

## Význam a diagnostika antifosfolipidových protilátok u žien s poruchami reprodukcie

Veronika Páleníková<sup>1,2,3</sup>, Elena Tibenská<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Katedra biochémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovenská republika

<sup>2</sup>Laboratoř reprodukční biologie, Biotechnologický ústav AV. ČR, v. v. i, BIOCEV, Vestec, Česká republika

<sup>3</sup>Katedra biochémie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Česká republika

<sup>4</sup>Klinická imunológia a alergológia, Medirex, a. s., Bratislava, Slovenská republika

Antifosfolipidové protilátky sa viažu na fosfolipidy alebo na komplex fosfolipid – bielkovina. Výskyt týchto protilátok môže viesť k tvorbe trombóz a poruchám tehotenstva, čo je príznakom nezápalového autoimunitného ochorenia – antifosfolipidového syndrómu. Medzi hlavné laboratórne kritériá antifosfolipidového syndrómu patria kardiolipínové protilátky a protilátky proti  $\beta$ -2-glykoproteínu I. Ďalšími typmi protilátok, ktoré sa detegujú v sérach pacientov, sú protilátky proti fosfatidylserínu, fosfatidyletanolamínu, protrombínu či anexínu V. Presný vznik a vývoj týchto protilátok nie je známy, preto sa vedú diskusie, ktoré protilátky sa najviac vyskytujú u pacientov s antifosfolipidovým syndrómom a ktoré by mali byť zahrnuté v hlavných kritériách. Preto bolo naším cieľom sledovať výskyt a vplyv antifosfolipidových protilátok u žien s poruchami reprodukcie a sledovať liečbu antifosfolipidových protilátok.

**Kľúčové slová:** antifosfolipidové protilátky, antifosfolipidový syndróm, neplodnosť

### *Importance and diagnostic of anti-phospholipid antibodies in women with reproductive disorders*

Antiphospholipid antibodies bind to the phospholipids or complex protein-phospholipid. The occurrence of those antibodies can lead to the creation of thrombosis or pregnancy disorders that are symptoms of non-inflammatory autoimmune disease - antiphospholipid syndrome. Main criteria of antiphospholipid syndrome are cardiolipin antibodies and antibodies against  $\beta$ -2-glycoprotein 1. Other types of antibodies detected in sera of patients are antibodies against phosphatidylserine, phosphatidylethanolamine, prothrombin or annexin V. Origin and development of those antibodies are not known, and there is ongoing discussion which antibodies are the most present in patients with antiphospholipid syndrome and which ones should be part of main criteria. Therefore, our aim was to observe the occurrence and effect of antiphospholipid antibodies in women with reproductive disorders and their treatment.

**Keywords:** antiphospholipid antibodies, antiphospholipid syndrome, infertility

NewsLab, 2019; roč. 10 (1): 5 – 8

### Úvod

Záporne nabité fosfolipidy sú podstatnou zložkou všetkých membrán, preto sú vhodným antigénom pre antifosfolipidové protilátky (APLA)<sup>(1)</sup>. Tieto protilátky sa viažu aj na proteíny, ktoré vytvárajú komplexy s fosfolipidmi, kam zaraďujeme napríklad  $\beta$ -2-glykoproteín I ( $\beta$ 2GPI)<sup>(2)</sup>. APLA sú heterogénna skupina protilátok, ktorá sa podieľa na tvorbe nezápalového autoimunitného ochorenia s názvom antifosfolipidový syndróm (APS). Okrem výskytu APLA v sére alebo plazme je toto ochorenie asociované najmä s trombózami a poruchami tehotenstva<sup>(3)</sup>. U žien, u ktorých bol diagnostikovaný APS počas tehotenstva, môže dôjsť ku komplikáciám, čo môže byť spôsobené namierením APLA proti placente, keď dochádza k preeklampsii, placentárnej isuficiencii alebo pôsobia negatívne na rozvoj a funkciu trofoblastu<sup>(4)</sup>. Okrem toho môže dôjsť aj k prestupu APLA cez placentu, čo môže viesť k mozgovým abnormalitám a poškodeniu kognitívnych funkcií u narodených detí<sup>(5)</sup>. Tvorba trombózy, ktorá následne poškodzuje placentu, môže vzniknúť vplyvom APLA na zrýchlenie koagulácie, zníženie fibrinolýzy<sup>(6)</sup>, aktiváciou endotelových buniek alebo komplementu<sup>(7)</sup>.

APS sa v praxi delí na primárny a sekundárny APS, pričom primárny APS je označovaný vtedy, keď vznikol bez nejakej zjavnej príčiny, zatiaľ čo sekundárny APS vznikol v dôsledku prítomnosti nejakej iného ochorenia či infekcie<sup>(8)</sup>. Diagnóza APS je stanovená na základe sapporských kritérií, podľa ktorých je APS diagnostikované vtedy, keď je stanovené aspoň jedno klinické kritérium (tehotenská morbidita alebo trombóza) a jedno laboratórne kritérium, ktorým je výskyt APLA. Medzi hlavné APLA patria protilátky proti  $\beta$ 2GPI (anti- $\beta$ 2GPI) a antikardiolipínové protilátky (ACLA). Okrem hlavných typov APLA rozoznávame protilátky v tzv. non-kritériách, to sú napríklad protilátky proti fosfatidylserínu, etanolamínu či protrombínu. Všetky APLA sa stanovujú štandardizovanými testami ELISA, pričom sa stanovujú buď IgG, alebo IgM izotypy, alebo sa robí celkový skrining protilátok<sup>(9)</sup>.

Vysoká heterogenita APLA a ich vplyv na priebeh tehotenstva sú dôvodom potratov alebo predčasných pôrodov. Mnoho lekárov však neberie do úvahy patologický vplyv imunitného systému na reprodukciu. Preto bolo naším cieľom poukázať na dôležitosť APLA, a to hlavne tých, ktoré sú zaradené do „non-kritérií“. V tomto projekte sme sa zamerali

hlavne na sledovanie výskytu APLA u žien s diagnostikovanou neplodnosťou a liečbu týchto protilátok.

## Materiál a metodika

Súbor tvorilo 1 246 pacientok (vek: 20 – 50 rokov) s diagnózou neplodnosť bez liečby. Sérum bolo získané z krvi odobratej do uzavretého odberného systému s géloom počas prvého vyšetrenia. V sérach pacientok sme sledovali osem typov antifosfolipidových protilátok, pričom sa sledovali anti- $\beta$ 2GPI a ACLA z hlavných kritérií a protilátky z „non-kritérií“: protilátky proti fosfatidylserínu, fosfatidyletanolamínu, kyseline fosfatidovej, anexínu V a IgG a IgM protilátky proti protrombínu.

Na stanovenie APLA sme použili kvantitatívnu metódu ELISA, ktorá je založená na interakcii antigén – protilátka (anti- $\beta$ 2GPI – ORGENTEC, ORG 521S; ACLA – ORGENTEC, ORG 515S; kyselina antifosfatidová – Delta Biologicals S.r.l, Subsidiary of ERBA Diagnostics, CA-206; antianexín V – IMTEC, ITC59550; antifosfatidylserín – IMTEC, ITC59027; antifosfatidyletanolamín – IMTEC, ITC59400; antiprotrombín IgG/IgM – AIDA, REF 10229). Séra boli uschovávané v mrazničke pri teplote nižšej ako  $-18^{\circ}\text{C}$ . Antigén (napr.:  $\beta$ 2GPI) je naviazaný na pevnú fázu a inkubuje sa so vzorkami, kalibrátormi a kontrolami, ktoré obsahujú primárne protilátky interagujúce s antigénom na pevnej fáze. Na primárne protilátky sa následne naviaže sekundárna, na ktorej je naviazaný konjugát (chrenová peroxidáza). Výsledok sa stanovuje spektrofotometricky<sup>(10)</sup>.

Získané výsledky sme štatisticky vyhodnotili pomocou štatistického programu StatsDirect Statistal Analysis Software.

**Tabuľka 1.** Vyhodnotenie výskytu jednotlivých typov APLA. V tabuľke je uvedený počet pacientok, u ktorých boli sledované jednotlivé protilátky (n), počet pozitívnych a percentuálne zastúpenie pozitívnych nálezov.

| Protilátky           | n    | pozitívne | %     |
|----------------------|------|-----------|-------|
| $\beta$ 2GPI         | 1239 | 14        | 1,13  |
| ACLA                 | 1245 | 5         | 0,40  |
| Fosfatidylserín      | 1199 | 149       | 12,43 |
| Protrombín IgM       | 1163 | 99        | 8,51  |
| Protrombín IgG       | 1165 | 65        | 5,58  |
| Annexín V            | 1195 | 19        | 1,59  |
| Fosfatidyletanolamín | 1199 | 11        | 0,92  |
| Kyselina fosfatidová | 427  | 3         | 0,70  |

**Tabuľka 2.** Kombinácia výskytu rôznych typov APLA. Protilátky proti APLA sa veľmi často vyskytujú v kombinácii. Uvedené je percentuálne zastúpenie vzoriek reagujúcich s rôznymi typmi APLA antigénov a frekvencia výskytu rôznych kombinácií protilátok.

| Protilátky           | Všetci pozitívny | Pozitívny viac ako na 1 APLA | %     | Protilátky |                    |                 |                      |           |                      |       |       |
|----------------------|------------------|------------------------------|-------|------------|--------------------|-----------------|----------------------|-----------|----------------------|-------|-------|
|                      |                  |                              |       | ACLA       | Anti- $\beta$ 2GPI | Fosfatidylserín | Fosfatidyletanolamín | Annexín V | Kyseliny fosfatidová | IgG   | IgM   |
| ACLA                 | 5                | 5                            | 100   | -          | 80,00              | 80,00           | -                    | 20,00     | 40,00                | 40,00 | -     |
| Fosfatidyletanolamín | 11               | 9                            | 81,82 | -          | -                  | 88,89           | -                    | 11,11     | -                    | -     | 11,11 |
| Kyselina fosfatidová | 3                | 2                            | 66,67 | 100,00     | 100,00             | 100,00          | -                    | -         | -                    | 50,00 | -     |
| Annexín V            | 19               | 11                           | 57,89 | 9,09       | 18,18              | 63,64           | 9,09                 | -         | -                    | 9,09  | 27,27 |
| Anti- $\beta$ 2GPI   | 14               | 6                            | 42,86 | 66,67      | -                  | 66,67           | -                    | 33,33     | 33,33                | 33,33 | -     |
| Protrombín IgG       | 65               | 21                           | 32,31 | 9,52       | 9,52               | 47,62           | -                    | 4,76      | 4,76                 | -     | 47,62 |
| Protrombín IgM       | 99               | 30                           | 30,30 | -          | -                  | 43,33           | 3,33                 | 10,00     | -                    | 33,33 | -     |
| Fosfatidylserín      | 149              | 42                           | 28,19 | 9,52       | 9,52               | -               | 19,05                | 16,67     | 4,76                 | 23,81 | 30,95 |

V prípade kvalitatívnych dát sme počítali len percentily. Pri testoch, kde sa sledovala liečba, sme najprv zisťovali normalitu dát pomocou StatsDirectu a následne sme zvolili pri nenormálnom rozdelení dát štatistický Mannov-Whitneyho test (sledovanie účinnosti liečby v prípade protilátok proti fosfatidylserínu, fosfatidyletanolamínu, anexínu V a protrombínu IgG). Pri sledovaní liečby v prípade protilátok proti IgM a  $\beta$ 2GPI sme zistili normálne rozdelenie dát, preto sme využili t-test paired. Výsledky sme považovali za štatisticky významné, keď p-hodnota bola menšia ako 0,05.

## Výsledky

Z 1 246 pacientok bolo 24 % žien pozitívnych na niektorú protilátku z APLA (**tabuľka 1**). Z hlavných kritérií sa najčastejšie vyskytovali protilátky anti- $\beta$ 2GPI (1,13 %). ACLA sa vyskytovali iba u 0,40 % pacientok, čiže mali najnižšie zastúpenie zo všetkých APLA, ktoré sme sledovali.

Z „non-kritérií“ sa najčastejšie vyskytovali protilátky proti fosfatidylserínu (12,43 %). Tieto protilátky mali najvyššie zastúpenie zo všetkých sledovaných APLA. IgM protilátky proti protrombínu boli pozitívne u 8,51 % pacientok a IgG antiprotrombínové protilátky boli pozitívne u 5,58 % pacientok. Protilátky proti placentárnemu proteínu anexínu V boli pozitívne u 1,59 % žien, zatiaľ čo fosfatidyletanolamínové protilátky boli pozitívne u 0,92 % pacientok. Z „non-kritérií“ boli najmenej zastúpené protilátky proti kyseline fosfatidovej, ktorá bola pozitívna iba u 0,70 % žien, čo je o 0,30 % vyšší výskyt ako v prípade ACLA. Zastúpenie jednotlivých protilátok možno vidieť v **tabuľke 1**.

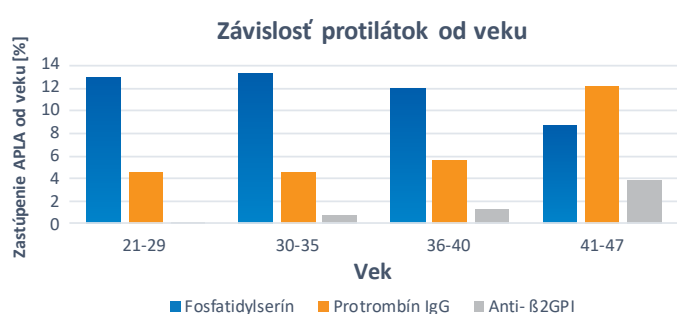
ACLA ako najmenej zastúpené protilátky mali najvyššiu kombináciu s iným typom APLA (100 %). Najviac sa vyskytovali v kombinácii s protilátkami proti  $\beta$ 2GPI a fosfatidylserínu (pri oboch 80 %). Fosfatidyletanolamínové protilátky boli v kombinácii s inými APLA v 81,82 %, pričom najviac sa vyskytovali s protilátkami fosfatidylserínu (88,89 %). Protilátky proti kyseline fosfatidovej boli v kombinácii s inými APLA u 2 z 3 pozitívnych pacientov. Až 100 % kombináciu mali s ACLA, anti- $\beta$ 2GPI a fosfatidylserínovými protilátkami. Anti- $\beta$ 2GPI protilátky boli pozitívne s viacerými protilátkami u 42,86 % pacientok. Najčastejšiu kombináciu mali s ACLA a fosfatidylserínovými protilátkami (pri oboch 66,67 %). Protrombínové IgG protilátky sa vyskytovali v kombinácii s inými APLA častejšie (32,31 %) než IgM protrombínové protilátky (30,30 %). IgG protilátky proti protrombínu boli najviac v kombinácii s protilátkami proti fosfatidylserínu a IgM protilátkami proti

protrombínu (pri oboch 47,62 %). IgM boli najčastejšie v kombinácii s protilátkami proti fosfatidylserínu (43,33 %). Fosfatidylserínové protilátky mali najnižšie percento v kombinácii s inými protilátkami (28,19 %), pričom najviac bol pozitívny s IgM protilátkami proti protrombínu (30,95 %). Výsledky je možné vidieť v **tabuľke 2**.

Okrem výskytu jednotlivých APLA sme sledovali ich výskyt vzhľadom na vek. Pacientky sme rozdelili do 4 vekových skupín: 20 – 29 rokov, 30 – 35 rokov, 36 – 40 rokov a 41 – 50 rokov. Závislosť protilátok od veku sme zaznamenali iba v prípade protilátok proti  $\beta$ 2GPI a protrombínu IgG (**graf 1**). Okrem toho protilátky proti anexínu V boli vyššie u starších žien, ale rozdiel nie je štatisticky významný. Výskyt ostatných protilátok nezávisel od veku.

Na základe dostupných informácií o pacientkach sme vybrali súbor pacientok, u ktorých bolo možné sledovať vplyv liečby na výskyt APLA. Týmto ženám bol nasadený LMWH (*low molecular hepariny*), aspirín, vitamín D a kortikoidy. Sledovali sme obsah protilátok pred nasadením liečby a obsah protilátok po nasadení liečby. Okrem protilátok IgG proti protrombínu došlo u všetkých pacientok k poklesu APLA po nasadení liečby (**tabuľka 3**). Niektoré pacientky boli pozitívne na viacero APLA naraz, pričom po nasadení liečby došlo vo všetkých prípadoch k poklesu protilátok, ktoré boli pred liečbou zvýšené. Avšak v niektorých prípadoch po nasadení liečby došlo k vzostupu iného typu protilátok, ktoré pred liečbou pozitívne neboli. Najčastejšie boli takto zvýšené protilátky proti anexínu V a oba izotypy protrombínových protilátok. Niektorým pacientkam sa podarilo po nasadení liečby otehotnieť, avšak presné informácie o poklese neplodnosti a úspešnosti tehotenstva nie sú k dispozícii vzhľadom na ukončenie štúdie pred získaním týchto informácií.

**Graf 1.** Závislosť protilátok od veku. Graf znázorňuje závislosť protilátok pre protrombín IgG a anti- $\beta$ 2GPI od veku. Výskyt protilátok proti protrombínu a proti  $\beta$ 2GPI signifikantne stúpa s vekom, naopak, protilátky proti fosfatidylserínu nie sú závislé od veku.



**Tabuľka 3.** Sledovanie vplyvu liečby na pokles protilátok proti APLA. V tabuľke sú uvedené priemerné hodnoty (protilátok pred liečbou a po nej, uvedené sú aj smerodajné odchýlky a p-hodnota pre každý typ protilátok.

| Protilátky           | n  | pred liečbou |         | po liečbe |         | p      |
|----------------------|----|--------------|---------|-----------|---------|--------|
|                      |    | priemer      | SD      | priemer   | SD      |        |
| $\beta$ 2GPI         | 3  | 17,72        | ± 5,98  | 9,46      | ± 6,41  | 0,36   |
| Fosfatidylserín      | 20 | 19,11        | ± 6,90  | 11,87     | ± 10,07 | 0,0005 |
| fosfatidyletanolamín | 7  | 15,6         | ± 18,38 | 7,3       | ± 1,94  | 0,0012 |
| Annexín V            | 10 | 32,22        | ± 29,21 | 11,1      | ± 6,55  | 0,0022 |
| Protrombín IgG       | 14 | 18,29        | ± 7,55  | 21,33     | ± 24,47 | 0,54   |
| Protrombín IgM       | 4  | 18,22        | ± 4,41  | 15,7      | ± 4,16  | 0,28   |

## Diskusia

V našej štúdií sme sledovali výskyt APLA u žien s poruchami reprodukcie. Tieto protilátky sú zodpovedné za spontánne potraty, vnútromaternicovú smrť plodu, preeklampsiu či žilovú trombózu<sup>(2)</sup>. Z 1 246 žien bolo 24 % pozitívnych na niektorú z APLA.

Protilátky proti ACLA a anti- $\beta$ 2GPI sú zaradené medzi hlavné kritériá APS, no ich výskyt u pacientok s poruchami reprodukcie je minoritný. Názory na vplyv prítomnosti ACLA a anti- $\beta$ 2GPI protilátok na priebeh tehotenstva sú kontroverzné. Na jednej strane sa uvádza, že ACLA sa podieľa na reprodukčných problémoch, zatiaľ čo druhá strana tvrdí, že ACLA nie sú spojené s tehotenskou morbiditou<sup>(11)</sup>. V našom súbore žien nebola frekvencia výskytu ACLA protilátok u žien s poruchami reprodukcie výrazná (len 0,4 %), vyskytovali sa vždy v kombinácii s iným typom APLA. Protilátky anti- $\beta$ 2GPI sa v našom súbore vyskytovali len u 1,13 % žien. Anti- $\beta$ 2GPI sa vyskytovali hlavne v kombinácii s fosfatidylserínovými protilátkami a s ACLA. Prepojenie medzi ACLA a anti- $\beta$ 2GPI môže byť spôsobené tým, že ACLA majú epitop na bielkovine  $\beta$ 2GPI, preto sú schopné priamo sa naň viazať. V prípade výskytu dvoch hlavných typov protilátok u neplodných žien sa zvyšuje pravdepodobnosť vzniku APS aj ťažšie zdravotné problémy počas tehotenstva<sup>(12)</sup>.

V našom súbore neplodných žien sa najčastejšie vyskytovali protilátky proti fosfatidylserínu (12,43 %). Aj štúdie Nayfe a kol. (2013) a Žigona a kol. (2013) uvádzajú, že najviac sa na poruchách tehotenstva podieľajú fosfatidylserínové protilátky. Zvýšené boli aj protilátky proti protrombínu. Viac sa vyskytoval izotyp IgM než IgG, no vo väčšine štúdií je s APS najviac spájaný IgG izotyp. Predpokladá sa, že výskyt IgM môže byť spojený s prebiehajúcim infekčným stavom<sup>(15)</sup>. IgG izotypy sú spájané hlavne so stratami plodu v skorých fázach tehotenstva<sup>(16)</sup>. Protilátky proti protrombínu majú časté krížové reakcie aj s fosfatidylserínovými protilátkami, a takáto kombinácia sa podieľa na zvýšených trombózach a poruchách tehotenstva<sup>(9)</sup>. V našom prípade bol takýto kombinovaný výskyt zistený medzi fosfatidylserínovými protilátkami a IgG protrombínovými protilátkami (u 47,62 % žien) a ďalej bol zistený medzi fosfatidylserínovými protilátkami a IgM protrombínovými protilátkami (u 43,33 % žien). Viaceré štúdie uvádzajú, že protrombínové protilátky sú dependentné od fosfatidylserínu, preto sa odporúča vyšetřovať fosfatidylserínové aj protrombínové protilátky súčasne v jednom behu ELISA. Takéto vyšetřenie zlepšuje kvalitu diagnostického testu zachytením väčšieho množstva protilátok, preto k nemu chceme pristúpiť aj my.

Ďalšími významnými APLA sú protilátky proti fosfatidyletanolamínu, ktoré sme detegovali u 0,92 % pacientok. Sugi a kol. (2004) vo svojej štúdií uvádzajú vyšší výskyt týchto protilátok u žien s poruchami tehotenstva v skoršej aj v neskoršej fáze gravidity. Protilátky proti anexínu V boli detegované u 1,59 % žien. Anexín V je bielkovina produkovaná placentou, ktorá má veľmi dobrú afinitu k fosfolipidom a viaže sa aj na povrch trombocytov. Vďaka tejto afinite k fosfolipidom vytvára mriežku okolo membrány, čím zabraňuje aktivite koagulačnej kaskády. V dôsledku zvýšenej produkcie protilátok proti anexínu V dochádza k vyštíepovaniu tejto bielkoviny z povrchu a spúšťa sa koagulácia. Výsledkom je zvýšené riziko straty plodu<sup>(18)</sup>. Veľmi častým javom je súčasný výskyt protilátok proti rôznym antigénom, napr. kombinácia protilátok proti anexínu V s protilátkami proti fosfatidylserínu sa vyskytla u 63,64 % žien.

Plodnosť ženy závisí od jej veku. Zaujímalo nás, či sú APLA závislé od veku u žien s diagnostikovanou neplodnosťou, pretože publikácií o vplyve veku na APLA je málo. Nezaznamenali sme závislosť výskytu protilátok proti fosfolipidom (kardiolipín, fosfatidylserín, fosfatidyletanolamín a kyselina fosfatidová) od veku. Naopak, zistili sme, že s rastúcim vekom stúpa výskyt anti- $\beta$ 2GPI. Mehdi a kol. zistili, že frekvencia výskytu  $\beta$ 2GPI u žien stúpa s vekom<sup>(19)</sup>, preto je možné, že aj protilátky proti nemu môžu byť častejšie. Podobný trend

sme zachytili taktiež pri IgG protilátkach proti protrombínu, ale už nie pri IgM protilátkach proti protrombínu.

Naše pacientky s pozitívnymi APLA boli liečené aspirínom, LMWH, vitamínom D a kortikoidmi. Viaceré štúdie poukázali na to, že liečba aspirínom s heparínom alebo kortikoidmi je účinnejšia ako liečba samotným aspirínom<sup>(20,21)</sup>. Po nasadení liečby došlo poklesu protilátok proti fosfatidylserínu, etanolamínu a anexínu V. Protilátky proti  $\beta$ 2GPI a protrombínu IgM tiež poklesli, avšak tento pokles nebol štatisticky významný. V prípade anti- $\beta$ 2GPI to mohlo byť spôsobené nedostatčným množstvom pacientov pozitívnych na túto protilátku. Protilátky proti protrombínu IgG stúpili v porovnaní s hladinou pred liečbou. Tento rozdiel však nie je signifikantný.

## Záver

Antifosfolipidové protilátky sa podieľajú na poruchách reprodukcie u takmer štvrtiny žien s poruchami reprodukcie. V našej štúdií sme ukázali častý výskyt protilátok proti fosfatidylserínu (12,43 %) a protrombínu (8,51 % – IgM, 5,58 % – IgG) u žien s poruchami reprodukcie. Naopak, výskyt klasických protilátok proti ACLA a anti- $\beta$ 2GPI bol veľmi nízky (0,40 %, resp. 1,13 %). Po nasadení liečby pacientkam so zvýšenými APLA (aspirín, vitamín D, LMWH a kortikoidy) dochádzalo k zníženiu APLA protilátok. Liečbu treba udržiavať aj počas gravidity, aby sa predchádzalo potratom.

## LITERATÚRA

1. Lazúr J. Antifosfolipidový syndróm. *Inertná med* 2008; 8: 527-531.
2. Miyakis S, Lockshin MD, Branch BW, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4: 295-306.
3. Sada PR, Coben H, Isenberg D. The pathophysiology of antiphospholipid syndrome. *Open Urology Nephrol J* 2015; 8: 2-9.
4. Tong M, Viall C, Chamley L. Antiphospholipid antibodies and the placenta: a systematic review of their in vitro effects and modulation by treatment. *Hum Reprod Update* 2014; 21: 97-118.
5. Mekinian A, Lachassinne E, Nicaise-Roland P, et al. European registry of babies born to mothers with antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 2013; 72: 217-222.
6. Pierangeli SS, Vega-Ostertag M, Harris EN. Intracellular signaling triggered by antiphospholipid antibodies in platelets and endothelial cells: a pathway to targeted therapies. *Thromb Res* 2004; 114: 467-476.
7. Girardi G, Berman J, Redecha P, et al. Complement C5a receptors and neutrophils mediate fetal injury in the antiphospholipid syndrome. *J Clin Invest* 2003; 112: 1644-1654.
8. Prima FAFD, Valenti O, Hyseni E, et al. Antiphospholipid Syndrome during pregnancy: the state of the art. *J Prenat Med* 2011; 5: 41-53.
9. Meroni PL, Chighizola CB, Rovelli F, et al. Antiphospholipid syndrome in 2014: more clinical manifestations, novel pathogenic players and emerging biomarkers. *Arthrit Res Ther* 2014; 16: 1-14.
10. Voller A, Bartlett A, Bidwell DE. Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques. *J Clin Pathol* 1978; 31: 507-520.
11. Clark CA, Laskin CA, Spitzer, Anticardiolipin antibodies and recurrent early pregnancy loss: a century of equivocal evidence. *Hum Reproduction Update* 2012; 18: 474-484.
12. Matsuura E, Igarashi Y, Yasuda T, et al. Anticardiolipin antibodies recognize beta 2-glycoprotein I structure altered by interacting with an oxygen modified solid phase surface. *JEM* 1994; 2: 457-462.
13. Nayfe R, Uthman I, Aoun J, et al. Seronegative antiphospholipid syndrome. *Rheumatology* 2013; 52: 1358-1367.
14. Žigon P, Čučnik S, Ambrožič A, et al. Detection of Antiphosphatidylserine/Prothrombin Antibodies and Their Potential Diagnostic Value. *Clin. Dev. Immunol* 2013; 2013: 1-8.
15. Grönwall C, Vas J, Silverman GJ. Protective Roles of Natural IgM Antibodies. *Front Immunol* 2012; 3: 1-10.
16. von Landenberg P, Matthias T, Zaech J, et al. Antiprothrombin antibodies are associated with pregnancy loss in patients with the antiphospholipid syndrome. *AJRI* 2003; 49: 51-56.
17. Sugi T, Matsubayashi H, Inomo A, et al. Antiphosphatidylethanolamine antibodies in recurrent early pregnancy loss and mid-to-late pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol Res* 2004; 30: 326-332.
18. Rand JH. Molecular Pathogenesis of the Antiphospholipid Syndrome. *Circ Res* 2002; 90: 29-37.
19. Mehdi H, Aston CE, Sanghera DK, et al. Genetic variation in the apolipoprotein H (beta2-glycoprotein I) gene affects plasma apolipoprotein H concentrations. *Hum Genet* 1999; 105: 63-71.
20. Rai R, Cohen H, Dave M, et al. Randomised controlled trial of aspirin and aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriage associated with phospholipid antibodies (or antiphospholipid antibodies). *BMJ* 1997; 314: 253-257.
21. Silver RK, MacGregor SN, Sholl JS, et al. Comparative trial of prednisone plus aspirin versus aspirin alone in the treatment of anticardiolipin antibody-positive obstetric patients. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 1411-1417.



**Mgr. Veronika Páleníková**  
 Čabradský Vrbovok 41  
 962 51 Čabradský Vrbovok  
 e-mail: v.n.palenikova@gmail.com