. Práce také popisuje fungování imunitních mechanismů ženského pohlavního ústrojí a stručně přibližuje vývoj oocyty a hormonální cyklus.

### **Klíčová slova:**

Neplodnost, reprodukce, oplození, imunitní systém, protilátky, autoimunita

## **Abstract**

Currently, up to 15 % of reproductive age couples struggle with infertility. Female infertility is the cause of conception issues in nearly 40 % of these cases. The origin of female infertility consists of wide range of causes and other factors. Immunological causes are certainly one of the most significant ones. In pathological conditions, defense mechanisms of female immune system can target alloantigens presented on sperm surface. Moreover, autoimmune response and antibody production can occur as well. Antibodies can target various parts of ovarian follicles and oocytes, phospholipids, nuclear antigens, enzymes etc. These antibodies can inhibit fertilization, maturation of oocytes and embryo, embryo implantation, and also recurrent miscarriages.

The aim of this thesis is to summarize various causes of female infertility focusing on immunological pathologies. The thesis also describes functioning of immune mechanisms in the female reproductive tract and briefly touches on oogenesis and female hormonal cycle.

### **Key words:**

Infertility, reproduction, fertilization, immune system, antibodies, autoimmunity

## Seznam použitých zkratk

AMP	Anti-mikrobiální peptidy
ANA	Antinukleární protilátky
anti-TG	Protilátky proti tyreoglobulinu
anti-TPO	Protilátky proti tyreoidální peroxidáze
anti-TSHR	Protilátky proti receptoru tyreotropinu
AOA	Protilátky proti ovariím
APA	Protilátky proti fosfolipidům
APS	Antifosfolipidový syndrom
ASA	Protilátky proti spermii
AZA	Protilátky proti zona pellucida
BMP15	Kostní morfogenetický protein 15
CD14 <sup>+</sup>	Diferenční antigen (např. 14 <sup>+</sup> )
CM	Cervikální mukos
COC	Kumulo-oocytární komplex
DC	Dendritické buňky
dsDNA	Dvouvláknová DNA
ELISA	Enzymová imunosorbentní analýza
ET	Embryo transfer
FA-1	Fertilizační antigen 1
FSH	Folikuly stimulující hormon
GDF9	Růstový diferenční faktor 9
GnRH	Gonadotropin uvolňující hormon
hMG	Lidský menopauzální gonadotropin
IBT	Immunobead test
ICSI	Intracytoplazmatická injekce spermii
IF	Imunofluorescenční metoda
IFN- $\gamma$	Interferon gamma
IgG	Imunoglobulin (např. třídy G)
IL-2	Interleukin (např. 2)
IS	Imunitní systém
IUI	Intrauterinní inseminace
IVF	<i>In vitro</i> fertilizace

LH	Luteinizační hormon
LUF	Syndrom neprasklého folikulu
MAR	Test smíšené antiglobulinové reakce
MHC	Hlavní histokompatibilní komplex
NK	Natural killer buňky
nRNP	Ribonukleoprotein
PAMP	S patogeny asociované molekulární vzory
PCOS	Syndrom polycystických ovarií
PHAR	Pasivní hemaglutinační reakce
POI	Primární ovariální insuficience
sIgA	Sekreční imunoglobulin A
SLE	Systémový lupus erythematodes
TAT	Tray aglutinační test
Tc	Cytotoxický T-lymfocyt
TCR	T – celulární receptor
TGF	Transformující růstový faktor $\beta$ 1
Th	Pomocný T-lymfocyt (Th1, Th2)
TLR	Toll-like receptory
tTG	Protilátky proti tkáňové transglutamináze
WHO	Světová zdravotnická organizace
YLP12	Peptid YLP12
ZP	Zona pellucida
ZP3	Glykoprotein zony pellucida (např. 3)
ŽPÚ	Ženské pohlavní ústrojí

## Obsah

Abstrakt.....	V
Seznam použitých zkratk ..... VI	VI
1 Úvod.....	1
2 Ženské pohlavní ústrojí.....	2
2.1 Ženské pohlavní orgány.....	2
2.2 Vývoj oocytů a ovariálních folikulů.....	3
2.3 Hormonální cyklus .....	4
2.4 Imunitní mechanismy ženského pohlavního ústrojí.....	5
2.4.1 Vrozená imunita .....	5
2.4.2 Adaptivní imunita.....	6
2.4.3 Distribuce buněk imunitního systému.....	6
3 Příčiny neplodnosti u žen.....	9
3.1 Anatomické příčiny .....	9
3.2 Genetické příčiny.....	9
3.3 Hormonální příčiny.....	10
3.4 Další příčiny .....	10
4 Imunologické příčiny neplodnosti .....	12
4.1 Protilátky proti spermiím (ASA).....	12
4.1.1 Etiologie tvorby ASA.....	12
4.1.2 Výskyt a prevalence ASA .....	13
4.1.3 Třídy protilátek.....	14
4.1.4 Vliv ASA na funkci spermií.....	15
4.2 Protilátky proti zona pellucida (AZA).....	16
4.2.1 Etiologie tvorby AZA.....	16
4.2.2 Výskyt a prevalence AZA .....	17
4.2.3 Další vliv AZA .....	18
4.3 Antiovariální protilátky (AOA).....	18
4.3.1 Etiologie AOA.....	18
4.3.2 Výskyt, prevalence a vliv AOA .....	19
4.3.3 Další vliv AOA.....	19
4.4 Antifosfolipidové protilátky (APA).....	19
4.4.1 Protilátky proti annexinu V .....	20



4.5	Antithyroidální protilátky .....	20
4.6	Antinukleární protilátky (ANA) .....	21
4.7	Další imunologické příčiny neplodnosti u žen .....	21
5	Diagnostika a léčba .....	23
6	Závěr .....	24
	Seznam použité literatury .....	25
	Internetové zdroje .....	30

# 1 Úvod

Neplodnost, tedy jev, kdy daný pár není schopný počít dítě, lze definovat mnoha způsoby. Obecně tento termín značí stav, kdy nelze docílit otěhotnění, tedy oplození vajíčka. Může se však také jednat o stav, kdy dojde k narušení implantace embrya, která nastává 5-7 dní po oplození. Až u 70 % zárodků dochází k ukončení těhotenství před jejich řádnou implantací (Ulcova-Gallova, 2010). Neplodnost by mohla být chápána také jako stav, kdy žena otěhotní, ale později prodělá spontánní potrat. WHO proto definovala neplodnost jako onemocnění, kdy nelze docílit klinického těhotenství po dobu jednoho roku a déle při pravidelném nechráněném styku (Zegers-Hochschild et al., 2009). Párů složených z jedinců v reprodukčním věku, tedy 20-44 let, které mají problémy s neplodností, je v současné době 48,5 milionů (Mascarenhas et al., 2012), což tvoří až 15 % (Li et al., 2015) párů z celého světa. Zhruba ve 40 % je problém na straně ženy, v dalších 20 % případů je problém na straně obou partnerů (Brazdova et al., 2016).

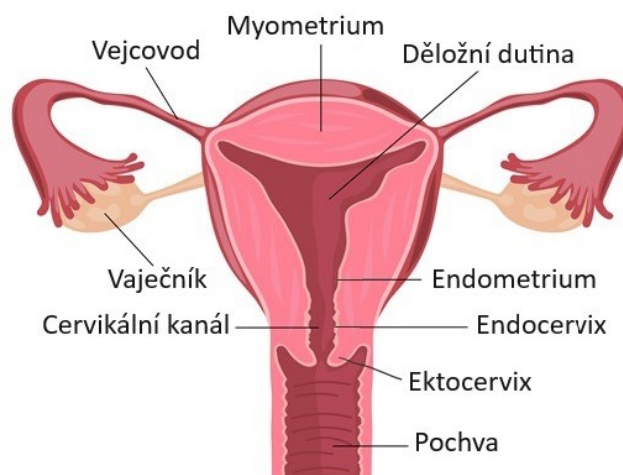
Příčiny způsobující neplodnost jsou různorodé, zpravidla je však můžeme rozdělit na příčiny hormonální, genetické, anatomické, imunologické a další. Různé je pak i procentuální zastoupení těchto kategorií u obou pohlaví. Údaje o jejich zastoupení se navíc často liší, pravděpodobně z důvodu využití různých výzkumných metod jednotlivých autorů. Významnou kategorií jsou nepochybně příčiny imunologické, které se vyskytují až v 15 % případů a to jak u mužů, tak u žen (Nouza et al., 2007). Při imunologických patologiích u žen reaguje imunitní systém (IS) nejen na cizorodé antigeny spermií ale i na antigeny vlastního organismu. Obranou reakcí imunitního systému je aktivace buněčné odpovědi i produkce protilátek. Přítomnost protilátek proti antigenům gamet a dalších struktur je zřejmě původem především neodůvodněné neplodnosti.

Cílem práce je shrnout problematiku protilátek tvořených proti aloantigenům a autoantigenům v souvislosti s neplodností u žen. Práce se věnuje etiologii, prevalenci, vlivu a dalším hypotézám asociovaným s přítomností těchto protilátek, stručně popisuje ženské pohlavní ústrojí a jeho imunitní složky, vývoj oocytů a hormonální cyklus. Dále krátce shrnuje další příčiny neplodnosti, diagnostiku a léčbu.

## 2 Ženské pohlavní ústrojí

### 2.1 Ženské pohlavní orgány

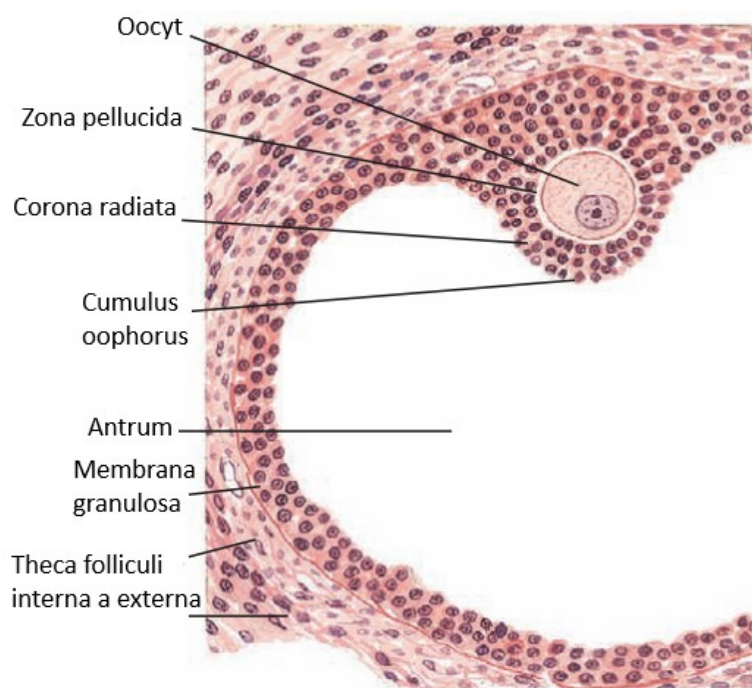
Ženské pohlavní ústrojí je tvořeno vnějšími a vnitřními pohlavními orgány. Vnitřními pohlavními orgány jsou vaječníky, vejcovody, děloha a pochva, jejíž ústí je ohraničeno zevními pohlavními orgány. Vaječníky (*ovaria*) jsou párové orgány oválného tvaru umístěné po stranách pánevní dutiny (viz Obr. 1). Mají vnitřní dřevnatou část a vnější korovou vrstvu, kde se nacházejí folikuly s oocyty, a kde dochází k jejich vývoji. Povrch tvořený zárodečným epitelem je nejprve hladký, od puberty dochází k jeho zvrásnění vlivem zrání a uvolňování vajíček. Funkcí vaječnicků je produkce ženských pohlavních hormonů estrogenů a progesteronu, a zrání folikulů s oocyty. Na vaječníky jsou svými roztřepenými okraji s výběžky přiloženy vejcovody. Tyto pohyblivé trubčovitě útvary, zhruba 13 cm dlouhé, jsou místem kde dochází k oplození vajíčka (Čihák, 2013). Vejcovody ústí do rohů dělohy (viz Obr. 1). Stěny dělohy mají tři vrstvy – endometrium, myometrium a perimetrium. Endometrium, tedy děložní sliznice, obsahuje žlázy a dělíme ji na dvě vrstvy – *pars basalis* a *pars functionalis*, která se odlučuje a obnovuje v průběhu menstruačního cyklu. Dělohu dělíme na dvě části, a to děložní tělo (*corpus uteri*) a děložní hrdlo (*cervix uteri*). Děložní hrdlo je pokryto sliznicí (endocervix) a jeho dutina (tzv. cervikální kanál) obsahuje cervikální hlen (CM). Hrdlo je zakončené děložním čípkem (*ectocervix*) a ústí do pochvy (Čihák, 2013).



Obrázek 1: Ženské pohlavní ústrojí  
(Upraveno podle: URL 1)

## 2.2 Vývoj oocytů a ovariálních folikulů

V ženském těle se již ve fetálním období vytvoří diploidní oogonie. Ty proliferují a dochází k vytvoření jejich zásoby čítající až téměř 7 milionů oogonií. Při narození je počet redukován na zhruba 1 milion (Baker, 1963). Maturací a růstem oogonií dochází k vývoji primárních oocytů, které vstupují do prvního meiotického dělení. Kolem primárního oocytu je formována vrstva folikulárních buněk, čímž se vytvoří primordiální folikul. V tomto typu folikulu tedy nalezneme oocyt primární, který je zastaven v profázi prvního heterotypického dělení meiózy. S nástupem puberty, kdy je počet folikulů snížen na zhruba 300 000 (Baker, 1963), dochází k jejich přeměně na primární folikul. Ten vznikne proliferací folikulárních buněk, které se formují do několika vrstev tvořících *membranu granulosa*. Sekundární folikul, tzv. antrální, je folikul rostoucí, zrající. Takový folikul je v ovariálním cyklu vždy jen jeden. Na povrchu dochází k formaci vnější vrstvy tvořené thekálními buňkami, kolem oocytu je vytvořen glykoproteinový obal zvaný zona pellucida (ZP) (viz Obr. 2). V sekundárním oocytu nalezneme dutinu zvanou antrum (Gilbert, 2000). Folikul v této fázi vyčnívá na povrchu vaječníku. Poté folikul dozraje do fáze terciální, kdy je označován jako Graafův folikul. Graafův folikul je až 20 mm velký, na povrchu se nachází vrstva thekálních buněk – *theca folliculi externa* a *interna*. Antrum je vyplněno folikulární tekutinou. Oocyt se nachází po straně, je obalen v ZP a podpůrnými kumulárními buňkami tvořící kumulo-oocytární komplex (COC). Vrstva přiléhajících folikulárních buněk, které jsou v přímém kontaktu s oocytem, je nazývána *corona radiata*. Další přiléhající podpůrné folikulární buňky tvoří společně výstupek zvaný *cumulus oophorus* (viz Obr. 2). Graafův folikul obsahuje oocyt, který již dokončil meiozu I., tedy oocyt sekundární, a první pólóvé tělísko. Po úplném dozrání folikulu dojde k ovulaci, tedy k prasknutí folikulu a k uvolnění oocytu obaleného COC. Z prasklého folikulu se vytvoří *corpus luteum* neboli žluté tělísko, které uvolňuje progesteron a estrogeny (Gilbert, 2000). To později zaniká a způsobí bělavé zajištění povrchu vaječníku. V případě oplození vajíčka *corpus luteum* nezaniká a produkuje progesteron, dokud tuto funkci nepřevzme placenta. Uvolněný sekundární oocyt je následně nasát vejcovodem a jeho vývoj se znovu zastaví, tentokrát v metafázi II, dokud není oplodněn spermii. Po případném oplození dojde k dokončení druhého meiotického dělení, čímž se vyloučí druhé pólóvé tělísko. K oplození oocytu dochází v rozšířené části vejcovodu. Poté je vajíčko přesunuto do děložní dutiny (URL 2).



Obrázek 2: Zrající folikul  
(Upraveno podle: Cochard, 2012)

### 2.3 Hormonální cyklus

Správný průběh ovariálního cyklu a činnost ženských pohlavních orgánů je řízena pohlavními hormony. K produkci těchto hormonů dochází v adenohipofýze, v ovariích, ve žlutém tělísku nebo ve folikulárních buňkách. V adenohipofýze dochází výhradně k tvorbě gonadotropních hormonů. Těmi jsou gonadotropiny folitropin, neboli folikuly stimulující hormon (FSH), a lutropin, neboli luteinizační hormon (LH). Jejich tvorba závisí na GnRH (gonadotropin uvolňující hormon), který je tvořen v hypotalamu a stimuluje hypofýzu. FSH podporuje zrání folikulu, je tedy nezbytný pro iniciaci folikulární fáze ovariálního cyklu. Folikulární buňky zrajícího folikulu poté začínají produkovat estrogeny, jejichž hladina v průběhu této fáze cyklu výrazně stoupá. Estrogeny stimulují hypotalamus k tvorbě více FSH a LH. Tím je způsoben výrazný nárůst LH, což umožní ovulaci (Melmed et al., 2016). Po ovulaci začíná luteální fáze ovariálního cyklu. Vytvořené žluté tělísko produkuje estrogeny a ve velkém množství i progesteron, který ovlivňuje sekreční funkci endometria a zabezpečuje případné uhnízdění vzniklé blastocysty. Pokud nedojde k oplození, dochází k zániku žlutého tělíska a tedy i k poklesu hladiny progesteronu, což způsobí odloučení části endometria (Gilbert, 2000).

## 2.4 Imunitní mechanismy ženského pohlavního ústrojí

Udržení imunitní rovnováhy v ženském pohlavním ústrojí (ŽPÚ) je nelehkým úkolem. Skrze vagínu přichází do styku s mikroorganismy a virovými patogeny, přirozeně se zde vyskytuje řada bakterií a kvasinek. Dochází ke kontaktu s cizorodými antigeny spermií a v případě oplození i s imunologicky odlišným plodem. Je tedy nutné identifikovat patogeny, ochránit organismus před vznikem infekcí, před sexuálně přenosnými chorobami, ale i nastolit imunologickou toleranci a vytvořit příznivé prostředí pro průchod spermií a vývoj semialogenního plodu. Imunitní systém tedy musí být schopen přizpůsobit se změnám ŽPÚ, a to nejen v průběhu menstruačního cyklu. K tomu přispívá regulace systému pohlavními hormony (Wira et al., 2015). Na ochraně ženského pohlavního ústrojí, které je součástí slizničního imunitního systému, se podílí vrozená (nespecifická) i adaptivní (specifická) imunita.

### 2.4.1 Vrozená imunita

Imunitní mechanismy vrozené imunity pracují výrazně rychleji a nespecificky – jejich fungování je zprostředkováno vrozenou sadou receptorů. Zahrnují chemickou, mechanickou i buněčnou složku. Chemická složka zahrnuje anti-mikrobiální peptidy (AMP), vylučované epiteliálními buňkami a neutrofilny, a receptory, především toll-like receptory (TLR) (Amjadi et al., 2014). TLR různých typů nalezneme na membránách neutrofilů, makrofágů, dendritických buněk, epiteliálních buněk a buněk endotelu ŽPÚ. Jejich úkolem je rozeznávat tzv. s patogenem asociované molekulární vzory (PAMP) mikroorganismů a následně aktivovat imunitní buňky, které produkují AMP a cytokiny, a zároveň aktivovat i vrozený IS (Fazeli et al., 2005). Buněčnou složkou jsou imunitní buňky, které fagocytují, lyzují či iniciují zánětlivou reakci produkcí cytokinů. Buňkami uplatňujícími se ve fungování vrozené imunity jsou především  $CD14^+$  buňky jako jsou makrofágy a dendritické buňky (DC), což jsou antigen prezentující buňky (APC), neutrofilní granulocyty a také natural killer (NK) buňky (Bouman et al., 2005). Mechanická bariéra je tvořena epiteliálními buňkami a vylučovaným hlenem. Epiteliální buňky tvoří bariéru, exprimují TLR, rozeznávají patogeny a sekretují hlen, AMP, protilátky, cytokiny a aktivující imunitní buňky (Fahey et al., 2005). V pochvě nalezneme vrstevnatý dlaždicový nerohovějící epitel, děloha je naproti tomu pokryta jednovrstevným cylindrickým epitelem spojeným tight junctions (tzv. těsnými spoji), což zabraňuje průniku patogenů (Trifonova et al., 2014). Cerviko-vaginální hlen pokrývající

povrch epitelu zabraňuje přímému kontaktu tkáně s patogeny. Obsahuje řadu komponent přispívající k jeho ochranné funkci – cytokiny, protilátky, enzymy, hormony. Mění svou hustotu, konzistenci i složení podle fáze menstruačního cyklu a reguluje tak průchod patogenů a spermií traktem. Během ovulace je vlivem estrogenu vodnatý a jeho objem je výrazně větší, naopak vlivem progesteronu se zahustí, je lepivější a blokuje průchod cervixem (Ulcova-Gallova, 2010). Úkolem vrozené imunity je kromě vlastní imunitní odpovědi také aktivace adaptivního imunitního systému.

#### **2.4.2 Adaptivní imunita**

Adaptivní imunita má složku humorální, která je založena na rozeznání antigenu a následné tvorbě protilátky, a složku buněčnou, zprostředkovanou aktivitou T a B lymfocytů. T lymfocyty ( $CD3^+$ ) mají specifický T – celulórní receptor (TCR) a dělí se na cytotoxické, pomocné a regulační. Cytotoxické T lymfocyty ( $T_c$ ) mají koreceptor  $CD8^+$ , rozeznávají cizorodé antigeny na hlavním histokompatibilním komplexu I. třídy (MHC I) infikovaných buněk organismu a následně je likvidují. Pomocné T lymfocyty ( $T_h$ ), s koreceptorem  $CD4^+$ , rozeznávají antigeny prezentované na MHC II APC a reagují produkcí příslušných cytokinů. Dělí se na subtypy  $Th1$  a  $Th2$ . Buňky  $Th1$  produkují především interferon gamma ( $IFN-\gamma$ ) a interleukin 2 a 3 (IL-2, IL-3), a aktivují tak cytotoxickou a buňkami zprostředkovanou odpověď.  $Th2$  aktivující humorální odpověď produkcí IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 a IL-13. Při aktivaci humorální imunity jsou stimulovány B lymfocyty, které diferencují v plazmatické buňky produkující protilátky proti příslušným antigenům, a v paměťové buňky zajišťující imunitní paměť (Hořejší et al., 2017). Protilátka svou vazbou na antigen tento antigen označí, čímž ho zviditelní pro imunitní systém a následně jsou společně fagocytovány či zničeny komplementem. Každému antigenu je vytvořena specifická protilátka-immunoglobulin (Ig). Protilátky účastníci se imunitní odpovědi v ženském pohlavním ústrojí jsou nejčastěji IgG, IgA a také IgM (Kutteh et al., 1988).

#### **2.4.3 Distribuce buněk imunitního systému**

Ženské pohlavní ústrojí si lze pro účely popsání distribuce buněk IS rozdělit na horní část, zahrnující vejcovody a dělohu, a dolní část – cervix a pochvu. Obě části se imunitně odlišují, například procentuálním zastoupením a počtem imunitních buněk – v horní části je obecně větší hustota leukocytů (Givan et al., 1997). Rozdíl je také v pH. Zatímco vaginální

mukus má kyselé pH zhruba 3,5-4,5, cervikální hlen je znatelně zásaditější s pH kolem 7, což vytváří příznivější prostředí pro průchod spermií (Correa et al., 2001).

### **Vagina a cervix**

Ve vagině i cervixu nalezneme samostatné i agregované CD3<sup>+</sup> buňky, které jsou rozmístěné v lamina propria a epitelální vrstvě. Jedná se spíše o CD8<sup>+</sup> než CD4<sup>+</sup> buňky. V lamina propria se nachází také CD38<sup>+</sup> plazmatické B buňky, CD1a<sup>+</sup> nezralé dendritické buňky, makrofágy a jen malý počet neutrofilů a NK buněk (Johansson et al., 1999; Pudney et al., 2005). V cervixu dochází k tvorbě lymfoidních agregátů z CD8<sup>+</sup> nebo CD4<sup>+</sup>, uvnitř kterých se nachází CD19<sup>+</sup> a CD20<sup>+</sup> B lymfocyty, které jsou v traktu jinak vzácné (Johansson et al., 1999). Endocervix, horní část děložního hrdla, obsahuje velké množství žláz produkujících mukus, který slouží jako ochranná bariera proti patogenům. Ektocervix je naproti tomu odhalený, proto zde nalezneme výrazně větší počet leukocytů. Kromě lymfocytů zde nalezneme CD14<sup>+</sup> buňky, především makrofágy tvořící většinu buněk IS v cervixu, a dendritické buňky, kterých je v ektocervixu výrazně větší množství než ve vagině (Trifonova et al., 2014). Distribuce a počet buněk se v pochvě ani v cervixu v průběhu cyklu nemění (Pudney et al., 2005).

### **Děloha (endometrium) a vejcovody**

Endometrium je nejhojnější tkáň na výskyt imunitních buněk. I zde, přesněji v *pars basalis*, nalezneme lymfoidní agregáty s CD19<sup>+</sup> B lymfocyty uprostřed, T lymfocyty a vnějším kruhem makrofágů. Z CD3<sup>+</sup> buněk opět převažují CD8<sup>+</sup> (Yeaman et al., 2001). V průběhů cyklu dochází k regulaci počtu leukocytů v děloze. Nachází se zde mnoho NK buněk, jejichž počet narůstá po ovulaci až nakonec před menstruační fází tvoří 80 % všech leukocytů (Flynn et al., 2003). Stejně tak narůstá v tomto období i počet DC a počet makrofágů distribuovaných kolem žláz (Eidukaite and Tamosiunas, 2004; Lee et al., 2011). Existuje několik hypotéz o tom, jak se leukocyty v endometriu octnou. Mohou být do tkáně rekrutovány adhesivními molekulami vylučovanými endotelem (Johansson et al., 1999), proliferovat *in situ* v endometriu, nebo přimigrovat jako prekurzory a následně diferencovat specificky podle tkáně (Keskin et al., 2007). To se jeví jako nepravděpodobnější vzhledem k specifitě buněk v ŽPÚ.



Ve vejcovodech mají největší zastoupení T lymfocyty, podobně jako ve zbytku tkání. Najdeme zde však i makrofágy a DC. Standardně je zde vysoký počet granulocytů, především neutrofilních, jejichž množství se v průběhu cyklu nemění (Givan et al., 1997).

### 3 Příčiny neplodnosti u žen

Faktorů, které ovlivňují neplodnost žen je nespočet, navíc spolu často úzce souvisí a vyskytují se proto současně. Obecně můžeme příčiny rozdělit na anatomické, genetické, hormonální, imunologické a další zahrnující např. psychogenní faktor.

#### 3.1 Anatomické příčiny

Anatomické příčiny nejčastěji souvisí se srůsty omezujícími pohyblivost vejcovodů nebo způsobujícími jejich neprůchodnost, nebo s jinak způsobenou neprůchodností vejcovodů. To může být způsobeno infekcemi, obvykle pohlavně přenosnými, které vedou k zánětům a zjizvení. Rizikové jsou i předchozí gynekologické i abdominální operace, v důsledku kterých může dojít ke vzniku srůstů nebo, stejně jako v předchozím případě, ke zjizvení tkáně, a to do takové míry, že dojde k blokadě celého vejcovodu a tím znemožnění průchodu vajíčka. Stejný defekt může nastat při abdominálních zánětlivých onemocněních jako je například apendicitida. Neprůchodnost vejcovodů mohou způsobit také četné cysty či předchozí ektopická tubární gravidita (URL 3). Neplodnost způsobují také deformace dělohy, jako je vrozené zúžení děložního hrdla, oploštění, ohnutí nebo v ojedinělých případech její absence. Poškození mohou způsobit také děložní myomy a polypy (Ulčová-Gallová and Lošan, 2013). Další z příčin tohoto typu je endometrióza, což je onemocnění způsobené odloučením kousků endometria a jejich uchycením mimo děložní dutinu, nejčastěji v myometriu, vejcovodech, vaječnicích, pobřišnici ale i na bránici nebo perikardu. Endometrióza zapříčiňuje vznik srůstů a zjizvení či zvýšení objemu peritoneální tekutiny (Bulun, 2009).

#### 3.2 Genetické příčiny

Genetické příčiny zahrnují chromozomální aberace i genové mutace. Mezi chromozomální aberace způsobující neplodnost u žen patří nejčastěji aneuploidie gonosomů, tedy syndromy Turnerův s karyotypem (45,X), Downův s karyotypem (47,XX,+21), syndrom 47,XXX nebo syndrom tzv. testikulární feminizace s karyotypem (46,XY). Genové mutace mohou zapříčinit neplodnost například vyvoláním primární ovariální insuficience (POI) či syndromu polycystických ovaríí (PCOS) v případě mutací genů *BMP15* či *GDF9* (Wei et al., 2014). Významnou kategorií jsou mutace trombofilní představující zvýšené riziko tvorby krevních sraženin, nejčastěji Leidenská či faktoru II protrombinu.

### 3.3 Hormonální příčiny

Hormonální příčiny jsou nejčastěji projevem atypické činnosti hypotalamu, adenohipofýzy nebo ovarií, které stimulují produkci příslušných hormonů. Při odchylkách v produkci gonadotropních hormonů LH a FSH nedochází ke správnému dozrání folikulu a nastane anovulace, tedy vynechání ovulace, a amenorea, absence menstruace (Melmed et al., 2016). Vynechávání ovulace nastává také v případě nízké hladiny estrogenů, což navíc způsobuje zvýšenou hustotu cervikálního hlenu, a tudíž jeho neprostupnost mj. i pro spermie. Naopak zvýšenou hladinou estrogenů dochází k abnormální sekreci hlenu, což může být také příčinou neplodnosti (Gorodeski, 1998). Nedostatek progesteronu zapříčiňuje defekty děložní sliznice, která není schopna přijmout oplozené vajíčko, podpořit jeho nidaci a další vývoj. Mezi obvyklé hormonální příčiny neplodnosti patří POI a PCOS. POI neboli primární ovariální insuficience je stav, kdy u ženy dochází k předčasné menopauze, tedy k vyčerpání zásoby vajíček a k absenci menstruace. PCOS, syndrom polycystických ovarií, se projevuje nedostatečnou produkcí progesteronu a naopak vysokou hladinou LH. Nedojde k prasknutí a uvolnění folikulu, namísto toho se ve vaječnicích tvoří stále nové cysty. PCOS se tedy projevuje anovulací a amenoreou (Stein and Leventhal, 1935). Mezi další hormonální příčiny patří syndrom neprasklého folikulu (LUF), dále hyperandrogenní syndrom či tzv. post-pill amenorea. Neplodnost ovlivňuje i abnormálně zvýšená hladina prolaktinu, tedy hyperprolaktinémie (Sonigo et al., 2012).

### 3.4 Další příčiny

Významnou roli hraje samozřejmě věk ženy, jelikož s přibývajícím věkem dochází ke zhoršení kvality vajíček vlivem například aneuploidity oocytů, k postupnému snižování jejich počtu, k častějším zánikům folikulů bez ovulace a dalším defektům (Hassold et al., 1996). Pravděpodobnost otěhotnění za jeden menstruační cyklus po 40. roku klesá dokonce až na necelých 5 % z původních zhruba 25 % (Řežábek, 2008). Vliv na neplodnost má nepochybně také životní styl ženy. Mezi rizikové návyky patří pití alkoholu, kouření či užívání drog. Mimo to je důležité dbát na zdravou a pestrou stravu, vyhnout se jak obezitě, tak podvýživě a poruchám příjmu potravy. Významným rizikovým faktorem je i psychogenní faktor, tedy stres či úzkosti, které jsou ale paradoxně mnohokrát s neschopností počít potomka spojeny. Excesivní stres či výkyvy tělesné hmotnosti mohou zapříčinit hormonální nerovnováhu či POI. Neschopnost početí je ovlivněna také zdravotní anamnézou ženy, například v případě

nádorových onemocnění a s nimi spojené léčby chemoterapií a radioterapií, které plodnost výrazně snižují. Imunologickým příčinám je vzhledem k zaměření práce věnována samostatná kapitola.

## 4 Imunologické příčiny neplodnosti

### 4.1 Protilátky proti spermiím (ASA)

Při ejakulaci dojde během nechráněného pohlavního styku k vyloučení ejakulátu do reprodukčního traktu ženy. Ejakulát se skládá ze spermií a semenné plasmy, která spermiím poskytuje ochranné prostředí a zároveň ovlivňuje i ženský trakt. Semenná plasma totiž obsahuje mj. důležitý imunosupresivní faktor TGF $\beta$ 1 a imunoglobuliny (Nocera and Chu, 1993; Politch et al., 2007). Právě imunosupresivní faktory plasmy spolu s anti-idiotypickými protilátkami regulují činnost ASA (Naz et al., 1993).

Spermie mají na svém povrchu mnoho alogenních antigenů, které mohou u některých žen vyvolat imunitní reakci vedoucí k tvorbě protilátek, tzv. izoimunizaci. Mezi antigeny vyvolávající tvorbu ASA patří například fertilizační antigen 1 (FA-1) a peptid YLP12 (Williams et al., 2008). To, že tyto protilátky mohou snižovat šance na oplození bylo prokázáno *in vitro* ve studii Clarke a kol. (1988). Mohou mít vliv i na raný vývoj embrya (Naz, 2005; Vazquez-Levin et al., 1997).

K imunitní reakci může dojít už při prvním kontaktu s ŽPÚ, spermie navíc mohou přijít do kontaktu i s gastrointestinálním traktem a peritoneem. Protilátky se mohou tvořit nejen proti spermiím samotným, ale i proti antigenům obsaženým v semenné plasmě. Vyskytují se také protilátky reagující současně proti membránám mikroorganismů, jejichž průnik do ŽPÚ je spojen s pohlavním stykem. Při postkoitální zánětlivé reakci jsou aktivovány T lymfocyty, produkovány cytokiny a chemokiny stimulující další buňky IS, především makrofágy vykazující zvýšenou fagocytickou aktivitu, a cytotoxickou odpověď. Dochází tak k reakci IS jak na antigeny spermií, tak na zmíněné mikroorganismy (Naz and Menge, 1994; Ulčová-Gallová and Madar, 2016). Protilátky proti spermiím mohou být tvořeny i u mužů – vyskytují se v krevním séru, na povrchu spermií i v semenné plasmě.

#### 4.1.1 Etiologie tvorby ASA

Příčinou vzniku protilátek proti spermiím může být porucha regulace IS, pohlavní styk mimo ovulaci nebo předchozí gynekologický chirurgický zákrok. Jakékoliv mechanické nebo chemické poškození sliznice vede k expozici antigenu. Faktorem je i přítomnost spermií mimo pohlavní trakt, například v peritoneální dutině. Cunningham a kol. (1991) prokázal, že tvorba ASA může být důsledkem gynekologických zánětů. Vliv na přítomnost ASA u žen má také složení semenné plasmy a v ní obsažené proteiny, například chybění imunosupresivního

faktoru, které se může projevit právě imunitní reakcí u ženy (Marshburn and Kutteh, 1994). Navíc ve svém výzkumu Witkin a Chaudhry (1989) potvrdili, že tvorba ASA u žen je stimulována přítomností ASA v ejakulátu muže.

Zároveň ale stále není jasné, proč většina žen, přes opakovaný kontakt se spermii, přítomnost ASA nevykazuje, zatímco jiné ženy ano. Faktorem v tomto případě pravděpodobně není časté vystavování antigenům, a podle studie Chacho a kol. (1991) ani sexuální praktiky jako orální nebo anální styk tvorbu ASA neovlivňují. Stejně tak kontakt se spermii od více dárců ve studii Mashu a kol. (1994) neprokázali zvýšení výskytu protilátek. Původ ASA, včetně možných zúčastněných faktorů, tedy dosud není upřesněn.

#### 4.1.2 Výskyt a prevalence ASA

Protilátky lze detekovat nejprve pouze v cervikálním hlenu. Při opakované imunizaci, tedy při dalším vystavování antigenům, se začnou tvořit i výše v ŽPÚ. Poté jsou detekovatelné jak v cerviko-vaginálním hlenu, tak ve folikulární a peritoneální tekutině a v krevním séru (Ulčová-Gallová and Madar, 2016). Prevalence ASA u žen se nicméně v různých studiích výrazně liší v závislosti na použité metodě stanovení protilátek, velikosti vzorku a dalších faktorech. Pro ukázkou uvádím několik z těchto studií.

- Ve studii Kapoor a kol. (1999) byly metodou ELISA protilátky detekovány u 25 % žen z 40 párů s neodůvodněnou neplodností.
- Hossain a kol. (2007) detekovali ASA pouze u 4 % z 344 žen s již známým původem neplodnosti. Došli také k závěru, že prevalence ASA pravděpodobně roste s věkem.
- Haas a kol. (2010) stanovili ASA s využitím radio-labeled-anti-globulin testu a vyhodnotili nález ASA u 13 % neplodných žen. Vzorkem bylo 257 párů s neodůvodněnou neplodností.
- Mahdi a kol. (2011) prokázali přítomnost ASA u průměrně 62 % z 45 neplodných žen.
- V recentní studii Yasin a kol. (2016) stanovili přítomnost ASA u 5 % žen z 42 párů s neodůvodněnou neplodností.

Nejčastěji jsou ASA u žen stanovované v krevním séru a v cervikálním hlenu, méně často i ve folikulární tekutině. Přítomnost ASA v těchto zkoumaných biologických materiálech se u ASA pozitivních žen může lišit.

- Studie Cantuária (1977) potvrdila přítomnost ASA u 26 % žen v séru a u 21 % žen v CM.

- Moghissi a kol. (1980) stanovili ASA u 13 % žen v séru a u 26 % žen v CM. Jednalo se o vzorek 172 žen z párů s neodůvodněnou neplodností.
- Mandelbaum a kol. (1989) ve svém výzkumu s páry podstupujícími *in vitro* fertilizaci (IVF) stanovili přítomnost ASA u 46 % žen v séru a u 36 % ve folikulární tekutině.
- Ve výše zmíněné studii Kapoor a kol. (1999) stanovili ASA u žen v 58 % v séru a v 25 % v CM.
- Polská studie Kamieniczne a kol. (2003) prokázala nepřímým immunobead testem (IBT) přítomnost ASA u 4 % z 194 žen z neplodných párů v séru a u 3 % z 155 žen z neplodných párů v CM.
- Mahdi a kol. (2011) detekoval ASA v 64 % v séru a v 62 % v CM neplodných žen.

Protilátky proti spermiím ale mohou být přítomné i u plodných žen. Například ve výše uvedené studii Mahdi a kol. (2011) byli ASA detekováni po 3 % v séru i v CM u kontrolní skupiny plodných žen. Přítomnost ASA tedy nutně nemusí vždy způsobovat neplodnost. Hypotézy uvažující vliv ASA na neplodnost jsou tedy stále nepřesné. Ačkoliv faktory jako například množství, lokalizace, třída či efekt protilátek mají na účinek ASA nepochybně vliv (Hjort, 1999), obecně lze na základně dostupných materiálů pouze konstatovat, že přítomnost ASA může negativně ovlivnit úspěšnost početí, jak již bylo uvedeno.

#### 4.1.3 Třídy protilátek

ASA jsou imunoglobuliny především tří izotopů – IgG, IgA a IgM. Imunoglobuliny jsou tvořeny dvěma těžkými a dvěma lehkými řetězci. Mají dvě části – Fab, místo navázání antigenu, a transmembránovou Fc. IgM je pentamer s molekulární hmotností 900 kD a má nejkratší životnost, IgG monomer váží 150 kD a IgA má molekulovou hmotnost mezi 150–400 kD v závislosti na tom, zda se vyskytuje jako monomer nebo dimer (Mazumdar and Levine, 1998). Monomerní forma je častá v séru, zatímco sekreční forma IgA (sIgA) na sliznicích. Sekreční IgA jsou dimery propojené J řetězcem a doplněné o sekreční komponentu (Marshburn and Kutteh, 1994). Sekreční komponenta poskytuje ochranu před degradací proteolytickými enzymy, tedy odolnost proti mikroorganismům přítomným na sliznici.

IgG je nejvíce nalézán v krevním séru (Kapoor et al., 1999), v cervikálním hlenu je naopak přítomný především sIgA (Waldman et al., 1972). Koncentrace sIgA v CM je před ovulací vysoká a prokazatelně klesá při ovulaci. Není ale jasné, zda to není způsobeno jen výrazným navýšením množství CM v době ovulace, tudíž zda to není pouze důsledkem

dilatačního efektu (Marshburn and Kutteh, 1994). Množství IgG a IgA v séru se zvyšuje s dobou vystavení antigenu, zatímco přítomnost IgM je nejvyšší při prvotním kontaktu s antigenem, jelikož je syntetizován jako první, a následně je nahrazován (Mahdi et al., 2011).

#### 4.1.4 Vliv ASA na funkci spermií

Než spermie pronikne traktem až k oocytu, musí dozrát do té podoby, kdy je schopna oplození. V ŽPÚ prochází procesem kapacitace a potřebuje dosáhnout určitého stupně progresivní motility. Při kapacitaci dochází k maturaci spermie a je to proces naprosto nezbytný, uměle navozovaný i při asistované reprodukci. Dochází k expozici nových antigenů, fluidita membrány spermií se zvýší a spermie je připravena na akrozomální reakci. Při tomto procesu dochází k odhalení nových membránových antigenů a vylitých akrozomálních proteinů. Aby akrozomální reakce proběhla, je nutné, aby se spermie navázala na glykoprotein ZP3. Následně může spermie ZP proniknout. Při průniku spermie do oocytu je aktivováno pokračování meiózy II a dokončení oogeneze. Následně z prvojader gamet vzniknou pravá jádra a dochází ke vzniku dvoubuněčného embrya a započetí rýhování.

Tvorba ASA může v tomto složitém procesu ovlivnit funkci spermií hned několika různými způsoby. ASA mohou ovlivnit fertilizační schopnost inhibicí kapacitace (Bathla and Sidhu, 1996), inhibicí vazby spermií na ZP (Shibahara et al., 1993), akrozomální reakce (Bandoh et al., 1992; Tasdemir et al., 1995), penetrace ZP (Liu et al., 1991) i narušením implantace embrya. ASA mohou ale působit i cytotoxicky. Poruchy přirozené maturace spermií a fertilizačního procesu mohou protilátky způsobit aktivací komplementu, opsonizací, blokací receptorů či dalšími mechanismy – fungování těchto mechanismů ale zatím není prozkoumáno. Velký význam má schopnost ASA způsobit aglutinaci, tedy shlukování spermií (Marshburn and Kutteh, 1994).

Protilátky mohou být tvořeny proti antigenům exprimovaným na různých částech spermie a podle toho ovlivní jejich činnost. ASA omezující pohyblivost spermií cílí spíše na antigeny bičíku spermie, zatímco ASA ovlivňující průchod spermií cervikálním hlenem, nebo jejich interakci s oocytem, cílí na hlavičku. Průchod cervikálním hlenem je pro spermii nezbytným krokem. Hormonální regulace spermii cestu v době ovulace výrazně ulehčuje, ASA mohou naopak penetraci CM zcela znemožnit. Menge a Beitner (1989) prokázali, že průchodu zabraňuje aglutinace spermií a omezení jejich pohyblivosti. V cervikálním hlenu lze také zpozorovat třesavé pohyby, tzv. shaking phenomenon (Jager et al., 1981). Přítomnost



sIgA v CM byla navíc v několika studiích prokázána jako rozhodující faktor ovlivňující penetraci CM (Clarke, 1988).

## **4.2 Protilátky proti zona pellucida (AZA)**

Po uvolnění z vaječníku je oocyt obalen vrstvou kumulárních buněk a zonou pellucida. ZP je pružný a elastický obal z glykoproteinů, jehož tloušťka je zhruba 10  $\mu\text{m}$ , u oplozeného vajíčka až 17  $\mu\text{m}$ . Embryo zonu pellucida svlékne zhruba po týdnu své existence. Pozdní uvolnění embrya ze ZP nebo její nadměrná tloušťka mohou vést k narušení uhníždění zárodku. Zona pellucida slouží k ochranně oocytu a k jeho transportu vejcovodem, blokaci polyspermie a zprostředkování vazby spermie na oocyt. Primární vazba spermie je zprostředkována glykoproteinovým receptorem ZP3 a stimuluje iniciaci akrozomální reakce. Při akrozomální reakci dochází k exocytóze lytických enzymů, které následně zprostředkují sekundární vazbu spermie na glykoprotein ZP2. Díky těmto enzymům je navíc umožněna penetrace ZP a fúze membrán (Ulčová-Gallová and Madar, 2016).

ZP je silně imunogenní struktura a stimuluje tak imunitní reakci. V tomto případě, kdy se jedná o antigeny organismu vlastní, tento proces nazýváme autoimunizací. Dochází tedy k tvorbě protilátek proti zonálním glykoproteinům ZP1-ZP4. Tyto antizonální protilátky mohou blokovat vazbu spermie na ZP (Koyama et al., 1991) nebo inhibovat zvýšení fluidity membrány spermií při kapacitaci, přesné mechanismy ale zatím nebyli popsány (Kamada et al., 2006). AZA tak mohou způsobit problémy nejen s přirozeným počítím, ale i s oplozením prostřednictvím IVF, jejíž úspěšnost při stanovení AZA výrazně klesá (Mantzavinos et al., 1993). Proto je v závislosti na stanovení AZA vhodné zvážit metodu intracytoplazmatické injekce spermií (ICSI) (Arefi et al., 2005).

### **4.2.1 Etiologie tvorby AZA**

AZA jsou podle mnoha studií (viz. níže) přítomny především u žen s neodůvodněnou neplodností. Proto je pravděpodobné, že přítomnost AZA stojí za neplodností těchto žen. Zřejmě také existuje souvislost mezi vznikem AZA a předchozí IVF. To nasvědčuje tomu, že AZA vznikají mj. v důsledku ovariální hormonální stimulace a folikulární punkce probíhající v rámci IVF. Studie Ulčové-Gallové a Mardešice (1996) dokonce prokázala rostoucí prevalenci AZA u žen s počtem prodělaných IVF, jako reakci na nežádoucí opakované zásahy

do vaječníku. Antigeny ZP navíc podle některých studií vykazují zkříženou reaktivitu s antigeny štítné žlázy (Twig et al., 2012).

#### 4.2.2 Výskyt a prevalence AZA

Antizonální protilátky jsou přítomné v krevním séru, folikulární a peritoneální tekutině i CM. Jsou to protilátky tříd IgA, IgG, IgM (Ulčová-Gallová and Madar, 2016).

Podobně jako v případě ASA, i u antizonálních protilátek studie šetřící prevalenci AZA u žen prezentují širokou škálu výsledků v závislosti na využití metodě. Stejně tak souvislost AZA a IVF nebyla jednoznačně prokázána, ačkoliv většina autorů se k této hypotéze přiklání.

- Nishimoto a kol. (1980) vyhodnotili s využitím imunofluorescence (IF) přítomnost AZA v séru u 2 % z 122 žen se známou příčinou neplodnosti a u 7 % z 175 žen s neodůvodněnou neplodností. Prokázali navíc vyšší prevalenci AZA u žen nad 40 let.
- Mori a kol. (1978) detekovali AZA také metodou IF v séru 15 % z 52 neplodných žen.

Obě předchozí studie využívali antigeny ZP z izolovaných prasečích oocytů na základě objevu zkřížené reaktivity antigenů ZP u člověka a prasete (Shivers and Dunbar, 1977). Ukázalo se ale, že využití IF s prasečími oocyty zřejmě nebylo přesné a vykazovalo falešně pozitivní výsledky. Proto se začalo pracovat na vyvinutí přesnějších metod. Jednou z nich je pasivní hemaglutinační reakce (PHAR). S využitím PHAR stanovili přítomnost AZA v séru u 6 % z 320 žen s neznámou příčinou neplodnosti a u 2 % z 1552 se známým původem neplodnosti (Kamada et al., 2006).

- Stejnou metodu využili Ulčová-Gallová a kol. (2004), kdy v séru a v ovulačním CM vyhodnotili přítomnost AZA u 75 % z 105 neplodných žen. Z toho 47 z 48 žen v minulosti absolvovaly více než dva neúspěšné IVF cykly.
- Ve výše uvedené studii Ulčová-Gallová a Mardešić (1996) s využitím ELISA a PHAR detekovali AZA ve vzorku 250 žen, které v minulosti neúspěšně absolvovaly IVF. AZA stanovili u 20 % žen po jednom IVF cyklu, u 64 % po dvou IVF a dokonce u 91 % po třech IVF.
- Nicméně studie Arefí a kol. (2005), využívající metodu ELISA a folikulární tekutinu, naopak žádnou souvislost mezi punkcí vaječníků a zvýšenou prevalencí AZA neprokázala.

### 4.2.3 Další vliv AZA

Pravděpodobným nepřímým důsledkem výskytu antizonálních protilátek je POI. Studie Calongos a kol. (2009) posuzující účinek AZA (anti-ZP2, anti-ZP3) na folikulogenezi myších folikulů prokázala vliv na velikost folikulu, maturaci oocyty, schopnost fertilizace *in vitro* i vývoj embrya. Komunikace mezi kumulárními buňkami a oocytem, která je zprostředkována přes ZP, je zřejmě vazbou antizonálních protilátek na ZP přerušena. Oocyty pak nejsou dostatečně stimulovány a nepodaří se je fertilizovat. Potvrdila se tedy možná souvislost jak s POI, tak s neplodností. I další experimenty hypotézu o souvislosti výskytu AZA a POI potvrzují, a to i s využitím lidské ZP. Takamizawa a kol. (2007) stanovili AZA v séru u 7 z 27 žen s idiopatickou POI.

## 4.3 Antiovariální protilátky (AOA)

Zona pellucida není jedinou folikulární strukturou jejíž antigeny stimulují tvorbu protilátek a vyvolávají tak autoimunitní reakci. Mezi další takové struktury, proti kterým se tvoří protilátky, patří *membrana granulosa*, *theca folliculi interna*, žluté tělísko, ale i oocyt včetně ooplasmu. Tyto protilátky jsou obecně nazývané antiovariální protilátky (Hořejší et al., 2000).

### 4.3.1 Etiologie AOA

Barbarino-Monnier a kol. (1991) stanovili (s využitím nepřímé IF a ELISA) antiovariální protilátky v séru 110 žen absolvujících IVF. U těchto žen zaznamenali vyšší hladinu IgG, IgA i IgM AOA, než u kontrolní skupiny zdravých žen. Vyhodnotili tedy ovariální punkci jako možný stimul k tvorbě AOA.

Gobert a kol. (1992) detekovali AOA v séru 140 žen, které podstupovali IVF. Vzorky odebrali nejprve po ovariální stimulaci lidským menopauzálním gonadotropinem (hMG) a poté po punkci folikulu. Vyšší hladinu IgG AOA v séru zaznamenali po punkci. Také oni tedy vyhodnotili, že tvorbu AOA vyvolává pravděpodobně právě zásah do ovaria, spíše než hormonální stimulace. Vysoké koncentrace protilátek se vyskytovaly u žen podstupujících již několikátý IVF cyklus. Ukázala se možná souvislost AOA s maturací folikulu, implantací embrya a s dalším vývojem těhotenství. V další studii Barbarino-Monnier a kol. (2003) stanovili IgG, IgA a IgM AOA metodou ELISA v séru 134 žen a to v několika intervalech v procesu IVF do dne folikulární punkce. Nenalezli výrazný rozdíl v koncentraci těchto

protilátek v žádném ze vzorků séra z různých fází hormonální stimulace folikulu. Potvrdili tak výše zmíněnou hypotézu naznačující, že vznik AOA je patrně zapříčiněn mj. folikulární punkcí v rámci IVF.

#### **4.3.2 Výskyt, prevalence a vliv AOA**

Antiovariální protilátky lze stanovit v séru, folikulární a peritoneální tekutině. Jejich přítomnost má vliv na oplození, včetně IVF (Geva et al., 1996; Luborsky and Pong, 2000). Narayanan a kol. (1995) prokázali vliv AOA na fertilizaci a raný vývoj embrya ve vzorku 72 žen, z nichž AOA detekovali u 60 %.

Přítomnost antiovariálních protilátek souvisí s neodůvodněnou neplodností. Výsledky mnoha studií naznačují, že idiopatickou neplodnost u žen vysvětluje právě přítomnost AOA. Luborsky a kol. (1999) stanovili AOA u 53 % žen s neodůvodněnou neplodností, Geva a kol. (1996) u 12 % z 78 žen.

#### **4.3.3 Další vliv AOA**

Přítomnost AOA se uvádí v souvislosti s předčasným ovariálním selháním (POI). Damewood a kol. (1986) ve své studii stanovili AOA, především antioocytární, v séru u 14 z 27 žen s POI. Studie Luborsky a kol. (1990) prokázala AOA u 69 % z 45 žen s POI. Novosad a kol. (2003) nicméně detekovali, kromě AOA u 50 % z žen s POI, také AOA u 31 % z kontrolního vzorku žen. Diskutuje se také o souvislosti AOA a PCOS, i v tomto případě jsou ale některé studie kontradiktorní (Fénichel et al., 1999; Rojansky et al., 1997). Heterogenita těchto výsledků pramení mj. z různého původu využitých antigenů a z výběru metod v těchto studiích. Potvrzení či vyvrácení těchto, a mnoha dalších, hypotéz je možným podnětem pro provedení dalších studií.

#### **4.4 Antifosfolipidové protilátky (APA)**

Protilátky tvořené proti fosfolipidům jsou heterogenní skupinou protilátek, které cílí na záporně nabitě fosfolipidy buněčných membrán a na s fosfolipidy asociované proteiny. Jsou to protilátky především proti fosfatidylserinu, fosfatidylinositolu, fosfatidylcholinu, kardiolipinu, kyselině fosfatidylové,  $\beta$ 2-glykoproteinu 1, annexinu V, protrombinu a lupus antikoagulans. APA lze stanovit v séru, CM, folikulární i peritoneální tekutině. Jedná se o protilátky tří izotopů IgM, IgA a IgG. Objevují se většinou v souvislosti s jiným

autoimunitním onemocněním, infekcí a dalšími např. neurologickými diagnózami (Ulcova-Gallova, 2015). Tyto protilátky se mohou vázat např. na oocyt, trombocyty, epiteliální buňky trofoblastu nebo buňky endotelu. Prokázala se i souvislost vyšší prevalence APA s užíváním hormonální antikoncepce (Ulcova-Gallova et al., 2015).

Antifosfolipidové protilátky zřejmě ovlivňují neplodnost, včetně snížení šance na úspěch IVF (Ulcova-Gallova et al., 2005), způsobují opakované spontánní potraty (Kwak et al., 1992; Yetman and Kutteh, 1996), preeklampsii a další patologie. Právě opakované potracení je indikací pro vyšetření APA u ženy. APA svou přítomností zasahují do koagulačních kaskád, čímž způsobují hyperkoagulační stav a trombózu. S přítomností APA je spojen antifosfolipidový syndrom (APS), který je charakterizován výskytem dalších patologií (Ulčová-Gallová and Madar, 2016). Buckingham a kol. (2009) nicméně na základě své analýzy problematiky APA zpochybňují výsledky přechozích studií především kvůli výběru a počtu testovaných antigenů a nestandardizovaného výběru metod. Je tedy žádoucí provedení dalších studií s minimalizací těchto chyb, abychom získali přesnější údaje o prevalenci APA i jejich významu v souvislosti s neplodností.

#### **4.4.1 Protilátky proti annexinu V**

Významnou skupinou antifosfolipidových protilátek jsou protilátky proti annexinu V, což je protein tvořící komplex s fosfatidylserinem, který je vystaven na povrchu trofoblastu a později placenty. Tvoří tak jakýsi antikoagulační štít, čímž zabráňuje tvorbě protrombinového komplexu a umožňuje mj. placentární perfúzi (Andree et al., 1992). Přítomnost protilátek IgG proti annexinu V tento antikoagulační efekt naruší a indukují tak prokoagulační reakce (Vogt et al., 1997). To může vést k neúspěchu IVF i opakovanému potracení. Prevalence protilátek je podle Matsubayashi a kol. (2001) 6 % u žen s opakovaným potracením a 8 % u žen s opakovaným neúspěchem IVF.

#### **4.5 Antithyroidální protilátky**

Autoimunitní poruchy štítné žlázy jsou nejčastějším autoimunitním onemocněním ovlivňujícím neplodnost i samotný průběh těhotenství. Funkci štítné žlázy pak dále ovlivňuje hormonální stimulace ovarií při IVF, kterou tyto pacientky v souvislosti s neplodností často podstupují (Du et al., 2019). Antigeny štítné žlázy navíc stimulují tvorbu protilátek – jsou to protilátky proti tyreoidální peroxidáze (anti-TPO), tyreoglobulinu (anti-TG) či receptoru

tyreotropinu (anti-TSHR). Přítomnost těchto protilátek je typická pro autoimunitní poruchy štítné žlázy – např. elevace hladin anti-TPO a anti-TG jsou příznakem pro Hashimotovu tyreoiditidu (Ulčová-Gallová and Madar, 2016). Antithyroidální protilátky jsou možnou příčinou spontánních potratů, ale ačkoliv existuje mnoho hypotéz, mechanismus tohoto předpokladu zatím nebyl potvrzen (Matalon et al., 2001). Poppe a kol. (2003) ve své studii prokázali vyšší prevalenci anti-TPO u neplodných žen a také u žen s endometriózou.

#### **4.6 Antinukleární protilátky (ANA)**

Protilátky se tvoří také proti jaderným strukturám jako jsou například histonové proteiny, dsDNA, nRNP, centromery a další (Kavanaugh et al., 2000). Při oplození oocyty a následném formování jádra embrya může dojít k expozici antigenů jaderných struktur a tvorbě protilátek. Dochází také k vyvolání zánětlivé reakce a aktivaci NK buněk, což vede k defektům dalšího vývoje zárodku a možnému potratu (Molazadeh et al., 2014). Prevalence ANA je podle studie Li a kol. (2015) 40 % u žen podstupujících IVF nebo ICSI, což naznačuje souvislost s neplodností. Tyto protilátky pravděpodobně poškozují vývoj oocyty a embrya, snižují úspěšnost oplození a implantace embrya při IVF či ICSI s embryo transferem (IVF-ET či ICSI-ET) a mohou být příčinou opakovaného potrácení (Kikuchi et al., 2003; Ying et al., 2012). Jejich přítomnost je často indikací k diagnóze autoimunitního onemocnění.

#### **4.7 Další imunologické příčiny neplodnosti u žen**

Mezi další imunologické faktory ovlivňující neplodnost a raný vývoj embrya patří především protilátky proti tkáňové transglutamináze (tTG), jakožto markeru celiakie, zvýšení počtu NK buněk v periferní krvi či nestandardní produkce cytokinů.

Důležitým faktorem v souvislosti s imunologickou neplodností jsou autoimunitní onemocnění. Jak již bylo v práci naznačeno, s přítomností zmiňovaných protilátek tvořených proti různorodým antigenům je často spojována právě diagnóza autoimunitních onemocnění. V některých případech mohou protilátky sloužit jako markery pro jejich diagnostiku (Hrdá and Šterzl, 2003; Olhoffer et al., 1997). Autoimunitní onemocnění pravděpodobně mohou neplodnost ovlivňovat i nepřímo, lze je tedy označit za jakési sekundární imunologické příčiny neplodnosti. Jedná se o autoimunity systémové, jako jsou např. APS, systémový lupus erythematoses (SLE), vaskulitidy, revmatoidní artritida a další, i orgánově specifické, jako

např. celiakie, diabetes mellitus, roztroušená skleróza či onemocnění štítné žlázy. Vzhledem k zaměření práce a komplexitě této problematiky se jimi dále nebudu podrobněji zabývat.

## 5 Diagnostika a léčba

Imunologická vyšetření jsou dostupná v imunologických laboratořích zaměřených na reprodukční biologii, a to ve veřejném i soukromém sektoru. Imunologickou ambulanci těchto zařízení by měl pár navštívit po zhruba ročním neúspěšné snaze o početí, či při diagnóze, s kterou je neplodnost spojována. Stanovení zmíněných protilátek slouží k zjištění možného vlivu na neplodnost, v některých případech mohou ale představovat také marker pro diagnózu a monitorování autoimunitních onemocnění. Protilátky jsou nejčastěji detekovány v séru pacientky, a to s využitím metod ELISA, nepřímé imunofluorescence nebo imunoblotu. V případě protilátek proti spermii je využíván také nepřímý immunobead test (IBT), nepřímý test smíšené antiglobulinové reakce (MAR) a při odběru CM tray aglutinační test (TAT), postkoitální test či vyšetření ovulačního sekretu Kremer testem (Hrdá and Šterzl, 2003; Ulčová-Gallová and Madar, 2016).

Pro léčbu ASA se doporučuje kondomová terapie pro zamezení expozice antigenů a léčba imunosupresivy – kortikosteroidy (Mazumdar and Levine, 1998). Lze využít také lokální aplikaci kortikosteroidů do oblasti ektocervixu (Ulčová-Gallová, 1997). Při léčbě různých typů autoprotiátek a dalších imunitních reakcí lze využít kortikosteroidy, kyselinu acetylsalicylovou (aspirin) v kombinaci s heparinem, plazmaferézu či systémovou enzymoterapii (Hudeček et al., 2009). Pozitivní výsledky přináší také využití intravenózních imunoglobulinů (Han and Lee, 2018). Významnou roli při léčbě neplodnosti mají metody asistované reprodukce a specializované laboratorní metody. V nabídce center asistované reprodukce v ČR nalezneme např. IVF, ICSI, embryo transfer (ET), intrauterinní inseminaci (IUI), asistovaný hatching, kryokonzervaci, vitrifikaci či EmbryoGlue metodu (URL 4).



## 6 Závěr

Imunologické příčiny jsou prokazatelně významnou skupinou původu neplodnosti nejen u žen. Při aloimunitních a autoimunitních reakcích dochází k tvorbě protilátek proti spermiím, strukturám folikulů a oocytů, fosfolipidům, jaderným proteinům a nukleovým kyselinám, enzymům a receptorům štítné žlázy a dalším. Protilátky tvořené proti těmto strukturám jsou pravděpodobnou příčinou idiopatické neplodnosti, která představuje až 15 % z celkového odhadovaného počtu neplodných párů (Arefi et al., 2005). Tyto protilátky jsou imunoglobuliny tříd A, G a M. Lze je detekovat v krevním séru, cervikálním hlenu, folikulární a peritoneální tekutině. Prevalence, vliv a další význam protilátek je předmětem mnoha studií. Například prevalence protilátek proti spermiím u neplodných párů byla stanovena na 9 % ale i na 31 % ve dvou rozdílných studiích (Collins et al., 1993; Menge et al., 1982). Přítomnost těchto protilátek může inhibovat fertilizaci, vývoj a implantaci embrya, nebo zapříčinit opakované potrácení. Tyto poznatky mohou u žen s idiopatickou neplodností přispět k doporučení příslušných léčiv a dalších vhodných metod, a nakonec k vyléčení neplodného páru.

Přesné mechanismy fungování protilátek v souvislosti s neplodností zatím nejsou známy a existující hypotézy zatím nebyly potvrzeny. To je důsledkem kontradiktorních výsledků některých z provedených studií, které navíc znesnadňují také vyhodnocení prevalence těchto protilátek. Pro eliminaci možných odchylek a chyb ve výsledcích nových studií by bylo vhodné především zavést jednotný výběr metod, které jsou pro stanovení příslušných protilátek vhodné a co možná nejpresnější, a zvětšit velikost vzorku vyšetřovaných žen.

V úplném závěru práce bych chtěla zdůraznit problematiku pravděpodobných negativních důsledků IVF. Výsledky studií zmíněných v předchozích kapitolách prokazují přímou souvislost mezi prevalencí protilátek a počtem absolvovaných IVF cyklů. Proto je důležité (nejen) imunologické příčiny neplodnosti včas a správně diagnostikovat. Je tak možné předejít zbytečným zásahům do organismu a zavést příslušnou terapii. Ačkoliv jsou metody asistované reprodukce nedocenitelným přínosem pro léčbu neplodnosti, je vhodné je provádět pouze u žen, kterým běžná léčba nepomohla, nebo u kterých jsou z různých důvodů opravdu jediným řešením.

## Seznam použité literatury

- Amjadi F, Salehi E, Mehdizadeh M, Aflatoonian R. 2014. Role of the innate immunity in female reproductive tract. *Advanced Biomedical Research* 3(1):1–12.
- Andree HAM, Stuart MCA, Hermens WT, Reutelingsperger CPM, Hemker HC, Frederik PM, Willems GM. 1992. Clustering of lipid-bound annexin V may explain its anticoagulant effect. *Journal of Biological Chemistry* 267(25):17907–17912.
- Arefi S, Tehrani MJ, Akhondi MM, Mousavi AR, Heidari M, Bayat AA, Tabaei AS. 2005. Anti-zona pellucida antibodies in infertile patients in relation to multiple puncture of ovaries and unexplained infertility. *Iranian Journal of Reproductive Medicine* 3(1):30–35.
- Baker TG. 1963. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 158:417–433.
- Bandoh R, Yamano S, Kamada M, Daitoh T, Aono T. 1992. Effect of sperm-immobilizing antibodies on the acrosome reaction of human spermatozoa. *Fertility and Sterility* 57(2):387–392.
- Barbarino-Monnier P, Gobert B, Guillet-Rosso F, Bene MC, Landes P, Faure G. 1991. Antiovary antibodies, repeated attempts, and outcome of in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 56(5):928–932.
- Barbarino-Monnier P, Jouan C, Dubois M, Gobert B, Faure G, Béné MC. 2003. Anti-ovarian antibodies and in vitro fertilization: Cause or consequence? *Gynecologie Obstetrique Fertilité* 31(9):770–3.
- Bathla H, Sidhu KS. 1996. Effect of sperm-agglutinating antibodies on sperm capacitation and acrosome reaction. *International journal of fertility and menopausal studies* 41(6):528–33.
- Bouman A, Jan Heineman M, Faas MM. 2005. Sex hormones and the immune response in humans. *Human Reproduction Update* 11(4):411–423.
- Brazdova A, Senechal H, Peltre G, Poncet P. 2016. Immune aspects of female infertility. *International Journal of Fertility & Sterility* 10(1):1–10.
- Buckingham KL, Chamley LW. 2009. A critical assessment of the role of antiphospholipid antibodies in infertility. *Journal of Reproductive Immunology* 80(1–2):132–145.
- Bulun SE. 2009. Endometriosis. *New England Journal of Medicine* 360(3):268–279.
- Calongos G, Hasegawa A, Komori S, Koyama K. 2009. Harmful effects of anti-zona pellucida antibodies in folliculogenesis, oogenesis, and fertilization. *Journal of Reproductive Immunology* 79(2):148–155.
- Cantuária AA. 1977. Sperm immobilizing antibodies in the serum and cervicovaginal secretions of infertile and normal women. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 84(11):865–8.
- Chacho KJ, Hage CW, Shulman S. 1991. The relationship between female sexual practices and the development of antisperm antibodies. *Fertility and Sterility* 56(3):461–464.
- Čihák R. 2013. *Anatomie 2*. 3rd ed. Praha: Grada Publishing, a.s.
- Clarke GN. 1988. Immunoglobulin class and regional specificity of antispermatozoal autoantibodies blocking cervical mucus penetration by human spermatozoa. *American Journal of Reproductive Immunology and Microbiology* 16(4):135–8.
- Clarke GN, Hyne R V., Du Plessis Y, Johnston WIH. 1988. Sperm antibodies and human in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 49(6):1018–1025.
- Cochard LR. 2012. *Netter's Atlas of Human Embryology*. Chicago: Saunders.
- Collins JA, Burrows EA, Yeo J, YoungLai E V. 1993. Frequency and predictive value of antisperm antibodies among infertile couples. *Human reproduction (Oxford, England)* 8(4):592–8.
- Correa CHM, Mattos ALG, Ferrari AN. 2001. In situ variation of cervical mucus pH during exposure to atmospheric air. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 34(6):767–770.
- Cunningham DS, Fulgham DL, Rayl DL, Hansen KA, Alexander NJ. 1991. Antisperm antibodies to sperm surface antigens in women with genital tract infection. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 164(3):791–796.
- Damewood MD, Zacur HA, Hoffman GJ, Rock JA. 1986. Circulating antiovarian antibodies in premature ovarian failure. *Obstetrics and gynecology* 68(6):850–4.
- Du YJ, Xin X, Cui N, Jiang L, Yang AM, Hao GM, Gao BL. 2019. Effects of controlled ovarian stimulation on thyroid stimulating hormone in infertile women. *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology* 234:207–212.
- Eidukaite A, Tamosiunas V. 2004. Endometrial and Peritoneal Macrophages: Expression of Activation and Adhesion Molecules. *American Journal of Reproductive Immunology* 52(2):113–117.
- Fahey JV., Schaefer TM, Channon JY, Wira CR. 2005. Secretion of cytokines and chemokines by polarized human epithelial cells from the female reproductive tract. *Human Reproduction* 20(6):1439–1446.
- Fazeli A, Bruce C, Anumba DO. 2005. Characterization of Toll-like receptors in the female reproductive tract in humans. *Human Reproduction* 20(5):1372–1378.

- Fénichel P, Gobert B, Carré Y, Barbarino-Monnier P, Hiéronimus S. 1999. Polycystic ovary syndrome in autoimmune disease. *Lancet* 353(9171):2210.
- Flynn L, Byrne B, Carton J, O'Farrelly C, Kelehan P, O'Herlihy C. 2003. Menstrual Cycle Dependent Fluctuations in NK and T-Lymphocyte Subsets from Non-Pregnant Human Endometrium. *American Journal of Reproductive Immunology* 43(4):209–217.
- Geva E, Vardinon N, Lessing JB, Lerner-Geva L, Azem F, Yovel I, Burke M, Yust I, Grunfeld R, Amit A. 1996. Organ-specific autoantibodies are possible markers for reproductive failure: a prospective study in an in-vitro fertilization-embryo transfer programme. *Human Reproduction* 11(8):1627–31.
- Gilbert SF. 2000. *Developmental Biology*. 6th ed. Sunderland (MA): Sinauer Associates.
- Givan AL, White HD, Stern JE, Colby E, Gosselin EJ, Guyre PM, Wira CR. 1997. Flow cytometric analysis of leukocytes in the human female reproductive tract: Comparison of fallopian tube, uterus, cervix, and vagina. *American Journal of Reproductive Immunology* 38(5):350–359.
- Gobert B, Barbarino-Monnier P, Guillet-May F, Béné MC, Faure GC. 1992. Anti-ovary antibodies after attempts at human in vitro fertilization induced by follicular puncture rather than hormonal stimulation. *Journal of Reproduction and Fertility* 96(1):213–8.
- Gorodeski GI. 1998. Estrogen increases the permeability of the cultured human cervical epithelium by modulating cell deformability. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 275(3):C888–C899.
- Haas GG, Cines DB, Schreiber AD. 2010. Immunologic Infertility: Identification of Patients with Antisperm Antibody. *New England Journal of Medicine* 303(13):722–727.
- Han AR, Lee SK. 2018. Immune modulation of i.v. immunoglobulin in women with reproductive failure. *Reproductive Medicine and Biology* 17(2):115–124.
- Hassold T, Abruzzo M, Adkins K, Griffin D, Merrill M, Millie E, Saker D, Shen J, Zaragoza M. 1996. Human aneuploidy: Incidence, origin and etiology. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 28(3):167–175.
- Hjort T. 1999. Antisperm antibodies. Antisperm antibodies and infertility: an unsolvable question? *Human Reproduction* 14(10):2423–2426.
- Hořejší J, Martínek J, Nováková D, Madar J, Brandejska M. 2000. Autoimmune antiovarian antibodies and their impact on the success of an IVF/ET program. *Annals of the New York Academy of Sciences* 900:351–6.
- Hořejší V, Bartůňková J, Brdička T, Špišček R. 2017. *Základy imunologie*. 6. Praha: Triton.
- Hossain A, Islam N, Aryal S, Madanes A. 2007. The prevalence of circulating anti sperm antibody (ASA) in infertile population representing of all etiologies. *Middle East Fertility Society Journal* 12(1):27–30.
- Hrdá P, Šterzl I. 2003. Vyšetření autoprotilátek – současné možnosti. *Interní medicína pro praxi* 8:410–413.
- Hudeček R, Krajščovičová R, Ventruba P. 2009. Farmakologické možnosti embryoprotektivní terapie infertilních žen. *Klinická farmakologie a farmacie* 23(2):76–82.
- Jager S, Kremer J, Kuiken J, van Slochteren-Draaisma T, Mulder I, de Wilde-Janssen IW. 1981. Induction of the shaking phenomenon by pretreatment of spermatozoa with sera containing antispermatozoal antibodies. *Fertility and Sterility* 36(6):784–791.
- Johansson EL, Rudin A, Wassén L, Holmgren J. 1999. Distribution of lymphocytes and adhesion molecules in human cervix and vagina. *Immunology* 96(2):272–277.
- Kamada M, Maegawa M, Daitoh T, Mori K, Yamamoto S, Nakagawa K, Yamano S, Irahara M, Aono T, Mori T. 2006. Sperm-zona pellucida interaction and immunological infertility. *Reproductive Medicine and Biology* 5(2):95–104.
- Kamieniczna M, Domagała A, Kurpisz M. 2003. The frequency of antisperm antibodies in infertile couples--a Polish pilot study. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research* 9(4):CR142-9.
- Kapoor A, Talib VH, Verma SK. 1999. Immunological assessment of infertility by estimation of antisperm antibodies in infertile couples. *Indian Journal of Pathology & Microbiology* 42(1):37–43.
- Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA. 2000. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 124(1):71–81.
- Keskin DB, Allan DSJ, Rybalov B, Andzelm MM, Stern JNH, Kopcow HD, Koopman LA, Strominger JL. 2007. TGFbeta promotes conversion of CD16+ peripheral blood NK cells into CD16- NK cells with similarities to decidual NK cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104(9):3378–3383.
- Kikuchi K, Shibahara H, Hirano Y, Kohno T, Hirashima C, Suzuki T, Takamizawa S, Suzuki M. 2003. Antinuclear antibody reduces the pregnancy rate in the first IVF-ET treatment cycle but not the cumulative pregnancy rate without specific medication. *American Journal of Reproductive Immunology* 50(4):363–7.
- Koyama K, Hasegawa A, Inoue M, Isojima S. 1991. Blocking of human sperm-zona interaction by monoclonal antibodies to a glycoprotein family (ZP4) of porcine zona pellucida. *Biology of Reproduction* 45(5):727–35.

- Kutteh WH, Hatch KD, Blackwell RE, Mestecky J. 1988. Secretory immune system of the female reproductive tract: I. Immunoglobulin and secretory component-containing cells. *Obstetrics and Gynecology* 71(1):56–60.
- Kwak JYH, Gilman-Sachs A, Beaman KD, Beer AE. 1992. Autoantibodies in women with primary recurrent spontaneous abortion of unknown etiology. *Journal of Reproductive Immunology* 22(1):15–31.
- Lee JY, Lee M, Lee SK. 2011. Role of endometrial immune cells in implantation. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine* 38(3):119–125.
- Li Y, Wang Y, Ma Y, Lan Y, Jia C, Liang Y, Wang S. 2015. Investigation of the impact of antinuclear antibody on the outcome of in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatment. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology* 54(6):742–748.
- Liu DY, Clarke GN, Gordon Baker HW. 1991. Inhibition of human sperm-zona pellucida and sperm-oolemma binding by antisperm antibodies. *Fertility and Sterility* 55(2):440–442.
- Luborsky J, Llanes B, Davies S, Binor Z, Radwanska E, Pong R. 1999. Ovarian autoimmunity: Greater frequency of autoantibodies in premature menopause and unexplained infertility than in the general population. *Clinical Immunology* 90(3):368–374.
- Luborsky J, Pong R. 2000. Pregnancy outcome and ovarian antibodies in infertility patients undergoing controlled ovarian hyperstimulation. *American Journal of Reproductive Immunology* 44(5):261–265.
- Luborsky JL, Visintin I, Boyers S, Asari T, Caldwell B, DeCherney A. 1990. Ovarian antibodies detected by immobilized antigen immunoassay in patients with premature ovarian failure. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 70(1):69–75.
- Mahdi BM, Salih WH, Caitano AE, Kadhum BM, Ibrahim DS. 2011. Frequency of antisperm antibodies in infertile women. *Journal of Reproduction and Infertility* 12(4):261–265.
- Mandelbaum SL, Diamond MP, DeCherney AH. 1989. Relationship of antibodies to sperm head to etiology of infertility in patients undergoing in vitro fertilization/embryo transfer. *American Journal of Reproductive Immunology* 19(1):3–5.
- Mantzavinos T, Dalamanga N, Hassiakos D, Dimitriadou F, Konidaris S, Zourlas PA. 1993. Assessment of autoantibodies to the zona pellucida in serum and follicular fluid in in-vitro fertilization patients. *Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology* 20(2):111–5.
- Marshburn PB, Kutteh WH. 1994. The role of antisperm antibodies in infertility. *Fertility and Sterility* 61(5):799–811.
- Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, Vanderpoel S, Stevens GA. 2012. National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. *PLOS Medicine* 9(12):1–12.
- Mashu A, Tanabe K, Kamei K, Saijo A, Nozawa S. 1994. Sperm-immobilizing antibodies in women undergoing artificial insemination with donor sperm. *Fertility and Sterility* 62(3):651–653.
- Matalon ST, Blank M, Ornoy A, Shoenfeld Y. 2001. The association between anti-thyroid antibodies and pregnancy loss. *American Journal of Reproductive Immunology* 45(2):72–77.
- Matsubayashi H, Arai T, Izumi SI, Sugi T, McIntyre JA, Makino T. 2001. Anti-annexin V antibodies in patients with early pregnancy loss or implantation failures. *Fertility and Sterility* 76(4):694–699.
- Mazumdar S, Levine AS. 1998. Antisperm antibodies: Etiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Fertility and Sterility* 70(5):799–810.
- Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg H. 2016. *Williams textbook of endocrinology*. 13th ed. Philadelphia, PA: Elsevier.
- Menge AC, Beitner O. 1989. Interrelationships among semen characteristics, antisperm antibodies, and cervical mucus penetration assays in infertile human couples. *Fertility and Sterility* 51(3):486–492.
- Menge AC, Medley NE, Mangione CM, Dietrich JW. 1982. The incidence and influence of antisperm antibodies in infertile human couples on sperm-cervical mucus interactions and subsequent fertility. *Fertility and Sterility* 38(4):439–46.
- Moghissi KS, Sacco AG, Borin K. 1980. Immunologic infertility. I. Cervical mucus antibodies and postcoital test. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 136(7):941–948.
- Molazadeh M, Karimzadeh H, Azizi MR. 2014. Prevalence and clinical significance of antinuclear antibodies in Iranian women with unexplained recurrent miscarriage. *Iranian Journal of Reproductive Medicine* 12(3):221.
- Mori T, Nishimoto T, Kitagawa M, Noda Y, Nishimura T, Oikawa T. 1978. Possible presence of autoantibodies to zone pellucida in infertile women. *Experientia* 34(6):797–9.
- Narayanan M, Murthy PS, Munaf SA, Shah LC, Kini MD. 1995. Antiovarian antibodies and their effect on the outcome of assisted reproduction. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 12(9):599–605.
- Naz RK. 1992. Effects of Antisperm Antibodies on Early Cleavage of Fertilized Ova1. *Biology of Reproduction* 46(1):130–139.

- Naz RK, Ahmad K, Menge AC. 1993. Antiidiotypic antibodies to sperm in sera of fertile women that neutralize antisperm antibodies. *Journal of Clinical Investigation* 92(5):2331–2338.
- Naz RK, Menge AC. 1994. Antisperm antibodies: origin, regulation, and sperm reactivity in human infertility. *Fertility and Sterility* 61(6):1001–1013.
- Nishimoto T, Mori T, Yamada I, Nishimura T. 1980. Autoantibodies to zona pellucida in infertile and aged women. *Fertility and Sterility* 34(6):552–556.
- Nocera M, Chu TM. 1993. Transforming Growth Factor  $\beta$  as an Immunosuppressive protein in human seminal plasma. *American Journal of Reproductive Immunology* 30(1):1–8.
- Nouza K, Madar J, Nouza M. 2007. Imunologie a imunopatologie reprodukčního procesu I. Neplodnost (Sterilita). *Alergie* 2:133–141.
- Novosad JA, Kalantaridou SN, Tong Z Bin, Nelson LM. 2003. Ovarian antibodies as detected by indirect immunofluorescence are unreliable in the diagnosis of autoimmune premature ovarian failure: A controlled evaluation. *BMC Women's Health* 3(1):2.
- Olhoffer IH, Peng SL, Craft J. 1997. Revisiting autoantibody profiles in systemic lupus erythematosus. *The Journal of Rheumatology* 24(2):297–302.
- Politch JA, Tucker L, Bowman FP, Anderson DJ. 2007. Concentrations and significance of cytokines and other immunologic factors in semen of healthy fertile men. *Human Reproduction* 22(11):2928–2935.
- Poppe K, Glinoeer D, Van Steirteghem A, Tournaye H, Devroey P, Schiettecatte J, Velkeniers B. 2003. Thyroid dysfunction and autoimmunity in infertile women. *Thyroid* 12(11):997–1001.
- Pudney J, Quayle AJ, Anderson DJ. 2005. Immunological microenvironments in the human vagina and cervix: mediators of cellular immunity are concentrated in the cervical transformation zone. *Biology of Reproduction* 73(6):1253–63.
- Řežábek K. 2008. Léčba neplodnosti. Grada Publishing, a.s.
- Rojansky N, Roll D, Meirou D. 1997. Polycystic ovary syndrome. an autoimmune disease? *The Journal of Reproductive Medicine* 42(6):325–8.
- Shibahara H, Burkman LJ, Isojima S, Alexander NJ. 1993. Effects of sperm-immobilizing antibodies on sperm-zona pellucida tight binding. *Fertility and Sterility* 60(3):533–539.
- Shivers CA, Dunbar BS. 1977. Autoantibodies to zona pellucida: a possible cause for infertility in women. *Science* 197(4308):1082–4.
- Sonigo C, Bouilly J, Carré N, Tolle V, Caraty A, Tello J, Simony-Conesa FJ, Millar R, Young J, Binart N. 2012. Hyperprolactinemia-induced ovarian acyclicity is reversed by kisspeptin administration. *Journal of Clinical Investigation* 122(10):3791–3795.
- Stein IF, Leventhal ML. 1935. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 29(2):181–191.
- Takamizawa S, Shibahara H, Shibayama T, Suzuki M. 2007. Detection of antizona pellucida antibodies in the sera from premature ovarian failure patients by a highly specific test. *Fertility and Sterility* 88(4):925–932.
- Tasdemir I, Tasdemir M, Fukuda J, Kodama H, Matsui T, Tanaka T. 1995. Effect on sperm-immobilizing antibodies on the spontaneous and calcium-ionophore (A23187)-induced acrosome reaction. *International Journal of Fertility and Menopausal Studies* 40(4):192–5.
- Trifonova RT, Lieberman J, van Baarle D. 2014. Distribution of immune cells in the human cervix and implications for HIV transmission. *American Journal of Reproductive Immunology* 71(3):252–264.
- Twig G, Shina A, Amital H, Shoefeld Y. 2012. Pathogenesis of infertility and recurrent pregnancy loss in thyroid autoimmunity. *Journal of Autoimmunity* 38(2–3):J275–J281.
- Ulcova-Gallova Z. 1997. Ten-year experience with antispermatozoal activity in ovulatory cervical mucus and local hydrocortisone treatment. *American Journal of Reproductive Immunology* 38(3):231–4.
- Ulcova-Gallova Z. 2010. Immunological and physicochemical properties of cervical ovulatory mucus. *Journal of Reproductive Immunology* 86(2):115–121.
- Ulcova-Gallova Z. 2015. The role of antiphospholipid antibodies (aPLs) in infertile women: the long-lasting experience. *Reproductive Medicine and Biology* 14(2):49–55.
- Ulčová-Gallová Z, Babcová K, Nováková P, Micanová Z, Rokyta Z. 2004. Antizonální protilátky v ovulačním hlenu a v séru pacientek s poruchami reprodukce. *Česká Gynekologie* 69(3):215–218.
- Ulcova-Gallova Z, Bibkova K, Micanova Z, Losan P, Babcova K. 2015. Possible effect of extended use of hormonal contraception on increased levels of antiphospholipid antibodies in infertile women. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 75(3):251–254.
- Ulcova-Gallova Z, Krauz V, Novakova P, Milichovska L, Micanova Z, Bibkova K, Sucha R, Turek J, Balvin M, Rokyta Z. 2005. Anti-phospholipid antibodies against phosphatidylinositol, and phosphatidylserine are more significant in reproductive failure than antibodies against cardiolipin only. *American Journal of Reproductive Immunology* 54(2):112–117.
- Ulčová-Gallová Z, Lošan P. Neplodnost Útok imunity.

- Ulčová-Gallová Z, Madar J. 2016. *Imunologie a imunopatologie lidské reprodukce- Vybrané kapitoly*. Aeskulap. Praha: Mladá fronta a.s.
- Ulčová-Gallová Z, Mardešić T. 1996. Does in vitro fertilization (IVF) influence the levels of sperm and zona pellucida (ZP) antibodies in infertile women? *American Journal of Reproductive Immunology* 36(4):216–219.
- Vazquez-Levin MH, Notrica JA, De Fried EP. 1997. Male immunologic infertility: Sperm performance on in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 68(4):675–681.
- Vogt E, Ng AK, Rote NS. 1997. Antiphosphatidylserine antibody removes annexin-V and facilitates the binding of prothrombin at the surface of a choriocarcinoma model of trophoblast differentiation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 177(4):964–972.
- Waldman RH, Cruz JM, Rowe DS. 1972. Sperm migration-inhibiting antibody in human cervicovaginal secretions. *Clinical and Experimental Immunology* 12(1):49–54.
- Wei L-N, Huang R, Li L-L, Fang C, Li Y, Liang X-Y. 2014. Reduced and delayed expression of GDF9 and BMP15 in ovarian tissues from women with polycystic ovary syndrome. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 31(11):1483–90.
- Williams J, Samuel A, Naz RK. 2008. Presence of antisperm antibodies reactive with peptide epitopes of FA-1 and YLP12 in sera of immunoinfertile women. *American Journal of Reproductive Immunology* 59(6):518–524.
- Wira CR, Rodriguez-Garcia M, Patel M V. 2015. The role of sex hormones in immune protection of the female reproductive tract. *Nature Reviews Immunology* 15(4):217–230.
- Witkin SS, Chaudhry A. 1989. Relationship between circulating antisperm antibodies in women and autoantibodies on the ejaculated sperm of their partners. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 161(4):900–903.
- Yasin AL, Yasin AL, Basha WS. 2016. The epidemiology of anti-sperm antibodies among couples with unexplained infertility in north west bank, Palestine. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 10(3):QC01–QC03.
- Yeaman GR, Collins JE, Fanger MW, Wira CR. 2001. CD8+ T cells in human uterine endometrial lymphoid aggregates: Evidence for accumulation of cells by trafficking. *Immunology* 102(4):434–440.
- Yetman DL, Kutteh WH. 1996. Antiphospholipid antibody panels and recurrent pregnancy loss: Prevalence of anticardiolipin antibodies compared with other antiphospholipid antibodies. *Fertility and Sterility* 66(4):540–546.
- Ying Y, Zhong YP, Zhou CQ, Xu YW, Wang Q, Li J, Shen XT, Wu HT. 2012. Antinuclear antibodies predicts a poor IVF-ET outcome: Impaired egg and embryo development and reduced pregnancy rate. *Immunological Investigations* 41(5):458–468.
- Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, Sullivan E, Vanderpoel S. 2009. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. *Fertility and Sterility* 92(5):1520–1524.

## **Internetové zdroje**

URL 1: <[https://www.news-medical.net/health/Types-of-Adnexal-Tumors-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Types-of-Adnexal-Tumors-(Spanish).aspx)>

citováno 5.5.2019

URL 2: <<http://fbt.cz/skripta/viii-rozmnozovaci-soustavy/1-zenske-pohlavni-organy-tehotenstvi-a-porod/>> citováno 1.5.2019

URL 3: <<https://web.stanford.edu/class/siw198q/websites/reprotech/New%20Ways%20of%20Making%20Babies/Causefem.htm>> citováno 15.4.2019

URL 4 <<http://www.fnmotol.cz/car/cenik-vykonu/>> citováno 6.5.2019