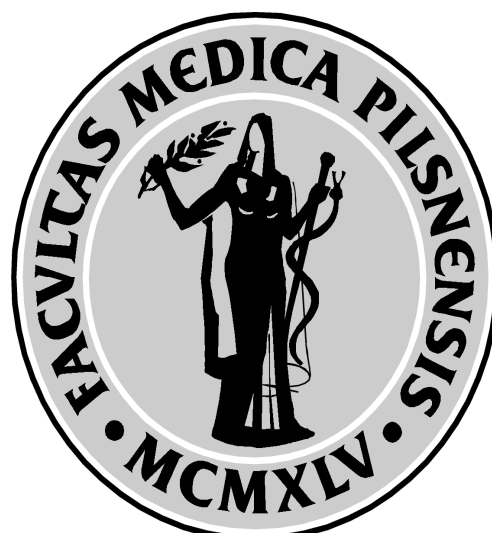


UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI

DISERTAČNÍ PRÁCE

MUDr. Jana Hirmerová



2008

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI

Obor vnitřní nemoci

DISERTAČNÍ PRÁCE

Antifosfolipidové protilátky a jejich význam

u tromboembolické nemoci

MUDr. Jana Hirmerová, II.interní klinika LF UK Plzeň

Školitelé:

Prof. MUDr. Jan Filipovský, CSc., II.interní klinika LF UK Plzeň

Prof. MUDr.Zdenka Ulčová-Gallová, DrSc., Gynekologicko-porodnická klinika LF UK Plzeň

2008

Poděkování

Práce o antifosfolipidových protilátkách u pacientů s tromboembolickou nemocí nebyla podmíněna okamžitým nápadem, ale myšlenka na ni postupně vyzrávala několik let. Souvisí to i s mým profesionálním vývojem. Prošla jsem nejprve klinickým pracovištěm, specializujícím se na angiologii (Oddělení klinické farmakologie Fakultní nemocnice v Plzni), poté jsem pracovala na Oddělení klinické hematologie. Tam jsem poznala jak laboratorní, tak klinickou problematiku trombofilních stavů. Jedním z nejzajímavějších a stále ještě nedokonale probádaným trombofilním stavem je antifosfolipidový syndrom.

V posledních letech pracuji na II.interní klinice Fakultní nemocnice v Plzni a zde se opět specializuji na angiologii, zejména však na tromboembolickou nemoc a na pacienty s trombofilními stavy. Právě na tomto pracovišti jsem začala realizovat myšlenku na podrobnější vyšetřování antifosfolipidových protilátek u pacientů s tromboembolickou nemocí. Výsledky několikaletého výzkumu jsou prezentovány na následujících stránkách.

Ráda bych vyjádřila poděkování svým bývalým i současným spolupracovníkům, všem, od kterých jsem nabyla teoretické znalosti i praktické zkušenosti. Zejména bych ale chtěla zdůraznit zásluhu prof. MUDr. Zdenky Ulčové-Gallové, DrSc., vedoucí Laboratoře reprodukční imunologie. Ta se vyšetřování antifosfolipidových protilátek věnuje již mnoho let. Profesorka Ulčová-Gallová mě nejen podnítila k tomuto výzkumu, ale významně mi pomohla s koncepcí celé práce a zejména zajišťovala celou laboratorní část. Zde patří poděkování také laborantkám Kateřině Bibkové a Zdence Mičanové.

Významným dílem přispěla i kolegyně MUDr. Jitka Seidlerová, která prováděla statistické zhodnocení výsledků.

Dále chci velmi poděkovat školiteli, prof. MUDr. Janu Filipovskému, CSc., který byl vždy nápomocen radou a podněty při přípravě a během realizace projektu, při statistickém zpracování, stejně jako korekturami jak výsledné publikace, tak i této disertační práce.

Závěrem patří velký dík mé rodině za podporu, trpělivost a toleranci.

V Plzni 21.11.2008

MUDr. Jana Hirmerová

Obsah

Seznam použitých zkratk.....	6
Úvod.....	8
Doporučení délky antikoagulační léčby po tromboembolické příhodě.....	8
Vyšetřovací proces u pacientů s tromboembolickou nemocí.....	11
Trombofilní stavy.....	11
Antifosfolipidový syndrom.....	16
Literární data o nonkardiolipinových antifosfolipidových protilátkách.....	21
Vlastní výsledky.....	29
Diskuze.....	30
Závěrečné shrnutí.....	32
Souhrn	34
Summary.....	35
Seznam použité literatury.....	37
Příloha 1: Hirmerová J. Optimální délka antikoagulační léčby po žilní tromboembolické příhodě: obecný či individualizovaný přístup? Vnitř Lék 2007;53:662-668.....	45
Příloha 2: Hirmerová J. Antifosfolipidový syndrom a jeho projevy v tepenném a žilním systému. Cor Vasa 2005;47(5):187-194.....	46
Příloha 3: J. Hirmerova, Z. Ulcova-Gallova, J. Seidlerova, J. Filipovsky, K. Bibkova, Z. Micanova, O. Mayer Jr. Laboratory evaluation of antiphospholipid antibodies in patients with venous thromboembolism.....	47
Seznam publikací a prezentací autorky.....	48

Seznam použitých zkratek

ACA – antikardiolipinové protilátky

ACCP – „American College of Chest Physicians”

anti- β 2-GPI – protilátky proti β 2 glykoproteinu I

anti-phA - protilátky proti kyselině fosfatidové

anti-phE - protilátky proti fosfatidyletanolaminu

anti-phG - protilátky proti fosfatidylglycerolu

anti-phI - protilátky proti fosfatidylinositolu

anti-phS - protilátky proti fosfatidylserinu

anti-phS /PT – protilátky proti komplexu fosfatidylserin/protrombin

anti-PT – protilátky proti protrombinu

APA – antifosfolipidové protilátky

APS – antifosfolipidový syndrom

AUC – area under the curve – plocha pod křivkou

BMI – body mass index

β 2-GPI - β 2-glykoprotein I

CT – počítačová tomografie

CTEPH – chronická tromboembolická plicní hypertenze

ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay

HR – hazard ratio

HŽT – hluboká žilní trombóza

ISTH – International Society on Thrombosis and Haemostasis - Mezinárodní společnost pro trombózu a hemostázu

LA – lupus antikoagulans

LMWH – low-molecular-weight heparin – nízkomolekulární heparin

OR – odds ratio - poměr šancí

PE – plicní embolie

PPV – positive predictive value – pozitivní prediktivní hodnota

ROC - receiver operator curve

SD – standard deviation - směrodatná odchylka

SLE – systémový lupus erytematodes

TEN – tromboembolická nemoc

Úvod

Žilní tromboembolická nemoc (TEN) je multifaktoriálním onemocněním, v jeho etiopatogenezi se uplatňují vrozené i získané faktory a interakce mezi nimi. Základním opatřením v terapii hluboké žilní trombózy (HŽT) a plicní embolie (PE) je antikoagulační léčba; tu lze rozdělit na iniciální a dlouhodobou. Bez použití dlouhodobé antikoagulační léčby byl zjištěn častý výskyt (20-50%) symptomatické extenze trombu či recidivy TEN (Büller 2004).

Délka antikoagulační léčby po prodělané HŽT a/nebo PE je však stále předmětem odborných debat.

Jako zásadní pravidlo je uváděno, že antikoagulační léčba po žilní tromboembolické příhodě má pokračovat tak dlouho, dokud prospěch z této léčby jasně převažuje rizika (Kearon 2004).

Při rozhodování o délce antikoagulační léčby je tedy nutno jednak uplatňovat obecná pravidla, vycházející z výsledků velkých randomizovaných klinických studií, ale také podrobně zhodnotit individuální rizika recidivy TEN i možných krvácivých komplikací (viz přehledný článek – příloha 1).

Doporučení délky antikoagulační léčby po tromboembolické příhodě

Riziko krvácení stoupá s věkem, komorbiditou, s přítomností malignity, se současným užíváním jiných léků ovlivňujících hemostázu a s předchozí krvácivou diatézou (Kuijjer 1999).

Riziko recidivy TEN je ovlivněno mnoha faktory:

- přítomnost či absence provokujícího faktoru a jeho povaha

Riziko recidivy je nízké po příhodě spojené s přechodným vyvolávajícím faktorem a naopak vysoké po příhodě bez jasného provokujícího faktoru nebo vzniklé v souvislosti s přetrvávajícím či ireverzibilním rizikovým faktorem (Kearon 2004, Schulman 2006)

- typ a rozsah tromboembolické příhody

PE má vyšší riziko recidivy TEN než izolovaná HŽT; proximální HŽT má vyšší riziko recidivy než distální (Schulman 2006).

- počet předchozích epizod TEN

Po 2 či více tromboembolických příhodách je indikována dlouhodobá, resp. časově neomezená antikoagulační léčba (Büller 2004).

- pohlaví

Podstatně častější je výskyt recidiv u mužů než u žen (McRae 2006).

- aktivní maligní onemocnění

Pacienti s maligním onemocněním a TEN mají asi 3x vyšší riziko recidivy, zároveň však i vyšší riziko krvácivých komplikací (Lee 2006).

- trombofilie

Jen některé trombofilní stavy jsou spojeny s významně vyšším rizikem recidivy (Schulman 2006, Lindhoff-Last 2008).

- hladina D-dimeru

D-dimer test, provedený za 3-4 týdny po vynechání antikoagulační léčby má vysokou negativní prediktivní hodnotu pro recidivu TEN (Eichinger 2003, Palareti 2003, Palareti 2006).

- reziduální trombotická okluze

Někteří autoři prokázali souvislost neúplné rekanalizace po proximální HŽT s vyšším rizikem recidivy (Prandoni 2002, Piovella 2002).

- vývoj chronické tromboembolické plicní hypertenze (CTEPH)

V případě CTEPH je doporučena celoživotní antikoagulační léčba (Hoepfer 2006).

Nově publikovaná mezinárodní doporučení antitrombotické léčby - 8. edice doporučení ACCP – „American College of Chest Physicians“ uvádějí v souhrnu několik zásadních pravidel pro délku antikoagulační léčby po prodělané epizodě TEN:

1. Pro HŽT/PE vzniklou v souvislosti s přechodným (reverzibilním) rizikovým faktorem je doporučována tříměsíční léčba (oproti kratšímu trvání léčby).

Reverzibilní vyvolávající rizikový faktor je v těchto doporučeních definován jako:

a/ závažnější faktory – operace, hospitalizace, sádrová fixace – vše během 1 měsíce před příhodou.

b/ méně závažné faktory – léčba estrogeny, gravidita, dlouhá cesta (déle než 8 hodin) či uvedené závažnější faktory – viz a/, ovšem v období mezi 1 a 3 měsíci před příhodou (Kearon 2008).

2. Pro pacienty s „nevyprovokovanou“ HŽT/PE (tedy tromboembolickou příhodou bez jasného vyvolávajícího momentu) je doporučeno trvání léčby alespoň 3 měsíce, avšak je nutno zvážit léčbu dlouhodobou.

- Pro nemocné s „nevyprovokovanou“ PE nebo s „nevyprovokovanou“ HŽT v proximální lokalizaci, bez zvýšeného rizika krvácení a se zajištěním dobré monitorace antikoagulační léčby je doporučena dlouhodobá léčba.

- Naopak, u pacientů s izolovanou distální trombózou, byť „nevyprovokovanou“, je zřejmě dostatečná warfarinizace po dobu 3 měsíců.

- Jedná-li se již o druhou „nevyprovokovanou“ HŽT/PE, je doporučována opět dlouhodobá antikoagulační léčba.

3. U nemocných užívajících dlouhodobě antikoagulační léčbu by měla být v pravidelných intervalech posuzována vhodnost pokračování v této léčbě s individuálním zhodnocením rizika a prospěchu.

Vyšetřovací proces u pacientů s tromboembolickou nemocí

Některé z výše uvedených rizikových faktorů recidivy TEN jsou dány (pohlaví), jiné lze ozřejmit pečlivou anamnézou (provokující faktor, počet předchozích epizod), další pak klinickým vyšetřením, laboratorními testy a zobrazovacími metodami v iniciační fázi příhody i během dalšího sledování pacienta.

V diagnostickém procesu používáme D-dimer test, duplexní sonografii žil dolních končetin, perfuzní/ventilační plicní scintigrafii a spirální CT angiografii plic. U prokázané TEN je však nutno se také zaměřit na vyšetření příčiny, a to zejména u příhod bez jasného klinického provokujícího momentu (jako např. úraz, sádrová fixace, imobilizace, operace, těhotenství či šestinedělí, hormonální léčba, maligní onemocnění, dlouhá cesta apod.). Vyšetření je vhodné zaměřit zejména dvěma směry – jednak na potenciální skrytou malignitu, jednak na trombofilní stav.

Názory na rozsah vyšetřování pacientů s prokázanou TEN se různí. Neexistuje jednotný doporučený postup na onkologický screening, vyšetřovací postup lze do jisté míry individualizovat podle pohlaví, věku a eventuálních specifických potíží či nálezů pacienta. Teoreticky může existovat šance odhalit onkologické onemocnění v iniciační, potenciálně léčitelné fázi, avšak prospěch z extenzivního vyšetřování na malignitu u pacientů s TEN nebyl jednoznačně prokázán. Nález malignity však může ovlivnit další rozhodování o typu a délce antikoagulační léčby.

Trombofilní stavy

Vyšetřování trombofilie u nemocných s TEN je rovněž dosti kontroverzní otázkou. Trombofilii lze definovat jako tendenci vytvářet tromby v žilách či tepnách, termín je však častěji používán ve spojení s žilní trombózou. Trombofilní stavy představují velmi

heterogenní skupinu co do jejich četnosti v populaci i co do s nimi spojeného rizika (Kearon 2004).

V posledních desetiletích bylo studiem rodin s výskytem trombóz nalezeno několik genetických rizikových faktorů žilní trombózy (leidenská mutace v genu pro faktor V; mutace v genu pro protrombin G20210A; zvýšená hladina faktoru VIII, IX, XI; vrozený deficit přirozených inhibitorů koagulace - deficit proteinu C; deficit proteinu S; deficit antitrombinu) (Bertina 2001). Existuje však i řada získaných trombofilií (antifosfolipidový syndrom - APS, hyperhomocysteinémie, získaný deficit přirozených inhibitorů koagulace). Některé trombofilní stavy jsou pak kombinací stavů vrozených i získaných (např. hyperhomocysteinémie).

Udávaná prevalence vrozených trombofilních stavů v běžné populaci a u osob s první epizodou TEN je 0,18% a 1,1% u deficitu antitrombinu; 0,2% a 3,2% pro deficit proteinu C; 1,3% a 3,1% pro deficit proteinu S; 6% a 21% pro leidenskou mutaci v genu pro faktor V; 2,3% a 6,2% pro mutaci v genu pro protrombin G20210A (Malý 2007).

Vyšetření trombofilie

Testování trombofilie má v odborném fóru své příznivce i odpůrce. Argumentem „pro“ je zejména možnost optimalizace primární i sekundární profylaxe TEN; argumenty „proti“ zahrnují vysokou cenu testů, možnost chybného výsledku či chybné interpretace výsledku, možný nepříznivý psychologický dopad (Cushman 2005, Moll 2006, Bauer 2001, Martinelli 2003, Machin 2003). Univerzální screening trombofilie jistě není postupem s ověřenou „cost-effectiveness“ (účinností vynaložených nákladů), avšak selektivní screening, tj. vyšetření určitých skupin a použití určitých testů již má své opodstatnění (Wu 2006).

Pacienti, u nichž by mělo být vyšetření na trombofilii provedeno, by měli splňovat některou z následujících charakteristik:

- idiopatická první příhoda (tj. TEN bez jasné příčiny)
 - první příhoda ve věku do 45 let, sekundární, včetně TEN vzniklé v souvislosti s hormonální antikoncepcí či hormonální substituční léčbou (nikoli však v souvislosti s malignitou)
 - recidivující idiopatické či sekundární trombózy (nikoli v souvislosti s malignitou)
 - trombózy v neobvyklých lokalizacích (trombóza mozkových splavů, portální žíly, mezenterické a slezinné žíly, dolní duté žíly)
 - velmi rozsáhlé trombózy
 - případy u pacientů s přesvědčivě pozitivní rodinnou anamnézou TEN (příbuzní 1.stupně s tromboembolickou příhodou do 50 let)
 - opakované povrchové tromboflebitidy
- (Cushman 2005, Moll 2006, Malý 2007)

Testy na trombofilní stav lze rozdělit do několika skupin:

Molekulárně genetický panel

- leidská mutace v genu pro faktor V
- mutace v genu pro protrombin G20210A

„Koagulační“ trombotický panel

- antitrombin
- protein C
- protein S
- APC resistance (tj. resistance na aktivovaný protein C)
- screeningové testy, jež mají globálnější charakter, např. test proC global pro systém aktivovaného proteinu C

- koagulační faktor VIII
- lupus antikoagulans (LA)

Imunologické testy (ELISA)

- antifosfolipidové protilátky (APA)

Biochemické testy

- homocystein

Rozsah provedených testů by také měl být volen individuálně

- při podezření na „silnou“ trombofilii (strong thrombophilia) – např. u 1.příhody do 50 let věku; u recidivujících příhod či u výrazně pozitivní rodinné anamnézy – je vhodné kompletní vyšetření na trombofilní stav.
- u pacientů s idiopatickou tromboembolickou příhodou nad 50 let věku, s negativní rodinnou anamnézou TEN by měl být vyšetřen: faktor V Leiden, protrombin G20210A, APS, homocystein.
- při nevysvětlených arteriálních trombózách je pak vhodné vyšetření APS a homocysteinu (Bauer 2001).

Hlavní praktickou otázkou je, nakolik výsledek testů ovlivní vyšetřovací a léčebný postup u pacientů s TEN. Je nutné zdůraznit, že riziko recidivy TEN je ovlivněno více faktory a výsledky trombofilie tvoří v tomto směru jen jednu část „skládanky“. Nejběžněji se vyskytující trombofilie (leidenská mutace v genu pro faktor V a mutace v genu pro protrombin G20210A) sice vykazují jasnou asociaci s první tromboembolickou příhodou, avšak výsledky studií zabývajících se souvislostí s recidivami nejsou zcela přesvědčivé

(Schulman 2006) – některé svědčí pro tuto asociaci (Ridker 1995, Simioni 1997, Simioni 2000, Miles 2001), jiné ji nepotvrdily (De Stefano 1999, Eichinger 1997, Eichinger 1999, Lindmarker 1999, Margaglione 1999, De Stefano 2001) a metaanalýza prokázala jen mírně zvýšené riziko (Ho 2006).

O vlivu deficitu přirozených inhibitorů koagulace na riziko recidiv TEN je k dispozici jen málo údajů. Udávaná relativní rizika recidivy byla například 1,0 pro deficit proteinu S; 1,8 pro deficit proteinu C a 2,6 pro deficit antitrombinu (Baglin 2003). V jiné studii nebylo zjištěno vyšší riziko recidivy u pacientů s těmito poruchami (Palareti 2003); v další bylo riziko mírně zvýšené - hazard ratio HR 1,8 (Christiansen 2005). U vzácných a závažných trombofilních stavů (homozygotní forma leidské mutace, homozygotní forma mutace v genu pro protrombin G20210A nebo kombinace heterozygotních forem obou těchto mutací) je pravděpodobně riziko recidivy vysoké a prodloužená antikoagulační léčba vhodná, avšak není dostatek důkazů z prospektivních studií.

Mezi významné trombofilní stavy z hlediska rizika recidivy patří vysoká hladina faktoru VIII. U nemocných s hladinou FVIII nad 90. percentil bylo popsáno výrazně zvýšené riziko recidiv TEN (RR 6,7) (Kyrle 2000).

Na rozdíl od většiny vrozených trombofilií, u nichž nejsou přesvědčivé důkazy o významně zvýšeném riziku recidivy TEN, je u APS jasně prokázané vysoké riziko recidivy TEN i účinnost dlouhodobé antikoagulační léčby v prevenci recidiv (Schulman 2006, Kearon 2008). Například ve studii LAFIT měli pacienti z placebové skupiny s pozitivním nálezem antikardiolipinových protilátek ACA a/nebo lupus antikoagulans (LA) 3,5x vyšší riziko recidivy během desetiměsíčního sledování (Kearon 1999). V analýze podskupin nemocných ze studie DURAC byla u pacientů s ACA zjištěna dvojnásobná incidence recidiv TEN během 4 let sledování a rovněž i zvýšená mortalita, a to zejména na podkladě tromboembolie (Schulman 1998). Průkaz APS tedy může významně ovlivnit rozhodování o léčbě u pacientů

s TEN. Je však nutno znát správnou definici a diagnostická kritéria, neboť nesprávný diagnostický přístup může mít závažné následky, a to jak ve smyslu přehlédnutí diagnózy, tak ve smyslu chybného stanovení diagnózy („underdiagnosing“ versus „overdiagnosing“). Pacienti pak mohou být ohroženi recidivou TEN v případě předčasného ukončení antikoagulační léčby nebo naopak krvácivými komplikacemi při nesprávné indikaci léčby.

Antifosfolipidový syndrom

Pojem „antifosfolipidový syndrom“ (APS) se používá k označení asociace mezi přítomností antifosfolipidových protilátek a klinickými projevy hyperkoagulability - trombóza cév a/nebo poruchy gravidity (viz přehledný článek – příloha 2). APS může vzniknout samostatně nebo jako komplikace autoimunitního onemocnění (nejčastěji systémový lupus erythematoses – SLE) (Levine 2002).

Základní terminologie

Fosfolipidy jsou biologicky velmi významná skupina složených lipidů, tvořících základní složku biologických membrán (základní strukturou biologické membrány je dvojvrstva, složená z fosfolipidů, cholesterolu a glykolipidů). Jedná se o polární lipidy, součástí jejich molekuly je zbytek kyseliny fosforečné. Nejdůležitějšími fosfolipidy jsou tzv. fosfatidáty. Jejich prekursorem je kyselina fosfatidová. Nejvýznamnějšími strukturními fosfatidáty, které tvoří základ lipidové dvojvrstvy biologických membrán, jsou fosfatidylcholin, fosfatidylserin a jeho dekarboxylační produkt fosfatidyletanolamin. Fosfatidylinositol hraje důležitou roli při přenosu signálu (Kodíček, 2007).

Fosfolipidy obsažené v membráně krevních destiček mají nezastupitelnou úlohu v procesu koagulace. Po aktivaci trombocytů se na jejich povrchu díky transmembránovému

přesunu exprimují především negativní fosfolipidy. Ty pak poskytují katalytické povrchy a umožňují vznik účinných komplexů koagulačních faktorů.

Antifosfolipidové protilátky představují širokou a heterogenní skupinu imunoglobulinů třídy IgG a/nebo IgM, méně často IgA, zaměřených proti velkému množství fosfolipidů, proteinů vážících fosfolipidy či komplexů vážících fosfolipidy (Levine 2002, Triplett 2002, Galli 2003/2004). Bylo prokázáno, že hlavním antigenním cílem APA jsou plazmatické proteiny s afinitou pro fosfolipidy, zejména β 2- glykoprotein I, případně další kofaktorové proteiny – protrombin, protein C, protein S, annexin V, komplementový faktor H, high-molecular weight kininogen, low-molecular weight kininogen, tkáňový aktivátor plazminogenu (tissue plasminogen activator), koagulační faktor XII aj (Arnout 2003, Galli 2003a).

Lupus antikoagulans (LA) je „misnomer“, nepřesné označení. Jednak tento fenomen není typický pouze pro lupus a naopak, ne všichni pacienti se SLE vykazují pozitivitu LA. Zavádějící je i označení antikoagulans, budící obavy z krvácivé diatézy. LA se totiž in vitro chová jako inhibitor koagulace, ale in vivo je spojen s tromboembolickými příhodami. Není zaměřen proti specifickému koagulačnímu faktoru. LA vlastně označuje ty APA, které interferují in vitro s koagulačními testy, závislými na fosfolipidech. Prodloužení koagulačních časů in vitro je způsobeno kompeticí s koagulačními faktory o negativně nabitě fosfolipidy, které fungují jako katalytický povrch pro koagulační reakce (Arnout 2001, Greaves 1999).

Jak uvedeno výše, APA jsou velmi heterogenní, jsou zaměřeny proti různým antigenním cílům a jen některé z nich vykazují LA aktivitu. Většina komerčně dostupných ELISA testů je zaměřena na detekci antikardiolipinových protilátek (ACA), tj. protilátek proti kardiolipinu (kyselý mitochondriální fosfolipid z hovězího srdce). ACA a LA se mohou vyskytovat nezávisle na sobě nebo koexistovat. V rámci laboratorní diagnostiky je nutno

provést jak imunoenzymatické testy, tak testy koagulační k průkazu LA (viz přehledný článek - příloha 2).

Antifosfolipidový syndrom: mezinárodní klasifikační kritéria byla poprvé stanovena na 8.mezinárodním symposiu o antifosfolipidových protilátkách v Sapporu – viz tab. 1 (Wilson 1999, Brandt 1995). Podle tohoto konsensu je diagnóza APS založena na přítomnosti alespoň jednoho klinického a jednoho laboratorního kritéria.

Tab. 1. Diagnostická kritéria antifosfolipidového syndromu – původní - 8.mezinárodní symposium o antifosfolipidových protilátkách v Sapporu (Wilson 1999)

I.Klinická kritéria
1. Trombóza
1 či více klinických příhod, postihujících tepenné či žilní řečiště či malé cévy v kterémkoli orgánu či tkáni. Trombóza musí být potvrzena zobrazovací metodou či histopatologicky s výjimkou trombózy v povrchním žilním systému.
2. Komplikace gravidity
Kategorie A: 1 či více nevysvětlených úmrtí morfologicky normálních fetů v 10. týdnu gestace či později. Normální morfologie musí být prokázána ultrazvukem či přímým vyšetřením fetu.
Kategorie B: 1 či více předčasných porodů morfologicky normálních novorozenců v 34. týdnu či před 34. týdnem gestace v souvislosti s těžkou preeklamsií či eklamsií nebo placentární insuficiencí.
Kategorie C: 3 či více nevysvětlených po sobě následujících spontánních abortů před 10.týdnem gestace, jsou-li vyloučeny anatomické či hormonální poruchy u matky a chromozomální abnormality u otce i matky
II. Laboratorní kritéria
1. Antikardiolipinové protilátky
ACA IgG či IgM, zjištěné ve střední či vysoké koncentraci, prokázané 2x či vícekrát po sobě s odstupem minimálně 6 týdnů – ELISA metodou
2. Lupus antikoagulans
LA, prokázané 2x či vícekrát po sobě s odstupem minimálně 6 týdnů – postup dle guidelines Mezinárodní společnosti pro trombózu a hemostázu (ISTH) (Brandt 1995)

Ke stanovení diagnózy APS musí být splněno nejméně jedno klinické a jedno laboratorní kritérium.

Poměrně nedávno došlo k určité úpravě těchto kritérií – viz tab. 2.

Tab. 2. Diagnostická kritéria antifosfolipidového syndromu (APS) – revidovaná (Miyakis 2006)

I. Klinická kritéria
1. Cévní trombóza
1 či více klinických příhod, postihujících tepenné či žilní řečiště či malé cévy v kterémkoli orgánu či tkáni. Trombóza musí být potvrzena zobrazovací metodou či histopatologicky .
2. Komplikace gravidity
a/ 1 či více nevysvětlených úmrtí morfologicky normálních fetů v 10. týdnu gestace či později. Normální morfologie musí být prokázána ultrazvukem či přímým vyšetřením fetu.
b/ 1 či více předčasných porodů morfologicky normálních novorozenců v 34. týdnu či před 34. týdnem gestace v souvislosti s těžkou preeklamsií či eklamsií nebo placentární insuficiencí.
c/ 3 či více nevysvětlených po sobě následujících spontánních abortů před 10. týdnem gestace, jsou-li vyloučeny anatomické či hormonální poruchy u matky a chromozomální abnormality u otce i matky
II. Laboratorní kritéria
1. Lupus antikoagulans
LA, prokázané 2x či vícekrát po sobě s odstupem minimálně 12 týdnů – postup dle guidelines Mezinárodní společnosti pro trombózu a hemostázu (ISTH) (Brandt 1995)
2. Antikardiolipinové protilátky
ACAv isotypu IgG a/nebo IgM, zjištěné ve střední či vysoké koncentraci (tj. >40 GPL či MPL či >99.percentil), prokázané 2x či vícekrát po sobě s odstupem minimálně 12 týdnů , měřené standardizovanou ELISA metodou („GPL unit“ odpovídá 1μg/ml pro isotyp IgG a „MPL unit“ 1μg/ml pro isotyp IgM)
3. Anti-β2-glykoprotein I
Protilátky proti β2-glykoproteinu I v isotypu IgG a/nebo IgM v séru či plazmě (v titru >99.percentil), prokázané 2x či vícekrát po sobě s odstupem minimálně 12 týdnů, měřené standardizovanou ELISA metodou

Ke stanovení diagnózy APS musí být splněno nejméně jedno klinické a jedno laboratorní kritérium.

V revidovaných kritériích bylo provedeno několik změn – jednak byl prodloužen požadovaný interval mezi opakovanou pozitivitou laboratorních testů na 12 týdnů, jednak byla přesněji kvantifikována střední či vysoká koncentrace APA. Důležitou změnou je však také začlenění protilátek anti-β2-glykoprotein I (anti-β2-GPI) do diagnostických kritérií. Přibývá důkazů, že anti-β2-GPI jsou nezávislým faktorem trombózy i komplikací gravidity. Přesto je rozšíření diagnostických kritérií o anti-β2-GPI poměrně kontroverzním tématem. Někteří autoři nepovažují důkazy pro rutinní testování anti-β2-GPI za dostatečně přesvědčivé (Lackner 2006); jiní naopak navrhují vynechat z diagnostických kritérií ACA a testovat pouze anti-β2-GPI (Galli 2007, Galli 2008).

Ještě kontroverznější je otázka vyšetřování protilátek zaměřených proti jiným fosfolipidům než kardiolipinu, tj. protilátek proti fosfatidylserinu (anti-phS), fosfatidylglycerolu (anti-phG), fosfatidylinositolu (anti-phI), fosfatidyletanolaminu (anti-phE), kyselině fosfatidové (anti-phA). Tyto „nonkardiolipinové“ APA nebyly začleněny do diagnostických kritérií APS a názory na jejich přínos se liší. Udává se značná zkřížená reaktivita mezi ACA a protilátkami proti jiným fosfolipidům. Přesto byly popsány případy pacientů s klinickými projevy APS, negativními výsledky ACA i LA, avšak s prokázanými protilátkami proti jiným negativně nabitým fosfolipidům. Někteří autoři zase pokládají za důležité protilátky proti etanolaminu (neutrální fosfolipid).

Literární data o nonkardiolipinových antifosfolipidových protilátkách

V literatuře lze najít publikace o výskytu různých podskupin nonkardiolipinových APA u pacientů s trombotickými projevy. Jedná se však o metodologicky velmi různorodé studie. Výsledky jednotlivých prací lze jen obtížně srovnávat. Autoři se obvykle zaměřili pouze na vybranou část spektra antifosfolipidových protilátek a tento výběr se liší mezi jednotlivými studiemi. Rovněž klinické charakteristiky vyšetřovaných souborů jsou odlišné.

Není proto možné výsledky výstižně shrnout a vyvodit jednotný závěr z dostupných literárních dat. Níže uvedený přehled studií je tedy poměrně nesourodý a snad i méně přehledný, neboť je obtížné najít logický způsob, jak data uspořádat. Proto jsou práce řazeny v časové posloupnosti dle data publikace.

➤ Studie amerických autorů byla zaměřena na význam testů na jednotlivé APA u 399 pacientů s anamnézou TEN. Byly stanoveny ACA, anti-phA, anti-phI, anti-phS, anti-phE, anti-phG v isotypech IgG, A a M. Jako pozitivní byly hodnoceny hladiny přesahující průměr o více než 3 SD. Z pozitivních APA tvořily non ACA protilátky přibližně 60% . Nejčastěji se vyskytly ***anti-phS, anti-phE a ACA*** v isotypu ***IgG***. *Autoři zdůrazňují, že ke stanovení APA by měly být provedeny i testy na jiné protilátky než ACA* (Gilman-Sachs 1991).

➤ Prevalence různých APA – ACA, anti-phE, anti-phI, anti-phS IgG či M byla zjišťována ve skupině 141 pacientů s podezřením na APS. Cut-off bylo určeno jako 97.percentil hodnot 100 zdravých jedinců. Celkem bylo v souboru nalezeno 79 APA, většinou polyspecifických a 11 monospecifických, tj. reagujících pouze s jedním fosfolipidovým antigenem v jednom isotypu. 7 z těchto 11 pacientů mělo anamnézu opakovaných potratů či TEN. *Autoři navrhuji, že k vyšetření APA by mělo patřit i stanovení nonkardiolipinových protilátek* (Laroche 1996).

➤ Studie 92 pacientů se SLE zkoumala výskyt jednotlivých podtříd APA v této skupině a jejich korelaci s klinickými projevy během dvouletého sledování. Prevalence sledovaných APA – ACA, anti-phA, anti-phI a anti-phS IgG a M – byla u pacientů se SLE poměrně vysoká (v uvedeném pořadí 37%, 28%, 24% a 32%), přičemž významnou asociaci s trombotickými komplikacemi během follow-up vykazovaly protilátky ***ACA a anti-phS***, vždy v isotypu ***IgG***, zatímco trombocytopenie byla spojena se všemi zkoumanými protilátkami v isotypu IgG a hemolytická anémie s protilátkami v isotypu IgM.

Práce upozorňuje na množství podtříd APA, detekovatelných u pacientů se SLE a jejich korelaci s různými klinickými projevy, včetně asociace ACA a anti-phS v isotypu IgG s projevy trombotickými (López-Soto 1997).

➤ Studie britských autorů vyšetřovala podrobný profil APA – anti-phA, anti-phE, anti-phI, anti-phS a antiphosphatidylcholin v isotypech IgG, A a M – u 82 pacientů (rozdělených do 3 skupin - se SLE a APS; se SLE bez APS; s APS). Jako kontrolní skupinu použili 113 zdravých jedinců; jako pozitivní pak hodnotili výsledky >průměr +5 SD z kontrolní skupiny . Nepodařilo se jim prokázat asociaci výše uvedených podtříd APA s klinickými projevy APS (Bertolaccini 1998).

➤ Široké spektrum antifosfolipidových protilátek bylo vyšetřováno ve skupině 77 pacientů (bez SLE.), kteří prodělali mozkovou ischemii v mladém věku (<51 let) bez zjevné příčiny. U všech byly provedeny testy na LA, ACA, anti-phA, anti-phE, anti-phG, anti-phS, anti-phI, antifosfatidylcholin IgG, A i M, kontrolní soubor tvořilo 178 dárců krve a jako pozitivní byly hodnoceny výsledky přesahující průměr + 5SD. Byla zjištěna poměrně vysoká prevalence jiných APA než ACA, s převahou **anti-phI**, zejména v isotypu **IgG**. Závěrem jsou anti-phI hodnoceny jako možný imunologický marker u mladých pacientů s kryptogenní mozkovou ischemií a je zdůrazňována nutnost prospektivní studie k upřesnění významu těchto protilátek (Toschi 1998).

➤ V italské studii bylo vyšetřeno 227 pacientů s HŽT a/nebo PE. U 63 z nich byla zjištěna pozitivita APA (komerčním ELISA testem, polyvalentním – stanovujícím ACA, anti-phA, anti-phS v isotypu IgG, A a M). U 19 z nich byla navíc zjištěna vysoká hladina **anti-β2-GPI IgG či IgM** (resp. >20 U/ml). U 11 z těchto pacientů (57,9%) se jednalo již o recidivu TEN. Nemocní bez anti-β2-GPI měli pozitivní anamnézu předchozí TEN jen v 21,6%. Autoři v diskusi uzavírají, že testováním anti-β2-GPI lze identifikovat podskupinu pacientů s vyšším rizikem recidivy TEN (Zanon 1999).

➤ V průřezové studii bylo vyšetřeno 398 pacientů s podezřením na TEN, tato diagnóza byla potvrzena u 61% z nich. U celého souboru byly provedeny testy na ACA, anti-β2-GPI, antiannexin a antiprotrombin; jako cut-off byl stanoven 95. percentil naměřených hodnot. Autoři porovnali pozitivitu jednotlivých testů u jedinců s prokázanou TEN a bez TEN. Signifikantně vyšší prevalence *protilátek proti protrombinu* byla u podskupiny nemocných s TEN bez známého rizikového faktoru; jinak však nebyly zjištěny významné rozdíly v prevalenci jednotlivých APA mezi jedinci s TEN a bez TEN. V diskusi se uvádí, že systematický screening APA v době tromboembolické příhody není vhodný (Pasquier 2001).

➤ Francouzští autoři porovnávali výskyt ACA, anti-β2-GPI, LA a anti-phE IgG a M u různých skupin pacientů (240 pacientů s trombózou (žilní i arteriální), z toho 67 s APS, 75 s kongenitální trombofilií a 98 s „nevysvětlenou“ trombózou, tj. bez průkazu ACA, anti-β2-GPI či LA i bez průkazu kongenitální trombofilie; 110 pacientů bez trombózy, z toho 60 se SLE a 50 s infekčními nemocemi). Kontrolní soubor tvořilo 100 zdravých dárců krve, jako cut-off byl stanoven 98. percentil naměřených hodnot v kontrolním souboru pro anti-phE, 99. percentil pro anti-β2-GPI a 97. percentil pro ACA. Ve skupině pacientů s „nevysvětlenou“ trombózou byla 18% prevalence *anti-phE* (s převahou *IgM*), tedy signifikantně vyšší než u pacientů s trombózami a kongenitální trombofilií (8%). Prevalence anti-phE byla rovněž zvýšena u pacientů s trombózami a APS a pacientů bez trombóz se SLE. Opět je diskutována možnost, že i izolovaná pozitivita anti-phE by mohla být považována na laboratorní známku varianty APS (Sanmarco 2001).

➤ U 221 pacientů (bez SLE), z nichž 85 mělo anamnézu žilní či arteriální trombózy, byly provedeny testy na LA, ACA, anti-β2-GPI, anti-phS IgG a M. Hodnota cut-off byla získána jako průměr + 3 SD výsledků ze skupiny 71 zdravých jedinců. Signifikantní asociace s anamnézou trombózy byla zjištěna pro *LA*, pozitivita *anti-phS* vykazovala pouze nesignifikantní asociaci s anamnézou trombózy, pro ACA a anti-β2-GPI nebyla asociace

potvrzena. Autoři poukazují na možnost, že anti-phS jsou klinicky více relevantní než ACA a navrhuji ověření této hypotézy v rozsáhlejší prospektivní studii (Biron-Andréani 2002).

➤ Francouzští autoři vyšetřovali pacienty s klinickým podezřením na APS, resp. s trombotickými projevy (arteriálními, žilními či v mikrocirkulaci). U 20 z nich, ačkoli měli negativní výsledky testů na LA, ACA a anti- β 2-GPI, byly nalezeny protilátky **anti-phE** (bez rozlišení isotypu), z toho ve 13 případech se jednalo o pozitivitu přetrvávající i při opakovaném vyšetření. Autoři diskutují možnost rozšíření laboratorních kritérií APS o anti-phE (Desauw 2002).

➤ Retrospektivní studie vyšetřovala spektrum APA (LA, ACA, anti-phS, anti-phI, anti- β 2-GPI, anti-PT IgG i M) u 204 pacientů (160 pacientů se SLE, 22 s lupus-like syndromem a 22 s primárním APS; v celém souboru mělo 52 pacientů anamnézu HŽT a 21 pacientů anamnézu arteriální trombózy). Jako cut-off byl použit 95. percentil hodnot získaných u 100 zdravých dobrovolníků. Asociace s anamnézou trombózy byla prokázána pro **LA a ACA IgG**. U 7 % pacientů nebyly zjištěna ACA ani LA, ale jiné APA. Autoři shrnují, že v určitých případech mohou být jediným laboratorním projevem APS nikoli LA či ACA, ale některé z uvedených „nekonvenčních“ APA (Musial 2003).

➤ Spektrum APA – ACA, anti-phA, anti-phI, anti-phS, anti- β 2-GPI IgG a IgM - bylo vyšetřeno u 87 pacientů se SLE, z nichž 41 mělo anamnézu arteriální a/nebo žilní trombózy. Byla prokázána poměrně vysoká prevalence nejen ACA a anti- β 2-GPI, ale i jiných protilátek. S trombózou byly významně asociovány **anti-phA, anti-phI, anti-phS, anti- β 2-GPI v isotypu IgG; a anti-phA, anti-phI, anti-phS v isotypu IgM**. **ACA IgG** byly spojeny s trombózou a trombocytopenií jen ve středním až vysokém titru (tj. ≥ 20 U/ml). V této skupině pacientů se SLE byla u několika pacientů zjištěna pozitivita pouze ACA IgG, zatímco nebyla nalezena izolovaná pozitivita nonACA protilátek (tj. APA protilátek jiných než ACA) – tyto protilátky tedy měly v této studii významnou zkříženou reaktivitu s ACA. Je poukázáno na

poměrně vysokou prevalenci nonkardiolipinových protilátek proti negativně nabitým fosfolipidům u pacientů se SLE, zároveň je však zdůrazněno, že prediktivní hodnota těchto protilátek pro trombózu je nejistá (Amoroso 2003).

➤ V průřezové studii byl zjišťován výskyt 4 typů APA - ACA, anti-phS, anti-β2-GPI a anti-PT v isotypu IgG, A i M u 2 skupin pacientů (90 pacientů se SLE - z toho 40 se sekundárním APS - a 100 nemocných s již diagnostikovým APS s arteriální či žilní trombózou či s poruchami gravidity). Ke stanovení byly použity komerčně dostupné ELISA kity a jako cut-off byly použity hodnoty doporučené výrobcem. Nejvýznamnější asociaci s arteriální a žilní trombózou (PPV > 90%) vykazovaly: **ACA IgM, anti-phS IgG a M, anti-β2-GPI IgG, A i M a anti-PT IgG**. Asociace jednotlivých APA byla silnější pro arteriální než pro žilní trombózu. Autoři uzavírají, že vzhledem k heterogenitě klinických a laboratorních projevů APS mohou mít různé APA v různých isotypech různé klinické asociace (Lopez 2004).

➤ Ve skupině 59 pacientů se SLE (z toho 25,4% se sekundárním APS) byl zjišťován výskyt ACA a anti-phS v isotypech IgG, A i M a jejich asociace s klinickými projevy. Prevalence uvedených protilátek byla v této skupině poměrně vysoká, asociace s trombózou byla prokázána pro **anti-phS IgM**. Je navrhováno možné využití testů na anti-phS IgM u pacientů se SLE a sekundárním APS k predikci trombotických komplikací (Sahin 2007).

➤ Multicentrická studie hodnotila prevalenci a význam anti-phE u 270 pacientů s trombózou (234 žilní a 37 arteriální). Kontrolní skupina zahrnovala 236 zdravých jedinců odpovídajícího věku a pohlaví, hodnota cut-off byla stanovena jako 99.percentil v této skupině. Kromě anti-phE (IgG i M) byly prováděny i testy ACA, anti-β2-GPI (IgG i M) a LA. Z vyšetřovaných APA byla ve skupině pacientů zjištěna nejvyšší prevalence anti-phE (15%), s převahou IgG isotypu. Signifikantní asociace s trombózou byla prokázána pro **anti-phE, LA, anti-β2-GPI**, nikoli však pro ACA. Nejvyšší OR pro trombózu bylo zjištěno pro **anti-phE**

(4,2; $p < 0,001$). 25 pacientů mělo izolovanou pozitivitu anti-phE. Většina z nich měla žilní trombózu a u 10 nemocných s izolovanou pozitivitou anti-phE byly trombózy recidivující.

Autoři tedy navrhuji zařazení testů anti-phE do laboratorních kritérií APS, samozřejmě uvádějí nutnost provedení prospektivních studií k ověření jejich významu (Sanmarco 2007).

➤ V rámci studie WAPS (mezinárodní prospektivní registr pacientů s pozitivitou LA či ACA) bylo 112 pacientů vyšetřeno podrobněji, resp. byly u nich provedeny testy nejen na přítomnost ACA, ale i anti- β 2-GPI, dále anti-PT, protilátek proti proteinu S a annexinu V, v isotypech IgG a IgM. Byla zkoumána asociace těchto protilátek s projevy APS. Vysoké hodnoty protilátek **anti-PT a anti- β 2-GPI** (resp. hodnoty v nejvyšším tertilu souboru) byly spojeny s 3-4x vyšší pravděpodobností anamnestické trombózy, což však platilo pouze pro isotyp **IgG**, nikoli IgM. Tato asociace byla ještě výraznější, bylo-li současně pozitivní LA; pro pozitivní **LA** a současně **anti- β 2-GPI a antianexin** v nejvyšším tertilu hodnot bylo zjištěno nejvyšší riziko trombózy následné. Pro ACA však asociace s trombózami potvrzena nebyla.

Autoři výsledky hodnotí jako obhájení vhodnosti zařazení anti- β 2-GPI do nových diagnostických laboratorních kritérií APS a dokonce předjímají možnost vyřazení ACA z laboratorních kritérií při příští revizi. Dále navrhují omezení rutinních APA testů jen na isotyp IgG (Galli 2007).

Je patrné, že výsledky uvedených studií vykazují značné diskrepance, zřejmě díky rozdílné metodologii. Závisí na charakteristice sledovaného souboru (arteriální či žilní trombózy nebo obojí, pacienti se SLE či bez něj, pacienti s idiopatickou TEN, s recidivující TEN atd.); na charakteristice kontrolního souboru; na použitých testech (obvykle “in-house” ELISA); na zvolené hodnotě „cut-off“ (hranice, nad níž považujeme výsledky za pozitivní); na časovém intervalu mezi tromboembolickou příhodou a provedením laboratorních testů. Byly hodnoceny různé podskupiny APA a někteří autoři prokázali určitou souvislost

některých nonkardiolipinových APA s trombotickými projevy, jiní autoři však nikoliv. Vzhledem k nedostatku přesvědčivých důkazů tedy nejsou nonkardiolipinové protilátky zařazeny do diagnostických kritérií APS a nejsou rutinně vyšetřovány u pacientů s TEN. Přesto se někteří autoři domnívají, že jejich stanovení může mít význam u určitých skupin pacientů.

Jak uvedeno výše, ke stanovení diagnózy APS musí být splněno alespoň 1 klinické a 1 laboratorní kritérium. Pacienti s TEN logicky splňují kritérium klinické. Laboratorní diagnostika APS zahrnuje jak ELISA testy, tak testy koagulační na průkaz LA. Vyšetření LA, prováděné dle guidelines ISTH (Brandt 1995), je poměrně složitým a pracným postupem a navíc existuje značná variabilita výsledků mezi jednotlivými testy a jednotlivými laboratořemi. Dalším úskalím této diagnostiky je antikoagulační léčba, neboť ta značně komplikuje interpretaci výsledků, a proto mnozí navrhují odložit testování LA až do doby po vynechání warfarinu (Miyakis 2006, Teruya 2007, Garcia 2007). Pacienti po prodělané TEN jsou léčeni warfarinem obvykle 3-6 měsíců. Nemocní s APS jsou však ohroženi recidivou TEN ve zvýšené míře, a to zejména v prvních 6 měsících po vynechání antikoagulační léčby (Levine 2002). Proto by mohlo být výhodné mít k dispozici testy, jež je možno provádět i při antikoagulační léčbě a které by mohly identifikovat skupinu pacientů s „pravděpodobným APS“, tedy pacienty vyžadující zvláštní pozornost a velmi pečlivé uvážení dalšího vyšetřovacího i léčebného postupu včetně zodpovědného rozhodnutí o délce antikoagulační léčby. V nových diagnostických kritériích byl navržen termín „pravděpodobný APS“ pro pacienty, splňující klinická kritéria APS, avšak s průkazem pouze „nediagnostických“ APA (Miyakis 2006).

Vlastní výsledky

Obsaženy v příloze 3

Cíl studie: Cílem naší studie bylo ověřit význam vyšetření rozšířeného profilu APA u skupiny pacientů s TEN bez SLE či jiného autoimunitního onemocnění.

Metody: Soubor tvořilo 140 pacientů (věk 18-69 let; 47,1% mužů), vyšetřených v ambulanci pro trombózu po prodělané tromboembolické příhodě. Kromě pečlivé anamnézy, zaměřené především na upřesnění klinického vyvolávajícího momentu TEN, konkomitantní medikaci a onemocnění, jsme stanovili body mass index (BMI) a provedli laboratorní vyšetření – jednak rutinní testy (krevní obraz, jaterní a renální testy, glykémii, celkový cholesterol a triglyceridy), jednak testy na trombofilní stav. Kontrolní soubor zahrnoval 136 osob odpovídajícího věku a pohlaví (zdravých dárců krve či představitelů obecné populace s negativní anamnézou žilní či arteriální příhody, bez autoimunitního či maligního onemocnění). U obou souborů jsme vyšetřili ACA, anti-β2-GPI a „nediagnostické“ APA: anti-phA, anti-phE, anti-phG, anti-phS, anti-phI v izotypech IgG a IgM. Použili jsme komerční testy (ACA, anti-β2-GPI) a „in-house“ ELISA testy (ostatní APA). Statistické zpracování bylo provedeno pomocí t-testu a Fisherova testu, dále pak Mann-Whitney U testu, ROC (receiver operator curve) analýzy a výpočtu „poměru šancí“ (odds ratio - OR).

Výsledky: 48,6% nemocných mělo „nevypovokovanou“ tromboembolickou příhodu (resp. TEN bez jasného provokujícího faktoru). Trombofilní stav (leidenská mutace v genu pro FV; mutace v genu pro protrombin G20210A; deficit proteinu C či proteinu S; deficit antitrombinu; vysoká hladina faktoru VIII) byl zjištěn jak u případů s „nevypovokovanou“, tak s „vypovokovanou“ trombózou, celkově u 48,6% ze souboru pacientů. 23,6% nemocných mělo příhodu „nevysvětlenou“, tj. bez jakékoli známé příčiny, resp. bez provokujícího faktoru i bez trombofilie. U 12,1% byla v minulosti dokumentována také arteriální příhoda (akutní koronární syndrom, ischemická cévní mozková příhoda či periferní tepenný uzávěr).

Vyšší prevalence APA (resp. hodnoty nad 95. percentil kontrolního souboru) byla zjištěna pro **IgM - ACA** (n=18; 12.9%; p=0.035), **IgG - anti-β2-GPI** (n=23; 16.4%; p=0.0032), **IgM - anti-phE** (n=20; 14.3%; p=0.014). Ve většině případů nebyla prokázána zkřížená reaktivita ACA a anti-β2-GPI. 12 z 20 pacientů s prokázanými IgM - anti-phE nemělo ani ACA, ani anti-β2-GPI a u 9 z nich byla IgM - anti-phE jedinou nalezenou antifosfolipidovou protilátkou, tedy nebyla u nich zjištěna ani žádná jiná nonkardiolipinová protilátka.

Dále jsme hodnotili význam jednotlivých APA pomocí ROC analýzy. Výsledky byly signifikantní pro protilátky **IgG - anti-β2-GPI** (AUC 0,743) a **IgM - anti-phE** (AUC 0,621), avšak nikoli pro IgM - ACA (AUC 0,486). Také výsledné hodnoty OR byly významné pouze pro **IgG - anti-β2-GPI** (OR 1.271; 95% CI 1.156-1.398) a **IgM - anti-phE** (OR 1.194; 95% CI 1.084-1.315), pro IgM - ACA nedosáhly statistické významnosti (OR 1.082; 95% CI 0.909-1.287).

Nebyly prokázány signifikantní rozdíly v prevalenci APA mezi jednotlivými podskupinami pacientů (muži oproti ženám; TEN s jasným provokujícím faktorem versus TEN „nevypovokovaná“; pacienti se současnou anamnézou arteriálních příhod oproti pacientům bez takovéto anamnézy; TEN s identifikovatelnou příčinou versus TEN „nevysvětlená“).

Diskuze: Naše výsledky mohou přispět k debatě o laboratorních kritériích APS ve 2 směrech:

➤ jednak jsme zjistili signifikantně vyšší prevalenci anti-β2-GPI u pacientů s TEN, a to ve většině případů bez současné positivity ACA. V tomto směru tedy naše výsledky podporují začlenění anti-β2-GPI do nových diagnostických kritérií APS (Miyakis 2006). Jak zmíněno výše, nebyla tato úprava přijata jednoznačně všemi odborníky a stále existují rozporné názory (Lackner 2006, Galli 2007, Galli 2008).

➤ z „nediagnostických“ APA byla v našem souboru zjištěna vyšší prevalence

IgM – anti-phE, jen s nevelkou zkříženou reaktivitou s „diagnostickými“ APA. Naše výsledky tedy připouštějí potenciální význam vyšetření anti-phE u nemocných s klinickým podezřením na APS, avšak s negativním výsledkem testů na „diagnostické“ APA. Bylo by jistě vhodné ověřit tyto výsledky ve velké prospektivní studii.

Limitace: naše studie má určité limitace, pro které je třeba výsledky interpretovat s jistou opatrností.

- vzhledem k relativně malé velikosti našeho souboru jsme jako cut-off zvolili 95.percentil hodnot kontrolní skupiny, ačkoli jsme si vědomi, že pro „diagnostické“ APA jsou v kritériích doporučeny jako pozitivní až titry nad 99.percentil. V naší práci jsme se však zabývali hlavně výzkumem „nediagnostických“ APA, pro něž zatím nejsou závazná doporučení ohledně cut-off a v provedených studiích jiných autorů (viz výše) byly použity rozličné hodnoty cut-off (průměr hodnot vyšetřovaného souboru + 3 SD; průměr hodnot vyšetřovaného souboru + 5 SD; 97. percentil kontrolního souboru; 95. percentil hodnot vyšetřovaného souboru; 98. percentil kontrolního souboru; 95. percentil kontrolního souboru; 99. percentil kontrolního souboru; hodnoty doporučené výrobcem komerčních testů; nejvyšší tertíl hodnot vyšetřovaného souboru).

- Dosud nebylo provedeno opakované testování na přítomnost APA, proto nelze s jistotou hodnotit jejich pozitivitu jako trvalou. Pozitivita APA může být pouze přechodná, např. v souvislosti s infekčním onemocněním, proto je v diagnostických kritériích stanovena nutnost opakovaného průkazu LA, ACA či anti- β 2-GPI s intervalem mezi náběry alespoň 12 týdnů (Miyakis 2006). Plánujeme však opakované vyšetření pacientů s pozitivními ACA, anti- β 2-GPI a antiphE.

- Nepodařilo se nám prokázat rozdíly v prevalenci APA mezi jednotlivými podskupinami pacientů (viz výše), což však může být způsobeno malou velikostí těchto podskupin.

- U většiny pacientů nebylo provedeno vyšetření na LA. LA je považováno za nejsilnější prediktor trombózy (Galli 2003b), a bylo by tedy zajímavé korelovat asociaci LA s jednotlivými APA. Naprostá většina pacientů byla však na warfarinu, a proto by testování LA bylo značně obtížné.

Závěr: ve skupině pacientů s TEN bez SLE jsme prokázali vyšší prevalenci protilátek IgM - ACA, IgG - anti-β2-GPI a také IgM - anti-phE. Naše výsledky přispívají k dosud neukončené debatě o laboratorních kritériích APS – jednak potvrzují význam testů na anti-β2-GPI, jednak ze skupiny nonkardiolipinových APA vyčleňují anti-phE jako protilátky hodné podrobnějšího výzkumu u pacientů s APS či „pravděpodobným“ APS.

Závěrečné shrnutí

Rozsah vyšetřovacího procesu po prodělané TEN by neměl být nadměrně rozsáhlý (resp. nepřiměřeně finančně, časově či organizačně náročný), na druhou stranu však přílišné zjednodušení procesu by mohlo vést k poškození pacienta. Velmi zodpovědným rozhodnutím je volba délky antikoagulační léčby. V nově publikovaných mezinárodních doporučeních antitrombotické léčby ACCP (Kearon 2008) je jako zcela zásadní faktor uváděna přítomnost či absence provokujícího faktoru, všechny ostatní rizikové faktory jsou zmiňovány jen jako přídatné při zvažování rizika recidivy a délky antikoagulační léčby. Je tedy třeba zaměřit se zejména na pacienty s TEN bez jasné vyvolávající příčiny a u nich provést jednak onkologický screening, jednak dle rodinné a osobní anamnézy uvážit vyšetření trombofilie. Rutinní vyšetření na APS jistě není možné provádět u všech nemocných s TEN, avšak u selektovaných skupin (např. idiopatické příhody zejména do 50 let věku; recidivující příhody; nevysvětlené arteriální trombózy či současný výskyt arteriálních i žilních příhod) by nemělo být opomenuto.

V této souvislosti je třeba si uvědomit, že v nových diagnostických kritériích APS už je doporučováno vyšetření protilátek *anti-β2-GPI*. V naší studii byla zjištěna významně vyšší prevalence těchto protilátek u nemocných s TEN oproti kontrolnímu souboru. Testy na anti-β2-GPI však zatím nejsou v našich podmínkách běžnou součástí vyšetření na APS. Je vhodné zvážit jejich zavedení do praxe, alespoň na vybraných pracovištích, např. ve specializovaných centrech.

Pokud jsou výsledky „diagnostických“ APA (tj. ACA, anti-β2-GPI) negativní a vyšetření na LA je buď také negativní, nebo z důvodů antikoagulační léčby dosud nebylo provedeno a příčina TEN nebyla jinými vyšetřeními (tj. onkologickým screeningem ani jinými testy na trombofilii) objasněna, přichází v úvahu ještě vyšetření „nediagnostických“ APA. Dle našich výsledků se zdá, že ze širokého spektra APA si protilátky *anti-phE* zaslouží další pozornost a jejich význam by měl být zhodnocen ve *větší a prospektivní studii*.

Souhrn

Vyšetřovací proces po žilní tromboembolické příhodě zahrnuje zobrazovací i laboratorní metody, jeho cílem je nejen diagnostika a sledování vývoje onemocnění, ale i pokud možno objasnění příčiny. Není-li zřejmý klinický vyvolávající faktor, je vhodné pátrat jednak po skryté malignitě, jednak po trombofilii. Z praktického hlediska jsou významné zejména ty trombofilní stavy, které zvyšují riziko recidivy, a mohou tedy hrát roli při rozhodování o délce antikoagulační léčby (obvykle warfarinem) po příhodě. Nejčastější z vrozených trombofilních stavů však zvyšují riziko recidivy jen mírně a jejich průkaz většinou není indikací k prodloužení warfarinizace.

Antifosfolipidový syndrom (APS) je získaným trombofilním stavem a je spojen s významně vyšším rizikem recidivy tromboembolické nemoci, a to zejména po vynechání antikoagulační léčby. Laboratorní diagnostika APS je založena jednak na koagulačním vyšetření tzv. lupus antikoagulans, jednak na sérologickém průkazu antifosfolipidových protilátek (APA). APA jsou velmi heterogenní, za diagnostické jsou považovány antikardiolipinové protilátky (ACA) a nově též protilátky proti β 2- glykoproteinu I (anti- β 2-GPI). Někteří autoři však považují za důležité i další podskupiny APA.

Naše práce byla zaměřena na prevalenci nejen ACA, anti- β 2-GPI, ale i dalších, „nediagnostických“ APA - proti fosfatidylserinu, fosfatidylglycerolu, fosfatidylinositolu, fosfatidyletanolaminu (anti-phE), kyselině fosfatidové v isotypu IgG a IgM u pacientů po prodělané žilní tromboembolické příhodě. Prokázali jsme statisticky významně vyšší prevalenci protilátek IgM - ACA, IgG - anti- β 2-GPI, IgM – anti-phE. Naše výsledky tedy jednak podporují začlenění anti- β 2-GPI do nových diagnostických kritérií APS, jednak připouštějí potenciální význam vyšetření anti-phE – zejména u nemocných s klinickým podezřením na APS, avšak s negativním výsledkem testů na „diagnostické“ APA. Tyto výsledky by bylo jistě vhodné ověřit v rozsáhlejší a prospektivní studii.

Summary

The diagnostic workup in patients with venous thromboembolism (VTE) consists of imaging methods as well as laboratory assays and concentrates not only on diagnostic and follow-up procedures but also on the evaluation of the possible cause of VTE event. In the absence of an obvious clinical provoking factor, occult malignancy or thrombophilic disorder should be searched for. From the practical point of view, the most relevant are those thrombophilic states that are associated with an increased risk of recurrence and may therefore play a role in the decision about the length of the anticoagulation therapy (usually with warfarin) following the event. However, the most common inherited thrombophilic disorders are associated with only mildly increased risk of VTE recurrence and their detection does not usually warrant prolonged warfarin therapy.

Antiphospholipid syndrome (APS) is an acquired thrombophilic state with a significantly higher risk of VTE recurrence, especially after warfarin withdrawal. The laboratory diagnostics of APS consists of coagulation assays (detection of lupus anticoagulans) as well as serologic tests of antiphospholipid antibodies (APA). APAs are very heterogeneous and only some of them are considered “diagnostic” – anticardiolipin antibodies (ACA) and newly also antibodies against β 2- glycoprotein I (anti- β 2-GPI). Some authors, however, consider some other subgroups of APAs significant, too.

The aim of our study was to assess the prevalence of not only ACA and anti- β 2-GPI but also “nondiagnostic” APA - antibodies against phosphatidylserine, phosphatidylglycerol, phosphatidylinositol, phosphatidylethanolamine (anti-phE), phosphatidic acid - in both IgG and IgM isotypes in patients after a VTE event. We have confirmed statistically higher prevalence of IgM - ACA, IgG - anti- β 2-GPI and also IgM - anti-phE. Our results thus support the inclusion of anti- β 2-GPI assays into the newly revised APS diagnostic criteria and

suggest the potential utility of anti-phE testing, especially in the case of strong clinical suspicion of APS with the absence of “diagnostic” APA. Nevertheless, these results deserve further evaluation in a larger and prospective study.

Seznam použité literatury

- Amoroso A, Mitterhofer AP, Del Porto F et al. Antibodies to anionic phospholipids and anti- β -2GPI: association with thrombosis and thrombocytopenia in systemic lupus erythematosus. *Human Immunology* 2003;64:265-273.
- Arnout J: Antiphospholipid syndrome: diagnostic aspects of lupus anticoagulants. *Thromb Haemost* 2001;86:83-91.
- Arnout J, Vermeylen J. Current status and implications of autoimmune antiphospholipid antibodies in relation to thrombotic disease. *J Thromb Haemost* 2003;1:931-942.
- Baglin T, Luddington K, Brown K, Baglin C. Incidence of recurrent venous thromboembolism in relation to clinical and thrombophilic risk factors: prospective cohort study. *Lancet* 2003;362:523-26.
- Bauer KA. The thrombophilias: well-defined risk factors with uncertain therapeutic implications. *Ann Intern Med* 2001;135:367-373.
- Bertina RM. Genetic Approach to Thrombophilia. *Thromb Haemost* 2001; 86: 92-103.
- Bertolaccini ML, Roch B, Amengual O et al. Multiple antiphospholipid tests do not increase the diagnostic yield in antiphospholipid syndrome. *Br J Rheumatol* 1998;37:1229-32.
- Biron-Andréani C, Mallol C, Vergnes C et al. Thrombosis and antiphospholipid antibodies in non-SLE patients: predictive value of antiphosphatidylserine antibodies. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2002;32:194.
- Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. *Thromb. Haemost.* 1995;74:1185-90.
- Büller HR, Agnelli G, Hull RD et al. Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease. The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004;126:401S-428S.
- Cushman M. Inherited risk factors for venous thrombosis. *Hematology* 2005:452-457.

De Stefano V, Martinelli I, Manucci PM et al. The risk of recurrent deep venous thrombosis among heterozygous carriers of both factor V Leiden and the G20210A prothrombin mutation. *N Engl J Med* 1999;341:801-6.

De Stefano V, Martinelli I, Manucci PM et al. The risk of recurrent venous thromboembolism among heterozygous carriers of the G20210A prothrombin gene mutation. *Br J Haematol* 2001;113:630-5.

Desauw C, Hachulla E, Boumbar Y. Syndrome des antiphospholipides avec anticorps antiphosphatidyléthanolamine isolés: á propos de 20 cas. *Rev Méd Interne* 2002;23:357-63.

Eichinger S, Pabinger I, Stumflen A et al. The risk of recurrent venous thromboembolism in patients with and without factor V Leiden. *Thromb Haemost* 1997;77:624-8.

Eichinger S, Minar E, Hirschl M et al. The risk of early recurrent venous thromboembolism after oral anticoagulant therapy in patients with the G20210A transition in the prothrombin gene. *Thromb Haemost* 1999;81:14-7.

Eichinger S, Minar E, Bialonczyk C et al. D-dimer levels and risk of recurrent venous thromboembolism. *JAMA* 2003;290:1071-74.

Eichinger S, Weltermann A, Minar E et al. Symptomatic pulmonary embolism and the risk of recurrent venous thromboembolism. *Arch Intern Med* 2004;164:92-96.

Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Anti- β 2-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2003;102:2717-23. (a)

Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Lupus anticoagulants are stronger risk factor of thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood* 2003;101:1827-32. (b)

Galli M. Antiphospholipid syndrome: association between laboratory tests and clinical practice. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003/2004;33:249-255.

Galli M, Borrelli G, Jacobsen EM, et al. Clinical significance of different antiphospholipid antibodies in the WAPS (warfarin in the antiphospholipid syndrome) study. *Blood* 2007;110:1178-1183.

Galli M, Reber G, de Moerloose P, de Groot PG. Invitation to a debate on the serological criteria that define the antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2008;6:399-401.

Garcia DA, Khamashta MA, Crowther MA. How we diagnose and treat thrombotic manifestations of the antiphospholipid syndrome: a case-based review. *Blood* 2007;110:3122-3127.

Gilman-Sachs A, Lubinski J, Beer AE et al. Patterns of anti-phospholipid antibody specificities. *J Clin Lab Immunol* 1991;35:83-8.

Greaves M. Antiphospholipid Antibodies and Thrombosis. *Lancet* 1999;353:1348-53

Ho WK, Hankey GJ, Quinlan DJ, Eikelboom JW et al. Risk of recurrent venous thromboembolism in patients with common thrombophilia. *Arch Intern Med* 2006;166:729-36.

Hoepfer MM, Mayer E, Simonneau G, Rubin LJ. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circulation* 2006;113:2011-2020.

Christiansen SC, Cannegieter SC, Koster T et al. Thrombophilia, clinical factors and recurrent venous thrombotic events. *JAMA* 2005;293:2352-61.

Kearon C, Gent M, Hirsch J et al. A comparison of three months of anticoagulation with extended anticoagulation for a first episode of idiopathic venous thromboembolism. *N Engl J Med* 1999;340:901-7.

Kearon C. Long-term management of patients after venous thromboembolism. *Circulation* 2004;110[suppl I]:I-10-I-18.

Kearon C, Kahn SR, Agnelli G et al. Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). Chest. 2008 Jun;133(6 Suppl):454S-545S.

Kodíček M. fosfolipidy. Biochemické pojmy: výkladový slovník [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2007 [cit. 2008-11-17].

Kuijjer P, Hutten BA, Prins M, Büller HR. Prediction of the risk of bleeding during anticoagulant treatment for venous thromboembolism. Arch Intern Med 1999;159:457-60.

Kyrle P, Minar E, Hirschl M, et al. High plasma levels of factor VIII and the risk of recurrent venous thromboembolism. N Engl J Med 2000;343:457-62.

Lackner KJ, Peetz D, von Landenberg P. Revision of the Sapporo criteria for the antiphospholipid syndrome – Coming to grips with evidence and Thomas Bayes? Thromb Haemost 2006;95:917-9.

Laroche P, Berard M, Rouquette AM et al. Advantage of using both anionic and zwitterionic phospholipid antigens for the detection of antiphospholipid antibodies. Am J Clin Pathol 1996;106:549-54.

Lee AYY. Venous thromboembolism and cancer: prevention and therapy. Vnitř Lék 2006;52:127-131.

Levine JS, Branch DW, Rauch J. The Antiphospholipid Syndrome. N Engl J Med 2002;346:752-763.

Lindhoff-Last E, Luxembourg B. Evidence-based indications for thrombophilia screening. VASA 2008;37:19-30.

Lindmarker P, Schulman S, Sten-Linder M et al. The risk of recurrent venous thromboembolism in carriers and non-carriers of the G1691A allele in the coagulant factor V gene and the G20210A allele in the prothrombin gene. Thromb Haemost 1999;81:684-9.

Lopez LR, Dier KJ, Lopez D, et al. Anti- β 2-glycoprotein I and antiphosphatidylserine antibodies are predictors of arterial thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome. *Am J Clin Pathol* 2004;121:142-9.

López-Soto A, Cervera R, Font J et al. Isotype distribution and clinical significance of antibodies to cardiolipin, phosphatidic acid, phosphatidylinositol and phosphatidylserine in systemic lupus erythematosus; prospective analysis of a series of 92 patients. *Clin Exp Rheumatol* 1997;15:143-9.

Machin SJ. Pros and cons of thrombophilia testing: *J Thromb Haemost*;1:412-413 .

Malý J, Dulíček P, Blažek M et al. Trombofilní stavy – laboratorní a klinická diagnostika. *Interv Akut Kardiol* 2007;6(Suppl. B):B11-B16.

Margaglione M, D'Andrea G, Colaiazzo D et al. Coexistence of factor V Leiden and factor II A20210 mutations and recurrent venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 1999;82:1583-7.

Martinelli I. Pros and cons of thrombophilia testing: pros. *J Thromb Haemost* 2003;1:410-11

McRae S, Tran H, Schulman S et al. Effect of patient's sex on risk of recurrent venous thromboembolism: a meta-analysis. *Lancet* 2006;368:371-8.

Miles JS, Miletich JP, Goldhaber SZ et al. G20210A mutation in the prothrombin gene and the risk of recurrent venous thromboembolism. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:215-8.

Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2006;4:295-306.

Moll S. Thrombophilias -practical implications and testing caveats. *J Thromb Thrombolysis* 2006;21(1):7-15.

Musial J, Swadzba J, Motyl A, Iwaniec T., et al. Clinical significance of antiphospholipid protein antibodies. Receiver operating characteristics plot analysis. *J Rheumatol* 2003;30:723-30.

Palareti G, Legnani C, Cosmi B et al. Predictive value of D-dimer test for recurrent venous thromboembolism after anticoagulation withdrawal in subjects with a previous idiopathic event and in carriers of congenital thrombophilia. *Circulation* 2003;108:313-18.

Palareti G, Cosmi B, Legnani C et al. D-dimer testing to determine the duration of anticoagulation therapy. *N Engl J Med* 2006;355:1780-9.

Pasquier E, Amiral J, de Saint Martin LS, Mottier D. A cross sectional study of antiphospholipid-protein antibodies in patients with venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 2001;86:538-542.

Piovella F, Crippa L, Barone M et al. Normalization rates of compression ultrasonography in patients with a first episode of deep vein thrombosis of the lower limbs: association with DVT recurrence and new thrombosis. *Haematologica* 2002;87:515-22.

Prandoni P, Lensing AWA, Prins M et al. Residual Venous Thrombosis as a predictive factor of recurrent venous thromboembolism. *Ann Intern Med* 2002;137:966-60.

Ridker PM, Miletich JP, Stampfer MJ et al. Factor V Leiden and risk of recurrent idiopathic venous thromboembolism. *Circulation* 1995;92:2800-2.

Sahin M, Duzgun N, Tunc SE, Tutkak H. Clinical manifestations and antiphosphatidylserine antibodies in patients with systemic lupus erythematosus: is there an association? *Clin Rheumatol* 2007;26:154-60.

Sanmarco M, Alessi M-C, Harle JR et al. Antibodies to Phosphatidylethanolamine as the only Antiphospholipid Antibodies Found in Patients with Unexplained Thromboses. *Thromb Haemost* 2001;85:800-5.

Sanmarco M, Gayet S, Alessi M-C. Antiphosphatidylethanolamine antibodies are associated with an increased odds ratio for thrombosis. *Thromb Haemost* 2007;97:949-954.

Schulman S, Svenungsson E, Granqvist S. Anticardiolipin antibodies predict early recurrence of thromboembolism and death among patients with venous thromboembolism following anticoagulant therapy. *Am J Med* 1998;104:332-338.

Schulman S, Ögren M. New concepts in optimal management of anticoagulant therapy for extended treatment of venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 2006;96:258-66.

Simioni P, Prandoni P, Lensing AW et al. The risk of recurrent venous thromboembolism in patients with Arg506→Gln mutation in the gene for factor V (factor V Leiden). *N Engl J Med* 1997;336:399-403.

Simioni P, Prandoni P, Lensing AW et al. Risk for subsequent venous thromboembolic complications in carriers of the prothrombin or the factor V gene mutation with a first episode of deep-vein thrombosis. *Blood* 2000;96:3329-33.

Teruya J, West AG, Suell MN. Lupus anticoagulant assays. Questions answered and to be answered. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131:885-889.

Toschi V, Motta A, Castelli C, et al. High prevalence of antiphosphatidylinositol antibodies in young patients with cerebral ischemia of undetermined cause. *Stroke* 1998;29:1759-1764.

Triplett DA. Antiphospholipid Antibodies. *Arch Pathol Lab Med*. 2002;126:1424-1429.

Wilson WA, Gharavi AE, Koike T et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999;42:1309-11.

Wu O, Robertson L, Twaddle S et al. Screening for thrombophilia in high-risk situations: systematic review and cost-effectiveness analysis. The Thrombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS) study. *Health Technol Assess*. 2006 Apr;10(11):1-110.

Zanon E, Prandoni P, Vianello F et al. Anti- β 2-glycoprotein I antibodies in patients with acute venous thromboembolism: prevalence and association with recurrent thromboembolism. *Thromb Res* 1999;96:269-274.

Příloha č. 1

Příloha č. 2

Příloha č. 3

Seznam publikací a prezentací autorky

Publikace in extenso

1. **Hirmerová J.** Krvácení z poruchy cévní stěny. Lékařské listy 2001;43:27-29.
2. **Hirmerová J.** Diseminovaná intravaskulární koagulace. Lékařské listy 2001;43:30-31.
3. **Hirmerová J.** Ischemická choroba dolních končetin – diagnostika a možnosti neinvazivní léčby. Lékařské listy 2002;č.7:24-26.
4. **Hirmerová J.** Stanovení diagnózy hluboké žilní trombózy – diagnostické algoritmy. Praktická flebologie 2002;č.2-3:59-64.
5. **Hirmerová J.** Léčba pacientů s ICHDK. Causa subita, 2003;ročník 6:66-68.
6. **Hirmerová J, Suchý D, Mádr T.** Dlouhotrvající léková interakce warfarinu s amiodaronem. Čas. Lék. čes., 142, 2003, No. 1, pp 39-42.
7. **Hirmerová J.** Antiagregační léčba. Causa subita, 2003;ročník 6(č.7):337-339.
8. **Hirmerová J.** Hluboká žilní trombóza – diagnostika a léčba. Lékařské listy 2003;č.39:20-21.
9. **Hirmerová J.** Hluboká žilní trombóza – trombofilní stavy. Lékařské listy 2003;č.39:22-24.
10. Suchý D., **Hirmerová J.** Postavení blokátorů kalciového kanálu v kardiovaskulární terapii. Kardioforum 4/2003:31-37.
11. **Hirmerová J.** Heparin-Induced Thrombocytopenia –an Overview. Central European Vascular Journal 2004;3:7-11.
12. **Hirmerová J., Filipovský, J.** Klinický význam aspirinové resistance. Vnitřní lékařství 2004;50(6):462-9.
13. **Hirmerová J.** Komplikace antikoagulační léčby. Lékařské listy 2004;č.50:18-19.
14. Stouffer GA, **Hirmerová J, Moll S et al.** Percutaneous coronary intervention in a patient with immune thrombocytopenia purpura. Catheterization and Cardiovascular Interventions 2004; 61:364-367. **IF 1,755**
15. **Hirmerová J.** Heparinem indukovaná trombocytopenie u pacientky se stenózou kmene levé věnčité tepny. Vnitř Lék 2005;51(2):231-237.
16. **Hirmerová J.** Antifosfolipidový syndrom a jeho projevy v tepenném a žilním systému. Cor Vasa 2005;47(5):187-194.
17. **Hirmerová J.** Profylaxe žilních tromboembolických komplikací v interních oborech – rozpor mezi teorií a praxí. Vnitř Lék 2006;52(4):379-388.
18. **Hirmerová J.** Ambulantní a následná léčba hluboké žilní trombózy. Medicína po promoci 2006;7(3):103-108.
19. **Hirmerová J.** Prevence žilní tromboembolické nemoci. Medicína po promoci 2006;7(5):65-69.
20. **Hirmerová J.** Povrchní tromboflebitida dolních končetin. Interní Med. 2006;11:496-499.
21. **Hirmerová J.** Optimální délka antikoagulační léčby po žilní tromboembolické příhodě: obecný či individualizovaný přístup? Vnitř Lék 2007;53:662-668
22. **Hirmerova J, Liska V, Mirka H, Chudacek Z, Treska V.** Portal and Mesenteric Vein Thromboses in a Patient With Prothrombin G20210 Mutation, Elevated Lipoprotein (a), and High Factor VIII. Clin Appl Thromb Hemost. 2008;14(4):481-5. **IF 1,008**
23. **Hirmerova J, Ulcova-Gallova Z, Seidlerova J, Filipovsky J, Bibkova K, Micanova Z, Mayer O Jr.** Laboratory evaluation of antiphospholipid antibodies in patients with venous thromboembolism. Clin Appl Thromb Hemost – přijato k publikaci. **IF 1,008**

Abstrakta

1. **Hirmerová J.**, Mecová E., Chudáček Z. Recurrence of deep venous thrombosis in a patient with combined thrombophilic disorder, complicated by warfarin - induced liver damage. XXth International Congress on Thrombosis, Ljubljana, June 2004, abstract PO042. Pathophysiol. Haemost. Thromb. 2004;33(suppl.2):88.
2. **Hirmerová J.**, Šubrt I, Šlechtová J, Hess Z. Clinical and Laboratory Risk Factors in a Group of Patients with Venous Thromboembolism. XXst Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Sydney, 6-12th August 2005 abstract P1636 J Thromb Haemost. 2005;3(suppl 1): P1636.
3. **Hirmerová J.**, Seidlerová J. Risk factors of incomplete recanalization after deep vein thrombosis. XXIst Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Geneva, July 6-12, 2007, abstract P-M-546. J Thromb Haemost. 2007;5(suppl 2): P-M-546.
4. **Hirmerová J.**, Seidlerová J, Filipovský J. Risk factors of residual thrombotic occlusion after deep vein thrombosis of the legs. Central European Vascular Journal 2008;7:10
5. **Hirmerová J.** The association between abnormal D-dimer test and postthrombotic syndrome. Central European Vascular Journal 2008;7:25-26.

Prezentace

1. **Hirmerová J.** Rizikové faktory hluboké žilní trombózy – odhad individuálního rizika. Prezentováno na večeru ČLS JEP v Plzni r. 2000.
2. **Hirmerová J.**, Hejduková M, Mádr. T. Role D-dimer testu ve stanovení diagnózy hluboké žilní trombózy. Prezentováno na Angiologických dnech v Praze 2001.
3. **Hirmerová J.**, Hejduková M, Mádr T, Martínková I, Šigutová P, Hajšmanová Z. Racionální využití D dimer testu v diagnostice hluboké žilní trombózy. Prezentováno na Česko-slovenské konferenci o trombóze a hemostáze v Hradci Králové r. 2001.
4. **Hirmerová J.**, Hromádka, M., Chudáček, Z., Ulčová- Gallová Z. Antifosfolipidový syndrom a ischemická choroba dolní končetin. Jaká léčba je optimální? Prezentováno na Angiologických dnech r. 2003.
5. **Hirmerová J.** Aspirinová resistance. Prezentována na večeru ČLS JEP v Plzni v r. 2003.
6. **Hirmerová J.** Heparinem indukovaná trombocytopenie. Prezentováno na Flebologických dnech r.2003.
7. **Hirmerová J.**, Mecová E., Chudáček Z. Warfarinem indukované jaterní poškození u pacienta s kombinovaným trombofilním stavem. Prezentováno na Angiologických dnech r.2004.
8. **Hirmerová J.** Indikace antikoagulační léčby u povrchní tromboflebitidy dolních končetin. Prezentováno na XXIX.Flebologických dnech, Hradec Králové, říjen 2004.

9. **Hirmerová J.**, Šubrt I., Šlechtová J., Hess Z. Klinické a laboratorní rizikové faktory v souboru pacientů s tromboembolickou nemocí. Presentováno na večeru ČLS JEP v Plzni 18.8.2005,
10. **Hirmerová J.** Povrchní tromboflebitida – je skutečně vždy benigní? Presentováno na XII. Česko – Slovenské konferenci o trombóze a hemostáze v Hradci Králové 19.-21.5.2005.
11. **Hirmerová J.** Recidiva tromboembolické nemoci u pacientky s anamnézou kožní alergie na antikoagulancia – popis případu – poster na XIII. Slovensko-české konferenci o hemostáze a trombóze květen 2006.
12. **Hirmerová J.** Které faktory mohou ovlivňovat rozhodnutí o délce antikoagulační terapie po žilní tromboembolické příhodě? Presentováno na XXII. Angiologických dnech v Praze 22.-24.2.2007.
13. **Hirmerová J.**, Seidlerová J. Rizikové faktory neúplné rekanalizace po hluboké žilní trombóze dolních končetin. Presentováno na Česko – slovenské konferenci o trombóze a hemostáze v Hradci Králové 17.-19.5.2007.
14. **Hirmerová J.** Asociace mezi abnormálním D-dimer testem a potrombotickým syndromem. Presentováno na XXXIII. Angiologických dnech v Praze 28.2.-1.3.2008
15. **Hirmerová J.**, Ulcova-Gallová Z, Seidlerová J, Filipovský J, Bibková K, Micanová Z, Mayer O. An extended profile of antiphospholipid antibodies in patients with venous thromboembolism. XXth International Congress on Thrombosis, Athens, June 25-28, 2008, P160.
16. **Hirmerová J.** Elefantiáza, trombóza veny azygos a plicní embolie u extrémně obézní pacientky – popis případu. Presentováno na XXXIII. Flebologických dnech v Praze, 24.-25.10.2008.