

## Poruchy plodnosti: imunologické príčiny a možnosti liečebného ovplyvnenia

PharmDr. Mária Ondrejčíková<sup>1</sup>, RNDr. Elena Tibenská, PhD.<sup>2</sup>, MUDr. Katarína Bergendiová, PhD.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Lekáreň Kvačalova, Bratislava

<sup>2</sup>Medirex, a. s., Bratislava

<sup>3</sup>ImunoVital Centrum, Bratislava

Cieľom práce bolo porovnať vybrané patologicky zvýšené imunologické parametre u pacientok s poruchami plodnosti pred liečbou a po liečbe tromi skúšanými liekmi a na základe výsledkov navrhnúť liečivá prvej voľby pri rôznych imunopatologických stavoch. V súbore 81 pacientok sme sledovali produkciu IFN- $\gamma$  a TNF v bunkách s povrchovými markermi CD3<sup>+</sup> aj CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, pomer T<sub>H</sub>1-/T<sub>H</sub>2-lymfocytov, percento NK-buniek a hodnoty antifosfolipidových protilátok (APA) pred liečbou a po 6 – 12 týždňoch liečby, v ktorej sme použili buď liek Subcuvia (imunoglobulíny), Dexamed (dexametazón) alebo Medrol (metylprednizolón). Najvýraznejšie zníženie zvýšených hodnôt IFN- $\gamma$  sa dosiahlo pri liečbe metylprednizolónom. Pri zvýšených hodnotách TNF aj NK-buniek boli pozorované najlepšie výsledky pri liečbe kortikosteroidmi. Zvýšené hodnoty APA sa najefektívnejšie upravili pri liečbe dexametazónom a imunoglobulínmi.

**Kľúčové slová:** poruchy plodnosti, subkutánne imunoglobulíny, dexametazón, metylprednizolón, antifosfolipidové protilátky

### *Fertility disorders: immunological causes and possible curative impact*

The aim of this study was to compare selected pathologically increased immunological parameters in infertile women before and after therapy with three tested drugs and in accordance with acquired results to propose the first-line drugs in various immunopathologic states. In the group of 81 patients, we compared IFN- $\gamma$  and TNF levels in the cells with CD3<sup>+</sup> and CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> markers, T<sub>H</sub>1/T<sub>H</sub>2 lymphocyte balance, percentage of NK cells and antiphospholipid antibodies (APA) levels before the therapy and after 6 – 12 week-treatment with the prepareate Subcuvia (immunoglobulins), Dexamed (dexamethasone) or Medrol (methylprednisolone). Methylprednisolone achieved the highest reduction of increased IFN- $\gamma$  levels. When examining TNF levels and NK cell levels, the best results were observed in both cases after treatment with corticosteroids. Increased levels of APA were most effectively reduced with dexamethasone and immunoglobulins.

**Keywords:** reproductive disorders, subcutaneous immunoglobulins, dexamethasone, methylprednisolone, antiphospholipid antibodies.

**NewsLab, 2017; roč. 8 (2): 73 – 77**

### Úvod

Príčiny patologického priebehu tehotenstva môžu byť rôzne. Po vylúčení genetickej, hormonálnej, anatomickej, infekčnej a hematologickej príčiny poruchy plodnosti sa testuje prítomnosť patologických mechanizmov imunitného systému. Tie zodpovedajú až za 40 – 60 % neobjasnených prípadov porúch plodnosti. Často sa na neplodnosti podieľa niekoľko faktorov súčasne. Imunitný systém má výraznú úlohu pri intolerancii plodu najmä u pacientok s už rozvinutým systémovým patoimunologickým stavom (imunodeficiencie, alergie, autoimunitné ochorenia). Reprodukčná schopnosť môže byť zasiahnutá abnormálne regulovanými funkciami na rôznych úrovniach. V zárodočných tkanivách muža aj ženy môže byť prítomná akútna aj chronická zápalová reakcia, ktorej výsledkom je lokálne znížená tolerancia semialogénneho plodu. U žien môže byť príčinou infertility autoimunitná (napr. systémový lupus erythematosus) aj aloimunitná reakcia organizmu<sup>(1)</sup>.

Aloimunitné reakcie vznikajú v dôsledku poruchy v regulácii imunitných efektorov, ktorej výsledkom je reakcia nami-

ená proti plodu namiesto navodenia tolerancie. Dôležitú úlohu pri neplodnosti má porušenie preklopenia pomeru T<sub>H</sub>1-/T<sub>H</sub>2-lymfocytov. Ak sa hladina T<sub>H</sub>2-lymfocytov a cytokínov nimi produkovaných (najmä IL-4) nezvýši na úroveň, ktorá dokáže zabezpečiť utlmenie embryotoxickéj aktivity T<sub>H</sub>1-lymfocytov a ich efektorov, významne sa zvyšuje riziko odvrhnutia plodu materským organizmom. T<sub>H</sub>1-lymfocyty produkujú cytokíny, ktoré aktivujú ďalšie efekторы namierené proti plodu. Spomedzi nich je výrazná aktivácia NK-buniek a makrofágov. Z cytokínov, ktoré produkujú T<sub>H</sub>1-lymfocyty, má významnú úlohu pri aktivácii embryotoxických efektorov najmä IL-1 a IFN- $\gamma$ . IFN- $\gamma$  je okrem priameho toxického pôsobenia na plod schopný aktivovať trofoblast na tvorbu HLA-znakov. Zvýraznený povrch trofoblastu je potom jednoduchší terč pre protilátky aj bunky s cytotoxickým pôsobením<sup>(1)</sup>. T<sub>H</sub>1-lymfocyty produkujú aj IL-2 a TNF, ktoré spolu s IFN- $\gamma$  pôsobia embryotoxicky, t. j. poškodzujú endotel cievneho zásobenia plodu. TNF pôsobí ako stimulátor programovanej smrti buniek vilózneho trofoblastu. IFN- $\gamma$  spôsobuje deštrukciu buniek trofoblastu mediovaných TNF<sup>(2)</sup>. Spomínané mechanizmy

rezultujú do prokoagulačných procesov, ktoré sa končia trombózou, ischémiou a smrťou plodu.

Autoimunitné reakcie môžu prebiehať proti zárodočným bunkám pohlavného systému žien aj mužov. Neplodnosť mužov môže byť zapríčinená autoprotiilátkami proti spermiami aj imunitnými celulárnymi mechanizmami namierenými proti spermiami. U žien s poruchami plodnosti sa môžu nachádzať autoprotiilátky proti ováriám, zona pellucida a protiilátky proti spermiami. Z autoimunitných procesov, ktoré poškodzujú priamo plod, je najčastejší antifosfolipidový syndróm (APS). Pri APS sa vyskytujú v tele ženy antifosfolipidové protiilátky proti  $\beta$ 2-glykoproteínu I, ktorý je súčasťou membrán cievneho endotelu, protiilátky proti anexínu V a množstvo iných. Aktivita antifosfolipidových protiilátok spočíva v poškodzovaní ciev v deciduu a placentе, čo má za následok trombotické príhody a miestne infarkty<sup>(3)</sup>.

Pre každý z týchto stavov je potrebné stanoviť najefektívnejšiu liečbu. V súčasnosti sa najčastejšie využíva liečba imunoglobulínmi alebo kortikosteroidmi. Každá z nich však nesie negatíva; imunoglobulíny sú nákladné a nie vždy sa nimi dosiahne uspokojivý účinok, na druhej strane kortikosteroidy majú široké spektrum nežiaducich účinkov, ktoré sa prejavujú u pomerne veľkého percenta užívateľov. Keďže neexistuje oficiálny algoritmus pre voľbu konkrétnej liečby pre dané problémy, lekári sa pri voľbe liečebnej schémy riadia skôr empiricky. Pri rastúcej incidencii porúch plodnosti je potrebné jednoznačne stanoviť, aké konkrétne liečivo a pri ktorých patologicky zvýšených parametroch bude metódou prvej voľby. Umožnilo by to rýchlejšiu a terapeuticky aj ekonomicky efektívnejšiu liečbu.

## Metodika práce

V štúdiu sme spracovali údaje z chorobopisov pacientok, ktoré sa liečili v imunologickom centre ImunoVital od novembra 2014 do februára 2016. Súbor pozostával z 81 žien v reprodukčnom veku, ktoré trpeli poruchami plodnosti, t. j. spontánnymi opakovanými potratmi alebo neplodnosťou (neschopnosťou počať plod). Sledovaným pacientkam sa odobrala krv na komplexné imunologické vyšetrenie, na základe ktorého sme určili, ktoré parametre sa nachádzajú mimo referenčných hodnôt. Pacientky následne podstúpili jednu z troch skúšaných terapií: subkutánna aplikácia imunoglobulínov (liek Subcuvia), injekčná aplikácia dexameta-

zónu (Dexamed) alebo perorálna aplikácia metylprednizolónu (Medrol). Dĺžka terapie sa pohybovala v rozmedzí 6 – 12 týždňov. Po tomto čase nasledovalo kontrolné imunologické vyšetrenie tých parametrov, ktoré vykazovali pri vstupnom vyšetrení patologicky zvýšené hodnoty. Všetky laboratórne údaje sa získali z imunologického laboratória spoločnosti Medirex, a. s. V rámci analytickej časti práce sme pacientky rozdelili do troch skupín, pričom kritériami na zaradenie do danej skupiny boli v 1. skupine zvýšené hodnoty IFN- $\gamma$  alebo TNF, v 2. skupine zvýšené percento NK-buniek a v 3. skupine zvýšené hodnoty antifosfolipidových protiilátok nad referenčné hodnoty. Imunologické parametre sme spracovali Studentovým párovým t-testom v programe Microsoft Office Excel 2013 (Microsoft, USA). Následne sme sa snažili určiť, ktorá liečba sa javí ako najvhodnejšia na úpravu jednotlivých patologicky zvýšených parametrov na fyziologické hodnoty.

## Výsledky

Na základe stanovenia intracelulárnej hladiny IFN- $\gamma$  v bunkách s povrchovými znakmi CD3<sup>+</sup> a CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> sme zistili, že pri bunkách s CD3<sup>+</sup> znakmi došlo k štatisticky významnému zníženiu hladiny IFN- $\gamma$  pri všetkých typoch liečby (Subcuvia: pokles priemerne o 2,23 percentuálneho bodu ( $p = 0,026$ ), Dexamed: pokles o 3,74 percentuálneho bodu ( $p = 0,0007$ ), Medrol: pokles o 4,6 percentuálneho bodu ( $p = 0,004$ )) a pri bunkách s povrchovými znakmi CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> sme zaznamenali štatisticky významný terapeutický efekt len pri liečbe Medrolom (pokles IFN- $\gamma$  o 2,54 percentuálneho bodu ( $p = 0,019$ )). Prehľad výsledkov uvádzame v **tabuľke 1**.

V ďalšom kroku sme analogicky stanovili intracelulárne hodnoty TNF. Podávanie Subcuvia nejavilo štatisticky významné zníženie hladín TNF ( $p > 0,05$ ). Po podávaní oboch kortikoidov došlo k štatisticky významnému poklesu hladín TNF (Dexamed: v bunkách so znakmi CD3<sup>+</sup> pokles o 5,01 percentuálneho bodu ( $p = 0,002$ ) a v bunkách s CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> znakmi pokles o 6,20 percentuálneho bodu ( $p = 0,002$ ), Medrol: v bunkách s CD3<sup>+</sup> znakmi pokles o 5,96 percentuálneho bodu ( $p = 0,022$ ) a v bunkách so znakmi CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> pokles o 5,73 percentuálneho bodu ( $p = 0,025$ )). Prehľad výsledkov znázorňuje **tabuľka 2**.

Následne sme stanovili pomer T<sub>H</sub>1-/T<sub>H</sub>2-lymfocytov, ktorý bol reprezentovaný pomerom cytokínov produkovaných T<sub>H</sub>1-lymfocytmi (IFN- $\gamma$  a TNF) k principiálnemu cytokínu

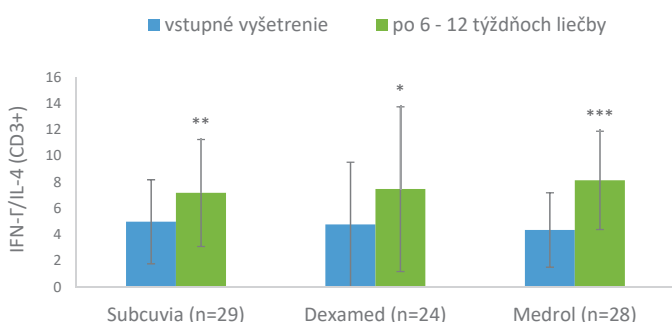
**Tabuľka 1.** Porovnanie intracelulárnej produkcie IFN- $\gamma$  (CD3<sup>+</sup> a CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>) pred začiatkom liečby a po 6 - 12 týždňoch liečby liekmi Subcuvia, Dexamed a Medrol

IFN- $\gamma$ (CD3 <sup>+</sup> )	Subcuvia (n = 29)				IFN- $\gamma$ (CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> )	Subcuvia (n = 29)			
	Priemer	Smer. odch.	Rozdiel	p-value		Priemer	Smer. odch.	Rozdiel	p-value
Vstupné vyšetrenie	33,30	± 6,45	-2,23	0,026	Vstupné vyšetrenie	25,05	± 7,28	0,33	0,351
Po 6 - 12 týždňoch liečby	31,07	± 6,54			Po 6 - 12 týždňoch liečby	25,38	± 7,22		
	Dexamed (n = 24)					Dexamed (n = 24)			
	Priemer	Smer. odch.	Rozdiel	p-value		Priemer	Smer. odch.	Rozdiel	p-value
Vstupné vyšetrenie	33,92	± 8,24	-3,74	0,0007	Vstupné vyšetrenie	25,12	± 8,46	0,6	0,341
Po 6 - 12 týždňoch liečby	30,18	± 8,74			Po 6 - 12 týždňoch liečby	25,72	± 10,69		
	Medrol (n = 28)					Medrol (n = 28)			
	Priemer	Smer. odch.	Rozdiel	p-value		Priemer	Smer. odch.	Rozdiel	p-value
Vstupné vyšetrenie	35,26	± 5,01	-4,6	0,004	Vstupné vyšetrenie	28,03	± 6,82	-2,54	0,019
Po 6 - 12 týždňoch liečby	30,66	± 7,28			Po 6 - 12 týždňoch liečby	25,49	± 7,06		

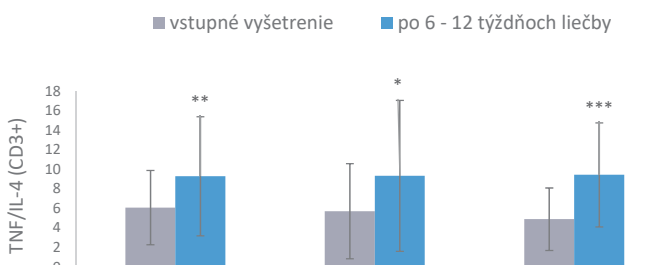
**Tabuľka 2.** Porovnanie intracelulárnej produkcie TNF (CD3<sup>+</sup> a CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>) pred začiatkom liečby a po 6 - 12 týždňoch liečby liekmi Subcuvia, Dexamed a Medrol

TNF (CD3 <sup>+</sup> )	Subcuvia (n = 29)				TNF (CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> )	Subcuvia (n = 29)			
	Priemer	Smer. odch.	Rozdiel	p-value		Priemer	Smer. odch.	Rozdiel	p-value
Vstupné vyšetrenie	41,92	± 10,55	-2,80	0,079	Vstupné vyšetrenie	43,04	± 11,20	-3,12	0,086
Po 6 - 12 týždňoch liečby	39,12	± 9,32			Po 6 - 12 týždňoch liečby	39,92	± 10,54		
	Dexamed (n = 24)					Dexamed (n = 24)			
	Priemer	Smer. odch.	Rozdiel	p-value		Priemer	Smer. odch.	Rozdiel	p-value
Vstupné vyšetrenie	41,07	± 10,08	-5,01	0,002	Vstupné vyšetrenie	42,92	± 10,41	-6,20	0,002
Po 6 - 12 týždňoch liečby	36,06	± 9,90			Po 6 - 12 týždňoch liečby	36,72	± 11,97		
	Medrol (n = 28)					Medrol (n = 28)			
	Priemer	Smer. odch.	Rozdiel	p-value		Priemer	Smer. odch.	Rozdiel	p-value
Vstupné vyšetrenie	40,80	± 9,40	-5,96	0,022	Vstupné vyšetrenie	41,67	± 10,06	-5,73	0,025
Po 6 - 12 týždňoch liečby	34,84	± 11,32			Po 6 - 12 týždňoch liečby	35,94	± 11,67		

**Graf 1.** Porovnanie pomeru IFN- $\gamma$ /IL-4 (CD3<sup>+</sup>) pred začiatkom liečby a po 6 - 12 týždňoch liečby liekmi Subcuvia, Dexamed a Medrol



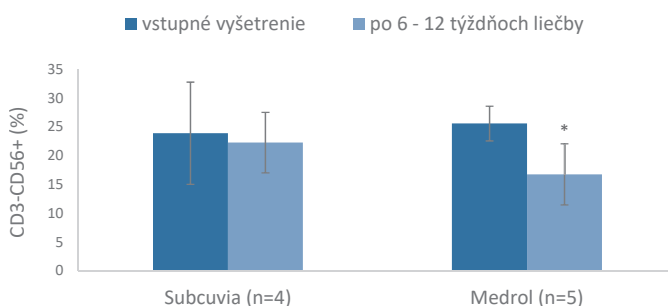
**Graf 2.** Porovnanie pomeru TNF/IL-4 (CD3<sup>+</sup>) pred začiatkom liečby a po 6 - 12 týždňoch liečby liekmi Subcuvia, Dexamed a Medrol



produkovanému T<sub>H</sub>2-lymfocytm (IL-4). Pri sledovaní pomeru IFN- $\gamma$ /IL-4 (CD3<sup>+</sup>) sme odhalili pri všetkých skúšaných liekoch štatisticky významné zvýšenie pomeru v prospech T<sub>H</sub>1-lymfocytov (Medrol: nárast pomeru o 3,78 jednotky v prospech IFN- $\gamma$  (p = 0,00002), Dexamed: nárast o 2,69 jednotky (p = 0,026), Subcuvia: nárast o 2,19 jednotky (p = 0,003) (**graf 1**). Analogicky sme postupovali aj pri bunkách nesúcich povrchové markery CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> (Medrol: nárast pomeru o 6,67 jednotky, Subcuvia a Dexamed nss (p > 0,05).

Ďalej sme sledovali pomer T<sub>H</sub>1-/T<sub>H</sub>2-lymfocytov prezentovaný cytokínmi TNF a IL-4 pri bunkách s CD3<sup>+</sup> znakmi (Medrol: nárast pomeru TNF/IL-4 o 4,54 jednotky (p = 0,0001), Dexamed: nárast pomeru o 3,62 jednotky (p = 0,013), Subcuvia: nárast o 3,21 jednotky (p = 0,004)) (**graf 2**) a CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> znakmi (Medrol: nárast o 8,52 jednotky (p = 0,00003), Dexamed a Subcuvia nss (p > 0,05).

**Graf 3.** Porovnanie zastúpenia NK-buniek (CD3-CD56<sup>+</sup>) pred začiatkom liečby a po 6 - 12 týždňoch liečby liekmi Subcuvia a Medrol



Ďalším z cieľov štúdie bolo porovnať populáciu NK-buniek (CD3-CD56<sup>+</sup>). Dexamedom bola liečená iba jedna pacientka, preto sme ho nezahrnuli do štatistického spracovania dát (populácia NK-buniek pred liečbou 17,77 %, po liečbe pokles na 8,37 %). Významný bol pokles NK-buniek po liečbe Medrolom, priemerne pokles o 8,84 percentuálneho bodu (p = 0,011). Pri liečbe Subcuviou neboli pozorované štatisticky významné zmeny v populácii NK-buniek (**graf 3**).

V poslednej časti štúdie sme monitorovali hladiny antifosfolipidových protilátok (APA). Najvyššiu úspešnosť dosiahla liečba Dexamedom, ktorú podstúpilo 6 pacientok (n = 5 pokles APA na referenčné hodnoty, n = 1 bez odpovede). Liek Subcuvia sa podával 3 pacientkam (n = 2 pokles APA na fyziologické hodnoty, n = 1 bez odpovede). Perorálnym kortikosteroidom Medrol sa liečilo 9 pacientok (n = 4 úprava hladín APA na fyziologické, n = 5 bez odpovede).

### Diskusia

Ako prvé sme u pacientok s imunologicky zapríčinenými poruchami plodnosti porovnávali hodnoty prozápalových T<sub>H</sub>1 cytokínov (IFN- $\gamma$ , TNF) pred liečbou a po 6 - 12 týždňoch liečby Subcuviou, Dexamedom a Medrolom. Dostupné zdroje uvádzajú, že vhodnými liečivami na zníženie hladín daných cytokínov sa zdajú imunoglobulíny a glukokortikoidy<sup>(4)</sup>. Z našich výsledkov vyplýva, že liečba metylprednizolónom (Medrol) má najvýraznejší efekt na zníženie zvýšených hodnôt IFN- $\gamma$ . Zvýšené hodnoty TNF sa účinne znížili aplikáciou kortikosteroidov, pričom účinnosť dexametazónu a metylprednizolónu sa zdá podobná. Z výsledkov možno usudzovať, že pri zvýšených hodnotách T<sub>H</sub>1 cytokínov je najvhodnejšia

liečba perorálne podávaným metylprednizolónom. Táto liečba je zároveň najlacnejšia a najjednoduchšie sa aplikuje, čo môže prispieť k zvýšeniu kompliance pacientok.

V ďalšej časti práce sme vytvorili pomer  $T_H1$ -/ $T_H2$ -lymfocytov na základe pomeru cytokínov produkovaných týmito bunkami, t. j. pomer  $IFN-\gamma/IL-4$  a  $TNF/IL-4$ . Dalo by sa očakávať, že keď jednotlivé liečivá znižujú hodnoty prozápalových  $T_H1$  cytokínov, pomer  $T_H1$ -/ $T_H2$ -lymfocytov sa bude znižovať. Výsledkom liečby však bolo vo všetkých prípadoch zvýšenie pomeru v prospech  $T_H1$ -lymfocytov. Dá sa to vysvetliť tým, že aj keď hodnoty prozápalových cytokínov klesajú, hodnoty tlmivého  $IL-4$  klesajú ešte výraznejšie. Je diskutabilné, či má zmysel sledovať pomer  $T_H1$ -/ $T_H2$ -lymfocytov pred samotným počatím. Až do momentu oplodnenia je pre telo fyziologické, že  $T_H1$ -lymfocyty v krvi prevládajú – svojím pôsobením zabezpečujú boj proti cudzorodým antigénom, ktorý je nevyhnutný na zachovanie integrity organizmu. Až po oplodnení nastáva fyziologické preklopenie pomeru v prospech tlmivých  $T_H2$ -lymfocytov. Výsledky môžu byť nápomocné v prípadoch, keď sú okrem zvýšených  $T_H1$  cytokínov zároveň znížené hodnoty  $T_H2$  cytokínov. V týchto prípadoch je dôležité, aby liečba popri znižovaní prozápalových cytokínov nevedla k ešte výraznejšiemu prehĺbeniu deficitu tlmivých  $T_H2$  cytokínov. Keďže pomer  $T_H1$ -/ $T_H2$ -lymfocytov vo všetkých skupinách najmenej zvyšovala liečba imunoglobulínmi (Subcuvia), v týchto situáciách sa zdá vhodnou voľbou. Mimo týchto prípadov snahou zostáva čo najviac znížiť

$T_H1$  cytokíny, ktoré pre svoje embryotoxické pôsobenie predstavujú pre tehotenstvo väčšie riziko.

Najvýraznejšia redukcia zvýšenej populácie NK-buniek sa dosiahla pri liečbe kortikosteroidmi. Tieto výsledky súhlasia s výsledkami viacerých publikovaných štúdií<sup>(5)</sup>. Aj keď vo všeobecnosti sa žiadne z používaných liečiv nepovažuje za špecifické pre NK-bunky, za najúčinnnejšie sa pokladajú imunoglobulíny a metylprednizolón<sup>(6)</sup>.

Pri zvýšených hodnotách APA dosiahla najvyššiu úspešnosť liečba Dexamedom. Viaceré dostupné štúdie porovnávali úspešnosť liečby pacientok s APA počas tehotenstva. Vaquero a kol. dokázali približne rovnakú účinnosť prednizónu a imunoglobulínov pri značne nižšom počte tehotenských komplikácií u IVIg<sup>(7)</sup>. Výsledky našej práce potvrdzujú úspešnosť liečby imunoglobulínmi, výraznejší efekt sa však ukázal pri liečbe dexametazónom.

### Záver

Snahou tejto práce bolo priniesť závery, ktoré by pomohli lekárom s voľbou vhodného liečiva a slúžili ako základ pre ďalšie skúmanie problematiky. Je samozrejmé, že v oblasti medicíny pracujeme s výraznou interindividuálnou variabilitou a odpoveď každej pacientky na tú istú liečbu sa môže líšiť. Preto zdôrazňujeme potrebu širšieho výskumu problematiky na väčšej vzorke pacientok. Výsledkom ďalších výskumov by tak mohlo byť zostavenie algoritmu na liečbu porúch plodnosti, ktorý na poli slovenskej medicíny absentuje.



## ALL YOU NEED FOR HISTOLOGY & CYTOLOGY

- Histology
- Cytology
- Microscopes and accessories
- Archiving and storage
- Molecular histopathology
- Personal protection, safety and hygiene



Request your copy from your local VWR sales office or [sk.vwr.com](http://sk.vwr.com)



## LITERATÚRA

1. Nouza K, Madar J, Nouza M, et al. Imunologie a imunopatologie reprodukčního procesu – Imunologie těhotenství, opakovaného potrácení a poruch implantace blastocysty. *Alergie* 2007; 3:221-228.
2. Yui J, Garcia-Lloret M, Wegmann TG, et al. Cytotoxicity of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and gamma interferon (IFN- $\gamma$ ) against primary human placental trophoblasts. *Placenta* 1994; 15(8): 819-826.
3. Buliková A, Crha I. Antifosfolipidové protilátky a antifosfolipidový syndrom v porodnictví. *Praktická gynekologie* 2004; 1: 6-10.
4. Carp HJA. *Recurrent Pregnancy Loss: Causes, Controversies, and Treatment*. 2<sup>nd</sup> Ed. Boca Raton: CRC Press 2015. 456 s.
5. Thum MY, Bhaskaran S, Abdalla HI, et al. Prednisolone suppresses NK cell cytotoxicity *in vitro* in women with a history of infertility and elevated NK cell cytotoxicity. *Am J Reprod Immunol* 2008; 59(3): 259-265.
6. Kovacs G. *How to Improve your ART Success Rates: An Evidence-Based Review of Adjuncts to IVF*. Cambridge: Cambridge University Press 2011. 262 s.
7. Vaquero E, Lazzarin N, Valensise H, et al. Pregnancy outcome in recurrent spontaneous abortion associated with antiphospholipid antibodies: A comparative study of intravenous immunoglobulin versus prednisone plus low-dose aspirin. *Am J Reprod Immunol* 2001; 45(3): 174-179.



**PharmDr. Mária Ondrejčková**

Lekáreň Kvačalova

Čapkova 1, 811 04 Bratislava

e-mail: maria.ondrejickova@gmail.com