

37. OTDK BIOLÓGIA SEKCIÓ

ANTI-FOSZFOLIPID ANTITESTEK VIZSGÁLATA TÖBBSZÖRI SIKERTELEN IN VITRO FERTILIZÁCIÓN (IVF) ÁTESETT NŐKBEN

Készítette:

Kovács Anna

3. évfolyamos Biológia BSc szakos hallgató

Pécsi Tudományegyetem

Természettudományi kar

Belső konzulens: Dr. Pollák Edit

Témavezető: Prof. Dr. Berki Tímea, MD, PhD

PTE Klinikai Központ, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet



Szeged, 2025

Absztrakt

Az anti-foszfolipid szindróma (APS) egy autoimmunbetegség, melyet a foszfolipidek és az azokhoz asszociált fehérjék ellen termelődő autoantitestek tartós jelenléte jellemez. Az intracelluláris térre jellemző foszfolipidek elleni autoantitestek (AAT) termelődése az apoptózis folyamatában bekövetkező zavar miatt alakul ki. A betegség laboratóriumi kritériumai az anti-béta-2-glikoprotein 1 AAT, az anti-kardiolipin AAT és a lupus antikoaguláns tartós jelenléte a vérben. A kóros autoimmun állapot tromبózissal és terhességgel kapcsolatos morbiditással hozható összefüggésbe. Bizonyos esetekben APS-ra utaló klinikai manifesztációk ellenére a vérszérum vizsgálatok negatív eredményt adnak, mely felveti egyéb ritka anti-foszfolipid antitestek szerepét a betegség patomechanizmusában. A kutatás során olyan női betegek vérmintái kerültek elemzésre, akik valamilyen meddőséggel küzdenek és felmerült náluk, hogy e mögött immunológiai eredetű problémák állhatnak. Célunk ezen vérszérum minták immunológiai vizsgálatával különböző patológiás autoantitestek meghatározása, melyek alapján esetleges autoimmun kórképek felállíthatóak. Ezen kórképek pedig segíthetnek az infertilitás okainak azonosításában. A vizsgálat során összesen 410 női betegmintát vettünk figyelembe, akik közül 39 esetben teljesültek az APS klinikai kritériumai. Ezen csoporton a kritérium anti-foszfolipid AAT-eket ELISA módszer segítségével határoztuk meg, majd akiknél ez a mérés negatív eredményt adott a ritka anti-foszfolipid antitesteket is megmértük, célzottan az APS kevésbé gyakori formáinak azonosítására koncentrálva. A mérések alapján összesen 11 esetben sikerült patológiás autoantitest-pozitivitást meghatároznunk. Ezen eredmények erősítik a meddőség immunológiai kórereditét, így a kezelőorvosok számára lehetőség nyílik a megfelelő kezelési stratégia kidolgozására.

Tartalomjegyzék

Absztrakt	2
A meddőség globális jelentősége	4
A meddőség problémájának aktualitása	4
A meddőség okai	4
Az anti-foszfolid szindróma elméleti háttere	5
A béta-2-glikoprotein 1 szerepe a szülészeti anti-foszfolid szindrómában	6
Kardiolipin szerepe a szülészeti anti-foszfolid szindrómában	8
Lupus antikoaguláns szerepe a szülészeti anti-foszfolid szindrómában	10
Nem-kritérium anti-foszfolid autoantitestek	10
A foszfatidil-serin és a protrombin szerepe a szülészeti anti-foszfolid szindrómában	11
Az annexin V szerepe a szülészeti anti-foszfolid szindrómában	13
Célkitűzés	15
Anyag és módszertan	15
Betegválogatás folyamata.....	15
Rutin szűrővizsgálatok és autoimmun betegségek kimutatása	17
Módszertan: Enzimmel jelölt immunoabszorpciós vizsgálat bemutatása.....	18
Eredmények és kiértékelés	19
Diskusszió.....	22
Köszönetnyilvánítás	24
Referencia lista	25
Függelék	27

A meddőség globális jelentősége

A meddőség problémájának aktualitása

A meddőség definíció szerint a klinikai terhesség elmaradását jelenti, 12 hónap vagy annál hosszabb ideig tartó rendszeres, védekezés nélküli szexuális együttlét után. Világszerte jelentős közegészségügyi probléma, a reprodukív korban lévő párok 12,6% - 17,5%-át érinti világszerte. (Njagi és mtsai., 2023) A meddőség prevalenciájában regionális eltérések figyelhetők meg, melyek a környezeti, kulturális és társadalmi tényezők mellett a szexuális és reprodukív egészségügyi jogok, valamint az egészségügyi ellátáshoz való hozzáférés és annak minősége közötti különbségeket tükrözik. (Njagi és mtsai., 2023) A meddőség amellet, hogy az 5. legkomolyabb globális egészségügyi problémaként van rangsorolva, nem csupán orvosi kérdés, hiszen súlyos pszichológiai és társadalmi terheket ró az érintettek. (Upadhyay és mtsai., 2020)

A meddőség okai

A fertilitási zavar összetett probléma, ugyanis háttérben meghúzódó okok rendkívül szerteágazóak. A női meddőség kiváltó tényezői alapvetően hormonális zavarok, szaporító szervi problémák vagy életkori tényezők, melyeket életmódbeli és környezeti hatások is befolyásolnak. (Bala és mtsai., 2021)

Az immunológiai okok közül az általam vizsgált anti-foszfolid szindróma (APS) nevű autoimmun betegségre jellemző patológiás anti-foszfolid autoantitestek (aPL AAT) az egészséges reprodukív korú nők 1–5%-ánál mutathatók ki (Alijotas-Reig és mtsai., 2022), és az esetek körülbelül 10%-ban tehetőek felelőssé a terhességi morbiditásért. (He & Sims, 2024)

A 2019-es jelentés az Európai Szülészeti APS Nyilvántartás (EUROAPS) adatai alapján, amely 1000 szülészeti anti-foszfolid szindrómában szenvedő beteget vizsgált, a vetélés előfordulását 38,6%-ra, a korai preeclampsia előfordulását 18,1%-ra, valamint a korai intrauterin magzati növekedési visszamaradás előfordulását 16,1%-ra becsülte. (Mineo és mtsai., 2023)

Fontos kiemelni, hogy megfelelő kezelés mellett a terhesség sikerességi aránya akár 80%-ra is emelhető, ami alátámasztja a korai diagnózis és az egyéni terápiai protokollok jelentőségét. (Alijotas-Reig és mtsai., 2022)

Az anti-foszfolipid szindróma elméleti háttere

„Az anti-foszfolipid szindróma (APS) egy autoimmunbetegség, melyet a foszfolipidek és az azokhoz asszociált fehérjék ellen termelődő autoantitestek (AAT) tartós jelenléte jellemez, melyek trombózissal és terhességgel kapcsolatos morbiditással hozhatók összefüggésbe.” (D’Ippolito és mtsai., 2023) Jelenleg elfogadott nézet szerint a vaszkuláris anti-foszfolipid szindrómát (VAPS) és a szülészeti anti-foszfolipid szindrómát (angolul: obstetric anti-phospholipid syndrome = OAPS) két külön klinikai entitásnak tekintjük. (D’Ippolito és mtsai., 2023) Munkám során a szülészeti anti-foszfolipid szindrómát vizsgáltam. „Az OAPS leggyakoribb komplikációi a visszatérő terhességvesztések és a koraszülés, amelyek a placenta elégtelensége vagy súlyos preeclampsia következtében alakulnak ki. Régebben a terhességi szövődmények fő patológiás okának a trombotikus eseményeket tekintették, ma már azonban elfogadott, hogy a trombózis önmagában nem magyarázza az OAPS-ban megfigyelt terhességi morbiditást.” (D’Ippolito és mtsai., 2023)

Az eukarióta sejtekben a biológiai membránok lipidjeinek eloszlása aszimmetrikus, mely számos biológiai folyamat szempontjából alapvető fontosságú. (Wang és mtsai., 2022) Az autoimmun betegség alapja, hogy a normál esetben a sejtmembrán intracelluláris felszínére jellemző anionos foszfolipidek apoptotikus sejthalál következtében externalizálódnak. A béta-2-glikoprotein 1 plazmafehérje speciális V. doménje segítségével képes kölcsönhatásba lépni ezen negatív töltésű foszfolipidekkel. Az így létrejövő neoantigén komplexek elvesztik kiváltságos helyzetük az immunrendszer toleranciájával szemben és megindul az antitestek termelése ellenük. (Fierro és mtsai., 2022; McDonnell és mtsai., 2020) „Az antitest fehérjéhez való kötődése a komplement kaskádron keresztül lokális gyulladásos folyamatokat indít el, mely kihat a trofoblasztok és a decidua működésére. Ez végeredményben a méhlepény fejlődési rendellenességét okozza.” (Meroni és mtsai., 2022)

Az OAPS-ban szerepet játszó aPL AAT-ek fő autoantigénje, a béta-2-glikoprotein 1, egyaránt jelen van normális és abnormális terhességeknél, azonban kifejeződése fokozott a megemelkedett aPL AAT titerű betegeknél. (Fierro és mtsai., 2022) „A tartós aPL AAT jelenléte terhességi szövődményekkel társul, amelyek a szindróma osztályozási kritériumait is jelentik.” (Raschi és mtsai., 2024) Megkülönböztetünk továbbá primer és szekunder APS-t. Amennyiben nem áll fenn más alapbetegséget jelentő autoimmun kórkép, a szindrómát primer APS-nak nevezzük, ha azonban más autoimmun rendellenesség, elsősorban szisztémás lupus

erythematosus (SLE), egyidejűleg jelen van, akkor szekunder APS-ról beszélünk.” (Alijotas-Reig és mtsai., 2022)

A béta-2-glikoprotein 1 szerepe a szülészeti anti-foszfolipid szindrómában

Az apolipoproteinek családjába tartozó béta-2-glikoprotein 1 (β 2GP1) egy 5 doménből felépülő foszfolipid-kötő plazmafehérje. E domének közül négy hasonló komplement-szabályozó fehérje (CCP) jellegű, míg az ötödik, V. domén egyedülálló, allosztérikus diszulfid-kötése és egy nagy lizin hurok révén lehetővé teszi, hogy a β 2GP1 interakcióba lépjen anionos foszfolipidekkel és más molekulákkal, például koagulációs faktorokkal, vérlemezkékkel, valamint a komplement rendszerrel. (McDonnell és mtsai., 2020) A β 2GP1 szerepe többféle biológiai funkcióra kiterjed, beleértve antioxidáns hatását és a sejtek apoptózissal kapcsolatos "takarító" szerepét, ami magyarázza, hogy miért lokalizálódik a placenta szöveteiben, ahol intenzív szöveti átalakulás és alacsony oxigénszint uralkodik. Emellett a β 2GP1 molekula kölcsönhatásba lép a komplement- és koagulációs kaskád komponenseivel, így a specifikus antitestekkel való kötődése több szempontból is befolyásoló tényező lehet a placenta fiziológiájában. (Meróni és mtsai., 2022)

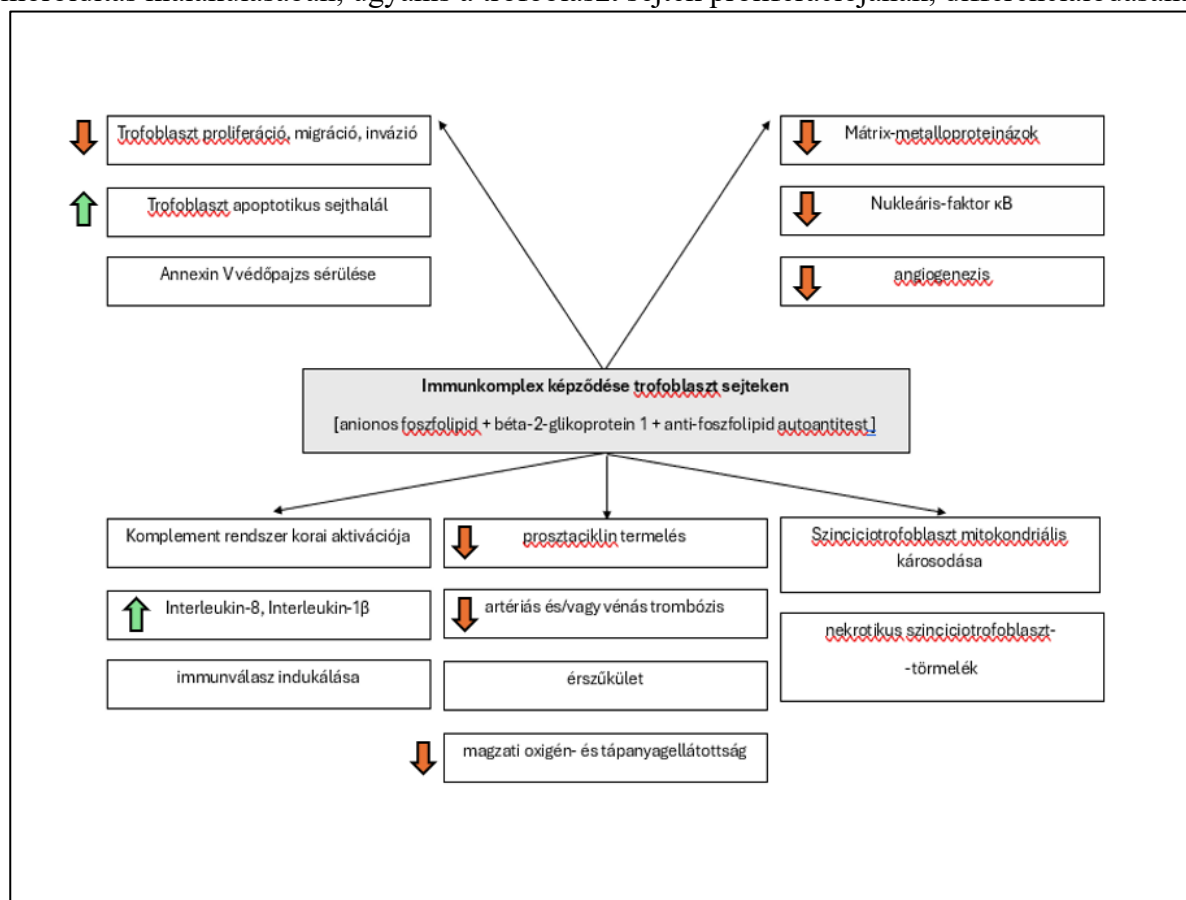
„Az anionos foszfolipidek normál esetben a sejtmembrán intracelluláris felszínén helyezkednek el, azonban bizonyos körülmények között externalizálódnak. Ilyen esetek például a sejt apoptózisa vagy az immunsejtek öregedése.” (Fierro és mtsai., 2022) A β 2GP1 speciális V. doménje segítségével képes kölcsönhatásba lépni ezen negatív töltésű foszfolipidekkel. A β 2GP1 nagyfokú konformációs flexibilitással rendelkezik, strukturálisan zárt (cirkuláris) és nyitott (lineáris) formát is fel tud venni. A plazmában keringő β 2GP1 90%-a zárt formában található, azonban bizonyos körülmények között kinyílhat. Ilyen eset többek között az anionos foszfolipidhez való kötődése is. Az I. domén tartalmazza a β 2GP1 fő epitóp régióját, mely zárt formában rejtve van, azonban nyitott formában a felszínre kerül és indukálja az aPL AAT-ek képződését. (McDonnell és mtsai., 2020)

„A keletkezett 'anti- β 2GP1 AAT/ β 2GP1+ anionos foszfolipid komplex gátolja a heparin-kötő epidermális növekedési faktort (HB-EGF), amely egy fontos mitogén hatású anyag. A HB-EGF fiziológiás körülmények között elősegíti a trofoblaszt proliferációját és differenciálódását, mely az APS patomechanizmusai következtében jelentősen csökken. A trofoblaszt sejtek növekedett apoptózisát és csökkent differenciálódását mutatja a humán koriongonadotropin (hCG) csökkent szekréciója is.” (D'Ippolito és mtsai., 2023) „Az antitest fehérjéhez való kötődése a komplement kaskádon keresztül lokális gyulladásos folyamatokat

indít el, mely szintén kihat a trofoblasztok és a decidua működésére.” (Meróni és mtsai., 2022)

Az extravillószus trofoblasztok inváziójának csökkentésével akadályozza a méh spirális artériáinak megfelelő átalakulását, így rontva a méhlepény vérellátását. Emellett fokozza a gyulladásos citokinek és antiangiogén faktorok termelését, tovább súlyosbítva a terhességi komplikációkat. (Fierro és mtsai., 2022) „Ezen felül az aPL AAT-ek képesek alacsony denzitású lipoprotein receptorokon (LDLR) keresztül internalizálódni a szinciciotrofoblasztba. Bejutásukat követően károsítják a szincícium mitokondriális membránját, mely által növelik a citokróm c citoplazmába történő felszabadulását és a trofoblaszt sejtek által termelt reaktív oxigén származékok (ROS) szintjét. A mitokondriális diszfunkció megváltoztatja a szinciciotrofoblaszt sejthalál-folyamatait, ami a nekrotikus szinciciotrofoblaszt-törmelék fokozott felszabadulásához vezet. Ez a törmelék az anyai endothelsejtek aktivációját serkenti.” (Fierro és mtsai., 2022)

Összeségében a β 2GP1 molekula és egy anionos foszfolipid komplexe ellen termelődő aPL AAT-ek kulcsfontosságú szerepet játszanak az OAPS-hoz kapcsolódó terhességi morbiditás kialakulásában, ugyanis a trofoblaszt sejtek proliferációjának, differenciálódásának



1. ábra Béta-2-glikoprotein 1 által kiváltott patomechanizmusok a szülészeti anti-foszfolipid szindrómában (Fierro és mtsai., 2022)

és inváziójának befolyásolásával rendellenes méhlepény kialakulásához vezetnek. (Fierro és mtsai., 2022)

Kardiolipin szerepe a szülészeti anti-foszfolipid szindrómában

A kardiolipin (CA) egy tetra-acilált difoszfatidilglicerol lipid, amely elsősorban a mitokondrium belső membránjában (IMM) lokalizálódik és központi szerepet játszik a mitokondrium struktúrájának és működésének szabályozásában. (Pizzuto & Pelegrin, 2020)

Szerkezetét két foszfolipid molekula alkotja, melyek egy glicerín által kapcsolódnak össze a feji részeiken. Annak ellenére, hogy a foszfolipidekre két kovalensen kötött acil-lánc jellemző, a kardiolipin négy zsírsavval rendelkezik. Ezen egyedi tulajdonsága lehetővé teszi, hogy a telítetlen acil-láncok oxidatív polimerizációja révén stabil és összetett struktúrákat alakítsanak ki. (Jiang és mtsai., 2022) A kardiolipin szerkezetének különlegessége, hogy két a foszfátcsoportja két negatív töltést biztosít a molekulának. Ez fontos szerepet játszhat a fehérjék közötti keresztkötések és a fehérje-fehérje kölcsönhatások kialakításában. (Jang & Javadov, 2023)

A kardiolipin sejthalál-jelátvitelben betöltött szerepe kulcsfontosságú, mivel a külső mitokondriális membránra való kijutása segíti a sérült mitokondriumok azonosítását és azok mitofágia útján való eltávolítását. (Jang & Javadov, 2023) Ilyenkor a kardiolipin szolgál jelként a mikrotubulus-asszociált fehérje 1A/1B könnyű lánc 3 (LC3) számára, melynek kötődése hozzájárul a lebontó mechanizmus kivitelezéséhez. (Pizzuto & Pelegrin, 2020) A dinamin-szerű fehérje 1 (Drp1), amely a stressz-indukált mitokondriális hasadásban vesz részt, tartalmaz egy konzervált kardiolipin-kötő motívumot, hangsúlyozva a kardiolipin jelentőségét ezekben a folyamatokban. (Jang & Javadov, 2023)

A CA kulcsfontosságú szerepet tölt be több szempontból is az apoptózis szabályozásában. Amikor a mitokondriumok károsodnak, a kardiolipin a belső mitokondriális membránról a külső membrán citoplazmatikus oldalára, valamint a plazmamembránra kerül és kémiai módosulásai jelként szolgálnak a fagociták számára. A fagociták a CD36 (Cluster of Differentiation 36) receptoruk segítségével felismerik és eltávolítják a haldokló vagy sérült sejtekből származó mitokondriumokat. (Pizzuto & Pelegrin, 2020)

Bizonyos kóros állapotokban a sérült mitokondriumok eltávolításának képtelensége vagy a CA plazmamembránon való kitettsége aktiválhatja az antigénprezentáló sejteket (APC-

k), amelyek T- és B-sejtekkel való kölcsönhatások révén CA ellen autoantitesteket (ACA AAT) termelnek. Egyelőre nem teljesen egyértelmű, hogy az ACA AAT kialakulása a CA által kiváltott immunválaszok eredménye-e. Míg fertőző betegségek esetén az ACA AAT közvetlenül a CA-hez kötődik, addig az APS-ban az ACA AAT valódi antigén célpontja a CA-hez kötődő β 2GP1 plazmafehérje. (Pizzuto & Pelegrin, 2020) In vitro kísérletekben kimutatták, hogy foszfolipidek hiányában is kötődik az ACA AAT a β 2GP1-hez, tehát a β 2GP1 negatív töltésű felszínekhez való kötődése fontos az azt követő ACA AAT kötődés kiváltásához. A β 2GP1-et az a β 2GP1 AAT-ek és az ACA AAT-ek fő antigénjének tekintenek az APS-ban. (Fierro és mtsai., 2022)

Az ACA AAT-ekről megerősítették, hogy számos terhességi komplikációval hozhatók összefüggésbe, beleértve a visszatérő beágyazódási kudarcot, a preeclampsziát, a habituális vetélést, a koraszülést és a méhen belüli növekedés visszamaradását. Az aPL AAT-ek közül a magzati növekedés visszamaradás (FGR) kialakulásában az ACA AAT játszik döntően szerepet. Az FGR definíció szerint azt jelenti, hogy a magzat nem éri el a potenciális növekedési ütemét, mely súlyos következményeket von maga után. FGR az APS betegek 6,7–16,0%-ban fordul elő. Az ACA AAT gátolja a prosztaciklin termelését, amely egy erős vazodilatátor és a vérlemezke aggregáció inhibitora. Az ACA AAT a placenta keringésére gyakorolt hatása révén artériás és/vagy vénás trombózist idézhet elő. Emellett az ACA AAT más kritikus mechanizmusok megváltozását is okozza, például az Interleukin-3 csökkent termelését az anyai plazmában, az aPL lehetséges interferenciáját a jelátvitellel a trophoblast sejtekben és a placenta hormontermelését. (Gao és mtsai., 2022; Xu és mtsai., 2022) Vetélésen átesett várandós nők szérumában az ACA AAT jelenlétét jelenleg leginkább a sejtmembrán foszfolipideiben lezajló szerkezeti változásokkal hozzák összefüggésbe, ugyanis ezek a módosulások serkentik az ACA AAT túltermelődését. Ennek okán a vetelési arány magasabb azoknál a betegeknél, akiknél az ACA AAT teszt pozitív eredményt adott. Annak ellenére, hogy egyes esetekben pozitív ACA AAT-teszt mellett is normális terhesség figyelhető meg, a vetelés kockázata 2-4-szeresére nőhet azon nők körében, akiknél mind az ACA AAT, mind az a β 2GP1 AAT jelen van, összehasonlítva azokkal, akiknél csak az egyik vagy a másik fordul elő. Bár a különböző elemzések mérsékelt heterogenitást mutatnak, a szakirodalom alapján az intrauterin magzati halálozás szignifikánsan gyakoribb az AAT-pozitív nőknél és egyes tanulmányok szerint az ACA AAT jelenléte pozitív korrelációban állt ezzel a kimenetellel. (Togay és mtsai., 2023)

Lupus antikoaguláns szerepe a szülészeti anti-foszfolipid szindrómában

A lupus antikoagulánsok (LA) csoportját heterogén immunglobulinok alkotják, túlnyomórészt IgG és IgM AAT-ek. Különböző stresszhatások következtében intracelluláris térre jellemző foszfolipidek tárnak fel, amelyekhez az antitestek kapcsolódhatnak. A sejtmembrán negatív töltésű foszfolipidjeit kötő fehérjék, például a protrombin és a $\beta 2\text{GP1}$ epitópjait célozzák meg, és gátolják a véralvadást. Az LA gátolja és megnyújtja az alvadási folyamatot, ami végső soron trombusképződéshez vezet. A placenta mikroereiben kialakuló trombózis következtében a méhlepény és a magzat közötti vércsere akadályozott. A magzat nem jut elegendő oxigénhez, illetve tápanyaghoz a csökkent véráramlás miatt, mely végső soron vetéléshez vezet. (Rasool & Tiwari, 2025)

A trombotikus események ugyan önmagukban nem magyarázzák az OAPS-ban megfigyelt terhességi morbiditást, azonban méhlepény trombózisa és infarktusa kapcsolatban állhat az APS-ra utaló terhességi szövődményekkel. (D'Ippolito és mtsai., 2023; Zahidin és mtsai., 2024) A kedvezőtlen terhességi kimenetek ugyan elsősorban $\beta 2\text{GP1}$ -gyel hozhatóak összefüggésbe, ennek ellenére egyes tanulmányok a LA-ra és az $\alpha \beta 2\text{GP1}$ AAT IgG-re együttesen pozitív teszteredményeket adó nők esetében találták a legnagyobb kockázatot a szülészeti kedvezőtlen kimenetekre. (Fierro és mtsai., 2022)

Nem-kritérium anti-foszfolipid autoantitestek

Az APS szerológiai és klinikai kritériumait 2006-ban határozták meg. Eredetileg ezeket a kritériumokat kutatási célokra, valamint különböző központok klinikai vizsgálatainak összehasonlítására dolgozták ki. Azóta azonban ezek a kritériumok általánosan elfogadottá váltak a betegek diagnosztizálásában és kezelésében. Ennek ellenére az APS klinikai kritériumait teljesítő betegek jelentős részénél nem mutathatók ki az osztályozási kritériumban szereplő aPL-ek. Ezt a jelenséget szeronegatív APS-ként (SN-APS) ismerik, és az elmúlt évtizedben egyre nagyobb figyelmet kapott. Emiatt intenzív kutatások indultak olyan új, klinikai szempontból releváns aPL AAT-ek azonosítására, amelyek pontosabb diagnózist és kezelést tesznek lehetővé. A kritériumként meghatározott AAT-ek mellett a kutatók számos további, úgynevezett „nem-kritérium” vagy ritka aPL AAT-et is azonosítottak APS-es betegekben. Ezek az AAT-ek általában alacsony prevalenciájúak, és szerepük sok esetben vitatott. Nem egyértelmű, hogy mely ritka aPL AAT-eket lenne érdemes szélesebb körben vizsgálni, mivel spektrumuk igen széles, klinikai jelentőségük bizonytalan. (De Laat és mtsai., 2024; Pleguezuelo és mtsai., 2021)

Egyes tanulmányok a negatív töltésű foszfolipidek elleni AAT-ek vizsgálatát javasolják a SN-APS esetek jobb megértése érdekében. Potenciálisan új marker lehetőségeket kínáló foszfolipidek a foszfatisav (PA), a foszfatidil-szerin (PS) és a foszfatidil-inozitol (PI) ellen irányuló antitestek (anti-PA, anti-PS, anti-PI). (Pignatelli és mtsai., 2020)

Klinikai kritériumok
• ≥ 1 morfológiailag normális magzati veszteség a 10. hét után, vagy • ≥ 1 normál újszülött koraszülése a 34. hét előtt, ami a következők miatt történt: (i) eclampsia vagy súlyos preeclampsia, vagy (ii) placentális elégtelenség, • ≥ 3 megmagyarázatlan egymást követő spontán abortusz < 10. hét (anyai vagy apai anatómiai, hormonális vagy kromoszóma okok kizárva).
Laboratóriumi kritériumok
• Lupus antikoaguláns (LA) jelenléte a plazmában ≥ 2 mintában, • Antikardiolipin antitest IgG és/vagy IgM (ACA AAT) jelenléte közepes vagy magas titerben, ≥ 2 alkalommal, legalább 12 hét eltéréssel, • Anti-β-2-glikoprotein-1 antitest IgG és/vagy IgM ($\alpha\beta$2GP1 AAT) jelenléte közepes vagy magas titerben, ≥ 2 alkalommal, legalább 12 hét eltéréssel.

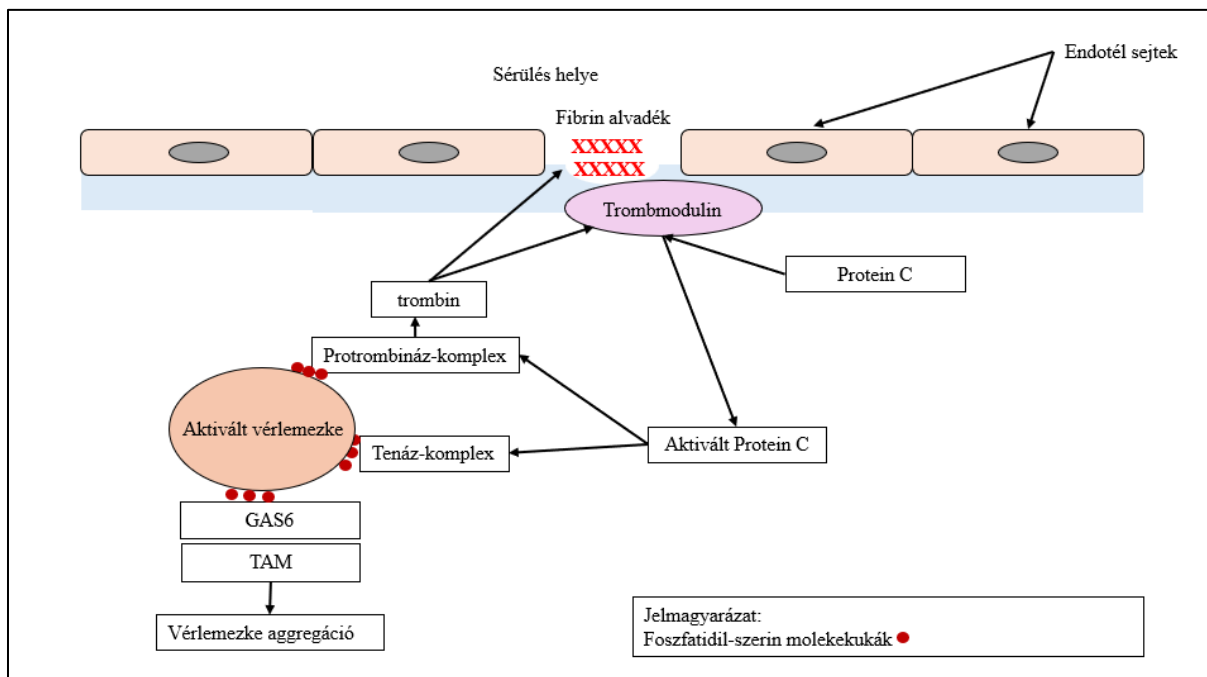
2. ábra Sydney-i kritériumok a szülészeti anti-foszfolipid szindrómára vonatkozóan (D'Ippolito és mtsai., 2023)

A foszfatidil-szerin és a protrombin szerepe a szülészeti anti-foszfolipid szindrómában

A foszfatidil-szerin (PS) a sejtmembrán intracelluláris oldalára jellemző anionos foszfolipid, mely apoptózis során a sejtek külső felszínére kerül, és a hatékony eliminációs folyamat alapját képezi. Az apoptózis zavara következtében a PS kifejeződése a sejt felszínén, hasonlóan, mint a fentebb említett esetekben, kóros hatásokat idézhet elő, és a PS elleni antitestek (aPS AAT) képződését eredményezheti. Ezek az aPS AAT-ek késleltetik a szinciciotrofoblaszt kialakulását és csökkentik a hCG szintjét. (Roselli és mtsai., 2023)

A PS továbbá szerepet játszik a véralvadási kaszkádban, ugyanis a vérlemezkék aktiválódásával megjelenik azok felszínén és kötőhelyet biztosít a tenáz- és protrombináz-komplexek számára. A protrombináz-komplexek hasítják a protrombint trombinná, amely az

alvadási kaszkád kulcsenzime. A trombinhoz trombomodulin kötődik aktiválva a Protein C-t. Az aktivált Protein C gátolja a Tenáz- és Protrombináz-komplexeket, lelassítva a véralvadást. Az expozált PS emellett segíti a vérlemezke aggregációt, ugyanis a Növekedés Megállásra Specifikus 6 fehérje (GAS6) ligandumon keresztül képes összekapcsolódni a TAM (Tyro3, Axl, Mer) receptorokkal. Ezen folyamatok összességében szabályozzák a trombózist és a vérlemezkek stabilitását. (De Laat és mtsai., 2024; Roselli és mtsai., 2023; Wang és mtsai., 2022)



3. ábra A foszfátidil-szerin (PS) szerepe a véralvadásban (Wang és mtsai., 2022)

A protrombin elleni AAT-ek gyakran kimutathatók APS-ben szenvedő betegekben, így közvetetten beépültek a meghatározásba. Valójában a protrombin elleni AAT-ek erősebb lupus antikoaguláns hatást idéznek elő, illetve egér modellekben trombocita-aggregációt is képesek kiváltani. Az, hogy a lupus antikoaguláns aktivitással nem rendelkező protrombin elleni AAT-ek önmagukban kockázati tényezőt jelentenek-e a terhességi szövődmények szempontjából továbbra is kérdéses. (De Laat és mtsai., 2024)

A foszfátidil-szerin/protrombin elleni antitesteket (aPS/PT AAT) számos klinikai megnyilvánulással, például trombózissal, iszkémiás agyi eseményekkel és terhességi szövődményekkel hozták már összefüggésbe. (Pleguezuelo és mtsai., 2021) Új eredmények alapján a PS-hez kötött protrombin ellen irányuló tesztek jobban korrelálnak a klinikai tünetekkel, mint az önmagában a protrombin ellen irányuló tesztek. Ennek oka feltételezhetően,

hogy a foszfatidil-szerinhez kötődő protrombin konformációs változáson megy keresztül, ami egy rejtett epitóp felszínre kerülését eredményezi. (Funke és mtsai., 2020)

Az annexin V szerepe a szülészeti anti-foszfolipid szindrómában

Az annexin fehérjecsald általánosan elterjedt eukarióta citoplazmatikus fehérjékből áll, melynek tagjaira jellemző, hogy Ca^{2+} -függő módon képesek negatív töltésű foszfolipideken keresztül kötödni membránokhoz. A legtöbb annexin fehérje központi doménje erősen konzervált, négy egységből épül fel. Az egységek mindegyike körülbelül 70 aminosavból áll és Ca^{2+} -felismerő motívumokat tartalmaz a fehérje konvex oldalán. Az N-terminális régió ugyanakkor nagy változatosságot mutat a családon belül. Jelenlegi álláspont alapján ezen heterogenitás hozzájárul az annexinek funkcióihoz, szabályozó szerepéhez a membrán szervezésében, a jelátvitelben és a vezikuláris transzportban. (Lin és mtsai., 2020; Mineo és mtsai., 2023; Robinson és mtsai., 2020)

A túlzott mechanikai stressz a plazmamembrán lokális repedéséhez vezethet. (Lin és mtsai., 2020) „Míg a nanoméretű szakadások lipid újratöltéssel vagy diffúzióval helyrehozhatók a károsodott területen, a nagyobb szakadások membránjavítása összetett folyamat.” (Robinson és mtsai., 2020) A plazmamembrán integritásának fenntartásához elengedhetetlen a Ca^{2+} -indukált javító rendszer, ami biztosítja a sejtek túlélését és homeosztázisát. Sejtkárosodás esetén a sejten kívüli Ca^{2+} beáramlása beindítja a membránjavító mechanizmusokat, többek között kiváltja az annexinek membránkötődési képességét. (Lin és mtsai., 2020) Az annexin V (AnV) fehérje oldatban monomer formában van jelen, de a membrán interfészén trimereket alkotva magától összeszerveződik és kétdimenziós kristályosrácsot képez. Ezen jellegzetesség kulcsfontosságú szerepet tölt be sérült plazmamembrán helyreállításában. (Robinson és mtsai., 2020) Az AnV összeszerelődése tehát a sejtmembrán sérülésére adott válaszként történik. Az AnV a sejtfelszínre mobilizálódva „védősávot” képez a sérült sejtfelszínen, így elősegítve annak javítását és újbóli záródását. (Mineo és mtsai., 2023; Robinson és mtsai., 2020)

Az AnV nagy affinitással kötődik a negatív töltésű foszfolipidekhez, elsősorban PS-hez, melynek a membránrétegen való megjelenése az apoptózis jele a sejtekben. (Mineo és mtsai., 2023; Robinson és mtsai., 2020) Membránkárosodás esetén a PS a sérülés helyéhez vándorol extracelluláris oldalra, valamint a sejten kívüli Ca^{2+} beáramlása aktiválja a Ca^{2+} -függő lipid scramblase-eket, megszüntetve a natív membrán aszimmetriáját. Az AnV két fontos funkciót lát el a sejtek védelmében. Egyrészt megköti és pufferezi a Ca^{2+} -ionokat, így elnyomva a

scramblase-ek működését, másrészt pedig a PS-t a membrán belső rétegében rögzíti, ezáltal hozzáférhetetlenné téve azt a scramblase-ek számára, ezzel megakadályozva az apoptózis folyamatát. (Lin és mtsai., 2020)

Az AnV protein membránadszorpciója és a kristályrács képződése jelentős hatással van az alatta lévő kettős rétegre, mivel a fehérje magas helyi Ca^{2+} koncentrációt idéz elő a membrán közvetlen közelében. A kísérleti körülményektől függően az AnV 2-11 Ca^{2+} -iont köt meg, ami 110 - 606 mM közötti Ca^{2+} koncentrációt eredményez a kettős réteg felett és ez megváltoztatja a membrán jellemzőit. Az AnV önszerveződése rendezi a fehérjeegységek és a hozzájuk kapcsolódó Ca^{2+} -ionok elhelyezkedését, amelyek tovább terjesztik a rendet az alattuk lévő lipid kettős rétegre, mely stabilabb membránfázist eredményez. Az AnV rácshálózat jelenléte csökkenti a lipid diffúziót, és növeli az acil-láncok rendezettségét, ami strukturális változásokat okoz a membránban. Bár ez a folyamat elsőre termodinamikailag kedvezőtlennek tűnik, mivel a lipidek „lehűtésével” jár, a lipidek, Ca^{2+} -ionok és fehérjék közötti kedvező kötések ellensúlyozzák az energiaráfordítást. Összességében az AnV által segített membránjavítás a membrán stabilizálódásán keresztül valósul meg megakadályozva a károsodás tovaterjedését, miközben intracelluláris vezikulák biztosítják a membránhibák lezárását. (Lin és mtsai., 2020)

„Előzetes kísérletek kimutatták, hogy az endogén AnV gazdagon jelen van a trofoblast sejtek apikális felszínén. További kutatások igazolták, hogy az aPL AAT-ek mesterséges anionos foszfolipid felületeken, többek között trofoblast és endotél sejteken is, képesek megzavarni az AnV által kialakított védőréteget. Az antifoszfolipid antitestek stabilizálják a $\beta 2\text{GP1}$ -t a plazmamembránon, kiszorítva az AnV egy részét. Az anionos foszfolipidekhez kötődött AnV mennyisége ennek okán csökken, mely feltehetően megzavarja az AnV rácsvédelmet.” (Mineo és mtsai., 2023)

„Kísérletek kimutatták, hogy terhes egereknek adott AnV antitestek megnövelték a placenta infarktusz és a magzati felszívódás esélyét. Hasonlóan, egy újabb tanulmány kimutatta, hogy egy APS-betegből izolált monoklonális antitest egerekben AnV -függő módon magzati veszteséget okozott. Összességében az aPL AAT-ek által okozott AnV rácszavar a trophoblastokban hozzájárulhat az APS-hez kapcsolódó terhességi komplikációkhoz.” (Mineo és mtsai., 2023)

Célkitűzés

A Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi karának Immunológiai és Biotechnológiai Intézetének diagnosztikai laboratóriumába olyan betegek vérmintái érkeznek, akik valamilyen meddőséggel küzdenek és felmerült náluk, hogy e mögött immunológiai eredetű problémák állhatnak. Célunk az intézetbe érkező vérszérum minták vizsgálatával különböző patológiás AAT profilok meghatározása, melyek alapján esetleges autoimmun kórképek felállíthatóak. Ezen kórképek pedig segíthetnek az infertilitás okainak azonosításában.

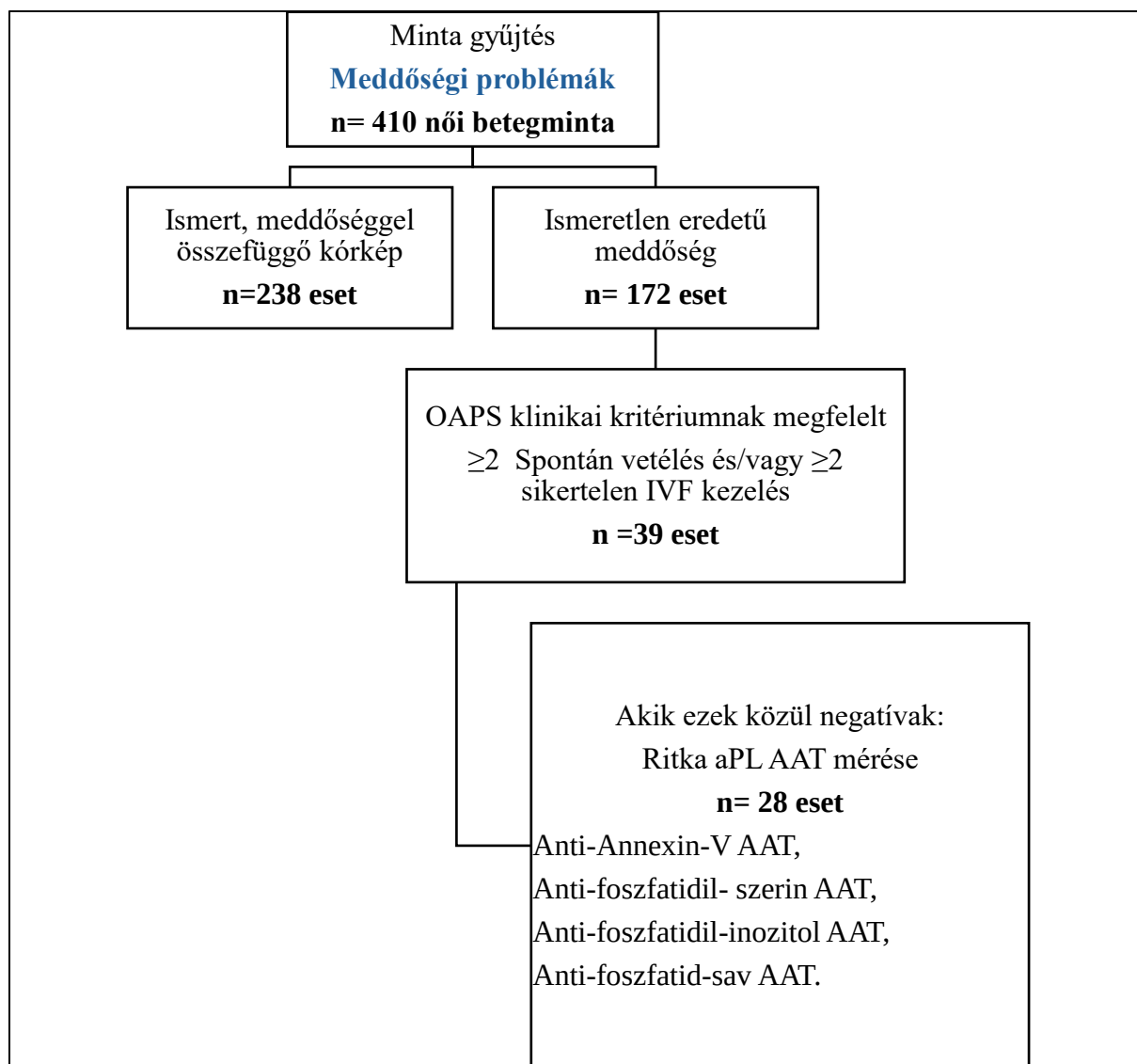
Munkám során az intézetbe érkezett minták közül azon női páciensek esetében, akik megfelelnek az OAPS klinikai kritériumainak, két kritérium (α 2GP1 AAT, ACA AAT) és egy gyakori aPL AAT (aPT AAT) mérését végeztem. Ahol az előbb említett aPL AAT-ek mérése negatív eredményt adott, ritka aPL AAT-eket is megmértem, célzottan az OAPS kevésbé gyakori formáinak azonosítására koncentrálni, melyek egyébként rejtve maradnának. Valamint ritka aPL AAT-eket kutatási célból néztük meg, hogy esetlegesen melyek beemelése a rutin diagnosztikai panelbe indokolt. A kapott kóros AAT profilok alapján az esetleges autoimmun kórképek felállításával a kezelőorvosok számára lehetőség nyílik a megfelelő kezelési stratégia kidolgozására, támogatva a sikeres gyermekvállalást.

Anyag és módszer

Betegválogatás folyamata

A laboratóriumba olyan páciensek mintái érkeznek, akiknél meddőségi problémáik kivizsgálása során felmerült a komplikáció immunológiai eredete. Kutatásom során összesen 410 ilyen női betegmintát vettünk figyelembe. Ezen páciensek között elkülönítettünk 238 esetet, akiknél volt ismert, a meddőséggel összefüggésbe hozható hormonális vagy nőgyógyászati kórkép, többek között endometriosis, prolactinoma vagy elzáródott petevezeték. A fennmaradó 172 esetből kiválasztottuk azokat, akik megfelelnek az OAPS klinikai kritériumainak, vagyis azon nők mintái kerültek elemzésre, akik 2 vagy több spontán vetélésen estek át és/vagy legalább 2 sikertelen in vitro fertilizáció (IVF) kezelésen vannak túl. A sikertelen IVF eljárások során a megtermékenyülés megtörtént, azonban az autoimmun eredetű

káros folyamatok megakadályozták a terhesség fenntartását. Ez 39 betegre szűkítette le a vizsgálati mintámat, a következőkben ezen csoporton végzett analízisről lesz szó. A 39 mintánál a szisztémás autoimmun betegségekre jellemző anti-nukleáris (ANA) és aPL AAT-ek eredményeit vettem figyelembe, a primer és szekunder APS megkülönböztetése érdekében. Ritka aPL AAT-eket azon esetekben néztem meg, ahol az ANA és kritérium aPL AAT-ek egyaránt negatív eredményt adtak célzottan az OAPS kevésbé gyakori formáinak azonosítására koncentrálni.



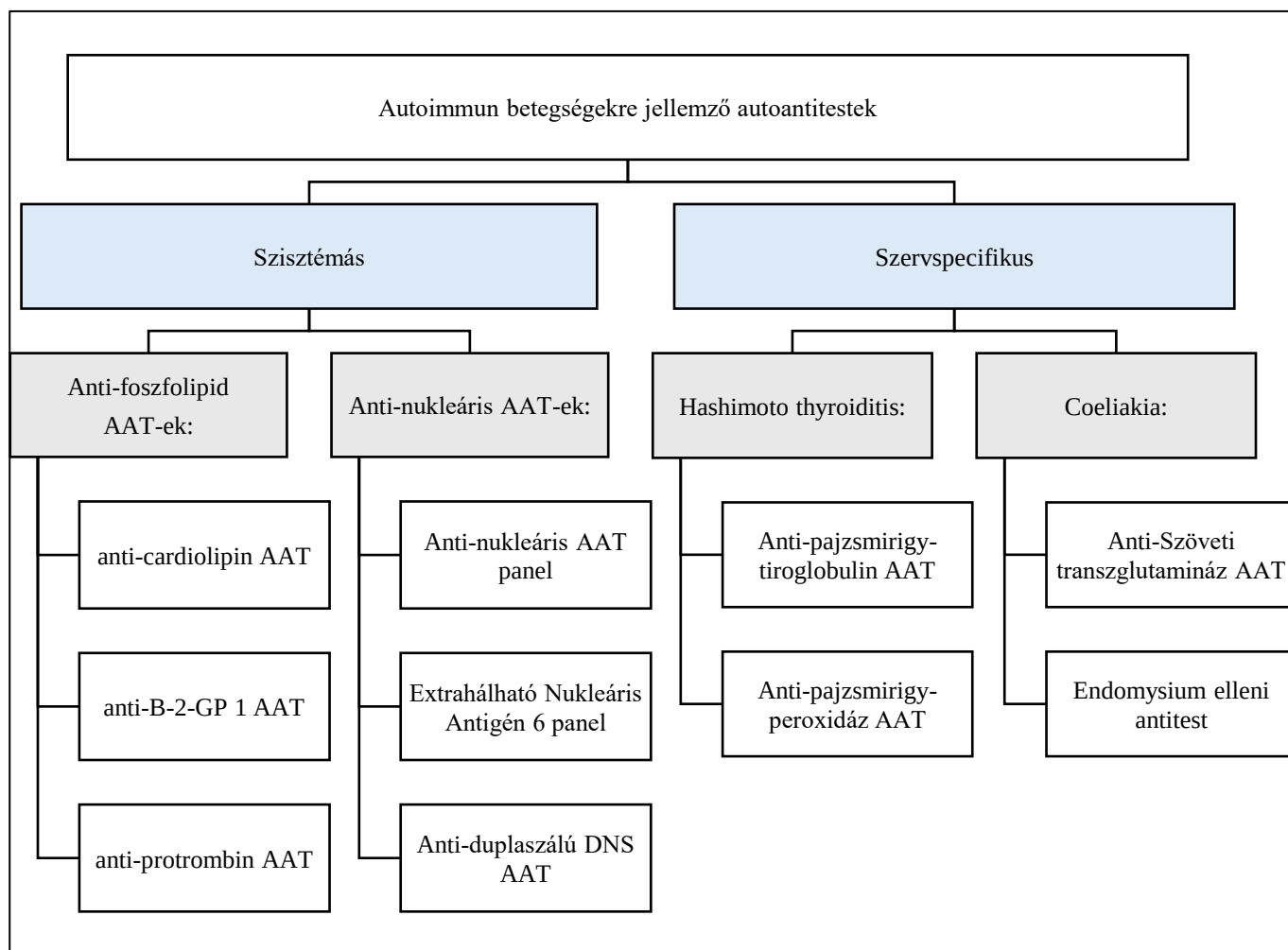
4. ábra Az ábra a Pécsi Tudományegyetem Immunológiai és Biotechnológiai Intézetébe érkező női betegminták kategorizálását szemlélteti. Célunk a válogatás folyamatával egy szűk betegcsoport találása, akiknél indokolt az APS vizsgálata.

Rutin szűrővizsgálatok és autoimmun betegségek kimutatása

A Pécsi Tudományegyetem Immunológiai és Biotechnológiai Intézetében a rutin diagnosztikai vizsgálatok egyaránt tartalmaznak szisztémás és szervspecifikus autoimmun betegségek irányába történő szűrővizsgálatokat. A szisztémás autoimmun betegségekre jellemző AAT-ek közül aPL AAT-ekre (ACA AAT, a β 2GP1 AAT, aPT AAT) és ANA AAT-ekre (anti-nukleáris AAT panel, Extrahálható Nukleáris Antigén 6 panel, anti-duplaszálú DNS AAT) történik szűrés. A szervspecifikus autoimmun betegségek közül a Hashimoto thyroiditis (anti-pajzsmirigy-tiroglobulin AAT, anti-pajzsmirigy-peroxidáz AAT) és a Coeliakia (anti-Szöveti transzglutamináz AAT, endomysium elleni antitest) kóros állapotokra jellemző specifikus AAT-eket mérik. Az említett autoimmun betegségek irányába történő méréseket minden intézetbe érkező mintán elvégzik.

Munkám során az ACA AAT és az a β 2GP1 AAT mellett aPT AAT mérését végeztük az APS diagnózis felállításához. LA vizsgálatot a központi laborokban is végeznek, így ezen mérések megismétlése nem indokolt a beérkező mintákon. A LA gyakran a PT elleni antitestek következménye, illetve az aPT AAT-ek az APS-es betegek körében viszonylag gyakran előfordulnak. (De Laat és mtsai., 2024) Emiatt a diagnózis pontosítása érdekében laboratóriumunkban az aPT AAT-eket mértük, mint a betegség meghatározásának harmadik kulcstényezőjét. Ezen lépést azért tartottuk indokoltnak, mivel számos tanulmány javasolja ezen aPL AAT hozzáadását az APS hivatalos diagnosztikai kritériumaihoz. (De Laat és mtsai., 2024)

A releváns kórképek felállítása érdekében az ANA AAT-ek mérési eredményeit is figyelembe vettük a kiértékelésnél. Az ANA AAT-ek különböző szisztémás autoimmun betegségekre jellemzőek. Immunkomplexeket alakítanak ki, melyek a szövetekben lerakódnak, valamint citokineket indukálnak. Ezen AAT-ek DNS-hez, RNS-hez és RNS-kötő fehérjékhez kötődnek elsősorban. Ezen AAT-ek mérését indokolta, hogy ezek segítségével tudtuk a primer és a szekunder APS-t elkülöníteni. (Alijotas-Reig és mtsai., 2022; Pisetsky & Lipsky, 2020)



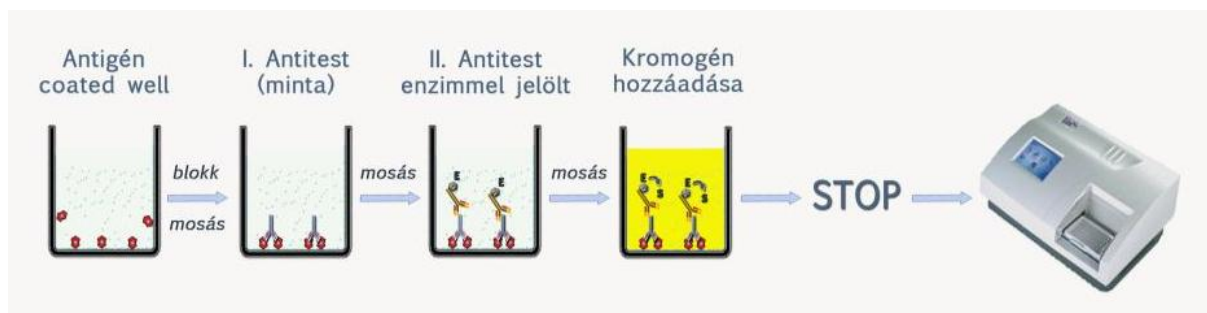
5. ábra Az ábra a Pécsi Tudományegyetem Immunológiai és Biotechnológiai Intézetében a rutin vizsgálatban mért AAT-eket szemlélteti. A feltüntetett autoimmun betegségek irányába történő méréseket minden intézetbe érkező mintán elvégzik.

Módszertan: Enzimmel jelölt immunoabszorpciós vizsgálat bemutatása

Az analízis során a betegek vérszérumából indirekt enzimmel jelölt immunoabszorpciós technikát (ELISA) alkalmaztunk a mérésekhez. Az eljárás első lépése az antigének rögzítése (coating) a mikrotiter lemez felületére. Ezt követően a szabad kötőhelyeket indifferens fehérjével, például bovin szérum albuminnal (BSA) blokkoljuk. A minták felvitele után a vérszérumban jelen lévő specifikus antitestek kötődnek a lemezre immobilizált antigénekhez. A következő lépésben tormaperoxidázhoz konjugált másodlagos antitestet alkalmazunk, amely specifikusan kötődik az elsődleges, szérumból származó antitestekhez. Az enzim szubsztrátjának hozzáadása színreakciót eredményez, amely spektrofotométerrel mérhető. Az

így kapott optikai densitás alapján meghatározható a mintából származó antitestek mennyisége. (Pállinger Éva, 2012)

Ez az indirekt ELISA technika lehetővé teszi az antigén-antitest kölcsönhatások pontos detektálását és kvantifikálását. (Pállinger Éva, 2012)



6. ábra Az indirekt ELISA módszer lépései (Pállinger, 2012)

Eredmények és kiértékelés

Az APS klinikai kritériumainak megfelelő, számszerűen 39 esetből, 11 esetben sikerült kóros AAT pozitivitást kimutatnunk. Megkülönböztettünk egymagában előforduló, úgynevezett monospecifikus, és kombináltan előforduló patológiás AAT pozitivitást a pontosabb differenciáldiagnózis érdekében. A monospecifikus AAT pozitívitas csoportján belül 5 további alcsoport elkülönítésére került sor, a kombináltan előforduló AAT-ek között pedig 2 alcsoportot alakítottunk ki. A kiértékelésnél három gyakori aPL AAT mellett, ANA AAT-ek és anti-duplaszálú DNS AAT-ek (anti-dsDNS AAT) mérésének eredményeit vettük figyelembe, ugyanis ezek segítségével volt megállapítható, hogy az aPL AAT önmagában fordul-e elő vagy sem. Azon eseteket, amikor kizárólag aPL AAT detektálható primer APS-nak nevezzük, amikor más patológiás AAT-ek is közepes vagy magas titerben vannak jelen, akkor szekunder APS-ről beszélünk. Mivel az egymagában és az együttesen előforduló AAT-ek más-más klinikai következménnyel járhatnak, ezért ezen kategorizálással elősegítettük a kellően pontos autoimmun állapot meghatározást és a megfelelő kezelési stratégia kidolgozását.

A 11 betegből 3 személy esetében volt kizárólag ANA AAT pozitív eredmény, mely valamilyen szisztémás autoimmun betegségre utal. Megemlítendő, hogy fertőzés és daganat is okozhat átmenetileg emelkedett ANA AAT szinteket. Duplaszálú DNS ellen termelődő AAT 2

esetben volt magas titerű, mely szisztémás lupus erythematosus (SLE) nevű autoimmun betegségre jellemző. Az a β 2GP1 IgG AAT és az aPT IgG AAT 1-1 esetben volt magas titerben jelen, ACA AAT pozitivitás egy esetben sem volt mérhető.

Kombináltan előforduló patológiás AAT pozitivitást összesen 4 esetben mértünk. 2 esetben volt ANA és anti-dsDNS együtt pozitív, ami szintén a SLE betegségre jellemző. Továbbá 2 esetben, ahol ANA AAT, anti-dsDNS AAT és aPL AAT hármas pozitivitást kaptunk, szekunder APS-t határoztunk meg.

A 39 beteg közül 28 betegnél lett negatív eredményű mind az ANA AAT, az anti-dsDNS AAT és a három gyakori aPL AAT mérés. Ezekben az esetekben a ritka aPL AAT-eket is megmértem, azonban ez a mérés mind a 28 esetben negatív eredményt adott, melynek magyarázata több tényezőre vezethető vissza. Elsősorban a vizsgálati minta méretének korlátozottsága hozható fel, ami statisztikai szempontból csökkentti annak valószínűségét, hogy ezeket a rendkívül ritka AAT-eket sikerüljön kimutatni. Egy nagyobb betegcsoport elemzése valószínűleg pontosabb képet adhatna az AAT-ek prevalenciájáról. Ezen 28 nőt az ismeretlen eredetű meddőség kategóriájába soroltam, az ő esetükben további vizsgálatok elvégzése szükséges a kóros állapot eredetének felderítéséhez.

SPSS program segítségével összehasonlítottuk, hogy a vizsgálati mintánkban van-e különbség az aPL AAT pozitív csoporton belül az anti-dsDNS AAT pozitívak és negatívak előfordulási gyakorisága között. Khi-négyzet próbát alkalmaztunk, az alacsony mintaszám miatt Fisher-féle egzakt próbával számoltunk. Eredményül nem kaptunk szignifikáns különbséget ($p=0,104$), vagyis a vizsgálati mintában a primer és a szekunder APS egyenlő gyakorisággal fordult elő. Az alacsony mintaszám miatt az eredmény nem feltétlenül tükrözi pontosan a valódi populációs arányokat, azonban segíthet finomítani a kutatási kérdéseket és a jövőbeli vizsgálati irányokat.

Összesen patológiás AAT pozitivitás	11/39 (28,21%)	Releváns kórkép
Egy patológiás AAT pozitivitás		
ANA AAT screen	3 db (7,69%)	Szisztémás autoimmun betegség (fertőzés, daganat)
anti-dsDNS AAT	2 db (5,13%)	Szisztémás lupus erythematosus
anti-kardiolipin IgG/A/M AAT	0	Primer Anti-foszfolipid Szindróma
anti-β-2-GP 1 IgG/A/M AAT	1db (2,56%)	Primer Anti-foszfolipid Szindróma
anti-protrombin IgG/A/M AAT	1db (2,56%)	Primer Anti-foszfolipid Szindróma
Kombináltan előforduló AAT pozitivitás		
ANA AAT screen, anti-dsDNS AAT	2 db (5,13%)	Szisztémás lupus erythematosus (SLE)
ANA AAT screen, anti-dsDNS AAT, anti-foszfolipid AAT	2 db (5,13%)	Szekunder Anti-foszfolipid Szindróma

7. ábra Anti-foszfolipid és anti-nukleáris AAT-ek mérési eredményeit és kiértékelését összefoglaló táblázat

Diszkusszió

Munkám során olyan női betegek vérszérum mintáit vizsgáltam, akik ismeretlen eredetű meddőséggel küzdenek és az immunológiai kóreredet lehetősége felmerült náluk. A betegválogatás célja egy szűk, jól definiált csoport azonosítása volt, akiknél indokolt a rutin diagnosztikai vizsgálatokon túl egyéb, ritka AAT-ek mérése is. Az APS diagnózisának hivatalos kritériumai között az ACA AAT, az a β 2GP1 AAT és a LA szerepelnek, de egyéb AAT-ek is szerepet játszanak az APS patogenezisében. Az Immunológiai és Biotechnológiai Intézet diagnosztikai laboratóriumában az ACA AAT és az a β 2GP1 AAT mellett aPT AAT mérését végeztük, mint APS diagnosztikai markerek. LA vizsgálatot a központi laborokban is végeznek, így ezen mérések megismétlése nem indokolt a beérkező mintákon. A LA gyakran a PT elleni antitestek következménye, illetve aPT AAT-ek viszonylag nagy gyakorisággal fordulnak elő az APS betegek körében, ezért a laborban aPT AAT-eket mértünk, mint harmadik meghatározó tényezőt a betegség diagnosztizálásához. (De Laat és mtsai., 2024)

Az intézetbe érkező 410 betegminta közül 39 nő esett át 2 vagy több spontán vetélésen és/vagy legalább 2 sikertelen IVF kezelésen vannak túl, így megfelel az OAPS klinikai kritériumainak. Ezen nőknél nem a megtermékenyülés folyamata jelent problémát, hanem az, hogy a terhesség a megtermékenyülést követően vetéléssel végződött. A kritérium és a gyakran előforduló aPL AAT-ek mérésével 4 esetben sikerült az OAPS diagnózisát felállítani. Ezeken felül 7 betegnél találtunk egyéb patológiás AAT-eket. A 39 betegből fennmaradó 28 esetben mértünk ritka aPL AAT-eket, azonban ezen tesztek mindegyike negatív eredményt adott. Bár egyre több bizonyíték utal arra, hogy a nem kritériumként elfogadott aPL AAT-nek szerepe lehet a „szernegatív”-ként definiált betegekénél, ezeknek a nem kritériumként elfogadott AAT-eknek a rutinszerű tesztelése nem javasolt. Azonban egyedi esetekben, különösen azoknál a betegekénél, akiknél magas az OAPS klinikai gyanúja, de a kritériumoknak megfelelő aPL AAT-ek nem mutathatók ki közepesen magas titerben sem, a vizsgálatuk megfontolandó.

A vizsgálati minta korlátozott mérete miatt az eredmények nem feltétlenül tükrözik a populációs prevalenciáját ezen AAT-eknek. Egy nagyobb betegcsoport elemzése valószínűleg pontosabb információt nyújtana az AAT-ek előfordulási gyakoriságáról. Annak ellenére, hogy a kapott eredmények nem általánosíthatók, hozzájárulhatnak a reprodukciós immunológiai kutatásokhoz és a terápiás megoldások továbbfejlesztéséhez.

Az APS patogenezise rendkívül összetett, és egyre fontosabb kérdéssé válik, hogy az egyes betegek közötti klinikai megnyilvánulások heterogenitása magyarázható-e a keringő

autoantitestek mintázatának variációjával. Az autoantitestek különböző kombinációi és a klinikai megnyilvánulások eltérő mintázata egyes betegek esetében eltérő kezelést igényelhet. Jelenleg nincs elegendő adat ahhoz, hogy ezt a hipotézist egyértelműen alátámasszuk. Az epitópok jellemzése és a patogén epitópok azonosítása további lépést jelentene a betegség megértésében, és hozzájárulhatna a pontosabb diagnózis felállításához.

A ritka autoantitestek mellett fontos lenne más gyulladásos markerek vizsgálata is, amelyek kombinációja megerősítheti a diagnózist, vagy segíthet a betegség stádiumának meghatározásában, ugyanis ezek a biomarkerek új megközelítést kínálnak az APS pontosabb diagnosztikájában és a betegség előrehaladásának nyomon követésében.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném kifejezni köszönetemet témavezetőmnek, Dr. Berki Tímea professzorasszonynak, aki értékes szakmai iránymutatásával segítette a dolgozatom elkészítését. Köszönöm Dr. Simon Diánának és Dr. Erdő-Bonyár Szabinának a betegek kiválasztásában és az eredmények kiértékelésében végzett munkájukat. Köszönettel tartozom Mészáros Viktóriának, aki segítette a laborhasználatot, a mérések kivitelezését. Köszönöm továbbá a RRF-2.3.1-21-2022-00012 számú projekt támogatásának, hogy biztosította a kutatás elvégzéséhez szükséges erőforrásokat.

Referencia lista

- Alijotas-Reig, J., Esteve-Valverde, E., Anunciación-Llunell, A., Marques-Soares, J., Pardos-Gea, J., & Miró-Mur, F. (2022). Pathogenesis, Diagnosis and Management of Obstetric Antiphospholipid Syndrome: A Comprehensive Review. *Journal of Clinical Medicine*, 11(3), 675. <https://doi.org/10.3390/jcm11030675>
- Bala, R., Singh, V., Rajender, S., & Singh, K. (2021). Environment, Lifestyle, and Female Infertility. *Reproductive Sciences*, 28(3), 617–638. <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00279-3>
- De Laat, B., Gehlen, R., & De Groot, P. G. (2024). Viewpoint: The value of non-criteria antiphospholipid antibodies. *Rheumatology*, 63(SI), SI64–SI71. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kead632>
- D’Ippolito, S., Barbaro, G., Paciullo, C., Tersigni, C., Scambia, G., & Di Simone, N. (2023). Antiphospholipid Syndrome in Pregnancy: New and Old Pathogenetic Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3195. <https://doi.org/10.3390/ijms24043195>
- Fierro, J. J., Velásquez, M., Cadavid, A. P., & De Leeuw, K. (2022). Effects of anti-beta 2-glycoprotein 1 antibodies and its association with pregnancy-related morbidity in antiphospholipid syndrome. *American Journal of Reproductive Immunology*, 87(1), e13509. <https://doi.org/10.1111/aji.13509>
- Funke, A., Staub, H. L., Monticelo, O. A., Balbi, G. G. M., Danowski, A., Santiago, M. B., Andrade, D. C. O. D., & Rêgo, J. (2020). Non-criteria Antiphospholipid Antibodies: A narrative review. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 66(11), 1595–1601. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.66.11.1595>
- Gao, R., Yue, X., Huang, W., Yu, F., & Qin, L. (2022). Trimester-specific reference values for the anticardiolipin antibody by chemiluminescence immunoassay in healthy pregnancy. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 60(6), e146–e149. <https://doi.org/10.1515/cclm-2022-0044>
- He, L., & Sims, C. (2024). Impact of Antiphospholipid Syndrome on Reproductive Outcomes: Current Insights and Management Approaches. *Seminars in Reproductive Medicine*, 42(03), 197–208. <https://doi.org/10.1055/s-0044-1790225>
- Jang, S., & Javadov, S. (2023). Unraveling the mechanisms of cardiolipin function: The role of oxidative polymerization of unsaturated acyl chains. *Redox Biology*, 64, 102774. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102774>
- Jiang, Z., Shen, T., Huynh, H., Fang, X., Han, Z., & Ouyang, K. (2022). Cardiolipin Regulates Mitochondrial Ultrastructure and Function in Mammalian Cells. *Genes*, 13(10), 1889. <https://doi.org/10.3390/genes13101889>

- Lin, Y.-C., Chipot, C., & Scheuring, S. (2020). Annexin-V stabilizes membrane defects by inducing lipid phase transition. *Nature Communications*, 11(1), 230. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14045-w>
- McDonnell, T., Wincup, C., Buchholz, I., Pericleous, C., Giles, I., Ripoll, V., Cohen, H., Delcea, M., & Rahman, A. (2020). The role of beta-2-glycoprotein I in health and disease associating structure with function: More than just APS. *Blood Reviews*, 39, 100610. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2019.100610>
- Meroni, P. L., Grossi, C., & Tedesco, F. (2022). Pathogenesis of the obstetric antiphospholipid syndrome: The key role of beta 2 glycoprotein I. *Exploration of Immunology*, 510–517. <https://doi.org/10.37349/ei.2022.00064>
- Mineo, C., Shaul, P. W., & Bermas, B. L. (2023). The pathogenesis of obstetric APS: A 2023 update. *Clinical Immunology*, 255, 109745. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2023.109745>
- Njagi, P., Groot, W., Arsenijevic, J., Dyer, S., Mburu, G., & Kiarie, J. (2023). Financial costs of assisted reproductive technology for patients in low- and middle-income countries: A systematic review. *Human Reproduction Open*, 2023(2), hoad007. <https://doi.org/10.1093/hropen/hoad007>
- Pállinger Éva. (2012). *Immunológiai szemináriumok*. Semmelweis Egyetem.
- Pignatelli, P., Ettorre, E., Menichelli, D., Pani, A., Violi, F., & Pastori, D. (2020). Seronegative antiphospholipid syndrome: Refining the value of “non-criteria” antibodies for diagnosis and clinical management. *Haematologica*, 105(3), 562–572. <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.221945>
- Pisetsky, D. S., & Lipsky, P. E. (2020). New insights into the role of antinuclear antibodies in systemic lupus erythematosus. *Nature Reviews Rheumatology*, 16(10), 565–579. <https://doi.org/10.1038/s41584-020-0480-7>
- Pizzuto, M., & Pelegrin, P. (2020). Cardiolipin in Immune Signaling and Cell Death. *Trends in Cell Biology*, 30(11), 892–903. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.09.004>
- Pleguezuelo, D. E., Cabrera-Marante, O., Abad, M., Rodriguez-Frias, E. A., Naranjo, L., Vazquez, A., Villar, O., Gil-Etayo, F. J., Serrano, M., Perez-Rivilla, A., De La Fuente-Bitaine, L., & Serrano, A. (2021). Anti-Phosphatidylserine/Prothrombin Antibodies in Healthy Women with Unexplained Recurrent Pregnancy Loss. *Journal of Clinical Medicine*, 10(10), 2094. <https://doi.org/10.3390/jcm10102094>
- Raschi, E., Borghi, M. O., Tedesco, F., & Meroni, P. L. (2024). Antiphospholipid syndrome pathogenesis in 2023: An update of new mechanisms or just a reconsideration of the old ones? *Rheumatology*, 63(SI), SI4–SI13. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kead603>
- Rasool, Z. S., & Tiwari, V. (2025). Biochemistry, Lupus Anticoagulant. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544357/>

Robinson, J., Berselli, G. B., Ryadnov, M. G., & Keyes, T. E. (2020). Annexin V Drives Stabilization of Damaged Asymmetric Phospholipid Bilayers. *Langmuir*, 36(19), 5454–5465. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c00035>

Roselli, D., Bonifacio, M., Barbuti, G., Rossiello, M., Ranieri, P., & Marigliò, M. (2023). Anti-Phosphatidylserine, Anti-Prothrombin, and Anti-Annexin V Autoantibodies in Antiphospholipid Syndrome: A Real-Life Study. *Diagnostics*, 13(15), 2507. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13152507>

Togay, A., Tekin, D., Özer, M., & Kılınç Gönüllü, Ö. S. (2023). The effect of anti-phospholipid syndrome on pregnancy outcomes in patients with habitual abortus. *Aegean Journal of Obstetrics and Gynecology*, 5(2), 36–40. <https://doi.org/10.46328/aejog.v5i2.154>

Upadhyay, Y., Chhabra, A., & Nagar, J. C. (2020). A Women Infertility: An Overview. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 8(2), 99–106. <https://doi.org/10.22270/ajprd.v8i2.654>

Wang, J., Yu, C., Zhuang, J., Qi, W., Jiang, J., Liu, X., Zhao, W., Cao, Y., Wu, H., Qi, J., & Zhao, R. C. (2022). The role of phosphatidylserine on the membrane in immunity and blood coagulation. *Biomarker Research*, 10(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s40364-021-00346-0>

Xu, J., Chen, D., Tian, Y., Wang, X., & Peng, B. (2022). Antiphospholipid Antibodies Increase the Risk of Fetal Growth Restriction: A Systematic Meta-Analysis. *International Journal of Clinical Practice*, 2022, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2022/4308470>

Zahidin, M. A., Iberahim, S., Hassan, M. N., Zulkafli, Z., & Mohd Noor, N. H. (2024). Clinical and Laboratory Diagnosis of Antiphospholipid Syndrome: A Review. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.61713>

Függelék

1. ábra: Béta-2-glikoprotein 1 által kiváltott patomechanizmusok a szülészeti anti-foszfolid szindrómában. Forrás: Fierro, J. J., Velásquez, M., Cadavid, A. P., & De Leeuw, K. (2022). Effects of anti-beta 2-glycoprotein 1 antibodies and its association with pregnancy-related morbidity in antiphospholipid syndrome. *American Journal of Reproductive Immunology*, 87(1), e13509. <https://doi.org/10.1111/aji.13509>

2. ábra Sydney-i kritériumok a szülészeti anti-foszfolid szindrómára vonatkozóan. Forrás: D'Ippolito, S., Barbaro, G., Paciullo, C., Tersigni, C., Scambia, G., & Di Simone, N. (2023). Antiphospholipid Syndrome in Pregnancy: New and Old Pathogenetic Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3195. <https://doi.org/10.3390/ijms24043195>

3. ábra: A foszfatidil-szerin (PS) szerepe a véralvadásban. Forrás: Wang, J., Yu, C., Zhuang, J., Qi, W., Jiang, J., Liu, X., Zhao, W., Cao, Y., Wu, H., Qi, J., & Zhao, R. C. (2022). The role of phosphatidylserine on the membrane in immunity and blood coagulation. *Biomarker Research*, 10(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s40364-021-00346-0>

4. ábra: Az ábra a Pécsi Tudományegyetem Immunológiai és Biotechnológiai Intézetébe érkező női betegminták kategorizálását szemlélteti. Célunk a válogatás folyamatával egy szűk betegcsoport találása, akiknél indokolt az APS vizsgálata.

5. ábra: Az ábra a Pécsi Tudományegyetem Immunológiai és Biotechnológiai Intézetében a rutin vizsgálatban mért AAT-eket szemlélteti. A feltüntetett autoimmun betegségek irányába történő méréseket minden intézetbe érkező mintán elvégzik.

6. ábra: Az indirekt ELISA módszer lépései. Forrás: Pállinger Éva. (2012). *Immunológiai szemináriumok*. Semmelweis Egyetem.

7. ábra: Anti-foszfolipid és anti-nukleáris AAT-ek mérési eredményeit és kiértékelését összefoglaló táblázat.