

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**



**Antifosfolipidové protilátky  
a opakované těhotenské ztráty**

**Bakalářská práce**

**Hana Machalová**

**3. ročník, Biologie odborná**

**Katedra buněčné biologie**

**vedoucí bakalářské práce: RNDr. Dana Nováková,**

**MUDr. Jindřich Madar**

**Praha, 2008**

### Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a souhlasím s jejím eventuálním zveřejněním v tištěné nebo elektronické podobě.

V Praze dne 11.4.2008

*Hana Machalová*  
.....

Hana Machalová

### Poděkování

Chtěla bych poděkovat panu doktoru Jindřichu Madarovi, který mi pomohl s výběrem tématu mé bakalářské práce a umožnil mi jeho zpracování. Dále bych chtěla poděkovat hlavně paní doktorce Daně Novákové, která mi po celou dobu vzniku bakalářské práce trpělivě radila a pomáhala.

## Obsah

<b>1.</b>	<b>Abstrakt</b>	<b>6</b>
<b>2.</b>	<b>Abstract</b>	<b>7</b>
<b>3.</b>	<b>Klíčová slova</b>	<b>8</b>
<b>4.</b>	<b>Seznam zkratk</b>	<b>8</b>
<b>5.</b>	<b>Úvod – cíl práce</b>	<b>9</b>
<b>6.</b>	<b>Opakované těhotenské ztráty</b>	<b>10</b>
<b>7.</b>	<b>Historie Antifosfolipidového syndromu</b>	<b>11</b>
<b>8.</b>	<b>Protilátky proti fosfolipidům (aPL)</b>	<b>13</b>
	<b>8.1 Umístění fosfolipidů</b>	<b>14</b>
	<b>8.2 Mechanismy působení aPL</b>	<b>16</b>
<b>9.</b>	<b>Plodový koláč - placenta</b>	<b>18</b>
	<b>9.1 Antifosfolipidové protilátky a placenta</b>	<b>21</b>
<b>10.</b>	<b>Možnosti léčby APS</b>	<b>24</b>
<b>11.</b>	<b>Preeklampsie</b>	<b>26</b>
	<b>11.1 Incidence</b>	<b>26</b>
	<b>11.2 Patofyziologie</b>	<b>26</b>
	<b>11.3 Klinické a laboratorní příznaky</b>	<b>27</b>
	<b>11.4 Diagnostika</b>	<b>28</b>
	<b>11.5 Terapie</b>	<b>28</b>
<b>12.</b>	<b>Eklampsie</b>	<b>28</b>

<b>12.1 Incidence</b>	<b>28</b>
<b>12.2 Klinický obraz</b>	<b>28</b>
<b>12.3 Komplikace</b>	<b>29</b>
<b>12.4 Léčba</b>	<b>29</b>
<b>13. Závěr</b>	<b>29</b>
<b>14. Seznam použité literatury</b>	<b>31</b>

# 1. Abstrakt

Antifosfolipidový syndrom (APS), jehož příčina zůstává zatím neznámá, se vyznačuje vážnými těhotenskými komplikacemi. Těhotenské ztráty se přičítají trombózám v uteroplacentárních cévách nebo infarktům placenty. Zdá se, že polyklonální a monoklonální antifosfolipidové protilátky jsou schopny rozpoznat „plasmatický kofaktor“ na povrchu endoteliálních a trofoblastických buněk a ovlivnit funkci těchto buněk vyvoláním prosrážlivého stavu. Ačkoli jsou v děložní sliznici a placentě pacientek s antifosfolipidovými protilátkami (aPL) trombózy pozorovány velmi často, tato pozorování nebyla prezentována v takovém množství, aby mohla být vysvětlením pro těhotenské ztráty spojené s tímto syndromem. V současné době se předpokládá, že aPL snižují produkci placentárních hormonů a zpomalují trofoblastickou intracelulární fúzi a invazi, a dále můžeme tvrdit, že mnoho těhotenských komplikací objevujících se v souvislosti s tímto syndromem je způsobeno dysfunkcí trofoblastu vyvolanou antifosfolipidovými protilátkami. Nicméně, komplex antigenů na povrchu trofoblastu stále ještě není dostatečně popsán ani spojen s klinickými manifestacemi. Je jasné, že pokud je matka s tímto syndromem léčena, těhotenství častěji dospěje ke zdárnému konci. Ačkoli k léčbě projevů spojených s autoimunitními chorobami bude zřejmě stále potřeba aplikovat glukokortikoid prednison, podávání heparinu společně s nízkými dávkami aspirinu nahradilo prednison při léčbě těhotných žen. Léčba matky a pečlivé pozorování vývoje plodu jsou důležité při těchto vysoce rizikových těhotenstvích a v této době je to to jediné, co mohou lékaři pro takto postižené pacientky udělat. Bohužel současná medicína umí „pouze“ potlačit příznaky APS, neumí jej však úspěšně vyléčit.

## 2. Abstract

Antiphospholipid syndrome (APS), the cause of which remains unknown, is characterized by serious pregnancy-related complications. Fetal loss is attributed to thromboses in uteroplacental veins or to placenta infarction. Polyclonal and monoclonal antiphospholipid antibodies seem to be able to recognize plasmatic cofactor on the surface of endothelial and trophoblastic cells, and to affect the function of these cells by initiation of pro-coagulation state. In spite of the fact that thromboses are often encountered in endometrium and in placenta of patients with antiphospholipid antibodies, they have not been represented in such an amount so as to explain fetal loss connected to the syndrome. It has been assumed that antiphospholipid antibodies reduce production of placental hormones and slow down trophoblastic intracellular fusion and invasion. We can further state that a number of pregnancy-related complications occurring due to the syndrome is caused by antiphospholipid antibodies elicited by the trophoblasts dysfunction. However, the complex of antigens on the surface of trophoblast has not been described sufficiently, nor it has been connected with clinical manifestations. It is obvious that in case the mother suffering from APS is treated properly, pregnancy ends successfully. Though in the treatment of manifestations connected to autoimmune disorders the glucocorticoid prednisone may be still required, the administration of heparine together with low doses of aspirin substituted prednisone in the treatment of pregnant women. In the high risk pregnancy the treatment of a mother and detailed monitoring of a fetus are important. It is still the only treatment the physicians may provide to affected patients. Unfortunately, medicine today can 'only' suppress symptoms of antiphospholipid syndrome but not treat them successfully.

### 3. Klíčová slova

Antifosfolipidový syndrom (Antiphospholipid syndrome)

Antifosfolipidové protilátky (Antiphospholipid antibodies)

Fosfolipidy (Phospholipids)

Těhotenské ztráty (Miscarriages)

Trombóza (Thrombosis)

Placenta (Placenta)

Aspirin (Aspirin)

Heparin (Heparin)

### 4. Seznam zkratk

**APS** Antifosfolipidový syndrom

**aPL** Antifosfolipidové protilátky

**CL** Kardiolipin

**SLE** Systémový lupus erymatodes

**IVF** Mimetělní oplodnění

**IUGR** Intrauterinní růstové zpomalení

**LAC** Lupus antikoagulant



<b>aCL</b>	Antikardiolipin
<b>aPS</b>	Antifosfatidylserin
<b><math>\beta</math>2-GPI</b>	$\beta$ 2-glykoprotein I
<b>PS</b>	Fosfatidylserin
<b>TX</b>	Tromboxan
<b>PGI<sub>2</sub></b>	Prostacyklin
<b>IL</b>	Interleukin
<b>hCG</b>	Choriový gonadotropin

## 5. Úvod – cíl práce

Více než jedno procento žen trpí závažnou poruchou reprodukčního mechanismu – opakovanými těhotenskými ztrátami. Tato neschopnost donosit a porodit živé a zdravé dítě se dostává stále více do popředí zájmu lékařů i vědců, protože žen s těmito potížemi přibývá, i když ne markantně, a také proto, že v dnešní době roste počet párů, které mají z různých důvodů problémy s tím, co bylo donedávna samozřejmostí – zplazením nového života. O tom svědčí i to, že jeden z pěti párů v reprodukčním věku v USA i v Evropě je neplodný. (17)

U žen může docházet k opakovaným potratům z různých příčin. Ve své práci se budu zabývat pouze jednou z nich - vlivem přítomnosti protilátek proti fosfolipidům – tzv. antifosfolipidovým syndromem (APS). Bylo prokázáno, že při APS je riziko ztráty plodu až 3,5krát vyšší ve srovnání s kontrolní populací. (15) Budu se snažit zachytit, jaký má tento syndrom dopad na těhotenství – nejen na život plodu, ale i na zdraví a psychický stav matky, protože mnoho těchto žen trpí vážnými psychickými potížemi. Pokud žena opět otěhotní po několika předcházejících ztrátách plodu, toto těhotenství je provázeno velkými obavami o

život jejího dítěte. Většina pacientek je nucena vyhledat odbornou pomoc, protože stres, jaký zažívají, nejsou schopny unést.

Dále se také pokusím vysvětlit, jaké jsou mechanismy působení antifosfolipidových protilátek (aPL) a jakou roli hrají tyto protilátky při vzniku APS.

Za velmi důležité považuji popsat i to, jak se v současné době postupuje při léčbě tohoto syndromu. Proběhla řada experimentů, při kterých bylo aplikováno mnoho látek (od kortikosteroidů přes imunoglobuliny až k aspirinu a heparinu) ve snaze najít co nejučinnější léčivo.

V souvislosti s APS se musím zmínit i o dvou dalších onemocněních – preeklampsii a eklampsii. Tyto choroby postihují asi pět až deset procent žen a stejně jako APS mají za následek poruchy průběhu těhotenství.

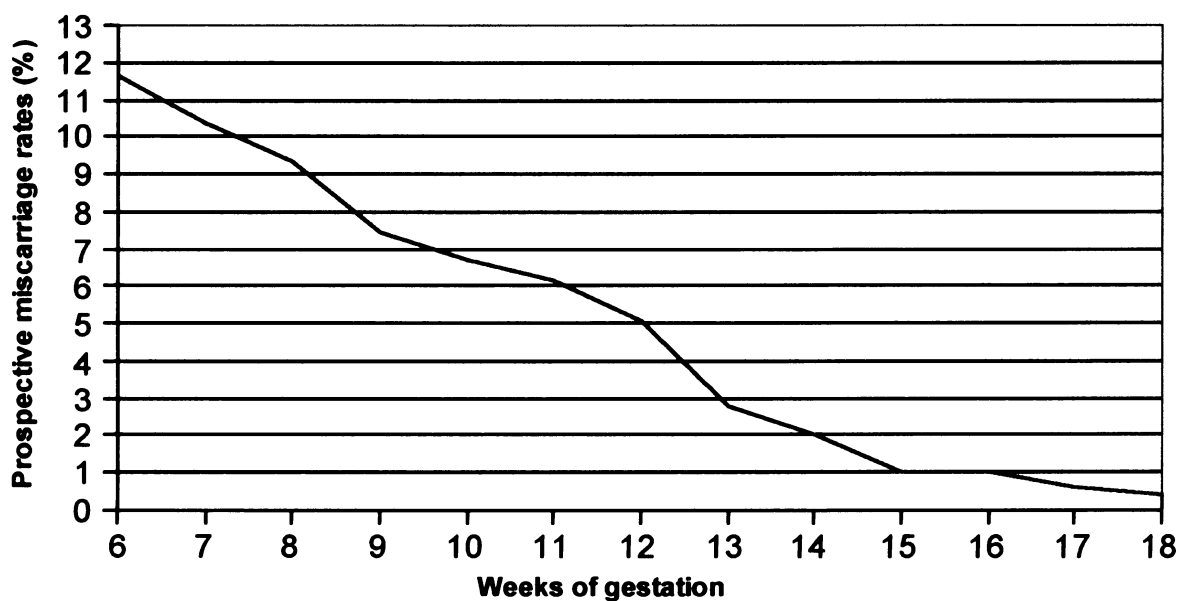
Nakonec bych chtěla popsat to, jaký vliv má APS na budoucí zdravotní a psychický stav dětí, které se narodí maminkám s tímto syndromem.

APS je velmi zrádné onemocnění, protože bývá rozpoznáno až poté, kdy u ženy dojde několikrát ke spontánnímu potratu, a má velký dopad na psychický a zdravotní stav pacientek. Proto jsem si ho vybrala jako téma své bakalářské práce.

## **6. Opakované těhotenské ztráty**

Potratem končí 15-38 % těhotenství, ovšem v raných fázích těhotenství většina z nich není zaregistrována. Opakované potrácení je charakterizováno třemi a vyšším počtem následných samovolných ztrát plodu. Tento syndrom postihuje kolem 1 % žen. (13)

Příčiny opakovaných potratů jsou: infekce (1 %), anatomické abnormality (5-10 %), nízká hladina progesteronu (20 %), chromozomální abnormality (v případě primárních potratů – 7 % a v případě sekundárních potratů – 50 %), imunitní mechanismy (50 %) a kolem 15 % opakovaných potratů je z neznámých příčin. Riziko potratu je nejvyšší v prvním trimestru – v druhém a třetím trimestru se počet potratů výrazně snižuje (graf č. 1).



**Graf č. 1** Riziko potratu vzhledem k týdnu těhotenství (16)

Jak je uvedeno výše, při opakovaných spontánních potratech se na něm zhruba v 50 % podílí imunitní systém matky. Na tom má podíl negativní vliv sdílení stejných HLA antigenů, vliv přítomnosti autoprotilátek proti fosfolipidům, vliv imunity proti trofoblastu a endometriu a vliv autoimunitního onemocnění štítné žlázy.

## 7. Historie antifosfolipidového syndromu

Protilátky proti fosfolipidům (aPL) byly poprvé popsány v roce 1906 jako protilátky spojené s komplementem, které reagují s alkoholovými extrakty ze srdeční svaloviny pacientů trpících syfilis. Později byl identifikován jako základní složka komplexu antigenů, kardiolipin (CL) – negativně nabitý mitochondriální fosfolipid.

Výskyt trombóz u pacientek se systémovým lupusem erymatodem (SLE) byl poprvé popsán v roce 1963. Nedlouho na to bylo vyvinuto citlivé imunologické stanovení protilátek proti CL a byla objevena souvislost mezi periferním cévním projevem SLE a těmito protilátkami. Začalo se uvažovat, že se tento syndrom může objevovat ve spojitosti se SLE a zpočátku byl zmiňován jako antikardiolipinový syndrom.

Od okamžiku, kdy některé pacientky měly klinické projevy (opakované těhotenské ztráty, tepenné okluze, opakované žilní trombózy, hemolytickou anémii a nedostatek krevních

destiček) spojené s vysokými titry aPL, ale bez klinické i serologické evidence SLE, někteří autoři uvedli (1), že tyto pacientky trpí primárním antifosfolipidovým syndromem (APS). APS je jedním z příkladů onemocnění, které je způsobeno přítomností autoprotilátek. Od roku 1980, kdy byl APS popsán jako samostatná jednotka, je striktně spojován s těhotenskými ztrátami. Pacientky s APS trpí těhotenskými ztrátami v 50-90 % případů, přičemž polovina těchto těhotenství končí potratem v průběhu prvního trimestru. U několika málo zbývajících případů, které končí úspěšným porodem, se ale také objevují poškození placenty a novorozenci jsou většinou malého vzrůstu vzhledem ke svému věku.

Následovalo několik studií, které se snažily objasnit roli aPL u žen, jejichž těhotenství končila nezdarem. Badatelé předpokládali spojitost mezi potraty v prvním trimestru a aPL, protože tyto protilátky byly objeveny v séru žen, které měly předešlé zkušenosti s těhotenskými ztrátami. V roce 1998 bylo zjištěno, že se APS vyskytuje u jedné třetiny pacientek s opakovanými těhotenskými ztrátami. (4)

Důvod, proč se u některých jedinců tvoří aPL, je stále nejasný. Předpokládá se genetická dispozice, ale byl prokázán vztah alel HLA třídy II k výskytu různých autoprotilátek. Je možné usuzovat, že přítomnost těchto alel činí jedince náchylné také k tvorbě aPL – rizikovými faktory jsou hlavně HLA-DR4, DR7 a DQ7.

Jestli aPL způsobují potraty u pacientek s opakovanými těhotenskými ztrátami, není stále jisté. Byla publikována data (7), která dokládala, že neexistuje žádná spojitost mezi závažností tohoto onemocnění a přítomností aPL. Nicméně se ukazuje, že tyto protilátky jsou přítomny také u žen, u kterých byl průběh těhotenství normální a bez problémů.

V poslední době je zdůrazňováno, že nejen opakované těhotenské ztráty, ale i poruchy dalších reprodukčních procesů, jako endometriosa (onemocnění, při němž se vyvíjí děložní sliznice jinde než v děložní dutině), nevysvětlitelná neplodnost nebo neúspěšnost in-vitro fertilizace (IVF), mohou být způsobeny abnormalitami aPL. Někteří autoři (6) se dokonce domnívají, že cirkulující aPL mohou mít za vinu neúspěšnou implantaci při IVF.

Dále byla zveřejněna překvapující statistika, která věnovala pozornost vztahu mezi přítomností abnormálních aPL a zpomaleným nitroděložním růstem plodu (intrauterine growth retardation, IUGR). Přítomnost těchto protilátek předpovídá možnost vzniku IUGR u žen s normálním těhotenstvím, s chronickou hypertensí i u žen s preeklampií. Riziko perinatální úmrtnosti se zvyšuje se zvyšujícím se titrem aPL.

Čím dál tím jasněji vychází najevo, že poruchy imunitního systému mohou způsobit neplodnost. Toto riziko zahrnuje zvýšenou pravděpodobnost těhotenských ztrát, IUGR a zvýšenou perinatální mortalitu i morbiditu.

Stále nebyla vyvinuta metoda, která by nejspolehlivěji monitorovala plod v takovýchto rizikových těhotenstvích. Nedávno bylo objeveno, že barevné Dopplerovo vyhodnocení indexu odporu děložních cév je dobrým nástrojem k brzké identifikaci těhotenství, u kterých je vysoké riziko předčasného porodu nebo nižší porodní váhy novorozence. (3)

## 8. Protilátky proti fosfolipidům (aPL)

Jedná se o skupinu protilátek proti sedmi základním fosfolipidům vyskytujícím se na povrchu membrán buněk, které jsou zapojeny do koagulační kaskády, jako krevní destičky, monocyty a endoteliální buňky. Výzkum aPL zahrnuje lupus antikoagulant (LAC), protilátky proti kardiolipinu (aCL), fosfatidylserinu (aPS), fosfatidylglycerolu, fosfatidylinositolu, fosfatidylethanolaminu a kyselině fosfatidové. Přičemž přítomnost aPL proti fosfatidylserinu a fosfatidylinositolu u pacientek s nepříznivými výsledky těhotenství je mnohem častější než přítomnost aPL zaměřených pouze proti kardiolipinu – i ve srovnání s ostatními skupinami aPL. (17) Ačkoli jsou specifické protilátky častěji rozpoznávány jako protilátky proti fosfolipidům, současné nálezy naznačují, že proteiny vážící fosfolipidy jako annexin V, protein C a S a  $\beta$ 2-glykoprotein I ( $\beta$ 2-GPI) se účastní vazby aPL na aniontové fosfolipidy. IgG z některých pacientek s aPL nebo s opakovaným výskytem trombóz křížově reagují s protisrážlivou aktivitou proteinu C a S a některé aPL se dokonce přímo váží na aktivovaný protein C nebo na komplexy mezi fosfolipidy a proteinem C nebo proteinem S. Schopnost aPL snížit inaktivaci faktoru Va, která je závislá na fosfolipidech, aktivací proteinu C, se zdá jako nejpravděpodobnější mechanismus přispívající ke vzniku trombóz. Malý protisrážlivý efekt aktivovaného proteinu C byl často nacházen u aPL-positivních pacientek. Nicméně u aPL pozitivních žen dynamika aktivovaného proteinu C během těhotenství nesouvisí s aPL, což naznačuje, že autoimunitní reakce proti fosfolipidům a odpověď aktivovaného proteinu C má rozdílné regulační mechanismy.

Vazba aPL na fosfolipidy je závislá na sérovém proteinovém kofaktoru, který byl identifikován jako  $\beta$ 2-GPI. Dnes je zřejmé, že značný podíl protilátek, rozlišených běžnou aPL ELISou, možná přímo reaguje s proteiny vážícími fosfolipidy, jako je  $\beta$ 2-GPI, spíše než proti fosfolipidům samotným. Tyto protilátky jsou zachyceny aPL ELISou díky schopnosti proteinů vážících fosfolipidy z patientského séra zablokovat průběh ELISy. Tyto proteiny totiž interagují s nepohyblivými fosfolipidy a tak se stanou přístupnými pro vazbu protilátek. aPL změřené na běžné ELISe zahrnují nejméně dvě podskupiny:  $\beta$ 2-GPI nezávislé a  $\beta$ 2-GPI

závislé aPL. Povaha vazby aPL- $\beta$ 2-GPI-fosfolipid je velice důležitá, protože  $\beta$ 2-GPI je fyziologický inhibitor srážení a přerušení jeho inhibiční aktivity protilátkami proti fosfolipidům může vést ke vzniku trombóz.

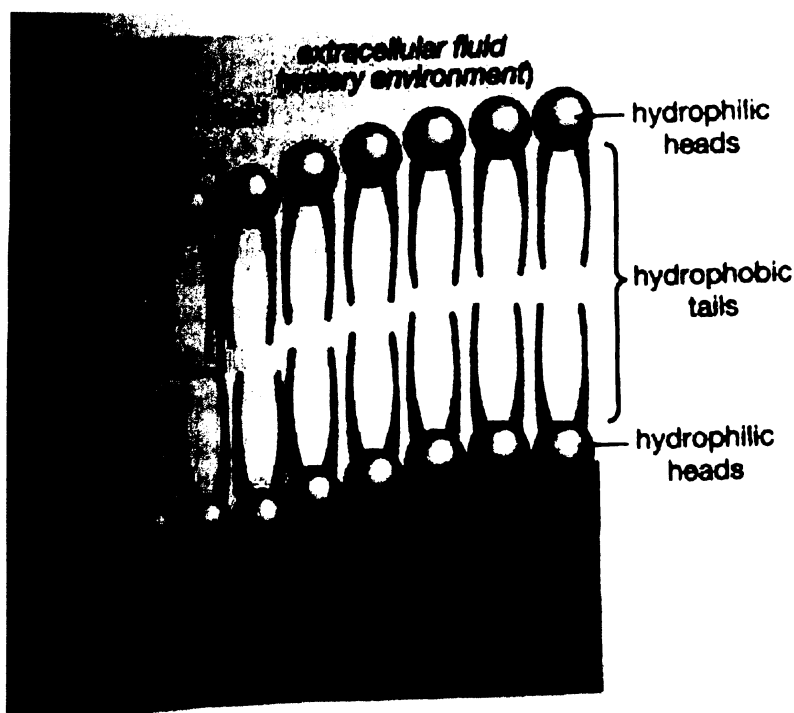
Zjištění, že některé aPL jsou  $\beta$ 2-GPI závislé, vedlo k výzkumům zaměřeným pouze na protilátky proti  $\beta$ 2-GPI. Protilátky specifické pro  $\beta$ 2-GPI byly nalezeny a identifikovány ve spojitosti se všemi klinickými projevy APS, včetně těhotenských ztrát a trombóz.

$\beta$ 2-GPI se váže na aniontové fosfolipidy na trofoblastu. To podmiňuje následnou vazbu aPL, které tak přímo ovlivňují funkci trofoblastu. Navíc anti- $\beta$ 2-GPI protilátky mohou vyvolat aktivaci endoteliálních buněk, což vede k prozánětlivému stavu. Ten napomáhá protrombotické diatézi tohoto syndromu.

Naproti tomu, aPL nezávislé na  $\beta$ 2-GPI byly také nalezeny u pacientek s primárním APS a SLE, a naopak  $\beta$ 2-GPI závislé aPL, byly zachyceny i u zdravých jedinců a u pacientů s infekcí. (3)

## 8.1 Umístění fosfolipidů

Zajímavé hledisko aPL je jejich potencionální reaktivita s buněčnými membránami. Zatímco CL je omezen pouze na mitochondriální membrány, fosfatydilserin (PS) a fosfatidylethanolamin jsou důležitými složkami buněčných membrán. PS je lokalizován výhradně ve vnitřní vrstvě, fosfatidylethanolamin je rozmístěn rovnoměrněji na obou vrstvách buněčné membrány. (obr. č. 1)



**Obr. č. 1**      Struktura cytoplazmatické membrány

Současné dogma je, že protilátky nemohou volně procházet přes membrány žijících buněk, a tak příslušný antigen musí být exprimován na povrchu dotyčné buňky. CL nespĺňuje toto kritérium, naopak PS, fosfatidylethanolamin a fosfatidylinositol jsou vhodnějšími antigenními cíli.

Ačkoli CL je přístupný pouze po buněčné smrti nebo fragmentaci, existuje několik fyziologických okolností, za kterých jsou fosfolipidy plasmatické membrány vystaveny okolnímu prostředí.

Erytrocyty a lymfocyty, které prochází procesem likvidace pomocí apoptózy, exprimují na svém povrchu PS, který může být součástí děje, při kterém jsou staré buňky rozpoznány a odstraněny z cirkulace makrofágy. Vystavení membránových fosfolipidů okolí je také spojováno se spontánní intracelulární membránovou fúzí nebo s intracelulární membránovou fúzí spojenou s diferenciací.

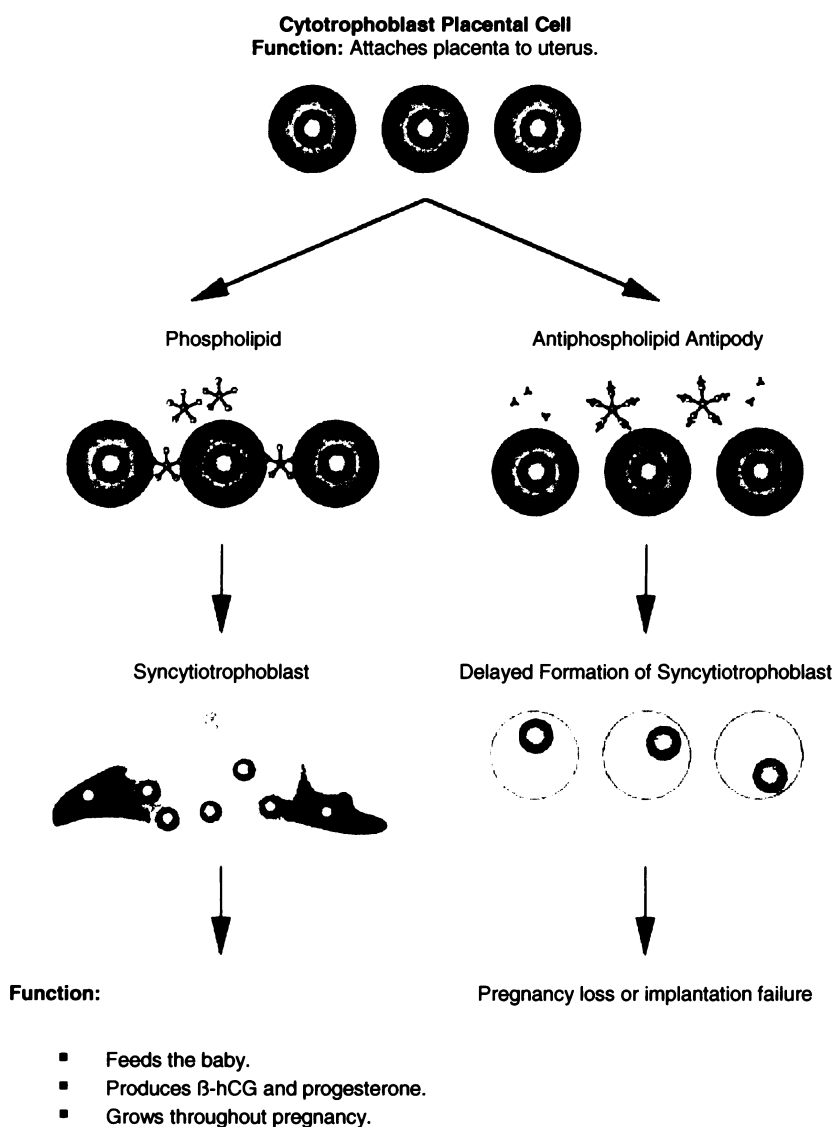
Placentární trofoblast také vystavuje PS během diferenciacce. Diferenciační proces vrcholí intertrofoblastickou fúzí, která může být kompletně zablokována přítomností protilátek proti PS-dependentním antigenům. Protože proces trofoblastické fúze pokračuje během těhotenství v syncytiální části placenty, buňky trofoblastu jsou pravděpodobně jedinými, které exprimují PS na svém povrchu delší dobu.

Krevní destičky také prochází lokalizovanou fúzní reakcí, kdy cytoplazmatická granula splývá s plasmatickou membránou, což vede ke smíchání fosfolipidů z vnější a vnitřní vrstvy dvojvrstevné buněčné membrány, čímž dojde k vystavení PS extracelulární tekutině. Výsledkem průběhu fyziologických membránových fúzí je tedy přerozdělení a přechodné lokální změny v prostorovém uspořádání membrány, což má za následek přechod dvojvrstevné struktury na jednovrstevnou, a tedy potenciálně antigenní strukturu. (3)

## **8.2 Mechanismy působení aPL**

Přítomnost cirkulujících aPL je spojena se značným nárůstem trombotických a vaskulárních onemocnění. Polyklonální, stejně jako monoklonální aPL (monoklonální protilátky se vyskytují spíše jen v experimentech – v klinice jen u vzácných případů monoklonální gamapatie) a anti- $\beta$ 2-GPI protilátky pocházející z pacientů s APS jsou schopné rozpoznat plasmatické kofaktory na povrchu endoteliálních buněk a tím ovlivnit funkci těchto buněk, což vede k podpoře srážlivosti. (obr. č. 2)





**Obr. č. 2** Mechanismus působení antifosfolipidových protilátek na buňky trofoblastu

Kromě toho schopnost aPL ovlivnit tvorbu eikosanoidů, jako tromboxan (TX) a prostacyklin (PGI<sub>2</sub>), které pocházejí z krevních destiček, cévních a placentárních buněk, byla označena jako přijatelný a rozumný podklad pro vysvětlení některých klinických projevů tohoto syndromu. Současná pozorování předpokládají, že aPL aktivují výše zmíněné buňky a následně zvyšují PGI<sub>2</sub> metabolismus.

IgG pacientů s APS zvyšují tvorbu TX u normální placentární tkáně, ale nepotlačují tvorbu PGI<sub>2</sub>. Byla také demonstrována důležitost role TX v utváření a rozvoji APS – léčba, při které byl podáván antagonist TX receptorů, vedla k potlačení nejrůznějších projevů APS v experimentálním myším modelu.

Celé soubory IgG ze séra pacientek s APS vytlačují annexin V z povrchu trofoblastických a endoteliálních buněk in vitro, a tím podporují srážlivost. Tento protein, jehož fyziologická funkce nebyla dosud zcela objasněna, má silné protisrážlivé vlastnosti, které jsou založeny na jeho vysoké afinitě k aniontovým fosfolipidům a jeho schopnosti vytlačit srážecí faktory z povrchu fosfolipidů.

Annexin V byl nalezen na apikálním povrchu placentárního syncytiotrofoblastu a jeho koncentrace byla značně snížena na placentárních klcích pacientek s APS. Přítomnost aPL nevede pouze ke snížení koncentrace annexinu V, ale i ke kratšímu času srážení plasmy. Z těchto pozorování lze vyvodit, že annexin V zabraňuje tvorbě trombů na povrchu cév a trofoblastu a že snížení hladiny tohoto proteinu způsobené aPL zodpovídá za trombózy, které se objevují u pacientů s APS. Všechny tyto jevy mohou in vivo působit současně a tím přispívat k tvorbě trombóz. Přesto však nejsou děložní ani placentární trombózy specifickým znakem pacientek s APS. Byly pozorovány i v případech IUGR, preeklampsie, SLE a úmrtí plodu, které nebyly spojeny s aPL.

U pacientek s APS a u myší s experimentálním APS byla prokázána zvýšená produkce interleukinu (IL)-3. Jelikož IL-3 hraje významnou roli při formování placentárního růstu, je možné, že snížení jeho hladiny u pacientek s APS by mohlo vysvětlit některé klinické rysy tohoto syndromu. Již dříve se předpokládalo, že jedním z mechanismů patogenicity aPL je jejich schopnost potlačit aktivitu plasminogenů. Naproti tomu IL-3 je schopen podporovat enzymatickou aktivitu plasminogenů, a tak můžeme předpokládat, že IL-3 podporuje implantaci a invasi trofoblastu, čímž předchází časným ztrátám plodu. V souladu s tímto tvrzením podávání rekombinantního IL-3 nebo látky podporující tvorbu IL-3 (jako například nízká dávka aspirinu) myším s APS zabránilo ztrátám plodu. (3)

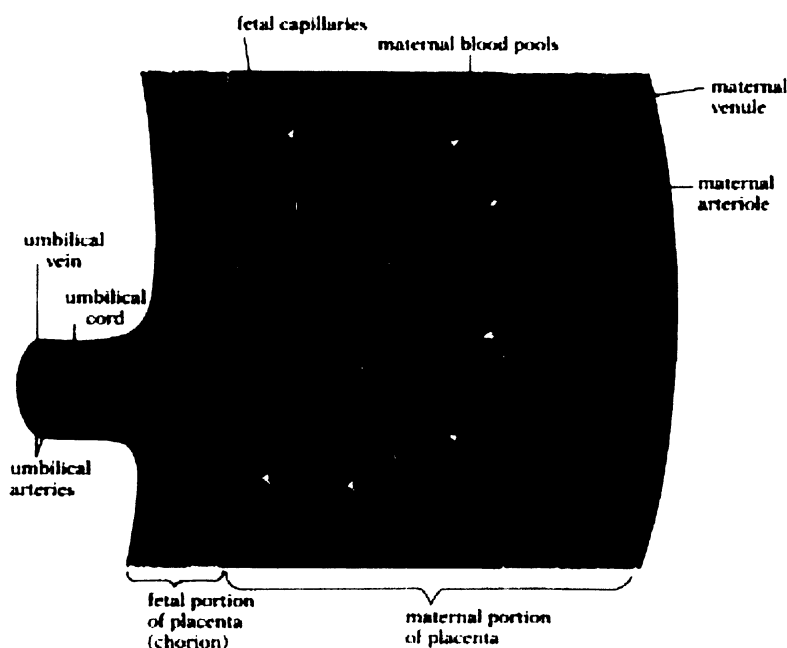
## **9. Plodový koláč - placenta**

Plodové obaly se tvoří v průběhu diferenciaci blastocysty.

Placenta je dočasný orgán utvořený z fetální a mateřské tkáně a zajišťuje výměnu látek mezi krevním oběhem matky a plodu, jež jsou odděleny placentární membránou, která je složena pouze z tkáně plodu. Placenta je metabolicky činná a tvoří hormony prospěšné pro těhotenství.

Lidská placenta má tvar kruhovitěho nebo oválněho disku. Po porodu má průměr 15 až 20 cm, 2 až 3 cm výšku uprostřed, 4 až 6 mm na okraji. V děloze je placenta většinou lokalizována na děložní stěně. Bez tenkých blan a pupečníku (vaskularizovaný provazec, který spojuje plod s placentou) váží v termínu porodu 500 až 600 g, tj. jednu šestinu hmotnosti plodu. V prvních měsících gravidity je hmotnost plodových obalů větší než embrya a plodu, koncem 4. měsíce se obě hmotnosti vyrovnají, poté až do konce gestace se placenta v růstu opožďuje. Placenta se upíná obvykle na zadní stěnu děložní dutiny nebo v děložním fundu.

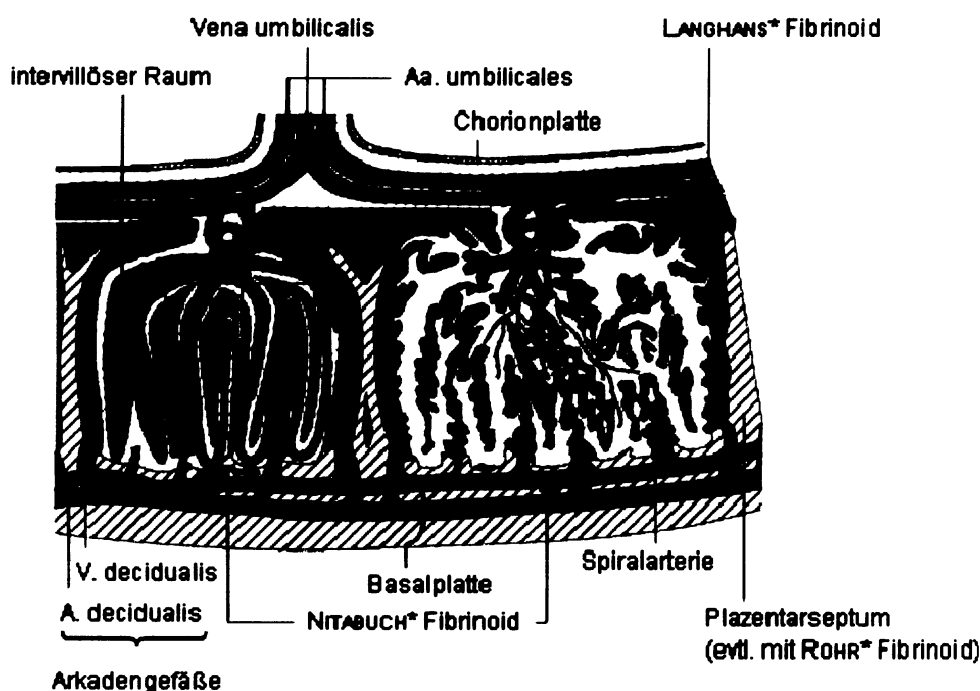
Lidská placenta je hemochoriální – to znamená, že mezi mateřskou krví a krví plodu je bariéra tvořená plazmodiem, cytotrofoblastem, stromatem klků a stěnou kapilár. (obr. č. 4) Tato bariéra je na začátku těhotenství 0,025 mm silná, koncem těhotenství se ztenčí na 0,002 mm. Ztenčení je způsobeno snížením a částečným vymizením vrstvy bezbuněčné hmoty, plazmodia, zánikem cytotrofoblastu na povrchu klků, mizením stromatu klků a rozšířením kapilár. Ztenčení usnadní na konci těhotenství převod kyslíku a živin z mateřské krve do krve plodu a obráceně přechod metabolických zplodin (např. oxidu uhličitého) od plodu do mateřské krve.



Obr. č. 4 Znárodnění krevního zásobení plodu pomocí placenty

Základem placenty je tzv. choriální plotna, 2 až 3 mm vysoká vrstva pevného vaziva, do níž se na plodové ploše upíná pupečník. Z pupečníku přecházejí do plotny dvě pupečnickové artérie, které se v ní větví ve kmeny pro jednotlivé klky na mateřské ploše placenty. V klcích se artérie větví v bohatou kapilární síť, z níž vycházejí žilní kmeny spojující se v choriální plotně v jednu pupečnickovou žílu. (obr. č. 3)

Na plodové ploše placenty je perleťové lesklé a slupitelné amnion, které přechází též na pupeční provazec, na jehož povrchu však pevně lpí. Amnion vzniká přiložením vrstvy extraembryonálního mezodermu k ektodermu amnia.



Obr. č. 3 Cévní a žilní systém placenty

Chorion vzniká přiložením extraembryonálního mezodermu k trofoblastové dvojvrstvě. Na mateřské ploše placenty odstupují z choriální plotny choriové klky v počtu asi dvou set. Mají vazivové stroma keříčkovitě se větvící ve slabší větévky. Stromatem prochází artérie a větví se až v kapilární síť periferie klků. Na povrchu klků je v první polovině gestace bezbuněčná plazmodiální vrstva syncytiotrofoblastu s ložisky nakupených buněčných jader, pod ní je jednobuněčná vrstva velkých, tzv. Langhansových buněk. Obě tyto vrstvy tvoří souvislý povlak klků jen v první polovině těhotenství. Po 5. měsíci gestace se plazmodiální vrstva ztenčí a přestává být souvislou, vrstva Langhansových buněk postupně takřka na celém

povrchu vymizí. Koncem těhotenství ubývá ve stromatu klků, vazivo a cévy se naopak rozšiřují. Celkový povrch klků se odhaduje na 8 až 12 m<sup>2</sup>, délka kapilár v klcích na 50 km. Oba obaly (amnion a chorion) jsou spojeny zárodečným stvolem.

Skupiny klků tvoří okrsky, tzv. kotyledony, v počtu 15 až 20, oddělené od sebe na mateřské ploše placenty mělkými rýhami.

Decidua basalis (oblast děložní sliznice pod implantovaným zárodkem) je od 2. měsíce gravidity zřetelně rozvrstvená v povrchovou, kompaktnější vrstvu a pod ní uloženou vrstvu houbovitého vzhledu – spongiózu. Z kompakty vystupují proti placentě lištovitá septa, která vnikají mezi kotyledony (okrsky klků), a zajišťují tak zakotvení placenty na děložní stěnu. Některé z placentárních klků se naopak upínají na deciduu, jako další způsob upevnění placenty k děložní stěně. Spongiózní vrstva má bohatou cévní pletěň a dilatované žlásky, takže její stroma je redukováno na tenoučké přepážky. Právě v této spongiózní vrstvě se placenta odloučí po porodu plodu spolu s kompaktní vrstvou deciduy basalis. Nejhlubší vrstva deciduy (stratum basale) zůstane na děložní stěně. (10)

## 9.1 Antifosfolipidové protilátky a placenta

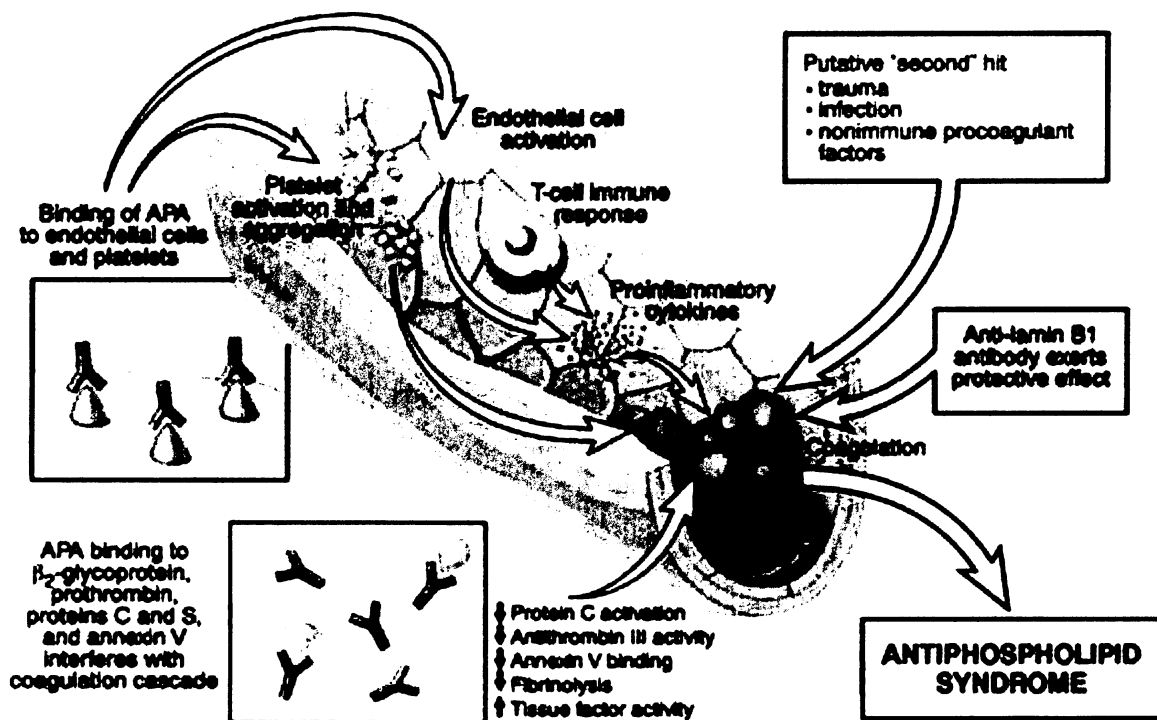
Mnohé studie se zabývaly vyšetřováním placenty ze série následných porodů u žen s historií opakovaných těhotenských ztrát. Do studií byly zahrnuty jak pacientky s APS, tak i ženy, u kterých tento syndrom nebyl prokázán. Cílem bylo určit, zda se placenty z těchto dvou skupin žen budou vyznačovat určitými charakteristickými histologickými znaky.

Výsledky těhotenství u pacientek s opakovanými těhotenskými ztrátami jsou stejné jak u APS pozitivních, tak u APS negativních, s ohledem na věk těhotných žen a předporodní komplikace.

Histopatologické nálezy se objevovaly u obou skupin, ale většina těhotenství byla bez potíží a bez jakýchkoli významných placentárních patologií. Navíc výskyt histologických abnormalit je obdobný výskytu abnormalit, který by se dal očekávat v normální neselektované populaci těhotných žen. Nebyla objevena žádná specifická poškození placenty ani žádný model abnormalit, které by byly charakteristické pro ženy s opakovaným výskytem těhotenských ztrát – ať už se jedná o APS pozitivní nebo o APS negativní pacientky.

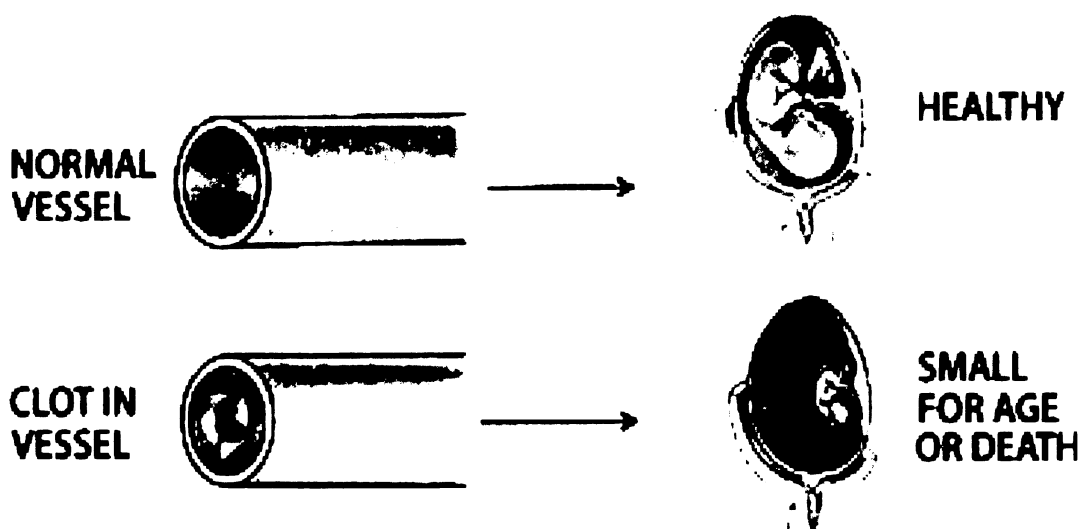
Hlavní patofyziologický mechanismus u žen s APS je uteroplacentární vaskulopatie. Navíc u pacientek se stejnou těhotenskou historií, ale netrpících APS jsou pozorovány stejné placentární komplikace. Frekvence případů, kdy došlo k odumření částí placenty, je u APS

pozitivních a APS negativních žen stejná (8-10 %), přičemž v neselektované populaci žen je frekvence těchto případů pouze 1%.



Obr. č. 5 Mechanismus vzniku trombóz při APS

Výskyt trombóz v klících placenty je stejný u obou skupin a navíc není o moc vyšší než u těhotných žen bez komplikací a bez historie opakovaných těhotenských ztrát. Proto současná pozorování nepodporují hypotézu, že většina těhotenských komplikací u pacientek s APS je spojena s interplacentárními trombózami, ačkoli připouští, že tyto trombózy se objevují u neúspěšných těhotenství na rozdíl od těch, která byla úspěšně léčena a vedla k narození živého novorozence.



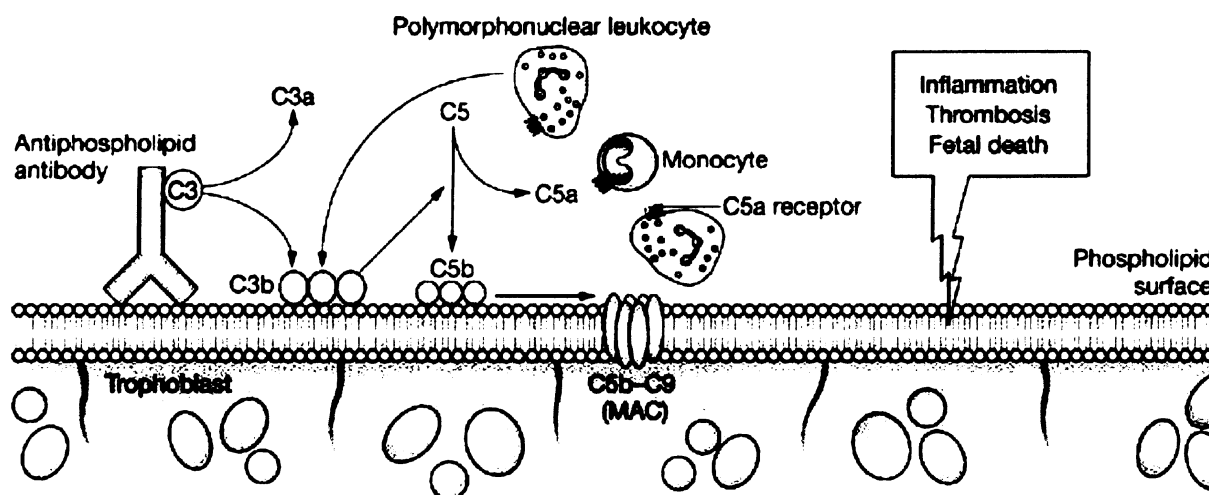
**Obr. č. 6** Cévní trombózy způsobují nedostatečnou výživu plodu a jeho opožděný růst až smrt

aPL pravděpodobně způsobují trombózy v uteroplacentární cirkulaci a také v partikulárních a spirálních artériích. (obr. č. 5) To se projevuje jako placentární nedostatečnost, která vede k růstové retardaci, případně až smrti plodu. (obr. č. 6) Spíš než placentární trombózy pravděpodobně představuje klíč k mechanismu opakovaných těhotenských ztrát inhibice invaze trofoblastu. Předpokládá se, že některé aPL protilátky mohou rozpoznávat jako antigeny některé membránové fosfolipidy jako například PS, který je vystaven na povrchu trofoblastu během intracelulární fúze a diferenciaci. Poté co reagují tyto protilátky s PS, mají negativní vliv a přímé inhibiční účinky na intracelulární fúzi trofoblastu a také na sekreci choriového gonadotropinu (hCG).

Normální invaze trofoblastu je dynamický proces, který je přísně kontrolován komplexní sérií interakcí mezi trofoblastem a děložními produkty. Trofoblast má nepostradatelnou roli v implantaci a vytvoření adekvátního krevního zásobování placenty.

In vitro studie ukázaly, že aPL se mohou vázat na lidské buňky trofoblastu. Takto navázané mohou různými mechanismy ovlivňovat normální invazi trofoblastu a jeho vývoj. aPL se mohou navázat na složky na buněčném povrchu invadujícího trofoblastu nebo cirkulující aPL mohou ovlivňovat endotel a mateřské cévy.

Selhání normální implantace trofoblastu vedoucí k abnormálnímu uteroplacentárnímu krevnímu toku je spojeno s pozdějším rozvojem preeklampsie, zpomalením růstu plodu a předčasným odloučením placenty. (obr. č. 7) (8)



**Obr. č. 7** Spuštění aktivace komplementu začíná vazbou C3 složky na Ig, která je navázána na membráně. Dojde k aktivaci ostatních složek komplementu a C5a složka pak aktivuje leukocyty (segmenty), které následně způsobí poškození tkání a případně poškození plodu.

## 10. Možnosti léčby APS

Při opakovaných těhotenských ztrátách spojených s APS jsou k léčbě používány protisrážlivé prostředky – aspirin a heparin. Podávání těchto protisrážlivých prostředků ale přináší i jistá rizika. Heparin nepoškozuje placentu, nemá teratogenní účinky ani nezpůsobuje krvácení v plodu. Nicméně stále přetrvávají obavy z vedlejších účinků – jako je trombocytopenie (pokles počtu krevních destiček), osteopenie (prořidnutí kostní tkáně), zlomeniny a také krvácení matky způsobené heparinem. V praxi se používá nízkomolekulární forma heparinu (Fraxiparin, Clexane), která má menší nežádoucí účinky. Podávání aspirinu v těhotenství se zdá být bezpečné a pravděpodobně nezvyšuje riziko potratu (16), doporučuje se však léčbu ukončit nejméně 3 týdny před očekávaným porodem s ohledem na možné porodní krvácení do mozkových komor plodu.



aPL protilátky, LAC a aCL jsou spojovány s opakovanými těhotenskými ztrátami, trombózami a trombocytopenií. Patnáct procent žen, které v minulosti opakovaně potratily (tři a více těhotenských ztrát), má stále pozitivní výsledky na aPL protilátky. Pokud těmto ženám není během těhotenství podávána žádná specifická léčba, v 90 % případů dojde ke ztrátě plodu.

Za příčinu potratů byly dlouho považovány trombózy a mnohočetné infarkty na placentě, ale zdaleka ne ve všech případech bylo placentární poškození takového rozsahu, aby vedlo k potratu. Při léčbě byly používány různé kortikosteroidy, nízké dávky aspirinu, heparin a imunoglobuliny. Použití vyšších dávek kortikosteroidů v těhotenství ale představuje určité riziko jak pro matku, tak pro plod. (15) Proto jsou v současné době nízké dávky aspirinu a nízkomolekulárního heparinu nejvíce upřednostňovány při léčbě – protisrážlivá terapie u žen s APS nejvíce zlepšuje prognózu jejich těhotenství. (16)

Léčba, při které je kombinován aspirin s heparinem, vede ke značnému zvýšení počtu živě narozených dětí (71 %). Zatímco u léčby, při které je podáván pouze aspirin, je počet živě narozených podstatně nižší (42 %). Jak aspirin, tak heparin jsou pacientkami velmi dobře tolerovány.

Nízké dávky aspirinu pravděpodobně zlepšují výsledky těhotenství u žen s aPL nevratnou blokadou funkce cyklooxygenázy v krevních destičkách. Tím v destičkách dojde k inhibici syntézy TX, což vede k předejití tvorby trombóz v placentárních cévách. (15) Heparin přispívá ke snížení počtu těhotenských ztrát tím, že se váže na antifosfolipidové protilátky a ochraňuje tak fosfolipidy trofoblastu před jejich útokem - heparin tak dokáže in vitro obnovit invazi a diferenciaci trofoblastu tím, že potlačí vazbu IgG na jeho buňky. (16) To ve výsledku podporuje úspěšnou implantaci v raném těhotenství. Toto zjištění podporuje fakt, že po 13. týdnu těhotenství nejsou pozorovány žádné rozdíly mezi dvěma skupinami žen s odlišnou léčbou. V tomto čase je totiž první fáze invaze trofoblastu dokončena a vývoj placenty je započat.

U žen s opakovanými těhotenskými ztrátami je pravděpodobně nejvhodnější léčbou současné podávání nízkých dávek aspirinu a heparinu, protože vede ke značnému zvýšení počtu úspěšných porodů. (15)

## 11. Pre-eklampsie

S APS, jehož studiu jsem se věnovala v této práci, úzce souvisí onemocnění nazývané pre-eklampsie. Pre-eklampsie má některé společné znaky s APS, proto se zde krátce zmíním i o této nemoci. (14)

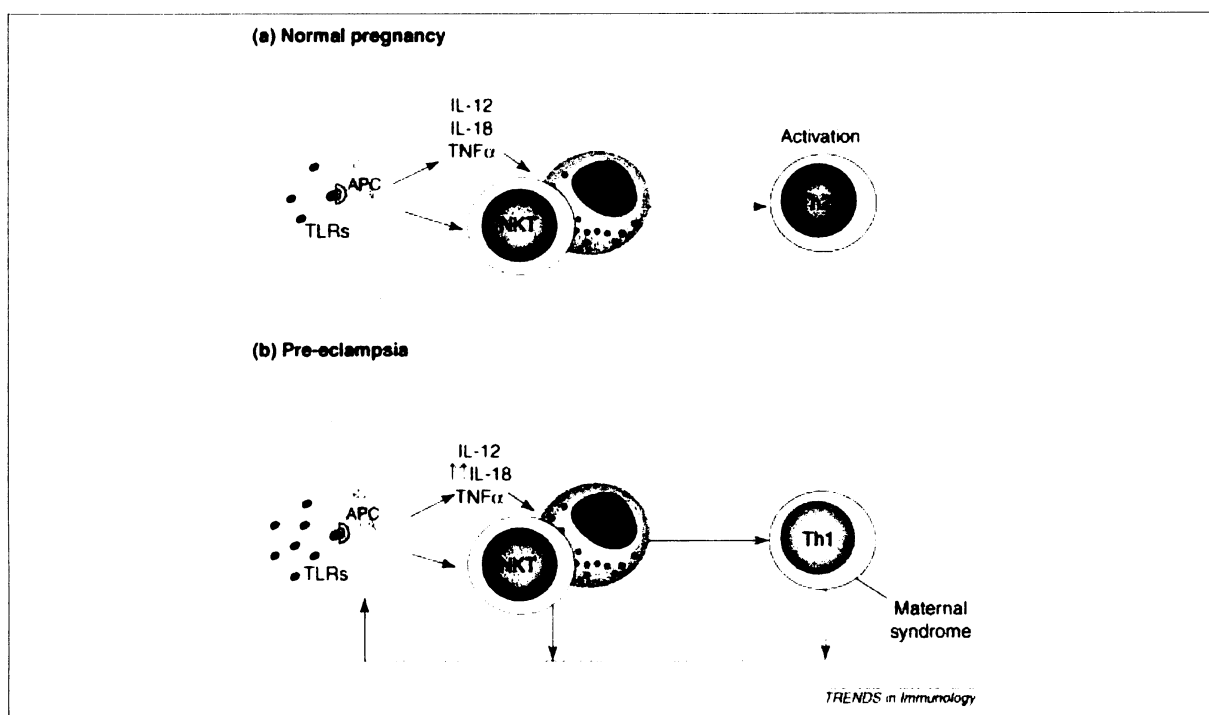
### 11.1 Incidence

U primapar je incidence pre-eklampsie v 10 – 14 %, u multipar v 5 – 7 %, v 70 % se pre-eklampsie manifestuje v těhotenství (před porodem), ve 30 % po porodu, u 22 % dcer pre-eklamptických matek a u 35 % sester pre-eklamptických žen.

### 11.2 Patofyziologie

Tato nozologická jednotka je řazena mezi tzv. endoteliální choroby. Multiorgánové poškození vzniká vlivem generalizované vazokonstrikce s orgánovou hypoperfúzí (snížené prokrvení tkáně), dále se podílí porucha koagulačního systému s tvorbou fibrinových depozit a poškození endotelu, které vede k syndromu úniku malých bílkovin, hypovolémii (snížený objem cirkulující krve) a tvorbě edémů. Příčinou by mohla být porušená rovnováha mezi proagregačně a vazokonstrikčně účinným tromboxanem a vazodilatačně a antiagregačně účinným prostacyklinem. (obr. č. 8)

Je také sníženo odbourávání tromboxanu v pupečnickových a placentárních cévách. U pre-eklamptických žen je vyšší citlivost na endogenní i exogenní katecholaminy. Během těhotenství se aktivuje koagulační kaskáda. Poškození endotelu je klinicky zřejmé v glomerulárním kapilárním řečišti (edém a zmnožení endotelových buněk, které vyplňují kapilární lumen), dochází k proteinurii (zvýšené množství proteinů v moči, rozhodujícím způsobem se uplatňuje glomerulární filtrace proteinů a tubulární resorpce proteinů). Podobné patomorfologické změny jsou na endotelu placentárních cév.



**Obr. č. 8** V případě fyziologického těhotenství je aktivována imunitní odpověď typu Th2. Při pre-eklampsii dochází k aktivaci odpovědi typu Th1 a k následným těhotenským komplikacím.

### 11.3 Klinické a laboratorní příznaky

#### Kompletní triáda:

1. vzestup systolického krevního tlaku na 140 mmHg a více a vzestup diastolického tlaku na 90 mmHg a více
2. proteinurie nad 300 mg/24 hodin
3. edémy

#### Další příznaky pre-eklampsie:

1. laboratorní nálezy: snížení glomerulární filtrace, snížení tubulární resorpce kyseliny močové, hepatocelulární postižení při mikrocirkulační poruše, zvýšení termostabilní alkalické fosfatázy, redukce plazmatického objemu, známky hemolýzy, aktivace hemokoagulačních procesů

2. klinické příznaky: bolest v epigastriu (nadbříšek), bolesti hlavy, spavost, poruchy vidění, mdloby, bolesti uší, hemoragie (krvácení), otoky sliznic včetně známek plného nosu, dušnost, zvýšená děložní citlivost na oxytocin, předčasná porodní činnost, známky placentární insuficience (nedostatečnost, selhání činnosti), abrupce (odloučení) placenty atd.

## 11.4 Diagnostika

Základním požadavkem je kvalitní prenatální péče a včasný záchyt ohrožených těhotných žen. Důležité je zjistit výskyt pre-eklampsie v rodině, popř. v minulých těhotenstvích. Ambulantně se sleduje systolický a diastolický krevní tlak, přítomnost bílkovin v moči, přírůstek tělesné hmotnosti včetně projevů vznikajících edémů, zejména v obličeji a na prstech rukou. Pravidelně se sleduje i vývoj a růst plodu.

## 11.5 Terapie

V první řadě je samozřejmě snaha předcházet vzniku pre-eklampsie. V případě rozvoje nemoci:

- antihypertenzní léčba
- zvážit optimální ukončení těhotenství

Při rozvoji pre-eklampsie je jedinou kauzální léčbou ukončení těhotenství, protože symptomatická léčba vývoj onemocnění zmírní, ale nevyléčí je.

# 12. Eklampsie

## 12.1 Incidence

Incidence eklampsie je 0,2 – 5 % všech porodů, v 70 % vzniká po porodu, rekurence v dalším těhotenství je 10 – 35 %. (14)

## 12.2 Klinický obraz

Záchvat tonicko-klonických křečí navazující na těžkou preeklampsii přecházející do bezvědomí. Nakupení eklamptických záchvatů se nazývá status eclampticus, doprovázený kómatem.

### 12.3 Komplikace

Plicní edém, kardiální selhání, hepatorenální selhání, odchlípení sítnice, edém mozku, cerebrální krvácení, hypertonie děložní sliznice s abrupcí placenty, hypoxie (nedostatek kyslíku pro tělesný metabolismus) plodu.

### 12.4 Léčba

Zajištění dýchacích cest, monitoring vitálních funkcí, snížení kortikální iritability (schopnost tkáně reagovat na podráždění), antihypertenzní léčba, korekce vnitřního prostředí a vodní bilance, prevence tromboembolických komplikací, ukončení těhotenství. Novorozenec je zpravidla hypotrofický (výrazně nižší porodní hmotnost), často vyžaduje resuscitaci.

## 13. Závěr

APS je autoimunitní onemocnění spojené s přítomností protilátek, které jsou zaměřeny proti negativně nabitým fosfolipidům, přičemž bylo prokázáno, že přítomnost těchto aPL u těhotných žen často vede k opakovaným ztrátám plodu. V souvislosti s APS bylo identifikováno několik různých typů aPL jako aCL a LAC. Tyto protilátky a antifosfatidylserin (aPS) mají nepříznivý dopad na průběh těhotenství. Většina opakovaných potratů způsobených APS je následkem trombóz a placentárních patologií, což se vysvětluje tak, že aPL přímo reagují s negativně nabitými fosfolipidy na povrchu placenty. Zmíněná reakce způsobuje placentární infarkty a trombózy a tato poškození vedou ke ztrátě plodu. (19)

I když jsou aPL prokazatelnou příčinou ztráty plodu u dříve neobjasněných potratů, přesný a detailní mechanismus ztráty plodu způsobené aPL je stále předmětem dalšího výzkumu. (19)

V současné době lékaři u většiny pacientek dokáží léčbou alespoň potlačit příznaky APS a docílit tak úspěšného porodu. Jak jsem se už zmínila, přesný mechanismus, kterým aPL způsobují potraty, ještě není znám – to je také jeden z důvodů, proč lékaři nejsou schopni odstranit příčinu APS. Díky podávání aspirinu a heparinu těhotným ženám s APS mají tyto pacientky daleko větší šanci na to, že budou šťastnými matkami.

Pokud pacientka s APS nevyhledá lékařskou pomoc, její těhotenství skončí samovolným potratem pravděpodobně už během prvního trimestru. Ty pacientky, které léčbu podstoupí, v mnoha případech porodí živé dítě, i když většinou předčasně. Tyto předčasně narozené děti mají menší porodní váhu, ale jinak u nich nebyly prokázány žádné další zdravotní potíže. Dokonce byly sledovány děti školního věku, jejichž matky trpěly v období těhotenství APS, a nebyly u nich nalezeny žádné vážnější poruchy chování ani učení ve větší míře. Ve srovnání s širokou populací se u těchto dětí nevyskytovaly poruchy jako dyslexie nebo hyperaktivita prokazatelně častěji. (11)

Na úplný závěr své práce chci zdůraznit to, že APS je velmi závažné onemocnění ohrožující život plodu a že v drtivé většině případů je odhaleno až poté, kdy žena několikrát opakovaně potratí. Je to z toho důvodu, že minimum žen, které samovolně potratí poprvé, jsou testovány na aPL. Teprve tři po sobě následující potraty jsou diagnostikovány jako opakované těhotenské ztráty a pacientky s touto diagnózou již podstupují detailnější vyšetření. To nejhorší na APS je dle mého názoru právě toto často pozdní odhalení, protože ženy trpící tímto syndromem jsou vystaveny velkému stresu, který má často za následek psychické poruchy. Proto by se tomuto syndromu měla i nadále věnovat pozornost jak v lékařství, tak ve vědě.

## 14. Seznam použité literatury

Pro ilustraci byly použity obrázky vyhledané na [www.google.cz](http://www.google.cz) a AlltheWeb

1. **Alarcón-Segovia D, Delezé M, Oria CV, Sánchez-Guerrero J, Gómez-Pacheco L, Cabiedes J, Fernández L, Ponce de León S.** Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. A prospective analysis of 500 consecutive patients. *Medicine (Baltimore)*. 1989 Nov;68(6):353-65.
2. **Alarcón-Segovia D, Sánchez-Guerrero J.** Correction of thrombocytopenia with small dose aspirin in the primary antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol*. 1989 Oct;16(10):1359-61.
3. **A.Caruso, S.De Carolis and N.Di Simone.** Antiphospholipid antibodies in obstetrics: new complexities and sites of action. *Human Reproduction Update*. 1999;5(3): 267-276.
4. **R.H.W.M. Derksen, P.G. de Groot.** Clinical consequences of antiphospholipid antibodies. *The Netherlands Journal of Medicine*. 2004 Sep;62(8): 273-278.
5. **Dostál C, Madar J, Nouza K, Palecková A, Vencovský J, Tezgová D, Figurová E, Kovarík J, Andělová K, Vízek K, Vlasáková V, Vítová J.** Practical results of monitoring pregnancy in women with systemic lupus erythematosus. *Cas Lek Cesk*. 1996 Dec 18;135(24):789-95. Czech.
6. **Geva E., Yaron Y., Leasing J.B. et al.** Circulating autoimmune antibodies may be responsible for implantation failure in *in vitro* fertilization. *Fertil. Steril*. 1994, 62: 802-806.
7. **Christiansen O.B., Ulcova-Gallova Z., Mohapeloa H., Krauz V.** Studies on associations between human leukocyte antigen (HLA) class II alleles and antiphospholipid antibodies in Danish and Czech women with recurrent miscarriages. *Hum. Reprod*. 1998; 13: 3326-3331.
8. **Silvia D'Ippolito, Nicoletta Di Simone, Fiorella Di Nicuolo, Roberta Castellani, Alessandro Caruso.** Antiphospholipid Antibodies: Effects on Trophoblast and Endothelial Cells. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2007; 58: 150-158

9. **J.Madar, K.Nouza, D.Nováková.** Imunologické aspekty habituálního potrácení (Immunological aspects of habitual miscarriage). *Moderní gynekologie a porodnictví* 11(4):621-627, 2002.
10. **Medik.cz** – portál pro mediky.
11. **R. Nacinovich, J. Galli, M. Bomba, E. Filippini, G. Parrinello, M. Nizzo, A. Lojacono, M. Motta, A. Tincani.** Neuropsychological Development of Children Born to Patients With Antiphospholipid Syndrome. *Arthritis & Rheumatism*, March 2008; 59(3): 345-351.
12. **Nouza K, Madar J, Kinský R, Dostál C, Palecková A.** Autoimmune habitual abortion. *Ceska Gynekol.* 1996 Oct;61(5):310-6.
13. **RNDr. Dana Nováková.** 1998. Předčasné ovariální vyhasnutí a jeho vztah k autoimunitním chorobám. *Imunologie '98*: 184-187.
14. **Porodníci.cz** – porodnická encyklopedie.
15. **R. Rai, H. Cohen, M. Dave, L. Regan.** Randomised controlled trial of aspirin and aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriage associated with phospholipid antibodies (or antiphospholipid antibodies). *British Medical Journal.* 1997 Jan; 314(7076): 253-257.
16. **Tien J C, Tan T Y T.** Non-surgical interventions for threatened and recurrent miscarriages. *Singapore Medical Journal* 2007; 48(12): 1074-1090.
17. **Ulcova-Gallova Z, Krauz V, Novakova P, Milichovska L, Micanova Z, Bibkova K, Sucha R, Turek J, Balvin M, Rokyta Z.** Anti-phospholipid antibodies against phosphatidylinositol, and phosphatidylserine are more significant in reproductive failure than antibodies against cardiolipin only. *Am J Reprod Immunol.* 2005 Aug;54(2):112-7.
18. **Ulcová-Gallová Z, Turek J, Bibková K, Micanová Z, Panzner P, Balvín M, Rokyta Z.** Serum antibodies against annexin V and other phospholipids in women with fertility failure. *Ceska Gynekol.* 2006 May;71(3):200-3. Czech.
19. **Shanmugan Velayuthaprabhu, Govindaraju Archunan, Kumbalingam Balakrishnan.** Placental Thrombosis in Experimental Anticardiolipin Antibodies-Mediated Intrauterine Fetal Death. *American Journal of Reproductive Immunology* 57 (2007) 270-276.