

# Częstość występowania zespołu antyfosfolipidowego u kobiet z utratą ciąży w wielośrodkowych badaniach w Polsce

## Frequency of antiphospholipid syndrome in women with pregnancy loss in multicenter study in Poland

Skrzypczak Jana<sup>1</sup>, Rajewski Marcin<sup>1</sup>, Wirstlein Przemysław<sup>1</sup>, Goździewicz Tomasz<sup>1</sup>, Zimmer Mariusz<sup>2</sup>, Wołczyński Sławomir<sup>3</sup>, Leszczyńska-Gorzelał Bożena<sup>4</sup>, Bręborowicz Grzegorz<sup>5</sup>, Łudwikowski Grzegorz<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Klinika Rozrodczości, Katedry Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, Polska

<sup>2</sup> II Katedra i Klinika Ginekologii, Położnictwa i Neonatologii, Akademii Medycznej we Wrocławiu, Polska

<sup>3</sup> Zakład Endokrynologii Ginekologicznej, Klinika Rozrodczości i Endokrynologii Ginekologicznej, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, Polska

<sup>4</sup> Katedra i Klinika Położnictwa i Perinatologii, Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, Polska

<sup>5</sup> Klinika Perinatologii i Ginekologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, Polska

<sup>6</sup> Katedra i Zakład Andrologii Klinicznej Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy, Polska

### Streszczenie

**Cel pracy:** celem pracy była ocena częstości występowania zespołu antyfosfolipidowego (APS) wśród kobiet z utratą ciąży w Polsce.

**Materiał i metody:** badaniami objęto 352 kobiety ze średnią wieku 31,4 ( $\pm 4,3$ ) lat, które doświadczyły utraty jednej lub więcej ciąży. Pacjentki, które rekrutowały się z 5 akademickich ośrodków: Poznania, Białegostoku, Lublina, Wrocławia i Bydgoszczy podzielono na trzy grupy. Grupę I stanowiło 150 pacjentek z nawracającymi wczesnymi tj. przed 10. tygodniem utratami ciąży; grupa II obejmowała 160 pacjentek z późnymi utratami ciąży; grupę III stanowiły 42 pacjentki, u których wystąpił poród w lub przed 34. tygodniem ciąży powikłanej preeklampsją i/lub niewydolnością łożyska. U wszystkich 352 kobiet przeprowadzono badania na obecność przeciwciał antykardiolipinowych (aCA), przeciwciał przeciw  $\beta_2$  glikoproteinie I ( $a\beta_2$  GPI) i antykoagulantu tocznia (LA). Dwa pierwsze z nich oceniano testem ELISA, a trzeci przy pomocy APTT. Pacjentkę uznawano za dodatnią pod względem przeciwciał antyfosfolipidowych (aPL) dopiero na podstawie drugiego pozytywnego wyniku. Przeciwciała przeciw kardiolipinie i  $\beta_2$  glikoproteinie I badano w trzech klasach – IgA, IgG i IgM. Laboratoryjnym warunkiem zakwalifikowania do APS były miana powyżej 40 jednostek U/ml lub powyżej 99 centyla.

### Adres do korespondencji:

Jana Skrzypczak  
Klinika Rozrodczości, Katedra Ginekologii, Położnictwa i Onkologii Ginekologicznej  
Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu  
Polska, 60-535 Poznań, ul. Polna 33  
tel./fax. +48 61 8419302  
e-mail: klinrozrod@gpsk.am.poznan.pl

Otrzymano: 15.08.2011  
Zaakceptowano do druku: 25.09.2011

**Wyniki:** Spośród 352 kobiet z utratą ciąży kryteria APS spełniało 13 pacjentek, co stanowi 3,69% badanych. Częstość występowania APS u kobiet z wczesnymi i późnymi utratami ciąży wynosiła odpowiednio 1,33% i 6,25%. Najczęściej występującym przeciwciałem był antykoagulant tocznia. U 3 pacjentek z późnymi utratami ciąży wykryto wszystkie 3 rodzaje przeciwciał. Wśród kobiet z porodami przedwczesnymi powikłanymi preeklampsją i/lub niewydolnością łożyska częstość występowania APS wynosiła 2,38%.

**Wnioski:**

1. Badania w kierunku zespołu antyfosfolipidowego należy wykonywać przede wszystkim u kobiet z późnymi utratami ciąży
2. Można przyjąć, że zespół antyfosfolipidowy rzadko jest związany z utratą ciąży przed 10 tygodniem jej trwania.

Słowa kluczowe: **zespół antyfosfolipidowy / przeciwciała antykardiolipinowe / przeciwciała przeciw  $\beta_2$ glikoproteinie I / antykoagulant tocznia / nawracające wczesne utraty ciąży / późne utraty ciąży / porody przedwczesne / niewydolność łożyska / preeklampsja /**

**Abstract**

**The aim:** The aim of the study was the analysis of antiphospholipid syndrome frequency in Polish women with pregnancy loss.

**Material and methods:** We analyzed 352 women with average age of 31.4 ( $\pm 4.3$ ) who experienced one or more pregnancy losses. Patients from 5 University centers: Poznań, Białystok, Lublin, Wrocław and Bydgoszcz were divided into 3 groups. In the 1st group there were 150 women with recurrent early pregnancy losses before 10 weeks gestation, in the 2nd group we included 160 women with late pregnancy losses, in the 3rd group we analyzed 42 women with labor complicated by preeclampsia or placental insufficiency within or before 34 gestational week. All 352 women were screened for the presence of anticardiolipin antibodies (aCL), anti  $\beta_2$ glikoprotein I (a $\beta_2$ GPI) and lupus anticoagulant (LA).

The first two antibodies were investigated with ELISA test and the last one with APPT based test. Only the second positive result qualified patients as antiphospholipid antibody (aPL) positive. Antibodies against cardiolipin and  $\beta_2$ glikoprotein I were analyzed in three classes – IgA, IgG and IgM – where the laboratory criteria of positivity were titers above 40 unitsU/ml or above 99 centile.

**Results:** 13 patients (3.69%) in the screened population of 352 women met the criteria of the antiphospholipid syndrome.

The frequency of APS in women with early and late pregnancy losses were 1.33% and 6.25%, respectively. The most common antibody found was lupus anticoagulant (LA). In 3 women with late pregnancy loss all three antibodies were found. In women with premature deliveries complicated with preeclampsia and/or placental insufficiency the frequency of APS was 2.58%.

**Conclusion:**

1. Screening of antiphospholipid syndrome should be routinely performed in women with late pregnancy loss
2. We can conclude that APS is rarely found in women with pregnancy loss before 10 gestational week

Key words: **antiphospholipid syndrome / anticardiolipin antibodies / anti $\beta_2$ glikoprotein I antibodies / lupus anticoagulant / recurrent early pregnancy loss / late pregnancy loss / premature deliveries / placental insufficiency / preeclampsia /**

**Wstęp**

Zespół antyfosfolipidowy (APS) jest chorobą autoimmunologiczną, która manifestuje się naczyniową zakrzepicą i/lub utratą ciąży u kobiet z przeciwciałami przeciw fosfolipidom lub białkom wiążącym fosfolipidy.

Początkowo wykonywano testy tylko na obecność antykoagulantu tocznia i przeciwciał antykardiolipinowych. Wiadomo jednak, że wiele innych przeciwciał przeciw fosfolipidom lub białkom wiążącym fosfolipidy może być związanych z APS np. przeciwciała przeciw fosfatydyloserynie, fosfatydylochololinie, protrombinie, aneksynie czy  $\beta_2$ glikoproteinie I. Badania wykazały, że różne typy przeciwciał antyfosfolipidowych mogą występować równocześnie i że związane są one często z różnymi kofaktorami [1, 2].

Aktualne kryteria definiujące APS obejmują także przeciwciała przeciw  $\beta_2$ glikoproteinie I [3].

Zespół antyfosfolipidowy może występować jako izolowana jednostka chorobowa (pierwotny APS) lub w połączeniu z chorobami tkanki łącznej, zwłaszcza z toczniem układowym (wtórny APS) [4].

Związek przeciwciał antyfosfolipidowych (aPL) z utratą ciąży i innymi powikłaniami położniczymi jest znany od ponad 20 lat. Według niektórych autorów około 25% kobiet, które doświadczają nawracających poronień ma pozytywny test w kierunku jednego lub więcej przeciwciał antyfosfolipidowych [5].

U kobiet z dodatnimi mianami aPL ryzyko utraty ciąży jest wyższe po 10 tygodniu ciąży w porównaniu z normalną populacją, gdzie poronienia najczęściej występują w czasie pierwszych 9 tygodni ciąży [6].

Częstość występowania zespołu antyfosfolipidowego u kobiet z utratą ciąży w wielośrodkowych badaniach w Polsce.

Przyczyną więcej niż połowy sporadycznych poronień są nieprawidłowości chromosomowe, prowadzące do zahamowania rozwoju zarodków. Natomiast w poronieniach nawracających genetyczne anomalie zarodków występują rzadziej. Stwierdzono również, że u kobiet aPL pozytywnych częściej niż w normalnej populacji dochodzi do obumarcia zarodka/płodu. Zgodnie z tymi obserwacjami do spełniania położniczych kryteriów APS wymagane są trzy lub więcej poronienia przed 10 tygodniem ciąży lub przynajmniej jedna niewyjaśniona utrata ciąży w okresie od 10 tygodnia ciąży [3].

Przeciwciała antyfosfolipidowe mogą także być przyczyną niewydolności maciczo-łożyskowej, która z kolei indukuje zahamowanie wzrastania płodu, przedwczesny poród czy pre eklampsję [7]. Jak wykazują badania sprzed lat i obecne ponad 10% zdrowych osób posiada dodatkowo miana przeciwciał aPL, jednak kryteria APS spełniają tylko pojedyncze jednostki [8, 9].

Jakkolwiek przyczyna powstawania przeciwciał aPL pozostaje niejasna, to ich synteza może być indukowana w kilku sytuacjach. Immunizacja produktami bakterii lub wirusów stymuluje produkcję przeciwciał aPL w modelach eksperymentalnych, tym samym wzmacnia hipotezę, że te przeciwciała mogą być generowane po infekcji przez mechanizm molekularnej mimikry [10].

Z drugiej strony udokumentowano rodzinne występowanie przeciwciał aPL i ich autosomalny sposób dziedziczenia [11]. Niektóre badania sugerują związek między allelami HLA II skojarzonymi z produkcją innych przeciwciał i syntezą przeciwciał aPL, zwłaszcza HLA DR4 i DR7 dla aCA [12].

Jest bardzo prawdopodobne, że wiele czynników wpływa na to, że u danej osoby rozwija się lub nie zespół antyfosfolipidowy.

Patogenetyczną rolę przeciwciał aPL wyjaśniają po części eksperymentalne badania, które wykazują, że podanie ciężarnym myszom surowicy z przeciwciałami IgG aPL prowadzi do śmierci i resorpcji płodów oraz niewydolności łożyska [13].

Niektóre obserwacje sugerują, że przeciwciała aPL mogą interferować z aktywacją białka C i modyfikować proces fibrylizacji oraz zmieniać strukturę aneksyny V, naturalnego antykoagulantu wydzielanego przez komórki endotelialne łożyska [14].

Przeciwciała antyfosfolipidowe są zdolne indukować stan hiperkoagulacji zarówno w komórkach endotelialnych jak i w trofoblaście i prowadzić do produkcji cytokin. Jednakże powikłania ciąży w przebiegu APS nie wydają się być wynikiem wyłącznie zmian w krzepnięciu krwi. Wiadomo, że tętnice spiralne macicy mają nieprawidłową budowę u kobiet z APS, co raczej jest następstwem wiązania się przeciwciał aPL do powierzchni mikrosomków trofoblastu, podścieliska i przestrzeni okołonaczyniowych a nie zmian zakrzepowych w łożysku. Bezpośrednie wiązanie się przeciwciał aPL do błon komórkowych trofoblastu, czy to przez ekspozycję ujemnie naładowanych aPL, czy przez przylegającą  $\beta_2$ GPI może zmieniać międzykomórkową fuzję, sekrecję gonadotropin i inwazyjność trofoblastu [15]. Jak dotąd nie znaleziono specyficznych zmian w łożysku u kobiet z APS, natomiast dostarczono dowodów, że aktywacja lokalnego komplementu może być odpowiedzialna za uszkodzenie płodu [16].

Biorąc pod uwagę poronienia i utratę płodów u pacjentek z APS jako przyczynę rozważa się mechanizm immunologiczny we wczesnych poronieniach a zmiany zakrzepowe w utracie późniejszej ciąży.

## Cel pracy

Celem pracy była ocena częstości występowania zespołu antyfosfolipidowego wśród kobiet z utratami ciąży w Polsce.

## Materiał

Badaniami objęto 352 kobiety ze średnią wieku 31,4 ( $\pm 4,3$ ) lat diagnozowane w latach 2004–2011 z powodu niewyjaśnionych utrat ciąży.

Pacjentki rekrutowały się z kilku ośrodków w Polsce: z Kliniki Rozrodczości UM w Poznaniu, z Kliniki Rozrodczości i Endokrynologii Ginekologicznej UM w Białymstoku, z Kliniki Położnictwa i Perinatologii UM w Lublinie, z Kliniki Położnictwa UM w Gdańsku, z Kliniki Perinatologii i Ginekologii UM w Poznaniu, z II Katedry i Kliniki Ginekologii, Położnictwa i Neonatologii AM we Wrocławiu i z Katedry i Zakładu Andrologii Klinicznej Collegium Medium Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy.

Trzysta pięćdziesiąt dwie pacjentki doświadczyły łącznie 1075 utrat ciąży. Jedna z pacjentek przeżyła 7 poronień. U 6 kobiet wystąpił epizod choroby zakrzepowo-zatorowej przed pierwszą ciążą i/lub w trakcie kolejnej ciąży. Żadna z badanych kobiet nie chorowała na cukrzycę, nadciśnienie i inne choroby przewlekłe, nie stosowała leków hormonalnych, preparatów przeciwzakrzepowych ani nie paliła papierosów, a od ostatniej utraty ciąży lub porodu do momentu badania upłynęły co najmniej 3 miesiące.

Pacjentki podzielono na trzy grupy według kryteriów położniczych zespołu antyfosfolipidowego.

Grupę I stanowiło 150 pacjentek, które doświadczyły trzech lub więcej poronień przed 10 tygodniem ciąży.

Grupa II obejmowała 160 pacjentek z przynajmniej jedną niewyjaśnioną utratą ciąży w okresie od 10 tygodnia ciąży.

Grupę III stanowiły 42 pacjentki, u których wystąpił poród w lub przed 34 tygodniem ciąży powikłanej pre eklampsją i/lub niewydolnością łożyska.

Pacjentki, które miały kilka utrat ciąży, w tym przed i po 10 tygodniu ciąży, były kwalifikowane do grupy II.

U wszystkich 352 kobiet przeprowadzono badania na obecność:

1. Przeciwciał antykardiolipinowych (aCA)
2. Przeciwciał przeciw  $\beta_2$  glikoproteinie I ( $\alpha\beta_2$ GPI)
3. Antykoagulantu tocznia (LA)

W przypadku uzyskania dodatniego miana przeciwciał antyfosfolipidowych, badanie powtarzano po upływie 6 tygodni a potem 12 tygodni (zgodnie z kryteriami z Sydney z 2005 roku). Dopiero na podstawie drugiego pozytywnego wyniku uznawano pacjentkę za dodatnią pod względem przeciwciał antyfosfolipidowych. Przeciwciała przeciwko kardiolipinie i  $\beta_2$ glikoproteinie I badano w trzech klasach to jest IgA, IgM, IgG. Wyniki uznawano za dodatnie gdy uzyskane wartości były powyżej 99 centyla w klasach lub przekroczyły 40 jednostek U/ml (MPL/GPL).

## Metody laboratoryjne

Badania w kierunku przeciwciał antyfosfolipidowych (aPL) wykonywano w Pracowni Hemostazy Katedry i Kliniki Hematologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, która posiada certyfikat TUV Rheinland ISO9001.

W pierwszych latach badań (2004–2006 rok) oznaczenia (n=100) przeprowadzono w Centralnym Laboratorium Ortopedyczno-Rehabilitacyjnym Szpitala im. W. Degi w Poznaniu.

Krew do badań w kierunku aPL pobierano do probówek z cytrynianem sodu. Po pobraniu krew odwirowywano, a osocze do czasu transportu zamrażano w  $-20^{\circ}\text{C}$ . Transport krwi z ośrodków pozamiejscowych odbywał się w suchym lodzie, natomiast z Kliniki Rozrodczości oraz Kliniki Perinatologii i Ginekologii w Poznaniu krew do laboratorium przekazywano najpóźniej do 30 min. w temp.  $0^{\circ}\text{C}$  w termoizolacyjnym opakowaniu.

### Badanie przeciwciał antyfosfolipidowych

#### Przeciwciała przeciwko kardiolinie (aCA)

Przeciwciała przeciwko kardiolinie oceniano przy zastosowaniu testu ELISA Anti-Cardiolipin (IgAGM) firmy Euroimmun.

#### Przeciwciała przeciwko $\beta_2$ glikoproteinie I ( $a\beta_2\text{GPI}$ )

Przeciwciała przeciwko  $\beta_2$ glikoproteinie I oceniano przy zastosowaniu testu ELISA Anti- $\beta_2$ -Glycoprotein I (IgAMG) firmy Euroimmun.

#### Antykoagulant tocznia (LA)

Oznaczano go przy użyciu trzech testów: czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT) firmy Bio-Ksel System, testu podstawowego dRVVT Screen Reagent i testu potwierdzającego dRVVT Confirm Reagent firmy Helena BioSciences Europe.

### Wyniki

Spośród 352 kobiet z utratą ciąży kryteria kliniczne i laboratoryjne zespołu antyfosfolipidowego spełniało 13 pacjentek, co stanowi 3,69% badanych. Częstość występowania APS w poszczególnych grupach przedstawiała się następująco:

#### Grupa I – nawracające wczesne utraty ciąży

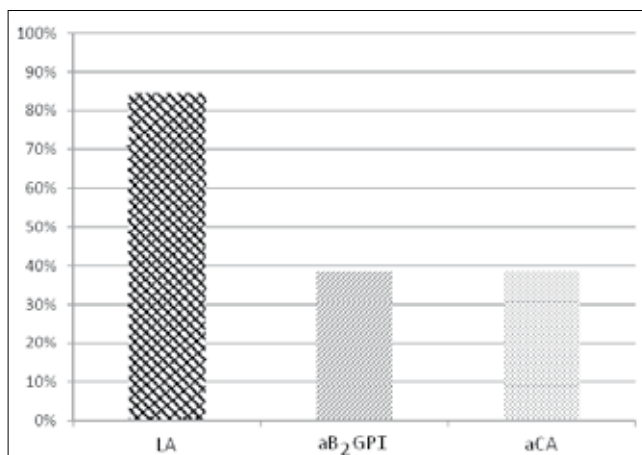
Częstość występowania APS wśród kobiet z nawracającymi wczesnymi utratami ciąży wynosiła 1,33%. W tej grupie było analizowanych 150 kobiet, o średniej wieku  $30,7 (\pm 3,87)$  lat, które łącznie utraciły 559 ciąży przed 10 tygodniem. Tylko u dwóch pacjentek wykryto aPL w istotnych dla APS mianach; u jednej pacjentki, która doświadczyła 4 wczesnych poronień przeciwciała  $a\beta_2\text{GPI}$  osiągnęły 118 GPL, u drugiej po 3 poronieniach aCA wynosiło 98 GPL.

#### Grupa II – późne utraty ciąży

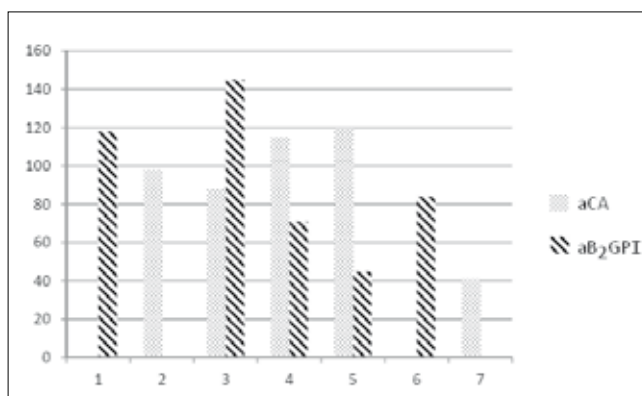
Kryteria APS spełniało 6,25% pacjentek z późnymi utratami ciąży. Sto sześćdziesiąt kobiet ze średnią wieku  $30,1 (\pm 4,25)$  lat doświadczyło utraty łącznie 446 ciąży. U 10 (6,25%) z nich wykryto przynajmniej jeden rodzaj przeciwciał przeciwfosfolipidowych w istotnych mianach. W każdej sytuacji był to antykoagulant tocznia, który u 5. pacjentek występował samodzielnie, u 3 łącznie z aCA i  $a\beta_2\text{GPI}$  u 1 razem z  $a\beta_2\text{GPI}$  i u 1 razem z aCA.

Przeciwciała przeciw  $\beta_2\text{GPI}$  występowały u 4 pacjentek, zawsze w połączeniu albo z LA i aCA, albo tylko z aCA, nigdy samodzielnie, podobnie jak przeciwciała przeciw kardiolinie. Częstość występowania poszczególnych rodzajów przeciwciał oraz ich miana przedstawiono na rycinie 1 i 2.

U 3 pacjentek z późnymi utratami ciąży wykryto wszystkie trzy rodzaje przeciwciał tj. LA,  $a\beta_2\text{GPI}$  i aCA. U jednej z nich z wysokim mianem IgM aCA i IgG  $a\beta_2\text{GPI}$  kolejne dwie ciąży zakończyły się wewnątrzmacicznym obumarciem płodu w 24



Rycina 1. Częstość występowania poszczególnych typów przeciwciał u 13 pacjentek z zespołem antyfosfolipidowym.



Rycina 2. Miana przeciwciał antyfosfolipidowych u poszczególnych pacjentek (n=7) z zespołem antyfosfolipidowym.

tygodniu ciąży, mimo leczenia małymi dawkami kwasu acetylosalicylowego i drobnocząsteczkową heparyną. Podczas ciąży nastąpił u tej pacjentki istotny wzrost IgM aCA.

#### Grupa III – porody przedwczesne przed lub w 34 tygodniu ciąży powikłanej preeklampsją i/lub niewydolnością łożyska

Częstość występowania APS w tej grupie wynosiła 2,38%. Spośród 42 kobiet o średniej wieku  $33,3 (\pm 9,89)$  lat i łączniej utracie 70 ciąży tylko u 1 wykryto przeciwciała antyfosfolipidowe w postaci antykoagulantu tocznia. Pacjentka ta przeżyła jedno poronienie w 11 tygodniu ciąży i jeden poród przedwczesny w 28 tygodniu ciąży powikłanej niewydolnością łożyska.

### Dyskusja

W naszym materiale obejmującym 352 kobiety, u których przeszłość położnicza była wskazaniem do badań na obecność przeciwciał antyfosfolipidowych tylko 3,69% pacjentek spełniało kryteria zespołu antyfosfolipidowego. W stosunku do wyników innych autorów jest to zaskakująco niski odsetek.

Według Petri i wsp. pozytywny test na LA lub IgG lub IgM aCA jest obecny u powyżej 20% pacjentek z nawracającymi utratami ciąży lub nawracającymi poronieniami [17]. Należy zwrócić uwagę, że powyżsi autorzy brali pod uwagę tylko dwa przeciw-

Częstość występowania zespołu antyfosfolipidowego u kobiet z utratą ciąży w wielośrodkowych badaniach w Polsce.

ciała LA i aCA, podobnie jak Oshiro i wsp., którzy wśród 366 kobiet z dwiema i więcej następującymi po sobie utratami ciąży obecność LA i aCA w mianie  $\geq 20$ GPL znaleźli u 21,5% pacjentek [6].

Obecnie kryteria APS, które zostały zmodyfikowane w Sydney w 2005 r. włączają trzeci rodzaj przeciwciał przeciw  $\beta_2$ GPI i wydłużają przerwę między oznaczeniami do 12 tygodni [3]. Ale i według tych kryteriów częstość występowania zespołu antyfosfolipidowego, jako najczęstszej wyleczalnej przyczyny nawracających utrat ciąży, w rekomendacjach RCOG opublikowanych w kwietniu 2011 została określona na 15% [18].

Znacznie większy odsetek aPL pozytywnych kobiet z nawracającymi poronieniami, sięgający 40% wykazało badanie Robertson i wsp. [19].

Duża rozbieżność w częstości występowania zespołu antyfosfolipidowego (1,3–40%) u kobiet z utratami ciąży prawdopodobnie jest wynikiem nie tylko braku standaryzowanych surowic do wykonywania testów, czy jednokrotnego oznaczenia przeciwciał antyfosfolipidowych, ale także stosowania różnych kryteriów wczesnych i późnych utrat ciąży.

Podział zastosowany przez nas odpowiada położniczym kryteriom APS [3]. Kwalifikacja pacjentek do I grupy tj. nawracających wczesnych utrat ciąży nie budzi wątpliwości, jednak w II grupie znalazły się pacjentki, które doświadczyły późnych i także wczesnych utrat ciąży, a w III grupie pacjentki z przedwczesnymi porodami przed lub w 34 tygodniu ciąży powikłanej niewydolnością łożyska i poronieniami. Jak zakwalifikować bowiem pacjentkę, która przeżyła dwa poronienia przed 10 tygodniem ciąży i jedno poronienie martwego płodu w 15 tygodniu ciąży lub pacjentkę, która urodziła przedwcześnie przed 32 tygodniem ciąży martwe dziecko po wcześniejszym późnym poronieniu?

W naszym materiale częstość występowania APS wśród kobiet z nawracającymi wczesnymi utratami ciąży jest bardzo niska. Tylko u 1,3% pacjentek z trzema i więcej poronieniami przed 10 tygodniem ciąży wykryto przeciwciała antyfosfolipidowe w wymaganych dla rozpoznawania APS mianach.

W badaniach Brancha i wsp. obejmujących 288 pacjentek z nawracającymi poronieniami kryteria APS spełniało 2,4% badanych [20]. Nieco większy odsetek APS, sięgający 6,25%, stwierdziliśmy u kobiet z późnymi utratami ciąży. W porównaniu z wynikami wymienionych wcześniej autorów jest to nadal niski odsetek [6, 17, 18]. Należy w tym miejscu podkreślić, że obecność aPL w niskich mianach (<99 percentyla lub <40 GPL lub MPL) nie uzasadnia rozpoznania zespołu antyfosfolipidowego. Z drugiej strony wydaje się, że gdyby kryteria APS były dokładnie przestrzegane, częstość rozpoznawania tej jednostki wśród kobiet z niepowodzeniami rozrodu byłaby jeszcze mniejsza. Jednym bowiem z warunków rekrutacji do badań w kierunku APS jest morfologicznie prawidłowy płód. Stwierdzenie przed 12 tygodniem ciąży, na podstawie badania ultrasonograficznego, prawidłowej lub nie anatomii płodu jest bardzo trudne a nawet niemożliwe. O tym czy 7. lub 10. tygodniowy płód jest prawidłowy mogą rozstrzygnąć badania cytogenetyczne. I takie są zalecane przez RCOG w rekomendacjach dotyczących diagnostyki i leczenia poronień nawracających, ale dopiero od trzeciego poronienia [18]. Według Stephenson badania cytogenetyczne wszystkich poronionych zarodków zmniejszyłyby częstość rozpoznawania APS wśród kobiet z nawracającymi utratami ciąży nawet o 40% [21].

W naszym kraju badania genetyczne materiału z poronienia są mało dostępne i kosztowne. Poza tym najczęściej stosuje się sondy molekularne specyficzne dla chromosomów X, Y, 13, 16, 18 i 21, co pozwala wykryć łącznie 85% aberracji liczby chromosomów obserwowanych w poronieniach [22]. Zdecydowanie lepszą efektywność oferuje coraz częściej stosowana technologia mikromacierzy [23]. Można oczekiwać, że w miarę zmniejszania kosztów badań genetycznych materiału z poronienia, będą one stosowane znacznie częściej. Warto jednak w tym miejscu podkreślić, że aberracje chromosomowe zarodków nie wykluczają zespołu antyfosfolipidowego u matki, dlatego nawet jeżeli zostanie rozpoznana aberracja chromosomowa w materiale z trzeciego poronienia to należy u matki wykonać badania w kierunku aPL, niezależnie od tego czy ojcem był ten sam czy inny partner. Oczywiście, nosicielstwo aPL przez ojca pogarsza rokowanie.

Należy też zastanowić się, czy dopiero trzecie poronienie przed 10 tygodniem ciąży jest wskazaniem do badań w kierunku przeciwciał antyfosfolipidowych? I chociaż oznaczenie aPL po pierwszym poronieniu nie ma uzasadnienia ani medycznego, a tym bardziej ekonomicznego, to wydaje się, że powinno być ono oferowane już po pierwszym niepowodzeniu kobietom po 35. roku życia, zwłaszcza w zakresie LA i aCA. Chauleur i wsp. wykazali, że u pacjentek z pierwszą niewyjaśnioną utratą ciąży przed 10 tygodniem, które mają dodatnie miana aPL, zwłaszcza LA i aCA, ryzyko różnych powikłań w drugiej ciąży jest wyższe, jakkolwiek 70% ciąży zakończyło się, bez leczenia, urodzeniem żywego dziecka [24].

Te wątpliwości wydają się uzasadniać konieczność modyfikacji kryteriów położniczych. Warto się również zastanowić czy nie rozszerzyć kryteriów serologicznych o badanie przeciwciał przeciw fosfatydyloserynie, protrombinie czy aneksynie.

Postuluje się oznaczanie przeciwciał przeciw fosfatydyloserynie i przeciw fosfatydyloetanolaminie u kobiet z wczesnymi utratami ciąży, jako że przeciwciała te mają niekorzystny wpływ na podziały komórkowe podczas embriogenezy i na funkcję trofoblastu [25].

Wielokrotnie zgłaszają się do Kliniki pacjentki z kilkoma typowymi dla APS utratami ciąży, jednak nie znajduje się u nich żadnego izotypu z trzech przeciwciał tj. aCA, LA i a $\beta_2$ GPI. Dla takich pacjentek McCarthy wprowadził określenie seronegatywnego zespołu antyfosfolipidowego. Czy jednak ten zespół jest podstawą do zastosowania farmakologicznej profilaktyki w kolejnej ciąży [26]?

W surowicy pacjentek przez nas analizowanych najczęściej wykrywanym przeciwciałem był antykoagulant tocznia. Stwierdzono go u 11 z 13 pacjentek z utratą ciąży, przy czym wszystkie niepowodzenia miały miejsce po 10 tygodniu ciąży. Siła związku antykoagulanta tocznia i przeciwciał przeciw  $\beta_2$ glikoproteinie I i przeciw kardiolipinie była oceniana na podstawie metaanalizy obejmującej prace opublikowane między 1975 a 2003 rokiem [27]. Wykazano w niej, że obecność LA silnie koreluje z późnymi poronieniami, określanymi jako utrata ciąży przed 24 tygodniem, natomiast obecność przeciwciał przeciw kardiolipinie wiąże się zarówno z wczesnymi jak i późnymi poronieniami nawracającymi. Przeciwciała przeciw  $\beta_2$ GPI, które postrzegane są jako jedyne przeciwciała niezależnie związane z podwyższonym ryzykiem utraty kolejnej ciąży, w naszym materiale tylko u jednej pacjentki występowały samodzielnie, natomiast u pozostałych 4 pacjentek razem z LA i/lub aCA [28]. Ostatnio podkreśla się związek

dotadnich mian przeciwciał a $\beta_2$ GPI i obecności LA u kobiet z poronieniami [29].

U 3 pacjentek z późnymi utratami ciąży wykryliśmy wszystkie trzy rodzaje przeciwciał. Obecność trzech przeciwciał wg Ruffatti i wsp. rokuje niekorzystnie co do rozwoju kolejnej ciąży [30]. Nasze doświadczenia w pełni potwierdzają tę konkluzję. U jednej z pacjentek, która doświadczyła kolejnych ciąży, już po rozpoznaniu APS, dwie ciąży zakończyły się obumarciem płodu w 24 tygodniu ciąży mimo odpowiedniego leczenia; co więcej, podczas ciąży nastąpił istotny wzrost IgM aCA. Nielsen i Christiansen wykazali, że aCA w klasie IgM mają większą wartość predykcijną dla rozwoju ciąży niż aCA w klasie IgG [31].

Coraz częściej pojawia się pytanie, czy trombofilia, w tym zespół antyfosfolipidowy jest przyczyną utraty ciąży, czy tylko istnieje między nimi związek. Według niektórych autorów wczesne poronienia nie są uwarunkowane matczyną trombofilia, a zmiennej związek między trombofilia i utratą ciąży nie może być rozpatrywany jako przyczynowy [32, 33].

Cervera i wsp. opublikowali w 2009 roku wyniki 5. letniej obserwacji 1000 pacjentek z APS z 13. krajów Europy [34]. Sześćdziesiąt trzy z 77 ciężarnych pacjentek (81,8%) urodziło jedno lub więcej żywych dzieci. Najczęstszym powikłaniem położniczym była utrata wczesnej (17,1% ciąży), i późnej ciąży (6,7% ciąży) oraz poród przedwczesny (35% żywych urodzeń). U 200 pacjentów z APS wystąpiły powikłania, najczęstszymi z nich były nawracające zakrzepice (16,6% pacjentów) i udar mózgu (2,4% pacjentów), 53 z nich zmarło; przyczyną śmierci były: bakteryjna infekcja, w dalszej kolejności zawał serca i udar mózgu.

W naszych wcześniejszych badaniach analizowaliśmy przebieg ciąży u 46 kobiet przed rozpoznaniem zespołu antyfosfolipidowego i/lub trombofilii wrodzonej. Pacjentki te niebędąc leczonymi doświadczyły 124 ciąży, z tego 13 (10,5%) zakończyły się urodzeniem żywego dziecka a 111 (89,5%) poronieniem lub wewnątrzmacicznym obumarciem płodu [35].

Reasumując, pragniemy raz jeszcze podkreślić, że w naszych wielośrodkowych badaniach, które objęły 352 pacjentki z utratą ciąży, kryteria zespołu antyfosfolipidowego spełniło tylko 3,69% badanych.

## Wnioski

1. Badania w kierunku zespołu antyfosfolipidowego należy wykonywać przede wszystkim u kobiet z późnymi utratami ciąży.
2. Można przyjąć, że zespół antyfosfolipidowy rzadko jest związany z utratą ciąży przed 10 tygodniem jej trwania.

Praca została zrealizowana z funduszy MNiSW nr N N407056637

## Piśmiennictwo

1. Tincani A, Bazzani Ch, Zingarelli S, Lojaco A. Lupus and the antiphospholipid syndrome in pregnancy and obstetrics: clinical characteristics, diagnosis, pathogenesis and treatment. *Semin Thromb Hemost.* 2008, 34, 267-273.
2. Ząbek I, Luft S, Wojciechowska B, [i wsp.]. Badania nad krzyżową reaktywnością przeciwciał antyfosfolipidowych w układowych chorobach tkanki łącznej. *Reumatol.* 1995, 33, 111-120.

3. Miyakis S, Lockshin M, Atsumi T, [et al.]. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 2006, 4, 295-306.
4. Zimmermann-Górska I. Kryteria klasyfikacyjne dla zespołu antyfosfolipidowego. *Pol Arch Med Wewn.* 2006, 115, 396-400.
5. Stephenson M. Frequency of factors associated with habitual abortion in 197 couples. *Fertil Steril.* 1996, 66, 24-29.
6. Oshiro B, Silver R, Scott J, [et al.]. Antiphospholipid antibodies and fetal death. *Obstet Gynecol.* 1996, 87, 489-493.
7. Lima F, Khamashta M, Buchanan N, [et al.]. A study of sixty pregnancies in patients with the antiphospholipid syndrome. *Clin Exp Rheum.* 1996, 14, 131-136.
8. Long A, Ginsberg J, Brill-Edwards P, [et al.]. The relationship of antiphospholipid antibodies to thromboembolic disease in systemic lupus erythematosus: a cross-sectional study. *Thromb Hemost.* 1991, 66, 520-524.
9. Rajewski M, Skrzypczak J. Częstość występowania przeciwciał antyfosfolipidowych i zespołu antyfosfolipidowego u kobiet z poronieniami nawracającymi. *Ginekol Pol.* 2011, 82, 32-38.
10. Blank M, Krause I, Fridkin M, [et al.]. Bacterial induction of autoantibodies to beta-2-glycoprotein-I accounts for the infectious etiology of antiphospholipid syndrome. *J Clin Invest.* 2002, 109, 797-804.
11. Goel N, Ortel T, Bali D, [et al.]. Familial antiphospholipid antibody syndrome: criteria for disease and evidence for autosomal dominant inheritance. *Arthritis Rheum.* 1999, 42, 318-327.
12. Savi M, Ferraccioli G, Neri T, [et al.]. HLA-DR antigens and anticardiolipin antibodies in northern Italian systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Rheum.* 1988, 31, 1568-1570.
13. Blank M, Cohen J, Toder V, Shoenfeld Y. Induction of anti-phospholipid syndrome in native mice with mouse lupus monoclonal and human polyclonal anti-cardiolipin antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991, 88, 3069-3073.
14. Meroni P, Riboldi P. Pathogenic mechanism mediating antiphospholipid syndrome. *Curr Opin Rheumatol.* 2001, 13, 377-382.
15. Di Simone N, Raschi E, Testoni C, [et al.]. Pathogenic role of anti-beta 2-glycoprotein I antibodies in antiphospholipid associated fetal loss: characterization of beta 2-glycoprotein I binding to trophoblast cells and functional effects of anti-beta 2-glycoprotein I antibodies in vitro. *Ann Rheum Dis.* 2005, 64, 462-467.
16. 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, 211-220.
17. Petri M, Golbus M, Anderson R, [et al.]. Antinuclear antibody, lupus, anticoagulant, and anticardiolipin antibody in women with idiopathic habitual abortion. A controlled prospective study of forty-four women. *Arthritis Rheum.* 1988, 31, 601-606.
18. The investigation and treatment of couples with recurrent first-trimester and second-trimester miscarriage. *ACOG.* 2011, Green-top Guideline no 17.
19. Robertson L, Wu O, Langhorne P, [et al.]. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. *Brit J Haematol.* 2005, 132, 171-196.
20. Branch D, Silver R, Pierangeli S, [et al.]. Antiphospholipid antibodies other than lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in women with recurrent pregnancy loss, fertile controls and antiphospholipid syndrome. *Obstet Gynecol.* 1997, 89, 549-555.
21. Stephenson M. Management of recurrent pregnancy loss. *J Reprod Med.* 2006, 51, 303-310.
22. Simpson J. Genetics of spontaneous abortions. In: Recurrent pregnancy loss. Causes, controversies and treatment. Ed. Carp H. London: *Informa Healthcare.* 2007, 23-34.
23. Stankiewicz P, Lupski J. Structural variation in the human genome and its role in disease. *Ann Rev Med.* 2010, 61, 437-455.
24. Chauleur C, Galanaud J, Alonso A, [et al.]. Observational study of pregnant women with a previous spontaneous abortion before the 10th gestation week with and without antiphospholipid antibodies. *J Thromb Haemost.* 2010, 8, 699-706.
25. McIntyre J. Antiphospholipid antibodies in implantation failures. *Am J Reprod Immunol.* 2003, 49, 221-229.
26. McCarthy G. Seronegative APS (SNAPS) in 53 patients: seroconversion rate at 3,5 years (abstract). *J Autoimmun.* 2000, 15OC35.
27. Opatny L, David M, Kahn S, [et al.]. Association between antiphospholipid antibodies and recurrent fetal loss in women without autoimmune disease: a metaanalysis. *J Rheumatol.* 2006, 33, 2214-2221.
28. Mezzesimi A, Florio P, Reis F, [et al.]. The detection of anti  $\beta_2$ -glycoprotein I antibodies is associated with increased risk of pregnancy loss in women with threatened abortion in first trimester. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007, 133, 164-168.
29. Sailer T, Zoghiani C, Kurz C, [et al.]. Anti-beta-2-glycoprotein I antibodies are associated with pregnancy loss in women with the lupus anticoagulant. *Thromb Haemost.* 2006, 95, 796-801.
30. Ruffatti A, Tonello M, Del Ross T, [et al.]. Antibody profile and clinical course in primary antiphospholipid syndrome with pregnancy morbidity. *Thromb Haemost.* 2006, 96, 239-389.
31. Nielsen H, Christiansen O. Prognostic impact of anticardiolipin antibodies in women with recurrent miscarriage negative for the lupus anticoagulant. *Hum Reprod.* 2005, 20, 1720-1728.
32. Gris J. Thrombophilia and pregnancy loss: cause or association. *Thromb Res.* 2009, 123, Supp, 105-110.
33. Middeldorp S. Thrombophilia and pregnancy complications: cause or association? *J Thromb Haemost.* 2007, 5, 276-282.
34. Cervera R, Khamashta MA, Shoenfeld Y, [et al.]. Morbidity and mortality in the antiphospholipid syndrome during a 5-years period: a multicenter prospective study of 1000 patients. *Ann Rheum Dis.* 2009, 68, 1428-1432.
35. Skrzypczak J, Rajewski M, Wirstlein P, Goździewicz T. Czy między trombofilia i utratą ciąży istnieje związek przyczynowy? *Perinat Neonatol Gin.* 2011 - w druku.